

**YUNANİSTAN'DAN TOPLANMIŞ
Brachypodium spp. (POACEAE)
POPÜLASYONLARININ FENOTİPİK
VE GENETİK KARAKTERİZASYONU**

Parthena CHARALAMPIDOU AYDIN

**Doktora Tezi
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Metin TUNA
2015**

**T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**YUNANİSTAN'DAN TOPLANMIŞ *Brachypodium spp.* (POACEAE)
POPÜLASYONLARININ FENOTİPİK VE GENETİK
KARAKTERİZASYONU**

Parthena CHARALAMPIDOU AYDIN

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Metin TUNA

TEKİRDAĞ-2015

Her hakkı saklıdır

Bu çalışmanın bir kısmı 2013 yılı 2214-A Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı kapsamında TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir

Prof.Dr. Metin TUNA danışmanlığında, Parthena CHARALAMPIDOU AYDIN tarafından hazırlanan“Yunanistan’dan Toplanmış *Brachypodium spp.* (Poaceae) Popülasyonlarının Fenotipik ve Genetik Karakterizasyonu” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda Doktora Tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı	: Prof. Dr. Metin TUNA	<i>İmza :</i>
Üye	: Prof. Dr. Hakan ÖZKAN	<i>İmza :</i>
Üye	: Prof.Dr. İskender TİRYAKİ	<i>İmza :</i>
Üye	: Doç. Dr. İlker NİZAM	<i>İmza :</i>
Üye	: Yard. Doç.Dr. Behiye Banu BİLGİN	<i>İmza :</i>

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

YUNANİSTAN'DAN TOPLANMIŞ *Brachypodium* spp. (POACEAE)
POPÜLASYONLARININ FENOTİPİK VE GENETİK KARAKTERİZASYONU

Parthena CHARALAMPIDOU AYDIN

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimler Enstitüsü

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Metin TUNA

Brachypodium distachyon yıllık bir buğdaygil türü olup, son 15 yıldır serin mevsim buğdaygil türleri (tahıllar ve buğdaygil yem bitkileri) için bir model bitki olarak kullanılmaktadır. Ancak *Brachypodium*'un *Arabidopsis* gibi başarılı bir model sistem olabilmesi için geniş bir doğal varyasyona sahip genetik kaynak koleksiyonuna sahip olması şarttır. Bu nedenle *Brachypodium*'un yayılış gösterdiği diğer ülkelerden yeni genetik materyalin toplanması gereği vardır. Yunanistan *Brachypodium*'un yayılış gösterdiği ülkelerden birisidir. Ancak bugüne kadar Yunanistan'dan *Brachypodium* genetik materyali sistemli bir şekilde toplanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, Yunanistan'dan ilk defa sistemli bir şekilde *Brachypodium* genetik materyali toplayarak *Brachypodium* için geniş doğal varyasyona sahip bir genetik materyal koleksiyonu oluşturma çalışmalarına katkı sağlamak ve toplanan bu aksesyonları karakterize etmektir. Bu amaçla, Yunanistan'ın 60 farklı lokasyonundan, *Brachypodium* genetik materyali toplanarak bir koleksiyon oluşturulmuştur. Yürütülen bu çalışmada öncelikle koleksiyonu oluşturan *Brachypodium* popülasyonlarının (her popülasyon için 10 tek bitki) ortalama çekirdek DNA içerikleri flow sitometri yöntemi ile belirlenmiştir. Yapılan çekirdek DNA analizleri sonucu koleksiyonu oluşturan popülasyonlar bariz şekilde görülebilen üç gruba ayrılmış ve her grubun farklı bir *Brachypodium* türüne ait bireylerden oluştuğu başarılı bir şekilde saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlara göre toplanan 60 popülasyondan 27 tanesinin *B. distachyon*, 23 tanesinin *B. hybridum*, 1 tanesinin *B. stacei* ve 9 tanesinin ise simpatrik (karışık) popülasyon olduğu belirlenmiştir. Çalışmada *B. stacei*,

B. distachyon ve *B. hybridum* türlerinin ortalama çekirdek DNA içerikleri sırasıyla 0.616, 0.676 ve 1.285 pg/2C olarak belirlenmiştir. Çekirdek DNA analizlerinde standart olarak 0.90 pg/2C DNA içeriğine sahip çeltik (Osmancık 97) çeşidi, florasan boya olarak da propidium iodide kullanılmıştır. Çalışmanın ikinci bölümünde aynı aksesyonlar morfolojik ve fenotipik olarak karakterize edilmiştir. Elde edilen sonuçlar kullanılarak yapılan PCA (Principal Component Analysis) ve filogenetik analizlerde üç tür açık bir şekilde ayırt edilmiştir. Yapılan bu istatistiksel analizler sonucunda ayrıca her türün bazı popülasyon ve bireylerinin geniş bir varyasyona sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın üçüncü bölümünde üç türü temsilen toplam 192 bireyinin genetik karakterizasyonu, 43 mikrosatellit markör markörü kullanılarak analiz edilmiş ve koleksiyonu oluşturan türlerin sahip olduğu varyasyonun yanı sıra türlerin birbirlerine olan uzaklıkları incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, *B. distachyon*'un kendine döllenene ($f= 0.988$) ile *B. hybridum*'un allotetraploid bir tür olduğunu doğrulamaktadır. Üç tür ikili olarak karşılaştırıldığında genetik farklılaşma: *B. distachyon*-*B. hybridum* için $F_{st}= 0.203$; *B. hybridum*- *B. stacei* için $F_{st}= 0.250$ ve *B. distachyon*-*B. stacei* için $F_{st}=0.302$ değerlerinde olmuştur. Mantel testiyle gerçekleştirilen coğrafik ve genetik uzaklık matrisleri arasındaki karşılaştırma, istatistiksel olarak pozitif orta seviyede bir korelasyon ($R_{xy}=0.432$, $p=0.001$) olduğunu ortaya koymuştur. Genetik ve fenotipik uzaklık matrisleri arasında Mantel testiyle yapılan kıyaslama da, istatistiksel olarak pozitif orta seviyede bir korelasyon ($R_{xy}=0.448$, $p=0.001$) olduğu göstermiştir. Filogenetik analiz ve Bayes modeli kümeleme sonuçları, PCoA ile genotipik karakterizasyon sonucunda ortaya çıkan desenle hemen hemen aynı olmuştur. Üç türün doğal popülasyon yapısını göz önüne alarak gerçekleştirilen tüm analizlerin özetleri şöyledir: *B. distachyon* türünde üç farklı grup bulunmaktadır. İlk grup kontrol aksesyonlarından (Bd21, Bd21-3, HU1.6 ve Koz-3) oluşmaktadır. İkinci grup, Yunanistan'dan Kilk-1, Kilk-4, Kilk-6, Kilk-7, Edes-2, Edes-5, Edes-7 ve Linos-4 bireylerinden; üçüncü grup da geriye kalan tüm bireylerden oluşmaktadır. *B. hybridum* türünde ise, Fira ve Pros popülasyonları, popülasyon içi ve popülasyonlar arasında yaygın bir çeşitlilik göstererek, diğerlerinde oldukça farklı genetik ve fenotipik karakteristikler göstermişlerdir. *B. stacei* türünde, Amfi-1 bireyi Yunanistan'dan toplanan diğer bireylerden ayrılarak, İspanya orijinli AL1.1 ve AL5.2 bireylerinin çok yakınında yer almıştır. *B. stacei* doğada çok yaygın bir şekilde bulunan bir tür olmayıp, günümüzde gen bankalarında az sayıda aksesyon ve popülasyonu mevcuttur. Bu çalışmayla ilk kez dördü Yunanistan'dan toplanan yedi farklı *B. stacei* popülasyonunun sahip oldukları genetik ve fenotipik çeşitlilik ile birlikte, yakın akrabası *B. distachyon* ve *B. hybridum* türleri ile ilişkisi incelenmiştir.

Keywords: *Brachypodium* koleksiyonu, doğal popülasyonlar, SSR markörleri, genetik çeşitlilik, fenotip, çekirdek DNA içeriği

2015, 270 sayfa

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

GENETIC AND PHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF GREEK *Brachypodium spp.*
(POACEAE) POPULATIONS

Parthena CHARALAMPIDOU AYDIN

Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Metin TUNA

Brachypodium distachyon is an annual grass which the last 15 years is used as a model plant for the temperate cereals and forage grasses. The research community needs many and highly divergent natural populations of *B. distachyon* to utilize in the experimental projects. In this study we established the first collection from Greece of *B. distachyon* and its close relatives, *B. hybridum* and *B. stacei*, and we explored the genetic and phenotypic diversity of these species. For this reason, 60 locations were sampled from different places in Greece and 27 *B. distachyon*, 23 *B. hybridum*, 1 *B. stacei* and 9 sympatric populations were collected. Flow cytometry with PI method was used for nuclear DNA content determination and via this method successfully were distinguished the *B. distachyon* from the *B. stacei* species (0.676 and 0.616 pg/2C respectively). Phenotypic characterization of the collection was conducted by evaluating 15 morpho-anatomical and physiological characteristics of 603 individuals for three species. The PCA and the phylogenetic analyses clearly discriminate the three species and revealed that there is high phenotypic variation particularly in the some populations and individuals of each species. The genetic characterization of 192 individuals of the three species explored with 43 microsatellite markers. The results testify the inbreeding nature of *B. distachyon* ($f= 0.988$) and the allotetraploidy of *B. hybridum*. The pairwise genetic differentiation of the three pairs is: for *B. distachyon*-*B. hybridum* $F_{st}= 0.203$, for *B. hybridum*- *B. stacei* $F_{st}= 0.250$ and for *B. distachyon*-*B. stacei* $F_{st}=0.302$. The comparison

between geographic and genetic distance matrices via Mantel test revealed that there is statistically significant positive moderate correlation ($R_{xy}=0.432$, $p=0.001$). Also, the comparison of genetic and phenotypic distance matrices with Mantel test resulted a statistically significant positive moderate correlation ($R_{xy}=0.448$, $p=0.001$). The outcome of phylogenetic analysis and the Bayesian modeling clustering had almost the same pattern as had been resulted from the PCoA and phenotypic characterization. The summary of all conducted analyses regarding to the natural populations structure for the three species is: In *B. distachyon* species there are three distinct groups. First group with the control accessions (Bd21, Bd21-3, HU1.6 and Koz-3). Second group with Kilk-1, Kilk-4, Kilk-6, Kilk-7, Edes-2, Edes-5, Edes-7 and Linos-4 individuals from Greece and the third group with all the rest individuals. In *B. hybridum* species there is spread diversity among populations and individuals with two populations (Fira and Pros) to present very divergent genetic and phenotypic characteristics from all the others. In *B. stacei* species the Amfi-1 individual diverged from the rest collected from Greece and is more near to the AL1.1 and AL5.2 from Spain. This species is not widespread and only few accessions and populations are available over the world. For first time, we present the genetic and phenotypic diversity of 7 different populations (4 of them collected from Greece), and the relatedness with the close relative species *B. distachyon* and *B. hybridum*.

Keywords: *Brachypodium* collection, natural populations, SSR markers, genetic diversity, phenotype, nuclear DNA content

2015, 270 pages

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGE DİZİNİ	ix
ŞEKİL DİZİNİ	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
TEŞEKKÜR	xix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM	32
3.1. Yunanistan’da <i>Brachypodium</i> spp.’in toplanması.....	32
3.2. Koleksiyon Lokasyonlarına İlişkin Bilgiler	33
3.3. Bitki Materyali ve Deneme Aşamaları	36
3.4. Tohum Ekimi ve Bitki Yetiştirme Koşulları	37
3.5. Fenotipik Karakterizasyon.....	40
3.5.1. Ölçülen Bitkisel Karakteristikler	40
3.5.2. İstatistik Analizleri	42
3.5.3. Tanımlayıcı istatistikler	43
3.5.4. Parametrik testler	43
3.5.5. Parametre dışı testler	45
3.5.6. Fenotipik verilerde temel bileşenler analizi (PCA)	45
3.5.6.a. Bireylerde PCA.....	46
3.5.6.b. Popülasyonlarda PCA.....	46
3.5.7. Ayrıştırma (Discriminant) Analizi.....	47
3.5.8. Fenotipik verilerde filogenik yaklaşımlar	47
3.5.8.a. UPGMA kümelemesi.....	48
3.5.8.b. Maksimum olasılık filogenetik ağacı.....	49
3.6. Sitogenetik Analizler	49
3.6.1. Flow sitometrinin teorik arka planı	49
3.6.2. İç Standartlar.....	51
3.6.3. Sitogenetik analizlerde kullanılan bitki materyali	53
3.6.4. PI metodu.....	54
3.6.5. DAPI metodu.....	56
3.6.6. Kromozom sayımı	57
3.7. Genetik Karakterizasyon	58
3.7.1. Bitki materyali ve büyüme koşulları	59
3.7.2. DNA izolasyonu	60
3.7.3. Mikrosatellit lokusları (SSR) ve primerler	62
3.7.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)	64
3.7.5. Kapiller elektroforez.....	66
3.7.6. Fragman analizi	69
3.7.7. Genetik çeşitlilik analizleri.....	71
3.7.8. Genetik, fenotipik ve coğrafik uzaklıkların korelasyonu	73
3.7.9. Genetik uzaklıklar ve filogeni	74
3.7.10. Bayes popülasyon yapı analizi	74

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	76
4.1. Fenotipik Karakteristiklerin İstatistiksel Analizi.....	76
4.1.1. Tanımlayıcı istatistikler	76
4.2.2. Çok değişkenli varyans analizi	87
4.1.3. Parametre dışı testler	93
4.2. Fenotipik Karakteristiklerin Çok-değişkenli Analizi	95
4.2.1. Bireylerin temel bileşenler analizi	95
4.2.2. Popülasyonların temel bileşenler analizi	98
4.2.3. Ayırışma (diskriminant) analizi (DA)	102
4.3. Fenotipik Verilerde Filogenetik Yaklaşımlar	104
4.3.1. Üç türle UPGMA ağacı	104
4.3.2. Üç türde Maksimum olasılık ağacı	105
4.3.3. <i>B. distachyon</i> türünde UPGMA ağacı	106
4.3.4. <i>B. hybridum</i> türü UPGMA ağacı	107
4.3.5. <i>B. stacei</i> türü UPGMA ağacı	108
4.3.6. Tüm popülasyonların UPGMA ağacı	108
4.4. <i>Brachypodium</i> spp. Koleksiyonunda Fenetik Gözlemler	117
4.4.1. <i>Brachypodium</i> bitkilerinin toplandığı lokasyonlardan fotoğraflar	117
4.4.2. Tekirdağ'da <i>Brachypodium</i> bitkilerinin yetiştirilmesi	123
4.4.3. Üç türün kıyaslanması	124
4.4.4. Üç tür içindeki çeşitliliğin ana hatları	126
4.4.5. Salkımlarla herbarium	128
4.5. Sitogenetik Analizler	129
4.5.1. İncelenen türlerin çekirdek DNA içerikleri	129
4.5.2. <i>B. distachyon</i> çekirdek DNA içeriğinde varyasyon.....	135
4.5.3 <i>B. distachyon</i> çekirdek DNA içeriği ile rakım arasındaki korelasyon	137
4.6. SSR Markörlerinin Özellikleri ve İstatistik Özetleri	138
4.6.1. Üç türde lokus bazında verilerin incelenmesi	138
4.6.2. <i>B. distachyon</i> türünde markörlerin istatistik özetleri.....	140
4.6.3. <i>B. hybridum</i> türünde markörlerin istatistik özetleri.....	143
4.6.4. <i>B. stacei</i> türünde markörlerin istatistik özetleri.....	145
4.6.5. Üç türün istatistik özetlerinin karşılaştırılması.....	147
4.6.6. Her lokus için allel frekanslarının plot diyagramları.....	148
4.7. Koleksiyonda Genetik Farklılaşmasının İncelenmesi	159
4.7.1. Üç türde Moleküler Varyans Analizi (AMOVA).....	159
4.7.2. Türler arası ikili genetik varyasyon	161
4.7.3. <i>B. distachyon</i> türüyle AMOVA	161
4.7.4. <i>B. hybridum</i> türüyle AMOVA	163
4.7.5. Bireylerle PCoA	164
4.7.6. <i>B. distachyon</i> popülasyonlarıyla PCoA	168
4.7.7. <i>B. hybridum</i> popülasyonlarıyla PCoA	170
4.7.8. <i>B. stacei</i> popülasyonu ile PCoA	171
4.8. Genetik, Fenotipik ve Coğrafik Uzaklık Korelasyonu	172
4.8.1. Coğrafik ve genotipleme verileri arası Mantel testi	172
4.8.2. Genotipleme ve fenotipik verilerin Mantel testi.....	175
4.9. Genetik Verilerle Filogenetik Yaklaşımlar.....	176
4.9.1. Üç türün bireyleriyle filogeni	176
4.9.2. <i>B. distachyon</i> türünde filogeni.....	182
4.10. Bayes Popülasyon Yapı Analizi	185
4.10.1. Tüm koleksiyonda genetik yapı.....	185

4.10.2. <i>B. distachyon</i> 'da popülasyon yapısı	188
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	192
6. KAYNAKLAR	197
EKLER	210
ÖZGEÇMİŞ	270

ÇİZELGE DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1.	Çalışmamızın bütün bölümlerinde kullanılan her tür ve her bir türdeki bireylerin sayısı.....	37
Çizelge 3.2.	Bu çalışmanın üç bölümünde kullanılan her bir türde yer alan popülasyon sayısı	37
Çizelge 3.3.	Çekirdek DNA içeriği tespiti için Flow sitometride kullanılan türlerin birey sayısı	54
Çizelge 3.4.	Yunanistan'dan toplanmış <i>Brachypodium</i> spp.'nin genetik karakterizasyonunda kullanılan mikrosatellit lokuslara dair bilgiler.....	62
Çizelge 4.1.	<i>B. distachyon</i> türünün 15 fenotipik özelliğine ait tanımlayıcı istatistikler	84
Çizelge 4.2.	<i>B. hybridum</i> türünün 15 fenotipik özelliğine ait tanımlayıcı istatistikler	85
Çizelge 4.3.	<i>B. stacei</i> türünün 15 fenotipik özelliğine ait tanımlayıcı istatistikler	86
Çizelge 4.4.	Her bir türe ait 15 fenotipik karakteristiklerin ortalama ve standart sapma değerleri	87
Çizelge 4.5.	Fenotipik karakteristiğe ait tek yönlü varyans analizi	89
Çizelge 4.6.	Üç türün fenotipik karakteristikleri ortalamalarının Fisher's LSD post-hoc çoklu karşılaştırma testleri	90
Çizelge 4.7.	Üç tür ve 15 fenotipik karakteristiğin Kruskal-Wallis test sonuçları	93
Çizelge 4.8.	Türlerin üç çifti için 15 fenotipik karakteristiğin follow-up Kruskal-Wallis testleri	94
Çizelge 4.9.	603 bireyle gerçekleştirilen PCA'da ilk altı bileşenle açıklanan varyans.....	96
Çizelge 4.10.	15 fenotipik karakterin popülasyon ortalamalarıyla PCA'dan elde edilen 6 bileşene ait özdeğer ve varyanslar	99
Çizelge 4.11.	Jackknife testi öncesi ve sonrası üç türdeki bireylerin sınıflandırılması. Son sütun tür başına önce verilen bireylerin sayısını, son satır ise tür başına Jackknife testi öncesi ve sonrası sınıflandırılan bireyleri göstermektedir.....	102
Çizelge 4.12.	Ayrıştırma analiziyle hatalı sınıflandırılan bireyler	104
Çizelge 4.13.	Üç <i>Brachypodium</i> türünde çekirdek DNA içeriğinin (pg/2C) tanımlayıcı istatistikleri.....	132
Çizelge 4.14.	Tekdeğişkenli varyans analizi, çekirdek DNA içeriğine (pg/2C) bağımlı değişkene göre subjeler arası etki testleri	133
Çizelge 4.15.	Scheffe ve LSD metoduyla çekirdek DNA içerik (pg/2C) bağımlı değişkenine göre çoklu karşılaştırmalı varyans analizi	134
Çizelge 4.16.	Koleksiyon lokasyonu rakımı (m) ile <i>B. distachyon</i> çekirdek DNA içeriği ortalamasının 2-uçlu Pearson korelasyonu	137
Çizelge 4.17.	Üç tür için genetik karakterizasyonda kullanılan 43 markör için lokus bazında istatistik özetleri.....	139
Çizelge 4.18.	<i>B. distachyon</i> türünde 43 markör için lokus bazında istatistik özetleri	141
Çizelge 4.19.	<i>B. hybridum</i> türlerinde 43 markör için lokus bazında istatistik özetleri.....	143
Çizelge 4.20.	<i>B. stacei</i> türlerinde 43 markör için lokus bazında istatistik özetleri	145
Çizelge 4.21.	Üç türün markörler bakımından ortalama istatistik özetleri	148
Çizelge 4.22.	999 permütasyon sonrası üç <i>Brachypodium</i> türünün 179 bireyiyle moleküler varyansın farklı düzeylerdeki hiyerarşik analizle açıklanan tahmini varyansları (Tah. Var.).....	160

Çizelge 4.23.	999 permütasyon sonrası ikili popülasyon Fst değerleri, doğrusal Fst değerleri, Nm tahminleri ve olasılıkları (P) . Türler arasında Nei standart genetik uzaklık (NeiD) ve F'st değerleri	161
Çizelge 4.24.	<i>B. distachyon</i> türlerinin 31 popülasyonu ve 117 bireyi arasında tahmin edilen varyanslar	162
Çizelge 4.25.	<i>B. hybridum</i> türünün 15 popülasyonu ile 47 bireyi arasındaki varyasyon tahminleri	163
Çizelge 4.26.	Giriş verisi olarak üç farklı uzaklık matrisi kullanılarak 192 bireyin PCoA'sının ilk üç ekseninde açıklanan varyasyon. İkili kodominat genotipik uzaklık matrisi, allel paylaşım uzaklık matrisi (D _{SA}) ve Nei's 1983 (D _A)	165
Çizelge 4.27.	Nei yansız genetik uzaklık matrisinde oluşturulan PCoA'nın ilk üç koordinatında açıklanan varyasyon.....	168
Çizelge 4.28.	Nei yansız genetik mesafe matrisiyle oluşturulan PCoA'nın ilk üç ekseninde açıklanan varyans.....	170
Çizelge 4.29.	Nei genetik uzaklık matrisiyle oluşturulan PCoA'nın ilk üç ekseninde açıklanan varyasyon.....	171
Çizelge 4.30.	Üç türün 187 bireyi, yalnız Yunanistan orijinli üç türün 183 bireyi ve 119 <i>B. distachyon</i> bireyleri arası üç farklı Mantel testinin istatistiksel ölçümleri	173
Çizelge 4.31.	Üç türün 188 bireyinin genetik ve fenotipik uzaklık matrisleri arası Mantel testi istatistiksel ölçümleri	175
Çizelge 4.32.	Bir ile 10 arasındaki her küme için ortalama log-olasılık değeri, standart sapma ve ΔK değeri. Evanno ve ark. (2005)'na göre en iyi K değeri tek yıldızlı ve Wilcoxon testine göre en iyi K değeri iki yıldızlı olandır	186
Çizelge 4.33.	Bir ile 7 arasındaki her küme için ortalama log-olasılık değeri, standart sapma ve ΔK değeri. Evanno ve ark. (2005)'na göre en iyi K değeri tek yıldızlı ve Wilcoxon testine göre en iyi K değeri iki yıldızlı olandır	190

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1.	Adriani'deki Adri popülasyonunun toplandığı alanın fotoğrafı (Kod no: 48, ölçü birimi: cm).....	33
Şekil 3.2.	Bitki toplanan lokasyon bilgilerinden Microsoft Access'te oluşturulan veri tabanından bir görünüm	34
Şekil 3.3.	<i>Brachypodium</i> spp.'in Yunanistan'da toplandığı bölgelerin WGS 1984 Geographic Coordinate System tabanıyla oluşturulan haritası.....	35
Şekil 3.4.	<i>Brachypodium</i> aksesyonlarının viyollerde filizlenmesi. Fotoğraf 22 Kasım 2013'te çekilmiştir.....	38
Şekil 3.5.	Serada şaşırtma işlemi sonrası <i>Brachypodium</i> spp. bitkilerinin yetiştirilmesi.....	39
Şekil 3.6.	Serada şaşırtma işlemi sonrası <i>Brachypodium</i> spp. bitkilerinin yetiştirilmesi.....	39
Şekil 3.7.	Bir flow sitometri histogramında hücre döngü fazları. A hücre döngüsü, B G1 ve G2 histogramları	50
Şekil 3.8.	<i>Lycopersicon esculentum</i> 'Stupicke'(domates)'e ile <i>Oryza sativa</i> 'Osmancık 97'nin G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonlarının görünüşü (Domatesin G2 pikide (en sağda) görülmektedir).....	52
Şekil 3.9.	<i>Raphanus sativus</i> 'Saxa' ile <i>Oryza sativa</i> 'Osmancık 97' G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları (<i>R. sativus</i> G2 pikide (en sağda) görülmektedir).....	53
Şekil 3.10.	Bitki Genetiği ve Sitogenetiği laboratuvarında Flow sitometri cihazı.....	54
Şekil 3.11.	<i>B. distachyon</i> (solda) ve <i>B. hybridum</i> (sağda) bitkilerine ait G1 piklerinin standart olarak kullanılan <i>Oryza sativa</i> bitkisinin G1 pikine göre nispi pozisyonları.....	56
Şekil 3.12.	(a) Petri kabında tohumların çimlenmesi ve (b)) asetokarminle boyama sonrası <i>B. stacei</i> (Veli-5) mitotik metafaz kromozomlarının görünüşü ($2n=2x=20$)	58
Şekil 3.13.	Şeklin üst kısmında WSU tesislerine ait buğday araştırma serasının fotoğrafı yer almaktadır. Şeklin alt kısmında ise, <i>B. hybridum</i> bitkilerinin $7x7\text{ cm}^2$ 'lik saksılara dikimi sonrası fotoğrafı yer almaktadır (sol) ve şeklin sağ alt kısmında tüm bitkilerin 48 gözlü viyollerde çekilmiş fotoğrafı yer almaktadır (sağ)	59
Şekil 3.14.	96 kuyucuklu plaka formatında DNA izolasyonu için kullanılan öğütme cihazı solda; levitasyon (mikroplaka çalkalayıcı) sağda yer almaktadır	61
Şekil 3.15.	Bio-Rad S1000 Isı döngü cihazları	65
Şekil 3.16.	ABI 3730xl Otomatik DNA Dizi Analizi Cihazları (Applied Biosystems) yukarıda 16 kapillerli aşağıda ise 48 kapillerli sistem gösterilmiştir.....	66
Şekil 3.17.	Multipleks formatta uygun boyalara denk gelen markörler yüklenmiş 6 ABI plakası. 8 markör uygulanan tüm bireyleri içeren her bir ABI plakası şekilde gösterilmiştir. ALB100 ve ALB257 nolu markörler tekrar edilmiştir. Markörlerin karşısındaki sütunlardaki sayılar Vogel ve ark. (2009a) tarafından verilen fragman aralığını göstermektedir	68
Şekil 3.18.	ABI plakası VI'da gösterilen bireylere ait piklerle, tetranükleotid ALB407 markör için allel paneli (NED floresan boyası).Bu markör için	

	206 ile 238 bç arası 9 allel tanımlanmıştır (dikey barlar). En yaygın allel 222 bç büyüklüğe sahiptir	69
Şekil 3.19.	Bd21, Bd21-3, Gyth-4 (<i>B. stacei</i>) ve Para-1 (<i>B. hybridum</i>) bireylerine ait ALB008 mikrosatellit markör fragmanlarına denk gelen pikler. Karakteristik olarak, iki diploid tür açık olarak bir pike sahipken, allotetraploid Para-1 her bir paternal türden gelen iki pike sahip olmuştur. Bu durumda her iki pik, diploid formatta değerlendirilmiştir.....	70
Şekil 3.20.	ALB183 markörü allotetraploid <i>B. hybridum</i> 'ların çoğunda 3 pik oluşturmuştur. Bu nedenle, analizi basitleştirmek için ve her bir pikin farklı lokuslardan kaynaklandığı göz önüne alınarak ALB183-1 ve ALB183-2 olarak adlandırılan iki marköre bölünmüştür	71
Şekil 4.1.	Üç türe ait fenotipik karakteristیکlerinin karşılaştırmasını gösteren kutu diyagramları: (a) Başaklanma/Heading (gün), (b) Saplar/Tillers (adet), (c) Boğumlar/Nodes (adet) ve (d) Boy/Height (cm)	77
Şekil 4.2.	Üç türe ait fenotipik karakteristیکlerinin karşılaştırmasını gösteren kutu diyagramları: (a) Salkım/Raceme (cm), (b) Salkımlı sap/Flowering culms (adet), (c) Başakçık/Spikelets (adet), ve (d) BYB/Flag Leaf Length (cm).....	79
Şekil 4.3.	Üç türe ait fenotipik karakteristیکlerinin karşılaştırmasını gösteren kutu diyagramları: (a) BYE/Flag Leaf Width (cm), (b) BYA/Flag Leaf Area (cm), (c) Biyokütle/Biomass (gr) ve (d) Tohum ağırlığı/Seeds weight (gr).....	80
Şekil 4.4.	Üç türe ait fenotipik karakteristیکlerinin karşılaştırmasını gösteren kutu diyagramları: (a) Vegetatif biyokütle/Vegetative biomass (gr), (b) Tohum verimi/Seeds yield (adet) ve BTA/1000 kernels weight (gr)	82
Şekil 4.5.	Değerler standardize edildikten sonra jitter diyagramında fenotipik karakteristیکlerin gösterimi. <i>B. distachyon</i> bireyleri yeşil, <i>B. hybridum</i> bireyleri turuncu ve <i>B. stacei</i> bireyleri kırmızı renkle gösterilmiştir.....	83
Şekil 4.6.	Bileşenlerin özdeğeriyle bireylerin PCA'sının çizgi grafiği (mavi çizgi) ve önemsiz bileşenlerin temsil edildiği kesikli çizgiler (kırmızı çizgi). İlk iki bileşen kırmızı çizginin üstündedir.....	96
Şekil 4.7.	Özdeğer skalasında ilk iki bileşenle 15 orjinal fenotipik varyansın serpilme grafiğinde gösterimi, (x-ekseninde PC1 ve y-ekseninde PC2)	97
Şekil 4.8.	603 bireyin fenotipik karakteristیکleriyle gerçekleştirilen PCA. Yeşil noktalar <i>B. distachyon</i> , turuncu noktalar <i>B. hybridum</i> ve kırmızı noktalar <i>B. stacei</i> bitki bireylerini göstermektedir	98
Şekil 4.9.	Bileşenlerin özdeğeriyle (mavi çizgi) PCA'da popülasyon çizgi grafiği ve önemsiz (non-significant) bileşenlerin temsil edildiği kesikli çizgi (kırmızı çizgi).....	99
Şekil 4.10.	Her türün dış bükey şekille belirtildiği popülasyon ortalamalarıyla PCA. Renkler türleri, şekiller ise hangi popülasyondan olduklarını göstermektedir. Kare (□) <i>B. distachyon</i> ve <i>B. hybridum</i> bitkilerle simpatrik popülasyonu, yıldız (*) <i>B. hybridum</i> and <i>B. stacei</i> bitkilerle simpatrik popülasyonu işaret etmektedir	100
Şekil 4.11.	Popülasyon ortalamalarıyla her tür için %90'lık elipslerin çizildiği PCA	101
Şekil 4.12.	Üç türün ayrıştırma analiziyle yapılan serpilme grafiği. Yeşil, turuncu ve kırmızı noktalar sırasıyla <i>B. distachyon</i> , <i>B. hybridum</i> , <i>B. stacei</i> bitkilerini göstermektedir. Grafik etiketlerinde hatalı sınıflandırılan bireyler verilmiştir.....	103

Şekil 4.13.	Bin bootstrap sonrası 603 birey topolojisiyle UPGMA uyumluluk radyal filogramı. Yeşil renk <i>B. distachyon</i> , turuncu renk <i>B. hybridum</i> ve mavi renk <i>B. stacei</i> 'dir. Sayılar bootstrapping desteğini göstermektedir	110
Şekil 4.14.	Bin bootstrap sonrası 603 birey topolojisiyle UPGMA uyumluluk dairesel filogramı. Yeşil renk <i>B. distachyon</i> , turuncu renk <i>B. hybridum</i> ve mavi renk <i>B. stacei</i> 'dir. Sayılar bootstrapping desteğini göstermektedir	111
Şekil 4.15.	Üç türün 603 bireyiyle verilen Maksimum olasılık dairesel kladogramı. Kladların renkleri <i>B. distachyon</i> (yeşil), <i>B. hybridum</i> (turuncu) ve <i>B. stacei</i> (mavi) türleri, siyah renk de karışık dalları göstermektedir	112
Şekil 4.16.	Bin bootstrap sonrası 307 <i>B. distachyon</i> bireyini gösteren UPGMA uyumluluk radyal filogramı. Sayılar bootstrapping desteğini göstermektedir.....	113
Şekil 4.17.	Bin bootstrap sonrası 278 <i>B. hybridum</i> birey topolojisiyle oluşturulan UPGMA uyumluluk radyal filogramı. Sayılar bootstrapping desteğini göstermektedir.....	114
Şekil 4.18.	Bin bootstrap sonrası 18 <i>B. stacei</i> birey topolojisini gösteren UPGMA uyumluluk dikdörtgen kladogramı. Sayılar bootstrapping desteğini göstermektedir.....	115
Şekil 4.19.	Bin bootstrap sonrası UPGMA uyumluluk ağacı üç türün popülasyonlarının topolojisini göstermektedir. <i>B. distachyon</i> yeşil, <i>B. hybridum</i> turuncu ve <i>B. stacei</i> kırmızı renklerle gösterilmiştir	116
Şekil 4.20.	Grit Adası'ndan değişik bölgelerden koleksiyon alanlarıyla bitkiler: (a)-(b), Gera ve (c)-(d), Lapa.....	117
Şekil 4.21.	(a)-(b), Olym; (c)-(d), Lito; (e)-(f), Tembi ve (g)-(h), Bralo'dandır.....	118
Şekil 4.22.	(a)-(b), Athen; (c)-(d), Mega; (e)-(f), Piga ve (g)-(f), Gyth'dendir.	119
Şekil 4.23.	(a)-(b), Hota; (c)-(d), Para; (e)-(f), Amfi ve (g)-(h), Peri'dendir.	120
Şekil 4.24.	(a)-(b), Veli; (c)-(d), Grik; (e)-(f), Sofy ve (g)-(h), Kilk'dendir.....	121
Şekil 4.25.	(a)-(b), Edes; (c)-(d), Pros; (e)-(f), Linos ve (g)-(h), Sere'dendir.....	122
Şekil 4.26.	(a), ekimden 15 gün sonra, 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 nolu popülasyonların fotoğrafları. (b): 29, 30, 31, 32, 33, 34 ve 35 nolu popülasyonlar. (c) ve (d) 1 Mart 2013'de çekilmiştir (ekimden 3.5 ay sonra).....	123
Şekil 4.27.	Fotoğraf (a) 2 Nisan 2013'te, (b) 10 Mayıs 2013'te. Fotoğraf (c) ve (d) Haziran 2013'te hasat öncesi	124
Şekil 4.28.	Her türün bir bireyinin kıyaslamalı gelişimi. , Soldan sağa Fifi-5 (<i>B. distachyon</i>), Fira-1 (<i>B. hybridum</i>) ve Veli-5 (<i>B. stacei</i>). Skala: 25 cm	125
Şekil 4.29.	Her türün bir bireyinin kıyaslamalı gelişimi. Soldan sağa Fifi-5 (<i>B. distachyon</i>), Fira-1 (<i>B. hybridum</i>) ve Veli-5 (<i>B. stacei</i>). Skala: 25 cm	126
Şekil 4.30.	Tam çiçeklenmede vegetatif büyümelerini tamamladıktan sonra <i>B. distachyon</i> bireyleri. Soldan sağa (a) ve (b) fotoğrafındaki bireyler: Sofy-3, Eren-4, Kory-2, Kormi-4, Lito-4, Olym-1, Edes-4 ve Gera-7'dir. (c) ve (d) fotoğraflarındaki kontrol aksasyonu Bd21-3'tür. Diğer fotoğraflarda sırasıyla: (e) Sofy-3, (f) Eren-4, (g) Kory-2, (h) Kormi-4, (i) Lito-4 , (j) Olym-1, (k) Edes-4 ve (l) Gera-7 sunulmuştur.....	127
Şekil 4.31.	Fotoğraf (a) <i>B. stacei</i> bireyleri, soldan sağa: Gyth-9, Hota-7, Veli-5 ve Amfi-1. Fotoğraf (b) <i>B. hybridum</i> bireyleri, soldan sağa: Fira-2, Pela-7, Peri-9, Liva-6, Kana-10 ve Thaso-10	128
Şekil 4.32.	(a) <i>B. hybridum</i> (yukarıda) ve <i>B. stacei</i> (aşağıda) bireylerinin salkım şekliyle yapılan herbarium. Soldan sağa: Peri-9, Kana-10, Liva-6, Fira-9, Thaso-10, Pela-10, Amfi-1, Hota-7, Gyth-9 ve Veli-5. (b) 33 farklı	

	lokasyondan toplanan <i>B. distachyon</i> biyerlerinin salkım şekilleriyle yapılan herbarium	129
Şekil 4.33.	Yunanistan <i>B. distachyon</i> , <i>B. hybridum</i> and <i>B. stacei</i> türlerinin WGS 1984 sistemiyle haritada işlenen koleksiyon lokasyonları. Yeşil kare <i>B. distachyon</i> , sarı altıgen <i>B. hybridum</i> , turuncu eşkenar dörge <i>B. stacei</i> , yarı sarı-yarı yeşil <i>B. distachyon</i> ve <i>B. hybridum</i> , yarı sarı-yarı turuncu <i>B. hybridum</i> ve <i>B. stacei</i> popülasyonlarını göstermektedir.....	131
Şekil 4.34.	İncelenen üç türde çekirdek DNA içeriği kutu diyagramı	133
Şekil 4.35.	Aynı örnekteki <i>B. distachyon</i> ve <i>B. stacei</i> bireyleri ile yapılan flow sitometri analizlerinin histogramları. Solda AL5.2 (İspanya'dan Bs) ve Fifi-5 (Yunanistan'dan Bd). Sağda Veli-5 (Yunanistan'dan Bs) ve Bd21-3 (Irak'tan Bd).....	135
Şekil 4.36.	<i>B. distachyon</i> bireylerinin çekirdek DNA içeriği. x-eksenindeki sayılar popülasyon kod numaralarını göstermektedir. Plot grafiğindeki rakamlar her popülasyondaki bitki sayısını göstermektedir.....	136
Şekil 4.37.	Lokasyon rakımlarına (m) göre her <i>B. distachyon</i> popülasyonunun çekirdek DNA içerik ortalaması	138
Şekil 4.38.	Üç türdeki her bir SSR lokusu için allellerin frekans dağılımı: <i>B. distachyon</i> yeşil, <i>B. hybridum</i> turuncu ve <i>B. stacei</i> mavi renkli barlarla gösterilmiştir. x-kseninde allellerin boyutu , y- ekseninde frekansları verilmiştir.....	159
Şekil 4.39.	Toplam 179 bireyde, 31 <i>B. distachyon</i> , 15 <i>B. hybridum</i> ve 3 <i>B. stacei</i> popülasyonunu içeren 3 <i>Brachypodium</i> türünde moleküler varyans analizi.....	160
Şekil 4.40.	31 <i>B. distachyon</i> popülasyonunun 117 bireyinde moleküler varyans yüzdeleri.....	162
Şekil 4.41.	15 <i>B. hybridum</i> popülasyonu ile 47 bireyinde moleküler varyans yüzdeleri.....	164
Şekil 4.42.	GenAlEx yazılımında kodominant genotipik seçeneğiyle yapılan PCoA'nın ilk iki koordinatında üç türün 192 bireyinin diyagramı. Yeşil noktalar <i>B. distachyon</i> , turuncu kareler <i>B. hybridum</i> ve mavi eşkenar dörtgenler <i>B. stacei</i> bireylerini göstermektedir.....	167
Şekil 4.43.	Nei yansız genetik uzaklık makrisiyle oluşturulan 37 <i>B. distachyon</i> popülasyonunun PCoA'sı. Yeşil renk <i>B. distachyon</i> , gri renk <i>B. hybridum</i> ile simpatrik popülasyonları göstermektedir.....	169
Şekil 4.44.	Kodominant genotipik uzaklık matrisiyle oluşturulan 122 <i>B. distachyon</i> bireyinin PCoA'sı	169
Şekil 4.45.	GenAlEx yazılımında Nei yansız genetik uzaklık matrisiyle oluşturulan 19 <i>B. hybridum</i> popülasyonunun PCoA'sı. Turuncu renk <i>B. hybridum</i> popülasyonları, kırmızı renk <i>B. stacei</i> ile simparik popülasyonları ve gri renk <i>B. distachyon</i> ile simpatik popülasyonları göstermektedir.	171
Şekil 4.46.	GenAlEx yazılımında Nei genetik uzaklık matrisiyle oluşturulan 7 <i>B. stacei</i> popülasyonunun PCoA'sı. Mavi renk <i>B. stacei</i> popülasyonlarını ve kırmızı renk <i>B. hybridum</i> ile simpatrik popülasyonları göstermektedir	172
Şekil 4.47.	Üç türün 187 bireyinin coğrafik ve genetik uzaklık matrisleri arası Mantel testi regresyonu.....	174
Şekil 4.48.	Üç türün 188 bireyinin allel paylaşım genetik ve Öklid fenotipik uzaklık matrisleri arası Mantel testi regrasyonu.....	175
Şekil 4.49.	Bin bootstrap sonrası D_{SA} uzaklık matrisiyle üç türün 192 bireyinin topolojisiyle oluşturulan komşu birleştirme (NJ) uyum radyal	

	filogramlar. Yeşil renk <i>B. distachyon</i> , turuncu renk <i>B. hybridum</i> ve mavi renk <i>B. stacei</i> bireylerini göstermektedir	178
Şekil 4.50.	Yüz bootstrap sonrası D_A uzaklık bazlı oluşturulan komşu birleştirme (NJ) radyal filogramları (Solda) ve 100 bootstrap desteğiyle D_C (sağda). Yeşil, turuncu ve kırmızı renkler sırasıyla <i>B. distachyon</i> , <i>B. hybridum</i> ve <i>B. stacei</i> bireylerini temsil etmektedir	179
Şekil 4.51.	Nei 1983 (D_A) uzaklık matrisi bazında Fitch Margoliash yöntemiyle oluşturulan radyal filogram. Yeşil, turuncu ve kırmızı renkler sırasıyla <i>B. distachyon</i> , <i>B. hybridum</i> ve <i>B. stacei</i> bireylerini temsil etmektedir	180
Şekil 4.52.	Bin bootstrap sonrası D_{SA} uzaklık matrisiyle üç türün 192 bireyinin topolojisiyle oluşturulan komşu birleştirme (NJ) uyum dikdörtgen Yeşil renk <i>B. distachyon</i> , turuncu renk <i>B. hybridum</i> ve mavi renk <i>B. stacei</i> bireylerini göstermektedir. Kırmızı kesikli çizgi ağacı beş alt kümesini tanımlamaktadır. Kladlar üzerindeki sayılar bootstrap destek değerlerini göstermektedir.....	181
Şekil 4.53.	Yüz bootstrap sonrası D_{SA} uzaklık matrisi yoluyla <i>B. distachyon</i> 'un 122 bireyinin topolojisiyle oluşturulan komşu birleştirme (NJ) uyum radyal. Kladlardaki sayılar bootstrap destek değerlerini göstermektedir.....	184
Şekil 4.54.	Bir'den 10'a kadar her K değeri için 10 tekrar üzerinden ortalama log-olasılık . Düzlük $K=7$ civarındadır.	185
Şekil 4.55.	Evanno ve ark. (2005)'na göre $K=2$ değeriyle elde edilen en yüksek değerle 2'den 9 kümesine kadar olan Delta K değerleri.....	186
Şekil 4.56.	Koleksiyonun modele dayalı STRUCTURE programı kullanılarak oluşturulan çıkarsamalı popülasyon yapısı. Diyagram CLUMPP yazılımı kullanılarak $K = 2$ 'den $K = 7$ 'ye 10 tekrar üzerinden permüte edilen Q-matris uyumu baz alınarak DISTRICT yazılımıyla oluşturulmuştur. Her birey, ikiden yediye kadar olan alt-popülasyonda tahmin edilen üyelikleri oranında renkli sekmenlere bölünen tek bir dikey çizgiyle temsil edilmiştir. Y-ekseninde herhangi bir K kümesine atananların olasılığıdır. Siyah çizgi üç türün bireylerini ayırmaktadır.	187
Şekil 4.57.	Bir'den 7'ye kadar her K değeri için 10 tekrar üzerinden ortalama log-olasılık . Düzlük $K=6$ civarındadır.	189
Şekil 4.58.	Evanno ve ark. (2005)'na göre $K=3$ değeriyle elde edilen en yüksek değerle 2'den 6 kümesine kadar olan Delta K değerleri.....	189
Şekil 4.59.	Koleksiyonun modele dayalı STRUCTURE programı kullanılarak oluşturulan çıkarsamalı popülasyon yapısı. Diyagram CLUMPP yazılımı kullanılarak $K= 3$ 'den $K= 6$ 'ya 10 tekrar üzerinden permüte edilen Q-matris uyumu baz alınarak DISTRICT yazılımıyla oluşturulmuştur. Her birey, üçten altıya kadar olan altpopülasyonda tahmin edilen üyelikleri oranında renkli sekmenlere bölünen tek bir dikey çizgiyle temsil edilmiştir. Y-ekseninde herhangi bir K kümesine atananların olasılığıdır. Siyah çizgi üç türün bireylerini ayırmaktadır.	191

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABI:	Applied Biosystems
AFLP:	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi)
AMOVA:	Analysis of Molecular Variance (Moleküler varyans analizi)
ANOVA:	Analysis of Variance (varyans analizi)
BYA:	Bayrak Yaprak Alanı
BYB:	Bayrak Yaprak Boyu
BYE:	Bayrak Yaprak Eni
Bd:	<i>Brachypodium distachyon</i>
Bh:	<i>Brachypodium hybridum</i>
Bs:	<i>Brachypodium stacei</i>
BAC:	Bacterial Artificial Chromosome (Bakteriyal yapay kromozom)
BES:	BAC End Sequence
BLASTN:	Basic Local Alignment Search Tool
bç (bp):	baz çifti (base pair)
BTA:	Bin Tane Ağırlığı
cDNA:	complimentary DNA
cm:	centimeters (santimetre)
cM:	centiMorgans
COS:	Conserved Orthologous Sequence
CSE:	Cavalli-Sforza and Edwards
CV:	Coefficient of Variation (Varyasyon katsayısı)
CVA:	Canonical Variate Analysis (Canonik değişken analizi)
C-value:	haploid DNA content (haploid DNA içeriği)
DA:	Discriminant Analysis (Ayrıştırma analizi)
D _A :	Nei's 1983 genetic distance, $D = -\ln(I)$ (Nei genetic uzaklık)
DAPI:	4,6 diamino-2-phenylindole
D _C :	Cavalli-Sforza & Edwards (1967) genetic distance
DNA:	Deoxyribonucleic Acid (Deoksiribo nükleik asit)
D _{SA} :	Shared allele genetic distance (Allel paylaşım genetic uzaklığı)
E:	East (Doğu)
EST:	Expressed Sequence Tag (İfade edilmiş dizi etiketi)
F or <i>f</i> :	Fixation index per locus basis, or inbreeding coefficient (kendileşme katsayısı), $F = (H_E - H_O) / H_E$
F'st:	Standarized F_{ST} via AMOVA
FCM:	Flow Cytometry Method (Flow sitometri metodu)
Fis:	Inbreeding coefficient within individuals, relative to the population, $F_{IS} = 1 - (H_O / H_S)$
FISH:	Fluorescent <i>In Situ</i> Hybridization
FM:	Fitch-Margoliash method
Fst:	Inbreeding coefficient within subpopulations relative to the total, $F_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$
GISH:	Genomic <i>In Situ</i> Hybridization

GLM:	General Linear Model
gr:	gram
IBI:	International <i>Brachypodium</i> Initiative (Uluslararası Brachypodium Girişimi)
K:	clusters in STRUCTURE (Yapı analizinde kümeler)
km:	Kilometers (kilometre)
L:	liter (litre)
m:	meters (metre)
MAF:	Major Allele Frequency (Ana allel frekansı)
Mb:	Mega bases
mg/L:	Milligram per Litre
ml:	milliliter (milimetre)
MS:	Mean sums of squares (Kareler ortalaması)
N:	North (Kuzey)
ng:	nanogram
NJ:	Neighbor Joining (Komşu birleştirme)
NKÜ:	Namık Kemal Üniversitesi
Nm:	Number of migrants, $Nm = [(1/ F_{ST}) - 1]/4$
°:	Degree (derece)
P or p:	probability (olasılık)
PC:	Principal Components (Temel bileşenler)
PCA:	Principal Components Analysis (Temel bileşenler analizi)
PCoA:	Principal Coordinates Analysis (Temel koordinatlar analizi)
PZR (PCR):	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
PI:	Propidium Iodide
PIC:	Polymorphic Information Content (Polimorfik bilgi içeriği)
RAPD:	Random Amplified Polymorphic DNA (Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA)
rDNA:	ribosomal DNA
RFLP:	Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilmiş parça uzunluğu polimorfizmi)
RNA:	Ribonucleic Acid
RNase:	Ribonuclease
RNASeq:	RNA Sequencing
rpm:	rotations per minute
Rxy or r:	Correlation coefficient (Korelasyon katsayısı)
SD:	Serbestlik Derecesi (df: degrees of freedom)
SDS:	Sodium Dodecyl Sulfate
SNP:	Single Nucleotide Polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi)
SS:	Sum of Squares (Kareler Toplamı)
SSR:	Simple Sequence Repeats (Basit dizi tekrarları - mikrosatelit)
SVD:	Singular Value Decomposition
T-DNA:	transfer-DNA
UPGMA:	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
UPM:	Universidad Politecnica de Madrid, Spain
USDA:	United States Department of Agriculture
WGS:	World Geodetic System

WSU: Washington State University
 μl : microliter (mikrolitre)
 μM : micro molarity

TEŞEKKÜR

Çalışmam süresince, ihtiyaç duyduğum bilgi ve imkânlarla rahatlıkla ulaşmamı sağlayarak, tezin gelişim aşamalarını titizlikle inceleyip yöneten ve konuyla ilgili çeşitli bilimsel çalışmalara katılmamı teşvik eden sayın danışman hocam Prof. Dr. Metin TUNA'ya; Tez İzleme Komitesi'nde çalışmalarımı takip ederek, önemli katkılar sağlayan sayın hocalarım Prof. Dr. İskender TİRYAKİ ve Doç. Dr. İlker NİZAM'a; çalışmalarımı gerçekleştirirken ihtiyaç duyduğum ve yabancı olduğu bazı Türkçe teknik terimlerle yazdığım metnin bazı Türkçe bölümlerinin çevirisinde yardımlarını esirgemeyen Tarla Bitkileri Bölümü'nden sayın hocam Doç. Dr. Oğuz BİLGİN ile Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden sayın Doç. Dr. Rıfat BİRCAN'a; istatistik analizlerin yorumlanması ve Türkçe terimlerin düzeltilmesinde büyük katkısı olan Biyosistem Mühendisliği öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Birol KAYIŞOĞLU'na; bazı analizlerim için hesaplama laboratuvarındaki bilgisayarlardan yararlanmamı sağlayan Fizik Bölümü öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Tanju GÜREL'e; deneme çalışmalarım sırasında ihtiyaç duyduğum bazı konularda yardım ve desteklerini esirgemeyen Bahçe Bitkileri Bölümü'nden sayın hocalarım Prof. Dr. Servet VARİŞ, Doç. Dr. Süreyya ALTINTAŞ ve Doç. Dr. Murat DEVECİ'ye; seradaki denemelerim sırasında değerli yardım ve katkılarını esirgemeyen sayın Latif ÇİNKİLİÇ'a; çekirdek DNA analizleri sırasında yardımcı olan sevgili arkadaşlarım Damla ve Vesile'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

TUBİTAK Doktora sırası yurtdışı araştırma programı çerçevesinde, çalışmamın bir kısmını gerçekleştirmek üzere beni misafir araştırmacı olarak kabul edip, laboratuvarında çalışma imkanı sağlayan ABD WSU/Pullman öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Kulvinder Gill ile sayın Dr. Deven R. See ve laboratuvar ekibine; araştırmam için kontrol aksesyonları ile markörleri sağlayan ve beni değerli fikirleriyle yönlendiren sayın Dr. John P. Vogel ayrıca teşekkür borçluyum.

Ayrıca çalışmalarım sırasında her zaman yanımda olan, yazdığım metinlerin Türkçe çeviri ve düzeltmelerini büyük bir sabırla üstlenen sevgili eşim H. Veli AYDIN ile çalışmalarım süresince annelerine büyük bir sabır ve anlayış gösteren sevgili çocuklarım Sofia ve Eren'e teşekkürü borç bilirim.

1. GİRİŞ

İnsanların beslenmesinde tahılların, genel olarak da buğdaygil bitkilerinin önemi herkesçe bilinmektedir. Buğday, çeltik ve mısırdan oluşan üç temel tahıl, insanların günlük kalori ihtiyaçlarının yarısını sağlarken, buğdaygil yem bitkileri de çiftlik hayvanlarının ana besin kaynağını oluşturmaktadır. Ayrıca son yıllarda buğdaygiller biyoenerjinin (bioethanol) ana kaynaklarından biri haline gelmiştir. İnsan beslenmesindeki hayati önemi, küresel ekonomiye etkisi ve yaygın araştırma gruplarına rağmen, 2001 yılına kadar buğdaygiller üzerine yapılan araştırmaları kolaylaştıracak ve hızlandıracak uygun bir model bitki bulunamamıştır. *Brachypodium distachyon* ilk defa Draper ve arkadaşları tarafından buğdaygiller için bir model bitki olarak önerilmiştir (Draper ve ark. 2001). Model bitkiler, bitkilerin moleküler ıslahı ve bitki biyoteknolojisinde oldukça yararlıdır. İşlevsel bir genomik programın başarısı için gereken genlerin tespiti ve biyoinformatik araçların gelişiminde kullanılmaktadır (Jenkins ve ark. 2005).

Brachypodium distachyon (Poaceae), Akdenizin etrafını çevreleyen coğrafi bölgelerin (Makronesian Adaları'ndan Orta Asya'ya ve Güney Avrupa'dan Kuzey Afrika ve Etiyopya'ya kadar uzanan) kurak ve yarı kurak kısımlarında deniz seviyesinden 2000 metre yüksekliğe kadar olan alanlar üzerinde doğal olarak yetişen, alçak boylu tek yıllık bir buğdaygiller bitkisidir. Bitki, ayrıca Orta Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika, Avustralya ve Güney Afrika'da vejetasyonun bozulmuş olduğu alanlarda görülmektedir (Catalán ve ark. 2012).

Diğer model bitkilerle karşılaştırıldığında (*Arabidopsis*, çeltik, arpa vb.), *Brachypodium*'un niteliklerinin buğdaygiller için bir model sistem olarak oldukça uygun olduğu görülmektedir. *Arabidopsis* üzerine yapılan araştırmalar birçok bilimsel atılıma neden olmuştur. Ancak hücre duvar yapısı, bitki yapısı, tahıl özellikleri, interkalar meristem ve kök yapısını içeren monokotil özelliklerin incelenmesinde bir model olarak kullanılması, araştırmalarda bazı sınırlamalara neden olmaktadır. Çeltik (*Oryza sativa*) ve mısır (*Zea mays*) bitkileri; büyük hacimli olmaları, uzun üretim süresi ve zahmetli yetiştirme koşulları gerektirmeleri, karantina kısıtlamaları ve fikri mülkiyet hakları gibi nedenlerden dolayı genetik kaynaklara kısıtlı erişim imkânı sunmaktadır (Brkljacic ve ark. 2011).

Diğer yandan, *Brachypodium*, *Arabidopsis* benzeri küçük fiziki yapısı, kısa ömrü, küçük genomu, kendine döllenebilme gibi özellikleri sayesinde basit şartlarda kolayca

yetişebilmektedir (Draper ve ark. 2001). Ayrıca filogenetik konumu, *Brachypodium*'u özellikle geniş genomlu buğday (*Triticum aestivum*), çavdar (*Secale cereale*) gibi buğdaygiller ve serin mevsim mera bitkileri için uygun bir model haline getirmektedir. *Brachypodium*, dallı darı (*Panicum virgatum*) ve fil çimeni (*Miscanthus sinensis*) gibi biyokütle bitkileriyle karşılaştırıldığında, küçük alanlarda bile hızlı deneyler gerçekleştirme imkanı sağlamaktadır. Bu nedenle *Brachypodium*'u günümüzde önemi artan biyoyakıt bitkileri için bir model olarak kullanmak ve geliştirmek üzere önemli yatırımlar yapılmaktadır. Bu bağlamda, *Brachypodium* genomunun (DNA dizisinin tamamen belirlenmiş olması), çeltik ve sorgum (*Sorghum bicolor*) genomlarıyla karşılaştırıldığında, gen içeriği ve gen ailesindeki genel benzerlikleri bakımından “tipik” bir buğdaygiller olması oldukça önemlidir (International *Brachypodium* Initiative, 2010). Bu yüzden, *Brachypodium* sahip olduğu özelliklerin büyük çoğunluğundan dolayı buğdaygiller için yararlı işlevsel bir model olarak, hizmet verebilir. Ayrıca hücre duvarları, tanecik ve kök geliştirme üzerine yapılan ilk çalışmalar, bu türün uygun bir model olabileceğini destekler niteliktedir (Brkljacic ve ark. 2011).

Bir model sistem oluşturmak için gerekli olan diğer bir temel kaynak ise, doğal aksesyonların geniş bir koleksiyonu ile ilgilenilen karakterler bakımından çeşitlilik gösteren kendilenmiş hatlarıdır. Tarımsal açıdan en ilgili özelliklerin moleküler olarak araştırılması için geniş bir genetik çeşitliliğin varlığı esastır. Bu bağlamda, *B. distachyon*'un doğal aksesyonları ve türetilen hatların karakterizasyonu ile ilgili bir dizi çalışma gerçekleştirilmiştir (Filiz ve ark. 2009, Vogel ve ark. 2009, Catalán ve ark. 2012, Manzaneda ve ark. 2012, Mur ve ark. 2011). Esasen Türkiye ve Kuzeydoğu İspanya'nın bazı bölgelerinden toplanmış sınırlı miktarda gen kaynakları bilim adamlarının elinde mevcuttur. Bu yabancı buğdaygillerin geniş coğrafi dağılımı ve genişleyen gen havuzu dikkate alındığında, *Brachypodium*'un uygulanabilir değerli bir araştırma materyali olduğu görülebilir (Giraldo ve ark. 2012). Şimdiye kadar, *Brachypodium*'un orijinlendiği coğrafi bölge içerisinde yer almasına ve zengin biyoçeşitliliğe sahip olmasına rağmen, Yunanistan popülasyonlarına ait bir genetik kaynak koleksiyonu oluşturulmamış ve sistemli bir araştırmaya konu olmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmanın *Brachypodium distachyon* araştırma gruplarına ve serin bölge tahıl ıslah programlarına son derece yararlı bir katkısı olacaktır.

Başlangıçta *Brachypodium distachyon* türünün morfolojik olarak benzer diploid, tetraploid ve heksaploid olmak üzere üç farklı ploidi düzeyine sahip olduğu düşünülmekteydi. Ancak daha sonraları tetraploid olduğu düşünülen sitotipin aslında $2n=2x=20$ kromozoma

sahip diploid bir tür olduğu ve heksaploid olduğu düşünölen sitotipin bu iki diploid *Brachypodium* türünün doğada melezlenmesi ile oluştuğu ve bu nedenle bir allotetraploid tür olduğu anlaşılmıştır. Çok yakın bir zamanda da, Catalán ve ark. (2012), bu üç türü bir birinden taksonomik olarak ayırmış ve bilimsel olarak önemli olan ve $2n=2x=10$ kromozoma sahip olan türe *B. distachyon*, $2n=2x=20$ kromozoma sahip olan türe *B. stacei*, $2n=4x=30$ kromozoma sahip olan allotetraploid türe *B. hybridum* adını vermiştir.

Yukarıdakiler dikkate alındığında, Catalán ve çalışma arkadaşlarının (2012) oluşturduğu temel çerçeve kapsamında yeni oluşturulmuş ve henüz morfolojik olarak karakterize edilmemiş *Brachypodium* aksesyonlarının sağlam bir şekilde araştırmalarda kullanılabilmesi için türlerinin net bir şekilde doğru teşhis edilmesi gerekmektedir. Bu durum, özellikle model olarak belirlenmiş olan *B. distachyon* ($2n=10$) türünden geliştirilen herhangi bir genetik materyalin genetik veya genomik araçlarının doğru olması, araştırmalarda güvenle kullanılabilmesi için oldukça önemlidir.

Moleküler markörlerin gelişimi ve bunlardan DNA polimorfizminin tespit ve kullanımında yararlanılması, moleküler genetik alanındaki en önemli gelişmelerden biridir. Çok sayıda moleküler markörün bulunması, bu yöntemden birini veya birden fazlasını seçerken dikkatli karar verilmesini gerektirir. Moleküler markörler henüz araştırmacıların tüm gereksinimleri karşılamaktan uzaktır. Yapılacak çalışmanın türüne göre, arzu edilen bazı özellikleri dikkate alınarak moleküler markör teknik çeşitleri arasında seçim yapılabilir (Semagn ve ark. 2006). Mikrosatellit veya SSR'lar (Simple Sequence Repeats) kodominant olup, genom üzerine eş düzeyde dağılmıştır ve basit tekrarlanabilir testlerle belirlenebilirler. Bu önemli özellikleri mikrosatellitleri, markör yardımıyla bitki ıslahı için, genetik kaynakların DNA parmak izleri, moleküler haritalama ve belirli türlerin harita tabanlı klonlanmasında markör seçeneği haline getirmiştir (Sonah ve ark. 2011).

Bu çalışmanın amacı, serin tahıl ve buğdaygiller için bir model bitki olarak kullanılan *B. distachyon* bitkisinin geniş doğal varyasyona sahip bir Yunanistan koleksiyonunun oluşturulması ve bunların morfolojik ve genetik karakterizasyonuydu. Ancak toplama işlemi sırasında *B. distachyon* bitkisinin yakın akrabaları olan *B. hybridum* ve *B. stacei* bitkilerini birbirinden ayırmak zor olduğu için bu türler de koleksiyona dahil edilmiştir. Böylece üç türden oluşan zengin bir genetik kaynağa sahip koleksiyon elde edilerek, araştırma materyalimiz genişletilmiş, türler arasında morfolojik ve genetik bakımdan karşılaştırmalı araştırma imkanı elde edilmiştir. Ayrıca son yıllarda, araştırmacılar arasında *B. hybridum* ve

B. stacei türlerine yönelik bir ilgi artışı görülmektedir. Koleksiyona dahil edilen bu iki türden *B. hybridum* küçük genom hacimli bir allopoliploid türdür, ikinci bitki *B. stacei* ise evrimsel gelişimde *B. hybridum*'un ana tarafından atası olup (Hasterok ve ark. 2004, Wolny ve Hasterok 2009) çoğu Akdeniz kıyı bölgeleri orijinli olup, araştırmacıların elinde az sayıda aksesyonu mevcuttur (Hamammi ve ark. 2014).

Yukarıda genel hatları verilen bilgiler ve yöntemler çerçevesinde bu araştırmanın temel amacı şunlardır:

1. Yunanistan'dan *B. distachyon*, *B. hybridum* ve *B. stacei* türlerinin yeni bir koleksiyonunu oluşturmak,
2. Yeni koleksiyonu fenotipik olarak karakterize etmek,
3. Sitogenetik, flow sitometri araçla, yeni koleksiyonu belirlemek,
4. Microsatellit lokuslar (SSR markörleri) yardımıyla yeni koleksiyonun genetik karakterizasyonu incelemek,
5. Tür içi ve türler arasındaki fenotipik, genetik ve coğrafik ilişkileri incelemek.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Shi ve ark. (1993) tarafından Triticeae, *Festuca* ve *Bromus*'la ilişkili olarak *Brachypodium*'un evrimsel pozisyonu RFLP verileri ve 5S bölge (spacer) sekansları kullanılarak parsimoni yöntemiyle analiz edilmiştir. Parsimoni ağaçlarının büyük çoğunluğu *Brachypodium*'un Triticeae, *Festuca* ve *Bromus*'dan iyice ayrıldığını göstermiştir. Bu çalışmada edilen veriler *Brachypodium*'u Triticeae veya başka bir oymak yerine onu ayrı bir oymak olarak tanımlanmasını sağlamıştır.

Catalán ve ark. (1995)'nin çalışmalarında *Brachypodium* genomun karakteristiklerini tespit etmek ve diğer Pooideae ile ilgili olarak evrimsel konumunu belirlemek amacıyla; *Brachypodium* P. Beauv. cinsinin ve diğer buğdaygiller temsilcilerinin farklı türleri içerisinde RFLP ve RAPD kullanarak, çekirdek genomunu analiz etmişlerdir. *Brachypodium* genomunun, küçük boyutlu ve düşük miktarda tekrarlanan DNA'lı olması; cins içerisinde kısıtlı fragman uzunluk polimorfizmleri içermemesi, rastgele DNA çoğalmasıyla tür seviyesinde genomik çeşitlilik göstermesi gibi eşsiz özelliklerine dikkat çekmişlerdir. Bu moleküler çalışmalar *Brachypodium*'un, kendi oymağında (*Brachypodieae*) en iyi şekilde yerini alan izole edilmiş eski bir cins olduğunu onaylamıştır. Bromaeae, Triticeae, Poaceae gibi diğer oymaklarla ilişkisi, Brachypodieae'nın, pooidleri bu ana unsurundan ayırmak için en erken oymak olacağını göstermektedir. Cins içerisinde, yalnızca *B. distachyon* tarafından temsil edilen tek yıllık aynı atadan gelen organizma ile incelenen tüm diğer türler (*B. mexicanum* hariç) tarafından temsil edilen çok yıllık aynı atadan gelen organizmalar olmak üzere iki ana Eski Dünya dalı (klad) ayırt edilebilir. Çok yıllık Amerikan türü olan *B. mexicanum*, bu iki dal organizmaya eşit şekilde eklenmiş görünmektedir. RFLP verileri, interspesifik ve tür içi evrimsel metabolik yollara karar vermek için daha uygun bulunmuştur.

Catalán ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada buğdaygillerin (Monokotiledon) Pooideae alt familyasını da içine alan 12 oymağı temsilen 48 bireyinde kloroplast *ndhF* geninin daha değişken 3'ucunu sekanslayarak incelemişlerdir. Çalışmaları, Brachypodieae'nın pooid "ana" dalına kardeş pozisyonunu doğrulamaktadır. Bununla birlikte, hem kloroplast hem de nükleer veriler *Brachypodium*'un evrimsel pozisyonunu ve bu oymağın ayrışmasının en son evrilen Pooid'lerinin radyasyonunu öncellediğini açıklamışlardır. Tek yıllık *Brachypodium distachyon* ve kısa rizomlu çok yıllık *B. mexicanum*'un hem kendine döllenir hem de x=5 kromozom baz sayısına sahip olduğunu belirterek, *Brachypodium*'un dünya

üzerinde yayılmış türleri üzerinde çalışılmadığı halde, sadece cinsinin bu iki taksonu bilindiğini ve bunun onları karakterize eden ortak özelliklerinden olduğunu bildirmişlerdir.

Draper ve ark. (2001)'nin çalışmalarında, *Brachypodium* cinsi içerisinde tek gerçek yıllık tür olan *B. distachyon*'un gelişimini, fonksiyonel genomu, bir serin iklim tahılını temsili etmesi ve yem buğdaygilleri olması bakımından ilk defa bir potansiyel model tür olarak tanımlamışlardır. *B. distachyon*'u, a) $2n=2x=10$, b) $2n=2x=20$ ve c) $2n=4x=30$ olmak üzere üç farklı ekotip ile birlikte değerlendirmişlerdir. Makalelerinde, *B. distachyon*'un bazı aksesyonlarının genom boyutunu [$(2n=2x=10)$ ile 0.21 pg/1C (172 Mbp)] hesaplamışlardır. *B. distachyon* diploidin basit, ayırt edici karyotipe sahip olduğu ve yüksek rekombinasyon seviyeleri gösterdiği; high-throughput genetik için uygun yetiştirme ve yaşam döngüsü karakteristikleri gösterdiği; doku kültürüne kolayca tepki verdiği; transjenik bitkilerin, mikro projektıl teknolojisi ve higromisin seleksiyonu kullanan embriyojenik kallustan yüksek frekansta geri kazanılabileceği ve patojenler aralığında (*Blumeria graminis*, *Puccinia reconditia*, *P. striiformis*) *B. distachyon*'un tepkilerinin serin iklim tahıl araştırması için önemli olan nitelikleri gösterdiği sonucuna varmışlardır. *B. distachyon*'un, genom boyutu, kromozom sayısı, boy, yaşam döngüsü gibi biyolojik birçok karakteristikleri bakımından ve yüksek verimli genetik bilimi için uygun büyük potansiyele sahip olduğunu, *Arabidopsis*'e çok benzediğini bildirmişlerdir. *B. distachyon*, buğdaygillerin özelliklerini incelemeye çok uygun olmayan çeltiğin yerine tamamlayıcı bir model olarak önermişlerdir. Ayrıca, çeltikle kıyaslandığında, *B. distachyon*'un geniş popülasyonlarını incelemek ve yetiştirme koşullarını kontrol etmenin daha kolay olduğunu vurgulamışlardır.

Özkan ve ark. (2003) çalışmalarında, bir allopolyploid buğdayın C-değerinin diploid ebeveynlerinden gelen bir yekunu olup olmadığını incelemişlerdir. Bu soruya cevap vermek için 6 yeni sentezlenmiş allopolyploid buğday ve ebeveyn bitkileri incelenmiştir. Çalışmada allopolyploidilerin genom boyutunun beklenenden oldukça küçük olduğu tespit edilmiştir. Allopolyploidi genom boyutunda bir artış sağlamasına rağmen, bu artışın, beklenenden az olduğunu bildirmişlerdir. Genom boyutundaki redaksiyonun başarılı poliploid türleşme vakalarını teşvik eden bir mekanizma olabileceğine dikkat çekmişlerdir. DNA miktarındaki niceliksel değişikliklerle ilgili genetik modifikasyonun, polyploidlerin sitolojik ve genetik seviyede istikrar kazanmış olabileceğini bildirmişlerdir.

Hasterok ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada *Brachypodium distachyon*'un poliploidi serilerinin sayılarını sitotaksonomik olarak ilk defa tarif etmiş ve serilerin basit olarak

kromozom katlamasıyla meydana geldiği varsayımını açıklamışlardır. Onlara göre, genomik DNA problemleri ve rDNA markörleri, kullanılan *in situ* hibridizasyon, poliploid ekotiplerin çoğunun hibrid bir orijini olduğunu ortaya çıkarmakta ve bu türün ve yakın akrabalarının kompleks evrimi üzerine ışık tutmaktadır. ABR1 aksasyonu 5 çift kromozoma sahiptir. Bunların her biri, rDNA lokuslarının dağılımı ve morfoloji bazında net bir şekilde ayırt edilebilirler. ABR114'nin 20 kromozom sayısı ve görünümünden yola çıkarak, *Brachypodium distachyon*'un ototetraploid bir formu olduğunu düşünmüşlerdir. Bununla birlikte, üzerinde yapılan moleküler sitogenetik çalışmalar göstermiştir ki, *B.sylvaticum* bileşimin içindeki benzer bir genom ile ilgili olarak diploid olması çok muhtemeldir. Çalışma sonuçlarına göre, ABR113 otoheksaploid değildir, genomik olarak benzeyen iki diploid atası olan ABR1 ve ABR114'ün doğal melezlerinden meydana gelen bir allotetraploiddir.

Ramakrishnan ve ark. (2004)'nin çalışmalarında püsküllü brom (*Bromus tectorum*)'da basit dizi tekrarı (SSR) ve çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP) moleküler markör genotipleri, tohum dormansisi, vernalizasyon gereksinimini *Ustilago bullata* patojenine dirençteki fenotipik varyasyonun yayınlanmış verileriyle karşılaştırılmıştır. AFLP verileri fenotipik verilerle önemli ölçüde korelasyon gösterirken, SSR verileri daha yüksek düzeyde korelasyon göstermiştir. Moleküler markör sistemleri arasındaki fark; Potosi, Pass ve Nevada uçdeğer popülasyonları analiz dışı tutulduğunda, özellikle dikkate değer olmuştur. Bu sonuçlar, SSR markörlerinin püsküllü brom gibi güçlü bir şekilde kendilenen türlerin popülasyonundaki genetik incelemelerde fenotipik özelliklerin kullanılabilmesini göstermiştir.

Doležel ve ark. (2005) bu makalelerinde flow sitometri kullanarak, çekirdek süspansiyonların hazırlanışı, stokiyometrik DNA boyama ve DNA referans standartlarının kullanımını üzerinde durarak, bitkilerdeki mutlak DNA miktarının tahmini için kullanılan mevcut işlemleri ele almaktadır. Ayrıca genom hacmindeki türler arası varyasyon tahmininde karşılaşılan metodolojik tuzakları ve alan çalışmalarına yönelik DNA flow sitometri kullanımını ele almaktadır.

Garvin ve ark. (2005), araştırmalar için referans genotip olarak kullanılmak üzere *Brachypodium*'un kendilenmiş hatlarından bir set geliştirmişlerdir. Genotiplerde, hem *Brachypodium* genomunun yapısı ve kompozisyonu, hem de *Brachypodium* ve serin mevsim buğdaygilleri arasındaki synteny derecesini analiz etmişlerdir. Bu kendilenmiş *Brachypodium* hatları koleksiyonu, 27 farklı *Brachypodium* popülasyonundan tek tohumlarla geliştirilmiştir.

Flow sitometri yöntemi kullanılarak, bu koleksiyondan diploid genotipler belirlenmiş ve bu sonuçlar kromozom hesaplamalarıyla doğrulanmıştır. Diploid bir *Brachypodium* hattından (bir bakteriyofaj lambda) genomik kütüphane oluşturulmuştur. *Brachypodium*'un yıllık gelişimi diploid hatların küçük genom hacmi ile eşleştirilmiş, serin mevsim buğdaygillerine bir model olarak bu türlerin potansiyeli belirlenmiştir.

Jenkins ve ark. (2005), *Brachypodium distachyon*'un önemini, serin iklim tahılları ve buğdaygiller için model bir bitki olarak değerlendirmişlerdir. Serin iklim tahılları ve buğdaygiller ile ilgili bir modelin, ortolog kromozom bölgelerinde mikrosyteny kırılma riskini en aza indirmek amacıyla akrabaların filojetik yakınlığa dayalı olarak seçilmesi gerektiğinden bahsetmişlerdir. Brachypodieae familyası, pooid “ana” dalının kız kardeşi pozisyonunda olan Poaceae familyasının Pooideae alt familyasına yerleştirilmiş, bu yüzden *Brachypodium*, önceden tahıllar için bir model olarak geliştirilen ve farklı bir alt familyaya ait olan çeltikle kıyaslandığında, serin iklim tahılları ve diğer tek çenekli (monokotil) bitkiler ile daha yakından ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Vogel ve ark. (2006a), *Brachypodium* 'un 27 aksesyonundan oluşturulan kendilenmiş hatların gelişimini incelemişlerdir. Çalışmalarında, C-değerinin tespit edilmesi, kaynak aksesyonlardan beşinin diploid olduğunu göstermiştir. Bu diploid hatlar morfolojik özellikler çeşitliliğinde varyasyon göstermektedir. Diploidlerde iki aya kadar hızlı jenerasyon süresi sağlayan koşullar tespit edilmiştir. *Agrobacterium* aracılı bir transformasyon protokolü geliştirilmiş ve %0.4 ile %15 aralığında değişen verimle, test edilen 19 hattan 10'una başarıyla transfer edilmiştir. Diploid Bd21 aksesyonunun kolayca transforme edildiği bildirilmiştir. T1 jenerasyonundaki transgenlerin farklılık gösterdiğini ve birçok hatta tek bir genetik lokusun araya eklendiğini açıklamışlardır.

Garvin ve ark. (2008)'nın bu çalışması, model bir bitki olarak kullanılan *Brachypodium distachyon*'un kısa tarihçesini veren bir inceleme makalesidir. Ayrıca makale bu zamana kadar elde edilen iki ana germplazm koleksiyonu ile genetik kaynakları; hem doğal hem de tanımlan *Brachypodium*'un coğrafik dağılımını; karyotip, synteny ve filojeni için FISH ile *Brachypodium*'un moleküler sitogenetik karakterizasyonu gibi, *B. distachyon*'un farklı konularını tarif etmekte ve özetlemektedir. Onlar, *Brachypodium*'un büyüme ve gelişme koşullarını, transformasyon sisteminin etkinliğini, BAC kütüphane kaynaklarını, EST kaynaklarını ve transkriptom dizileme ve bitki-patojen ikili ilişkisini özetlemektedirler. Sonuç

olarak, model bir bitki olarak *Brachypodium*'un kullanılması için gelecekteki görüntüsünü ve elde edilebilir kaynakların biyoinformatik bilgilerini vermişlerdir.

Idziak ve ark. (2008) araştırmalarında dizili gümüş boyama (Sequential silver staining) ve floresan *in situ* hibridizasyonu (FISH), *B. distachyon* ($2n=2x=10$), ABR114 ($2n=2x=20$), *Brachypodium* türleri ve varsayılan atalarının allotetraploidlerinin ($2n=4x=30$) 6 ekotipini meristematik kök ucu hücrelerinde 45S rDNA alanlarının sayısı ve aktivitesini belirlemek için kullanılmışlardır. Bildirdiklerine göre, allotetraploid *Brachypodium* türlerinin bir ekotipindeki 45S rDNA bölgelerinin sayısı her zaman varsayılan diploid ebeveynlerinde mevcut olan lokus toplamına eşit olmuştur. İki küçük bölge ABR114 kromozomal sete karşılık gelen kromozomlarda, iki büyük bölge de *B. distachyon* orijinli kromozomlarda tespit edilmiştir. Bütün analiz edilen allotetraploid ekotiplerde sadece *B. distachyon* benzeri genoma bağlı rDNA genlerinin transkripsiyonel olarak aktif oldukları, buna karşılık diğer ebeveyn genomdan olan rDNA'nın her zaman bastırıldıkları tespit edilmiştir. Allotetraploid ($2n=4x=30$) *Brachypodium* türlerinde ilk defa nükleoler baskınlık görülmüştür.

Opanowicz ve ark. (2008)'nın bu çalışmasında, bir model bitki olarak işlev gören *Brachypodium distachyon*'un temel özellikleri sunulmuştur. Yazarlar, *Brachypodium distachyon*'un coğrafi dağılımı ve filogenetik konumunu, hasatlık direncinin doğal varyasyonunu ve kültürlenme (domestication) özelliklerini, biyoenerji uygulamalarını, moleküler genetik ve genomiklerini günümüze kadar özetleyip, *B. distachyon*'un gelecekte bir model bitki olarak kullanılabilirliğini vurgulamışlardır.

Özdemir ve ark. (2008)'nın yaptıkları çalışmada, model buğdaygil *Brachypodium distachyon* üzerine gerçekleştirilen genomik araştırmaların günümüzdeki durumunu özetlemişlerdir. *B. distachyon*, küçük bir genoma, kısa yaşam döngüsüne, kendi kendini dölleme özelliğine ve çok sayıda diploid aksesyonlara sahip olup, basit yetiştirme koşulları gerektirmektedir. Ayrıca, buğday ve arpa gibi ekonomik açıdan önem arz eden tahıllara ve biyoyakıt olarak kullanılma potansiyeli bulunan bazı buğdaygillere filogenetik olarak yakındır. Bu hedef tahıllarınkine benzer tarımsal özellikler gösterir. Tahıl genomları için *Arabidopsis thaliana* ve *Oryza sativa* (çeltik)'dan daha iyi bir modeldir. Bunlar çiçeklenen bitkiler için model olarak kullanılırken, *B. distachyon* bundan böyle buğday ve arpa gibi ana tahılları da içeren soğuk iklim buğdaygil türleri için genom modeli olarak kullanılmaktadır. Bu türlere yönelik artan ilgi, diğer genetik kaynakların koleksiyonu ve karakterizasyonu ile birlikte, çekirdek dizileri ve BAC/EST kütüphanesini içeren genomik kaynak dizilerin ortaya

çıkmasına neden olmuştur. *Brachypodium* genomiklerinin açıklanması ve iyi bir şekilde anlaşılmasının toplumun her aşamasında büyük bir katkı sağlama potansiyelinin bulunduğu sonucuna varmışlardır. *Brachypodium* genomu hakkındaki bilgi, değişik bitki genomları arasında evrimsel ilişkinin derinlemesine anlaşılması bakımından da yararlıdır. Ekoloji, moleküler evrim ve karşılaştırmalı genetik gibi farklı alanlardaki karşılaştırmalı çalışmalar için önemli bir rol oynayacağı ön görülmektedir.

Vogel ve ark. (2008), ortak yetiştirme (co-cultivation) koşullarını önemli ölçüde değiştirerek, EC (Embriyojenik Kallus) kültürünü başlatmak için olgunlaşmamış ve kesip çıkarılmış embriyoları kullanarak transformasyon yöntemlerini iyileştirmişlerdir. Bu iyileştirmeler transformasyon verimliliğini yaklaşık 15 kat artırmıştır. Transforme edilebilir kendilenmiş diploid hat Bd21-3'ün tespiti ve transgenik bitkiler üreten ortak yetiştirilmiş kalluslarda %41 gibi yüksek oranda transfer verimli sağlayacak transformasyon yöntemini geliştirdiklerini açıklamışlardır. Bu *Brachypodium*'u yüksek çeltik transformasyon verimliliğiyle aynı seviyeye getirmektedir. Ayrıca, toprakta kallus başlangıcından transgenik bitkiye geçiş süresi 16 hafta, transgenik olmayan tohumdan transgenik tohuma geçiş süresi de 30 haftaya kadar düşebilmektedir.

Bakker ve ark. (2009) bu çalışmalarında, Avrasya yerli yelpazesine nazaran istilaya uğramış Kaliforniya meralarında genetik varyasyon düzeyinin düşük olduğunu göstermektedirler. İstila edilmiş bölgeler, uzaklık, büyük olasılıkla da çevresel etkenler ve melezleme kıtlığı gibi nedenler sonucu, izole edilmiş *B. distachyon* oldukça farklılaşmış popülasyonlarıyla karakterize edilmektedir. Bütün aksesyonlar (173), dizi etiketleri tanımlanmış mevcut *B. distachyon* temel alınarak belirlenmiş 12 microsatellit lokus için genotiplenmiştir. Ayrıca dizileme için çeltik ve aynı türlerin muhtemel dört yabancı (weediness) geni ile iki kontrol (housekeeping) geni (*AMY1* ve *GMPI*) seçilmiştir. Bütün Kaliforniya aksesyonları (136) referans izlerine göre DNA içerikleri esas alınarak tetraploid ($2n = 30$) olarak sınıflandırılmıştır. Kaliforniya ve Avrasya'dan teste tabi tutulan 173 aksesyonun 12 microsatellit lokusundan 10'u homozigottur. Aksesyonlardan iki microsatellit lokus Bd_SSR_23 ve Bd_Ssr_526 heterozigottur.

Huo ve ark. (2009)'nın çalışmalarında, 12 çeltik pseudomolekülüne karşılık karşılaştırmalı analiz yapmak için 55.221 tekrar maskeli *Brachypodium* BAC uç dizileri (BES) kullanılmışlardır. Analizler BES'in %24'ünün çeltik genomlarıyla eşleştiğini ve eşleşenlerin %82.4'ünün bilinen genlere homolog olduğunu göstermiştir. Farklı ortolog

genomik bölgelerde mikro eşdoğrusal (mikrokolinear) varyasyonlara neden olan diferansiyel gen amplifikasyonu, insersiyon, delesyon ve inversiyonun ortak evrimsel olgular olduğu ortaya çıkmıştır. İki genomdaki genlerin ortolog bölgelerde %17'sinin eşdoğrusallık göstermedikleri tespit edilmiştir. BAC dizi analizleri, *Brachypodium* genomunun küçük boyutuyla uyumlu ortolog çeltik bölgeleriyle karşılaştırıldığında, *Brachypodium*'da yüksek gen yoğunluğu (yaklaşık 9kb/gen) ve düşük tekrar DNA içeriği (yaklaşık %13.1) olduğu görülmüştür. İncelenmiş 119 *Brachypodium* geni, buğday EST veri tabanı ve delesyon biniyle eşlenmiş (bin-mapped) buğday EST'lerine nazaran BLASTN'dirler. Genlerin yaklaşık %77'si EST veri tabanında önemli eşleşmeler gösterirken, %9.2'si delesyon biniyle eşleşmiş EST'lerle eşleşmektedir. Bazı durumlarda tek bir *Brachypodium* BAC'lerindeki genler, *Brachypodium* genomunun delesyon binlerindeki buğday EST'lerini sıralamak ve buğday genomundaki hedef bölgelere özel markör geliştirme izlenimini veren aynı delesyon biniyle eşlenen çoklu EST'lerle eşleşmektedir.

Kumar ve ark. (2009) 3.818 *Brachypodium* EST (bEST) kontiglerinin karşılaştırmalı dizi analizi ile 3.792 fiziksel olarak haritalanmış buğday EST (wEST) kontigleri, 449 kadar bEST kontiglerinin bütün 21 buğday kromozomu üzerine binle eşleşmiş (bin-mapped) 1.154 wEST lokusuna ortolog olduklarını ortaya koymuştur. Benzer şekilde 743 bEST kontiglerinin bütün 12 çeltik genomu üzerine yayılan özel çeltik genom dizilerine ortolog 183 kadar bEST kontiglerinin, üç tür boyunca muhafaza edilmiş 17 kadar SSR'ı barındıran hem buğday hem de çeltik genom dizilimine ortologdur. Muhafaza edilen bu 17 SSR'ın 12 için geliştirilen primerler *Brachypodium*, buğday ve çeltik genomları arasındaki görece yüksek düzeyli konservasyonu çözen wet-lab deneylerinde kullanılmıştır. Bu çalışmayla *Brachypodium*'un buğday ve arpa gibi serin iklim tahıllarının genom analizlerinde çeltikten daha iyi bir model olduğunu doğrulanmıştır.

Özdemir (2009) bu çalışmasında, Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinden toplanan *Brachypodium distachyon* ile saf hatlar oluşturulması ve bu çeşitlilik içeren koleksiyonu morfolojik ve sitolojik olarak karakterize etmeyi amaçlamıştır. Bunun yanı sıra, seçilen üç genotip için etkin bir doku kültürü sistemi ve partikül bombardımanı ve *Agrobacterium* aracılığı ile gen aktarım yöntemlerini kullanarak bir transformasyon sistemi kurulmuştur. Hatların fenotipik karakterizasyonu ve *Brachypodium* tohumlarından yapılan makro/mikroelement analizleri geniş bir çeşitlilik ve belirgin farklılıklar göstermiştir. Olgun embriyoların kallus oluşturma oranlarının (%50 -%100) ve bu kallusların rejenerasyon kapasitelerinin (%11.7 -%52.3) genotipe bağlı olduğu bulunmuştur. Her genotip farklı doku

kültürü şartları ortaya koymuştur. Kallusların GUS (*β -glucorinidaz*) geni ile partikül bombardmanı sonucunda, tüm üç genotip içinde %28.7 ortalama geçici gen aktarım etkinliği görülmüştür. Kalluslara gen aktarımında; *Agrobacterium tumefaciens* suşları, ilk ikisi kanamisin antibiyotiğine direnç ve sonuncusu glufosinate amonyum bazlı herbisitlere dayanıklılık göstererek, iki farklı büyüklükte altın partikülleri ya da jilet ile yaralanmış kalluslara gen aktarımında kullanılmıştır. GUS geni ifadesi 0.0 ile 10.4 (GUS odakları/kallus) arasında değişmiştir. Tüm parametrelerin geçici gen ifadesi üzerinde anlamlı bir etkisinin olduğu bulunmuştur.

Vogel ve ark. (2009)'nın yaptıkları bu çalışmada, Türkiye'deki sekiz lokasyondan 84 kendilenmiş hat geliştirmişlerdir. Bu koleksiyonun genotipik karakterizasyonunu yapmak için BAC ucundan ve EST dizinlerinden 398 SSR markörleri oluşturmuşlardır. 56 lokasyondan 43 SSR markörle 187 diploid hattın analizi, kayda değer ölçüde genotipik çeşitlilik göstermiştir. SSR genotipleri ile geniş coğrafi bölgeler arasında bazı korelasyonlar tespit etmelerine rağmen, bireysel lokasyonlarda da yüksek düzeyde genotipik çeşitlilik tespit etmişlerdir. Bu yeni gen kaynağının fenotipik analizi, çiçeklenme süresi, tohum ağırlığı ve bitki yapısında önemli derecede çeşitlilik ortaya çıkarmıştır. Tohum ağırlığı, diploid hatlar için 2.5 ila 5.9 mg/tohum ölçülerindedir. Ortalama tohum ağırlığı 4.1 mg/tohumdur. Çiçeklenme süresi, vernalizasyon süresiyle yakından ilişkilidir. Tüm hatların çiçeklenmeye başlaması Bd21, Bd21-3, Bd2-3 veya Bd3-1'den daha uzun vernalizasyon süresi gerektirmiştir. Tekirdağ'dan gelenler hariç tüm hatlarda hızlı çiçeklenmeyi tetiklemek için dört veya beş haftalık vernalizasyon yeterli olmuştur. 3 ila 24 aralığındaki markör başına allel sayısı ve ortalama allel sayısı 10.2 olmuştur. Tespit edilen 8041 genotipleri dışında bir markör için her biri heterozigot olan yalnızca dört heterozigot tespit edilmiştir. Bu durum, hatların oldukça kendilenmiş olduklarını göstermektedir. *Brachypodium*'un kendilenme doğası laboratuvar koşulları altında çapraz tozlaşmanın gerçekleştirilememesiyle de teyit edilmiştir. Ayrıca SSR polimorfizmlere dayalı konsensüs ağacı açık şekilde çok yüksek bootstrap destekli iki ana grubu göstermiştir. Tek (Tekirdağ) hatları içeren daha küçük grup, uzun vernalizasyon gereksinimi, tohum boyutu ve lemmalar üzerinde yakın tüy yokluğu gibi çeşitli fenotipik özelliklere sahiptir. Daha büyük grup ise, Türkiye ve Irak'tan gelen hatları içermiştir. Bu grup içerisinde fenotipik benzerliğe dayalı olarak önceden gruplanmış farklı BdTR gruplarından tüm hatları içeren bağlı kümeler bulunmaktadır. Bu nedenle fenotipik gruplandırmalarla ve SSR profilleri arasında dikkate değer korelasyon bulunmaktadır.

Wolny ve Hasterok (2009)'un çalışmalarında, *Brachypodium*'un altı türü ile iki alt türü, sitogenetik olarak analiz edilmiştir. Bu analizlerde, 5S rDNA ve 25S rDNA gibi tekrar eden DNA dizileriyle somatik metafaz kromozomları ve çok renkli FISH kullanılmıştır. İlâveten *in situ* genomik melezleme (GISH) gerçekleştirilmiş ve çekirdek genom büyüklüğünün tespiti flow sitometri ile yapılmıştır. Somatik kromozom sayıları ve çekirdek DNA içerikleri (pg/2C DNA), altı *Brachypodium* türünü temsil eden 20 aksesyon için hesaplanmıştır. En az kromozom sayısı *B. distachyon*'da ($2n=10$) ve en fazla kromozom sayısı *B. retusum*'de ($2n=38$) gözlemlenmiştir. Söz konusu farklılıkların muhtemel nedenleri, yakınlarda bazı buğdaygiller türleri, örneğin *Festuca pallens*'in yabancı popülasyonları, için kanıtlanmış bir fenomen olan önemli interspesifik DNA içeriği değişkenliğidir. Ancak söz konusu farklılıklara, muhtemelen çeşitli metodolojik faktörler, örneğin DNA içeriklerin tespitinde farklı yöntemlerin kullanılması ve genom boyutunun hesaplamasında farklı standartların kullanılması neden olmaktadır. Bulgularında, *B. distachyon*'un veya yakın bir akrabasının, *B. phoenicoides*'in muhtemel atalarından biri olduğu ön görülmektedir. Bu sonuçlara dayalı olarak 28 kromozomlu *B. pinnatum*'un, *B. distachyon* ($2n= 10$) ve *B. pinnatum* ($2n=18$) ile aynı olan veya onlara benzer genomlar içeren interspesifik bir melez olduğu sonucuna varılabileceğini belirtmişlerdir. *Brachypodium*'un iki diğer türü olan *B. phoenicoides* ve *B. retusum*'un, *B. distachyon* ile veya varsayılan ata kökenli türlerden biri olarak onun yakın akrabası ile birlikte allopoliploddir.

Filiz ve ark. (2009a), Türkiye'nin farklı 45 coğrafik bölgesinden 164 hat toplayıp 146 kendilenmiş hat oluşturmuşlardır. Aynı hatlar, SSR analizi için Vogel ve ark. (2009) çalışmasında kullanılmıştır. Yukarıda bahsi geçen hatlarda, kolleksiyon içerisinde moleküler (nükleer ve organel genom), morfolojik ve sitolojik çeşitliliği karakterize etmişlerdir. Bu materyalin çoğunluğu (146 kendilenmiş hattın 116'sı) diploiddir. AFLP analizine dayalı diploid hatlarının benzerlik matrisi, 0.05 ila 0.78 olan genetik uzaklıkta yaygın çeşitlilik göstermiştir. Diğer taraftan organel genom çeşitliliği, çalışmalarında kullanılan hatların hem arasında hem içerisinde düşüktür. Genotiplerin coğrafi dağılımı, incelenen genotipler için ne nükleer ne de organel genom varyasyonu ile belirgin şekilde korelasyon kurmuştur. Hatların fenotipik karakterizasyonu, çiçeklenme süresi (7–22 hafta), tohum verimi (4–193 tohum/bitki), ve biyokütlede (15–77g) geniş varyasyon göstermiştir. Toplanan *Brachypodium* aksesyonlarının kromozom morfolojisi, akrosantrik olan kromozom 5 hariç, alt-metasantrikten metasantrike olmak üzere varyans göstermiştir.

Filiz ve ark. (2009b)'nin yaptıkları bu çalışmanın amacı, SRAP'a (Sequence Related Amplified Polymorphism) dayalı olarak Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerini temsil eden *Brachypodium* diploid aksesyonları arasındaki morfolojik ve filogenetik ilişkileri değerlendirmek olmuştur. Benzerlik matrisi, SRAP primer kombinasyonlarının kullanıldığı bölümde kullanılan türler arasındaki yakın ilişkiyi göstermiş ve 120'si polimorfik olan 156 fragman bandı oluşturmuştur. Genetik uzaklık 0.03 ila 0.62 aralığında olmuştur. Bitki genotipleri, SRAP analizine dayalı olarak iki ana küme içerisinde gruplaşmıştır. Yerel diploid *Brachypodium* genotipler arasında yüksek seviyede çeşitlilik olmuştur. *Brachypodium distachyon*'un yaklaşık olarak 500 diploid genotipi, serada yetiştirilmiştir. Genotiplerin fenotipik karakterizasyonunda ortalama boy 21 ila 52 cm arasında olmuştur. Tüylü yaprak yapısı tespit edilmiş ve derecesine göre artan sırayla 1'den 5'e kadar sınıflandırılmıştır. Yaprak rengi, açık yeşilden koyu yeşile doğru gruplandırılmıştır. Gövde yapısı da çok dikten çok eğiğe olmak üzere bir ekotipten diğerine çeşitlilik göstermiştir. İlk tohum üretimi, en erken 7 ve en geç 22 hafta olarak kaydedilmiştir. Tüm diğer karakteristikler gibi, tohum verimi de, ekotipler arasında farklılık göstermiştir. Bd TR-4 en yüksek verime sahip olurken (ortalama 793 tohum/bitki), Bd TR-12 çok düşük verimi göstermiştir (ortalama 4 tohum/bitki). 500 yerel *Brachypodium* genotipin ortalama nükleer DNA içeriği 0.67 ila 1.35 pg/2C aralığında olmuştur. Nükleer DNA içeriklerine dayalı olarak genotipler, diploid, tetraploid ve hekzaploid olarak üç farklı ploid seviyesinde gruplandırılmıştır.

Vogel ve ark. (2009b) çalışmalarında, *Brachypodium*'un bir model bitki olarak avantajlarını ele alarak, bu sistemin buğday, arpa ve *Lolium* araştırmalarında kullanımıyla potansiyel uygulamalarını açıklamaktadır. Bilim adamları *Brachypodium*'u kolay *Agrobacterium* aracılı transformasyon yöntemleri, BAC kütüphaneleri, fiziksel haritalar, genetik haritalar ve germplasm kaynaklarını içeren güçlü bir model sisteme dönüştürecek, genomik kaynakların geliştirilmesinde hızlı bir ilerleme sağlamışlardır. Ayrıca, tüm genomun 4x taslağı yayınlanmış olup, 2009'da son 8x düzeniğinin tamamlanması öngörülmüştür.

Drader ve ark. (2010) çalışmalarında ekin türleri *Hordeum vulgare* ile son yıllarda sekanslanan *Brachypodium distachyon* genomu arasında önemli arpa hastalıklarına direnç gösteren genleri taşıdığı bilinen bölgelere odaklanarak, bir syteny haritası sunmuşlardır. Direnç genlerinin *Brachypodium*'da genlerin olası fonksiyon ve biçimini koruduğunu gösteren ortolog genlere sahiptir. *Brachypodium*'da arpa direnç genlerinin veya ortologlu direnç gen lokusları, direnç geninin, çeltikte gözlenenin aksine, konumunu koruduğunu göstermiştir. *Brachypodium* ile arpa arasındaki yüksek seviyede syteny, çeltikle arpa

arasındakine nazaran *Brachypodium* sekansının geniş genomlu Triticeae üyelerinden harita temelli gen izolasyonunda yüksek kullanım potansiyelinin bulunduğunu göstermiştir.

Febrer ve ark. (2010), bakterial yapay bir kromozom (BAC) *Brachypodium distachyon*'un fiziksel haritasını ve BAC uç dizileri (BES) kullanarak toplanan tüm genom shotgun dizimi (WGS) ile entegre ederek tarif etmişlerdir. Sonuçlanan fiziksel harita 272 Mb genom kapsayan 26 kontig içerir. Fiziksel haritadan BES, genetik bir harita entegresinde kullanıldı. Bu bağımsız bir doğrulama ve yayınlanmış WGS toplanmasının doğrulanmasını sağlar. Haritalanmış BAC Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) denemelerinde yüksek çözünürlükle kromozomlar için entegre fiziksel harita ve dizi toplanmalarını hizalamak için kullanılmıştır. Fiziksel, genetik ve sitogenetik haritalar tüm genom shotgun ile entegre edildi. Bu raporda, onlar, parmak izi BAC'ın yaklaşık olarak % 90'ını içeren 26 geniş kontig ile 272 Mb hacimli genomunun 271 Mb'ı hesaplanan *Brachypodium*'un fiziksel haritasına bağlı ikinci bir yüksek kaliteli, yüksek kapsamalı BAC'ın yapımını tarif etmişlerdir. *Brachypodium*'un genetik bir haritası ile bu fiziksel haritanın gruplandırılmasında fiziksel ve genetik haritalar arasında büyük oranda doğrusallık belirlenmiş, böylece genetik markör ve rekombinasyon bilgisi ve BAC dizilimiyle gen izolasyonunu temel alan harita için kullanılan bir kaynak sağlayarak fiziksel harita toplanmasını desteklemektedir.

Garvin ve ark. (2010) bu çalışmalarında, *Brachypodium*'un bir genetik bağlılık (linkage) haritasının geliştirilmesi tarif edilmiştir. Genetik bağ haritası diploid *Brachypodium* Bd3-1 ve Bd21 hatları arasındaki melezlemeden elde edilen F2 popülasyonu ile geliştirilmiştir. Harita, *Brachypodium*'dan basit dizi tekrarı (SSR), diğer buğdaygil türlerinden ifade edilmiş dizi etiketleri (EST), BAC (Bacterial Artificial Chromosome) ve COS (Conserved Orthologous Sequence) markörleriyle doldurulmuştur. Harita 1396 cM uzunluğundadır ve 20 bağlılık gurubu arasında dağılım gösteren 139 markör lokusu içerir. Bağlılık guruplarının 5'i 100 cM'i geçmiş ve en geniş 231 cM olmuştur. Diğer buğdaygiller ile karşılaştırmalı yapısal genomik çalışmalarda rapor edilen benzer düzenlemelerde olduğu gibi, *Brachypodium* bağlılık haritası ve çeltik genom dizisi arasında eşdoğrusallık değerlendirmesi, iki genom arasındaki makrosintenin önemli bölgelerini açığa çıkarmıştır.

Mokhtarpour ve ark. (2010)'nın bu çalışmadaki amaçları, yaprak boyundan ve eninden olmak üzere mısır bitkisinin yaprak alanını (LA), taze yaprak ağırlığını (LFW) ve kuru yaprak ağırlığını (LDW) hesaplayacak denklemleri geliştirmektir. Denklemlerin doğruluğu, çeşitli ekim sıklığında, bitki büyüme aşamalarında ve ekim tarihlerinde mısır

bitkisi üzerinde test edilmiştir. Yaprak bölgesini hesaplamak için geliştirilen denklem, diğer çalışmalardan elde edilen denklemlerle karşılaştırılarak test edilmiştir.

Özkan ve ark. (2010), yabani buğdayların diploid ve tetraploid doğal popülasyonlarında C-değerinin türler içi ve arası varyasyonları ile genom hacmi ve habitat faktörleri arasındaki ilişkiyi incelemiştir. 41 diploid ve tetraploid yabani buğday popülasyonunu temsil eden 376 tek bitkinin 1C çekirdek DNA içeriği flow sitometri metoduyla (FMC) saptanmış, coğrafik ve biyoklimatik değişkenlerle ilişkilendirilmiştir. Varyans analizi esas alınarak diploid ve tetraploid *Triticum* türleri arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir. *T. boeoticum* ve *T. dicoccoides* popülasyonları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuş ve *T. araraticum* dışındaki popülasyonlar arasındaki izolasyon desteklemektedir. Bununla beraber bireyler arasındaki varyasyon istatistiksel olarak önemli değildir. *T. boeoticum* (0.143 pg; 2.32%), *T. dicoccoides* (0.314 pg; 2.49%) ve *T. araraticum* (0.116 pg; 0.98 %) popülasyonları arasındaki maksimum genom boyutu farklılıkları bu türlerdeki genom sabitliğini desteklemektedir. *T. boeoticum* and *T. dicoccoides* için popülasyonlar arası varyans ile coğrafik ve biyoklimatik değişkenler arasında önemli bir korelasyon yoktur. Yazarlara göre, potansiyel olarak aktif birçok Retro elementin varlığına rağmen, kendi döllenmiş yabani *Triticum* türlerinin genom boyutunun genellikle sabit olduğu sonucuna varılabilir. Doğal habitatlarında yabani buğdayları ayırt etmek oldukça zordur. Bununla beraber, FCM tekniğini kullanarak dört türün hepsi kolay, hızlı ve açık bir şekilde ayırt edilebilirler.

Schmider ve ark. (2010)'nın çalışmalarının konusu, normal şekilde dağıtılmış bağlı bir değişkenin varsayımında sapmalara karşı tek değişkenli tek yönlü sabit etkili değişim analizinin (ANOVA) sağlamlığını deneysel olarak incelemektir. Bu, temel popülasyonlara analizler uygulayarak test edilmiştir. Her bir popülasyondaki birey değerlerinin dağılımı, normal dağılımdan önemli derecede farklılık göstermiştir ve Monte Carlo simülasyonlarının yöntemi ile elde edilmiştir. Sonuçlar, normal olmayan şekilde dağıtılmış verilerin uygulanması altında ANOVA sağlamlığı için güçlü destek vermiştir.

Schwartz ve ark. (2010) yaptıkları bu çalışmayla sıcaklık ve ışık özelliklerine bağlı olarak Türkiye, İspanya ve Irak kökenli doğal *Brachypodium* aksesyonlarının çiçeklenme süresi değişkenliğini incelemiştir. Her iki çevresel parametredeki değişiklikler, verilen aksesyonun çiçeklenme süresini büyük ölçüde etkilemiş ve doğal *Brachypodium* aksesyonları yaygın şekilde kışlık ve yazlık tek yıllık bitkiler içerisinde gruplandırılmıştır. Çiçeklenme

süresi *B. distachyon* 24 doğal aksesyonu için analiz edilmiştir. Vernalizasyon, aksesyonlar içi ve arası varyasyonda, çoğu aksesyon için çiçeklenmenin gerekli olduğu gün sayısında bir azalmaya yol açmıştır.

Tahernezhad ve ark. (2010) İran'ın değişik vilayetlerinde topladıkları *Aegilops tauschii*'nin 28 aksesyonunda 16 morfolojik özellik ve 19 SSR markörleri kullanılarak genetik varyasyonlar değerlendirilmiştir. Diskriminant fonksiyon analizi orijinal gruplandırılmış olguların %67.9'nun doğru sınıflandırıldığını göstermiştir. Faktör analizi ise üç faktörün toplam varyasyonun %66.49'unu açıkladığını göstermiştir. Küme analiziyle ortaya çıkarılan üç kümenin coğrafik dağılımlarıyla uyumlu olmadıkları tespit edilmiştir. 19 microsatellit kullanılarak 208 allel belirlenmiştir. Her lokus için allellerin ortalaması 10.94'tür. PIC'in toplam ortalaması 0.267'dir. Genotipler UPGMA yöntemiyle kümelendirilmiştir. Aksesyonların morfolojik kümeler ve coğrafik bölgelerle eşleşmedikleri tespit edilmiştir. Toplam varyasyonun %51.2'sinin temel bileşenlerle ilgili oldukları tespit edilmiştir.

Uluslararası *Brachypodium* İnisyatifi (IBI) (2010), bu takım çalışmasında IBI, Pooideae alt familyasının dizi analizi yapılan ilk üyesi olan yabani buğdaygiller *Brachypodium distachyon*'un (*Brachypodium*) genom dizisini tanımlamıştır. Diploid kendilenmiş hat Bd21'in tüm genom shotgun kullanılarak dizi analizi yapılmıştır. Dizi analizinde beş psödo-molekül, flow sitometri ile ölçülen aralık içerisinde 272Mb uzunluk (span) göstermiştir. Toplanma, sitogenetik analiz ve iki fiziksel harita ve dizilenmiş BAC'lı sıralama ile onaylanmıştır. Açığa çıkan dizi etiketlerinin(tags) (EST'ler) %98'den fazlası, dizi birleşimi, yakın-tam genom ile uyumlu olarak haritalanmıştır. Diğer buğdaygillerle karşılaştırıldığında *Brachypodium* genom, sentromer ve sintenik kırılma noktalarında yoğunlaşan retrotranspozanlarla çok kompakt olduğunu tespit etmişler. DNA transpozonları ve türevleri geniş şekilde dağılmış olup, esasen gen zengini bölgelerle ilişki içinde olduğu sonucuna varmışlardır.

Brkljacic ve ark (2011), bu inceleme makalesinde, *Brachypodium distachyon* ve diğer “model” bitkiler arasında bir karşılaştırma sunulmakta; buğdaygiller ve serin iklim tahılları için bir model bitki olarak *Brachypodium*'un neden önemli olduğu detaylı olarak açıklanmaktadır. Yüksek kaliteli *Brachypodium* genom dizini taslağı, doğal aksesyonlar ve kendilenmiş hatlar, T-DNA mutantları, TILLING ve araştırmacılara açık mikrodizileri dahil *Brachypodium* araştırması ile ilgili mevcut internet kaynaklarının araştırmacıların ulaşımına

açık olduğu rapor edilmektedir. Model bir bitki olarak *Brachypodium*'un önemini, tohum dizilerinin artan sayısı ve şimdiye kadar yayınlanan makaleler desteklemektedir.

Huo ve ark. (2011) çalışmalarında, SNP (Single Nucleotide Polymorphism) kullanarak *Brachypodium*'un bir genetik bağ haritasını ve 476 bireylik popülasyonun bir F2 haritasını geliştirmişlerdir. SNP tek kopya yeniden dizilim hedeflenerek belirlenmiştir. Illumina Golden Gate platform kullanarak, *Brachypodium*'un 5 kromozomuna tekabül eden 5 bağlantı gurubu içinde 558 markör kullanılmıştır. Genel olarak 1.598 cM (centi Morgans) olan toplam genetik harita uzunluğu, *Brachypodium*'un haritalanan popülasyonunda yüksek bir rekombinasyon oranına sahip olduğunu gösterir. Genom özellikleri için genetik harita karşılaştırıldığında, rekombinasyon oranının gen yoğunluğu ile pozitif ilişkili ve sentrometrik tekrarlı dizili konulan ankestral kromozom füzyon yeri ve tekrarlanan bölgelerle negatif ilişki içinde olduğu bulunmuştur. Yüksekçe karşı düşük rekombinasyon oranları ile bitişik genom bölgelerinin bir kıyaslanması interspesifik synteny ve rekombinasyon oranı arasında pozitif bir korelasyon meydana getirmiştir.

Jaroszewicz ve ark. (2011) yaptıkları bu çalışmada, DNA düzeyinde varyasyon modellerini, kromozomları, bitki morfolojisini ve bunların *Brachypodium distachyon* üzerindeki iç ilişkilerini incelemiştirlerdir. Akdeniz ve İran-Turan bölgesinden, üç yeni seleksiyon yanında, 18 aksesyonun hepsinin *B. distachyon*'daki RAPD profilleri, kök mitozlarının sitogenetikleri, kaba morfolojileri ve mikro yapıları incelenmiştir. Skorlanan RAPD banttardan 309 tanesini polimorfik (%96) bulmuştur. Tüm primerler için beklenen ortalama gen çeşitliliği (Hi) 0.220 olmuştur ki bu Asya-Avrupa kökenlilerde tespit edilen varyasyona yakındır. UPGMA dendrogramında, aksesyonlar coğrafi bölgelerine göre kümelenmemiştir. Sitogenetiklerde yüksek değişkenlik tespit edilmiştir. Vegetatif büyüme süresi büyük çeşitlilik göstermiştir. RAPD modelleri ve morfolojisi arasında bariz bağlantı tespit edilmiştir. Tür içi birimlerin (kendilenmiş hatların) doğal seleksiyonundan iyi bir temel oluşturan bitkinin tüm incelenen özelliklerinde yüksek varyasyon dikkat çekmiştir.

Luo ve ark. (2011) *Brachypodium* doğal koleksiyonundan 57 bitkinin kuraklığa toleransı ölçmek için serada şartlarında iki deney gerçekleştirmiştir. Temel bileşenler analizi (PCA) klorofil flüorans (Fv/Fm) ve kuraklık stresinde yaprak suyu miktarındaki azalmanın, toleranslı ve hassas aksesyonları sınıflandırmak için kullanılan fenotipik varyasyonun çoğunun nedeni olduğunu göstermiştir. Kuraklık toleransında, 3'ü toleranslı, 16'sı orta toleranslı, 32'si hassas ve 6'sı çok hassas olmak üzere bir birinden farklılıklar gösteren dört

grup aksesyon tespit edilmiştir. Toleranslı grup az solmuş yaprak solması, Fv/Fm ve LWC'de çok az azalma gösterirken, çok hassas gruplar aşırı yaprak solması, Fv/Fm ve LCW'de aşırı azalma göstermiştir. Kuralık stresi şeker konsantre çözeltili toplam su (WSS) miktarını artırmış, fakat değişik aksesyon grupları arasındaki bu artışta bir farklılık tespit edilmemiştir. Onlara göre, kuraklık stresine karşı gösterilen geniş fenotipik varyasyon kuraklık toleransının karmaşık özellikleri için önemli olan gen ve alleleri belirlemek için kullanılabilir.

Mur ve ark. (2011) bu inceleme makalesinde yazarlar, *Brachypodium*'un güncel durumunu ve bir dizi biyolojik özelliklerinin nasıl inceleneceğini tanımlamışlardır. Ayrıca daha büyük tahılların ve yem buğdaygillerinin genomik analizini kolaylaştırdığından *Brachypodium*'u bir model tür olarak tekrar değerlendirmişlerdir. İlk önce *Brachypodium* genomunun, geniş serin iklim tahıl genomları için bir referans olabileceğini ve ikinci olarak gen fonksiyonunu hızlı tespitinde fonksiyonel bir genomik model olarak daha değerli olabileceğini düşünmüşlerdir. Bu bağlamda *Brachypodium*'un doğasında olan biyolojik özellikler, onu, tüm buğdaygiller için yararlı bir model haline getirmektedir. Ayrıca Brachypodieae, şu ana kadar yürütülen tüm moleküler filogenetik çalışmalarda Triticeae–Bromeae ve Aveneae–Poeae familyalarının soğuk iklim tahıllarını ve yemlerini içeren yakın zamanda evrim geçiren ana pooid buğdaygillerinin kardeş olduğunu göstermiştir. Son olarak, hızla yok olan günümüz ekin türlerini kullanmanın genomik güçlüklerini göz önünde bulundurarak, model, yarı model ve gerektiğinde ekin türlerinin kullandığı araştırmada çoğulcu yaklaşımı önermektedirler. Böyle bir strateji *Brachypodium*'un sahip olduğu fonksiyonların hem buğdaygiller ve tahıl genomlarını birleştirmek hem de onları açıklamak için de kullanılabilmesi karşılaştırmalı genomik yaklaşımları artırabilecektir. Açıkçası bir tür, tüm biyolojik özelliklerin bir modeli olarak yeterli olamaz, fakat *Brachypodium* bunun istisnası olmaya yakındır. Bazı önemli tahıl patojenleri için bir ana model olarak hizmet görebilir, hücre duvarı yapıları ve biyo-sentez özellikleriyle biyoyakıt ekinlere model olabilir ve tahıl gelişimini incelemek için kullanılabilir. Daha da önemlisi yetiştirme kolaylığı ve küçük yapısı, düşük maliyetli, fakat üzerinde çalışılacak yüksek kazançlı tür kılmaktadır.

Razali ve ark. (2011) çalışmalarında formal normallik testlerinin gücünün ne olduğunu, normallik varsayımının ne zaman ihlal edildiğini, parametrik testlerde hangi sonuçların geçersiz ve güvenilmez yorumlara ve çıkarımlara yol açtığını incelemişlerdir. Bu makale, dört formal normallik testinin gücünü karşılaştırır: Shapiro –Wilk testi, Kolmogorov-Smirnov testi, Lilliefors testi ve Anderson-Darling testi. Sonuçlar, Shapiro-Wilk testinin, en güçlü normallik testi olduğunu, ardından Anderson-Darling testinin, Lilliefors testinin ve

Kolmogorov-Smirnov testinin geldiğini göstermektedir. Ancak, tüm dört testin gücü, az sayıdaki örnekler için hala düşüktür.

Sonah ve ark. (2011)'nin bu araştırmalarında tek çenekli (*Brachypodium*, süpürge darısı ve çeltik) ve iki çeneklilerde (*Arabidopsis*, *Medicago* ve *Populus*) mikrosatellit dağılımının bir genom çapında analizi gerçekleştirilmiştir. 6 bitki türünün tüm genom dizisinde 797863 basit dizi tekrarı (SSRs) tespit edilmiştir. Ayrıca, Mb başına 101 SSR markör frekansıya, e-PCR ile doğrulanan 22879 SSR markör seti geliştirilmiş ve ilk defa *Brachypodium*'daki farklı kromozomlarda haritalanmıştır. 55 markörün deneysel doğrulanması, 16 *Brachypodium* aksesyonunda SSR markörlerinin %80 oranında başarılı amplifikasyon göstermesini sağlamıştır. Bu genom çaplı markörlerin çevrimiçi bir veri tabanı "BraMi"(*Brachypodium* mikrosatellit markörleri) geliştirilmiş olup, araştırmacıların kullanımına açılmıştır.

Wolny ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada, 5 temel kromozom içeren bir diploid türü olan serin iklim tek yıllık buğdaygil olan *Brachypodium distachyon*'un, tipik olarak temel kromozom sayılarına 8 veya 9 olan diploidler ile birlikte çok yıllık ve çoğunlukla poliploid olan bu cinsin, diğer Avrasya türlerinden dikkat çekici bir şekilde farklı olduğunu belirlemişlerdir. Daha önce filojenler, *B. distachyon*'un 12 temel kromozom sayılı tropik buğdaygiller olan çeltik ile bir kromozom üzerinde geniş ölçüde gen dizilimini koruduklarını, *B. distachyon* cinsinin evriminde diğer türlerden erken ayrıldığını göstermiştir. Çalışmalarında, *B. distachyon*'un, çok yıllık Avrasya allopoliploidlerden herhangi birisinin bir bileşeni olarak görülmemesine rağmen, ata kökeninden tür arası melezleme içeren homoploid kökene sahip olabileceğinin kanıtını sunmuşlardır. Sitogenetik yaklaşımı kullanarak *Brachypodium*'daki disploidinin, basit bir geçiş izlemediğini göstermişlerdir.

Bragg ve ark. (2012), daha önce geliştirdikleri *Agrobacterium tumefaciens* aracılı yüksek verimli transformasyon protokolünü daha da geliştirerek 8,49 *Brachypodium* T-DNA hatları elde etmişlerdir. Mutantlarda DNA'yı çevreleyen ekleme alanlarını sekanslamak için ters PCR kullanmışlardır. FSTs (Flanking Sequence Tag-Çevreleyen Dizi Etiketleri) kullanarak *Brachypodium* genomunda 4402 T-DNA mutantını 5285 özel ekleme bölgesine (ISs) bağlamayı başarmışlardır. Bağlanan ISs'lerin %29'u birden fazla FSTs ile desteklenmiştir. T-DNA eklemeleri total genoma 19.3 ekleme/Mb ortalamasıyla yayılmıştır.

Catalán ve ark. (2012) bu disiplinler arası çalışmayı, üç sitotipin temsili örnekleri üzerinde evrimsel ilişkileriyle kökenlerini araştırmak ve ayrı türleri temsil edip etmediklerini izah etmek için yürütmüştür. 15 seçilmiş fenotipik özelliklerin istatistiksel analizleri, 36 hat veya popülasyondan bireyler için yapılmıştır. Sitogenetik analizler, flow sitometri, FISH, genomik GISH ve çoklu DNA dizi analizi problemleriyle ve CCP yoluyla gerçekleştirilmiştir. Filogenetik analizler, ayrılma zamanları ve evrimsel oranları hesaplanmış olan farklı *Brachypodium* soylarından iki plastide (ndhF, trnLF) ve beş nükleer (ITS, ETS, CAL, DGAT, GI) gene dayandırılmıştır. Bu çalışmadaki disiplinler arası yaklaşım, *B. distachyon*'un üç sitotipinin, tek bir türün değişkenlik aralığına düşen otopoliploid serisi ile ama daha çok her biri tür sınıfına bağlı iyice farklılaşmış üç takson ile uyuşmadığını açık bir şekilde kanıtlamıştır. Filogenetik analiz, $2n=20$ ve $2n=10$ sitotiplerin, sırasıyla $2n=30$ sitotip maternal ve paternal genom donörleri olan iki bağımsız soydan ortaya çıktığını kanıtlamıştır. $2n=20$ soyu, ve $2n=10$ soyundan ve bütün çok yıllık ana *Brachypodium* türlerden daha eskidir ve belirgin şekilde daha hızlı mutasyona uğramıştır. Sitogenetik ve moleküler veriler, iki diploit *B. distachyon* $2n=10$ ve $2n=20$ sitotiplerin, türetilen allotetraploid $2n=30$ sitotipin kökenine katılan farklı türleri gösterdiği yönünde hemfikirdir. Morfoanatomik veriler iki diploit arasındaki fenotik farklılıkları göstermiştir; elde edilen allotetraploid kendi fenotik niteliklerinden bazılarını korurken, bazılarını da ebeveynlerinden biriyle paylaşmaktadır. Üç *B. distachyon sensu lato* sitotipi arasında tespit edilen önemli fenotipik, sitogenetik ve moleküler farklılıklar, üç farklı türde taksonomik ayrışmalarını sağlayan bu kompleks içerisindeki ana türleşme süreçlerinin göstergesidir. $2n=10$ sitotipi için *B. distachyon* adı korunurken, iki yeni tür $2n=20$ ve $2n=30$ sitotipleri için sırasıyla *B. stacei* ve *B. hybridum* adları verilmiştir.

Ghasemi ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada; normallik varsayımın, geçerlilikleri ona bağlı olduğundan, çoğu istatistiksel işlemin, yani parametrik testlerin kontrolü için gerekli olduğunu bildirmişlerdir. Simetri (çarpıklık-skewness) ve sivrilik (basıklık-kurtosis) eksikliği, dağılımın normalden sapabileceği iki ana yoldur. Bu parametreler ile ilgili değerler, normal dağılımda sıfır olmalıdır. Bu değerler, z-skoruna dönüştürülebilir. Az sayıdaki örneklerde, 1.96'dan daha büyük veya daha küçük z-skoru değerleri, verilerin normalliğini oluşturmak için yeterlidir. Ancak küçük standart hataların olduğu çok geniş sayıdaki örneklerde (200 veya daha fazla), bu kriter, ± 2.58 olarak değiştirilmelidir ve çok büyük örneklerde hiçbir kriter uygulanmamalıdır (yani basıklık ve çarpıklık önem testleri kullanılmamalıdır). Ayrıca normallik için kullanılan en popüler testin, yani, Kolmogorov-Smirnov testinin, düşük

performansından dolayı artık kullanılmaması gerektiği sonucuna varmışlardır. Normalliğin hem görsellik hem normallik testleri yoluyla değerlendirilmesini tercih etmektedirler. Bu nedenle de SPSS paket programının sağladığı Shapiro-Wilk testi çok tavsiye edilmektedir.

Giraldo ve ark. (2012)'nin bu çalışması, üç *Brachypodium* türünün her birini karakterize etmek için standart sitotipleme yönteminin (yani kromozom sayımı ve flow sitometri) yerini alabilecek PCR-bazlı alternatif bir yaklaşım bulmak amacıyla yapılmıştır. Araştırmacılar, Balearic ve Kanarya Adaları dahil İspanya'daki çeşitli lokasyonlardan 83 *B. distachyon*-tipi hatlarını dört mikrosatellit (SSR) markörü ile birlikte analiz etmişlerdir. Hatların setleri içerisinde 64 tanesi 10, 4 tanesi 20 ve 15 tanesi 30 kromozoma sahiptir. İncelenen markörleri, sitotip-spesifik SSR profilleri oluşturmuştur. Bu yüzden tek bir amplifikasyon ürünü, $2n = 10$ ve $2n = 20$ sitotipleri arasında örtüşmeyen allelik aralıklarıyla diploid örneklerde oluşmuştur. Şöyle ki: biri, diploid sitotiplerin herbirinin büyüklüğü aralığında olmak üzere iki bant, $2n = 30$ hatlarında amplifikasyon göstermiştir. Ayrıca, SSR ALB165 ile birlikte elde edilen kayda değer boyut farklılığı, agaroz jel elektroforezi yoluyla *Brachypodium*'un tanımlanmasına izin vermiştir.

Guillon ve ark. (2012)'nin bu çalışması tahılların tane gelişimi ve dolumu için *Brachypodium distachyon*'un model bitki olarak kullanımını amaçlamıştır. Bd-21-3 aksesyonunun tane gelişimi süresince morfolojik, sitolojik ve protein, yağ, şeker, nişasta ve hücre duvarı analizi gibi biyokimyasal verilerde toplanarak değerlendirilmiştir. Bu çalışma, *Brachypodium*'un karyopsiste 3 temel gelişme döneminin oluşumunu ve *Brachypodium*'un tane gelişmesinin geniş olarak tarif edilmesini vurgulamaktadır. Morfogenez olarak adlandırılan ilk dönemde, embriyo fertilizasyondan sonra (DAF) yaklaşık olarak 18 günde hızlı olarak gelişmiştir. Aynı dönem boyunca endosperm gelişmiş, sonuç olarak tane hacminin % 80'i oluşmuştur. Olgunlaşma dönemi boyunca karbonhidratlar genel olarak endospermde sukrozdan nişastaya dönüşerek sürekli olarak depolanmıştır. B-glukanların büyük miktarı birikimde lokal varyasyonlar ile endospermde birikmiştir. İlgün biçimde diğer tahıllarla nazaran *Brachypodium*'da yeni b-glukanlar bulunmuştur. Proteinler (globulinler ve prolaminler gibi) 15 DAF tan yukarısında daha fazla miktarda bulunmuştur. Bu proteinler Pooideae'da genel olan, çeltikte de bulunan iki farklı alt hücre (sub-cellular) yapıda depolanmıştır. Gelişmenin son dönemleri boyunca, kuru madde oldukça sabit kalırken tane kurumuştur. *Brachypodium* tahıllara göre bazı önemli farklar sergilemektedir. Tane gelişimi boyunca beta-glukan birikir ve bu hücre duvarı polisakkariti nişastaya dönüşen temel depo karbonhidratıdır.

Li ve ark. (2012), tarımsal olarak önemli buğdaygiller için bir model tür olarak potansiyelinin daha iyi anlaşılabilmesi için *Brachypodium*'da IRIP (ice recrystallization inhibition protein) genleri, FST (fructosyltransferase) genleri ve pekçok CBF (C-repeat binding factor) genleri ailesinin evrimi ve korunması çalışmaları için karşılaştırmalı analizleri kullanmışlardır. *Brachypodium distachyon*, özel gen ailesi genişlemesi sayesinde evrimleşen soğuğa duyarlı IRIP genlerini içerir. *Brachypodium distachyon*'da CBF4 homologları genomda bulunmazken, geniş bir soğuğa toleranslı CBF3 alt familyası tespit edilmiştir. Frukattan akümülyasyonuna sebep olan düşük sıcaklık ve *B. distachyon*'da olmayan tipik ana Pooideae alt familyasındaki FST-motifleri kodlanmış FST gen homologları, ana Pooideae türlerinin ile kıyaslanan *B. distachyon*'da bariz bir şekilde farklı olmuştur. *B. distachyon*'un, başlıca Pooideae türlerinin düşük sıcaklığa toleransı için özel moleküler mekanizma için ilginç bir model olarak yararlanılabileceği sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte, düşük sıcaklığa toleransı içeren anahtar genlerin evrimleşme tarihinde başlıca Pooideae türleri ve *Brachypodium*'da farklı olmuştur. Bu farklılıklar, tarımsal olarak başlıca Pooideae türlerinde bütünsel çalışmalar için bir model olarak *B. distachyon*'un kullanımı sınırlamaktadır.

Lopez-Alvarez. (2012) bu yayında, tamamlayıcı plastid (trnLF) ve nükleer lokus (ITS, GI)'nin standart DNA sekanslarını kullanarak hızlı, doğru ve otomatikleştirilebilir tür tanıma yönteminden oluşan bir DNA barkodlama yaklaşımını tasarlamaktadır. Yüksek derecede homojen, fakat çok farklı *B. distachyon* ve *B. stacei* diploidleri, direk trnLF (% 2.4), ITS (% 5.5) veya GI (%3.8) sekans ayrışması kullanılarak kolay olarak ayırt edilebilmiştir (teşhiste % 100 başarı). Buna göre, *B. hybridum*, trnLF + ITS sekansları kombinasyonunun kullanımıyla (teşhis başarısı %90) veya allopoliploidinin bulunduğu iki ebeveyn sekansı arasında % 5.4 ve % 4 oranında sapma görülen klonlanmış GI sekanslarıyla (%96.7) açık olarak tanımlanabilmiştir. Onların sonuçlarına göre; bu veriler birbirlerine yakın olan bu türlerin birbirlerinden ayrılmasında tarafsız ve etkili bir barkodlama sağlamaktadır. Bu prosedür, model bitki ve onun bağlaşıklarının bazı yanlış sınıflandırılmalarıyla sonuçlanan morfolojik veya flow sitometri teşhisine bağlı olan metotlardan oluşan taksonomik belirsizliğin üstesinden gelinmesini sağlamaktadır. Onların çalışması, allotetraploid *B. hybridum* ya anne ya da baba ebeveynlerin rol oynadığı *B. distachyon* ve *B. stacei* bitkilerinin iki yönlü melezlenmesinden sonuçlandığını göstermiştir.

Manzaneda ve ark. (2012) araştırmalarında, İberya Yarımadası'nda kuraklığa eğilimli bölgelere dağılan 57 doğal popülasyonda serin iklim yıllık buğdaygillerden *Brachypodium distachyon*'un sitotip dağılımını incelemek için flow sitometri ve kök ucu

peltelerini (root-tip squashes) kullanmışlardır. Aynı zamanda çevresel kuraklık, ploidi ve kuraklık toleransının varyasyonu ve kuraklıktan kaçınma (Çiçeklenme zamanı) özellikleri arasındaki bağlantı incelenmiştir. Bu tür içerisinde diploidlerin ($2n=10$) ve allotetraploidlerin ($2n=30$) dağılımı, kuraklığa eğilimleriyle ilişkilendirilerek İberya Yarımadası üzerinde coğrafi olarak gösterilmiştir. Coğrafi ve yükseklik etkilerinin kontrol edilmesinden sonra kuraklık ile poliploidizasyon oluşumu arasındaki ilişki devam etmiştir. Su kullanım yeterliliği ploidi düzeylerinde değişiklik göstermektedir, tetraploidler su kullanımında kısıtlı suyla yetiştirme koşulları altındaki diploidlerden daha yeterli olmuşlardır. Sonuçlar, kuraklığın, sitotip segregasyonun olası adaptif kökenine işaret ederek, *B. distachyon*'da polidiploid oluşumunun önemli bir belirleyicisi olduğunu göstermiştir.

Tuna M. (2012) flow sitometriyi, süspansiyon halindeki hücre veya partiküllerin sıvı bir akış sistemi içerisinde tek tek geçerken optik özelliklerine göre analiz edildiği bir metot olarak tanımlamıştır. Verdiği bilgiye göre, ilk defa otomatik kan hücresi sayımı ve analizi cihazı başlıklı bir makaleyle 1956 yılında tıp camiasına duyurulmuştur. Önceleri sadece kan hücrelerinin analizinde kullanılırken, teknolojik gelişmeler ve yeni florasan boyaların geliştirilmesi ile tıp bilimi yanında yaşam bilimlerinde de vazgeçilmez bir araştırma yöntemi olmuştur. Flow sitometri bitki hücre ve organellerinin analizinde çeyrek asırdır kullanılmakta olup, her geçen gün yaygınlaşmaktadır. Ancak bitkilerde geniş kullanım potansiyeline sahip olmasına rağmen, bugüne kadar en sık çekirdek DNA analizinde kullanılmıştır. Çekirdek DNA içeriği hem bitkinin hücreleri arasında, hem de aynı türün farklı bireyleri arasında değişmeden sabit kalmakta ve bu nedenle türlere özel olmaktadır. Başlangıçta çekirdek DNA içeriği kimyasal analiz ve mikrodensitometri metotlarıyla belirlenmekteyken, flow sitometri yüksek hızı ve hassasiyeti nedeniyle çekirdek DNA analizlerinde tercih edilen metot olmuştur.

Emanuelli ve ark. (2013) yaptıkları bu çalışmada, yabani akrabası *V.vinifera* ssp. *sylvestris* ile türlerarası melez çeşit ve anaç olan kültürlenmiş asma *V.vinifera* ssp. *sativa*'nın 2.273 aksiyonundaki 22 ortak mikrosatellit lokus ve 384 tek nükleotid polimorfizmde (SNPs) moleküler çeşitlilik modellerini araştırmışlardır. Toplam germplasm koleksiyonundaki genetik çeşitlilik ortalaması, beklenen heterozigotlukla ölçülebildiği kadar, SSR lokuslarında (0,81) SNPs (0,34)'den daha yüksektir. Asma gen kaynağı koleksiyonundaki genetik yapı analizleri katmanlaşmanın bazı seviyelerini ortaya çıkarmıştır. Araştırmacıların elde ettikleri sonuçlar, genetik çeşitliliği ve popülasyon yapısını değerlendirmek için markör sistemlerinin

yeterli olduğunu, microsateellitlerin de çekirdek koleksiyonu oluşturmak için elverişli olduklarını ortaya koymuştur.

Harsant ve ark. (2013) çalışmalarında *Brachypodium distachyon*'un iki hattında (Bd21 ve Bd21-3) hasat indeksine (HI) katkı sağlayan morfolojik bileşenlerle HI'deki yüksek sıcaklığın etkisini araştırmıştır. 24°C'den 32°C'ye yükselen sıcaklık artışının sap sayısında azalmaya neden olduğu, ancak sap başına ek dal sayısı üzerinde bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir.

Huan ve ark. (2013) çalışmalarında, RNASeq, vernalize, post-vernalize ve vernalize olmayan *Brachypodium distachyon* (L.) Beauv. fidelerini transkripton analizi için kullanılmıştır. Toplamda 1,665 gen ekspresyonu, vernalizasyona bağlı olarak önemli değişiklikler göstermiştir. Bunlar arasında vernalizasyona sabit bir tepki veren 674 varsayılan vernalizasyon-bellek-ilişkili gen, transkriptonal düzenleme biyolojik sürecinde belirgin şekilde zenginleşmiştir. Sonuçta bu çalışma, *Brachypodium*'daki transkriptonal seviyede çeşitli varsayılan vernalizasyon-bellek-ilişkili geni tanımlarken; *Brachypodium* ve arpa arasındaki karşılaştırmalı analiz de, vernalizasyon belleği açısından bazı korunmuş ve türe özgü özellikleri tanımlamıştır. Elde ettikleri sonuçlar, *Brachypodium* vernalizasyon ilişkili genlerin muhtemelen dahil edildiği metabolik yolları kavramayı sağlamakta ve diğer ilişkili bitki türleri içerisinde gelecekteki fonksiyonel araştırma için yararlı ipuçları sağlayacak olan vernalizasyon düzenleme mekanizmasında *Brachypodium* ve arpa arasındaki çeşitli farklılıklarına işaret etmektedir.

Öney (2013)'in doktora tezinde, yeni bir model sistem olarak seçilen *Brachypodium distachyon* (L.) P. Beauv. (Poaceae) türünün ülkemizin doğal florasında yayılış gösteren 110 farklı lokasyonuna ait aksesyonları sitogenetik (nuklear genom büyüklüğü, ploidi düzeyi, mitotik kromozom sayısı) ve morfolojik açıdan (bitki boyu, gelişme formu, tohum boyu, kılçık uzunluğu, tek tohum ağırlığı, bin tane ağırlığı, başak ve başakçık sayısı) karakterize edilmiştir. Flow sitometrik analizlerin sonucu olarak, 110 farklı alandan toplanan *B. distachyon* populasyonlarının 77'sinin diploid, 33'ünün tetraploid olduğu belirlenmiştir. Diploid ekotiplerin 0.74 pg (2C) genom büyüklüğüne, tetraploid ekotiplerin ise 1.44 pg (2C) genom büyüklüğüne sahip oldukları tespit edilmiştir. Buna göre ploidi seviyesi belirlenmiş olan 77 diploid aksesyonun 6'sının polisomik (0.81-0.92 pg/2C), 33 tetraploid aksesyonun 15'inin ise hipoploid (1.01-1.26 pg/2C) olduğu sonucuna varılmıştır. Bu da çalışılan aksesyonların %70 oranında diploid olduklarını göstermektedir. Ayrıca toplanan aksesyonlar

deniz seviyesinden yükseklik artışının genom büyüklüğü ile ilişkisi dikkate alınarak değerlendirildiğinde 2C genom büyüklüğüne sahip diploid aksesyonlarda 0-300 m yüksekliğe kadar total genom miktarı yükseklik artışıyla pozitif bir korelasyon içerisindeyken 300 m yükseklikten sonra yükseklik artışına bağlı olarak total genom miktarının azaldığı tespit edilmiştir. 4C genom büyüklüğüne sahip tetraploid aksesyonlarda ise düzenli bir artış ya da azalış gözlenmemiştir. Yapılan morfolojik karakterizasyon sonucunda özellikle Akdeniz Bölgesinde yayılış gösteren diploid ekotiplerin kısa boylu (5-18 cm), cılız, çevresel koşullardan kolaylıkla etkilenebilen ve dik bir gelişme formuna sahip, başak eksenindeki tohumların dizilişi seyrek, açık sarı renkte, tohum boyları 6.11-8.54 mm aralığında, kılçık uzunlukları 6.82-14.41 mm aralığında, küçük yapılı, başak sayılarının 1-4 adet başakçık sayılarının 1-6 adet arasında değişiklik gösterdiği kaydedilmiştir. Tetraploid ekotiplerin ise bitki boyu diploid ekotiplerden 2-3 kat daha fazla (18-33 cm), dik, yarı yatık ve yatık formlarda, başakları dolgun, başak ve başakçık eksenindeki tohumların dizilişi kompakt ve sık, koyu kahverengi, 6.84-8.86 mm boy uzunluğuna sahip, kılçık uzunlukları 8.78-14.94 mm aralığında, tohumları iri görünümlü, başak sayılarının 1-4 adet, başakçık sayılarının ise 1-5 arasında değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışılan 1134 diploid ve tetraploid hattın 825 adedinde diskriminant analizi uygulandığında aksesyon içi ve aksesyonlar arasında 540 diploid bitkinin içerisinde 46 adedinin tetraploid bitki morfolojik özelliği gösterdiği, 285 tetraploid bitkinin 73 adedinin diploid bitki morfolojik karakter özellikleri gösterdiği Fisher'in doğrusal ayırma fonksiyonları kullanılarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmada moleküler ve morfolojik karakter özelliklerine göre diploid ve tetraploid bitkileri doğru ayırma başarısının %85.6 olduğu belirlenmiştir.

Trafford ve ark. (2013), *Brachypodium*, *Bromus* ve diğer Pooideae cinsleri arası tahıl kompozisyonundaki varyasyonun boyutunu incelemişlerdir. Nişastada varyasyona neden olan faktörleri, *B. distachyon* ve arpayı ekstrem tip örnekleri olarak kullanarak tahıllardaki β -glucan oranını, keşfetmişlerdir. Karbonhidrat metabolizma bulunan genlerin ekspresyonu ve içeriği ile kritik enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlar, bu türleri Poaceae için fonksiyonel bir model olarak kullanmaya çalışırken, tahıl gelişiminin olağandışı özellikleri ile *B. distachyon*'daki kompozisyonun dikkate alınması gerektiğini göstermiştir.

Zhang ve ark (2013) çalışmalarında, Yr26 lokusunu içeren kromozomal bölgelerini bombardıman edecek markör geliştirmek için buğdayın *Brachypodium distachyon* ve çeltiğe doğrudanlığı kullanılmış, 2341 F2 bitkilerinin bütünü ile Avocet S692R137'den elde edilen 551 F2:3 projenleri Yr26'nın iyi bir haritasını elde etmek için kullanılmıştır. C-1BL-6-0.32

delesyon bölmesine (delation-bin) yerleşmiş buğday ifade edilmiş dizi etiketleri (ESTs), dizisi etiketlenmiş alan (STS) markörleri geliştirmek için kullanılmıştır. Yr26'yı çevreleyen EST-STS markörleri çeltik ile *B. distachyon* genomlarının doğrudan bölgelemlerini belirlemek için kullanılmıştır. İki doğrudan bölgede önemli benzerlikleri olan buğday EST'leri Yr26'nın iyi haritalanması için korumalı markörler geliştirmek üzere seçilmiştir. Yr26 alanına 31 markör haritalanmış ve 6 tanesi direnç genleriyle birlikte ayrılmıştır. Markör düzenleri çeltik ile *B. distachyon* arasında yüksek seviyede muhafaza edilmiştir, ancak çeltikle buğday arasında bazı yeni düzenlemeler (alignment) de gözlemlenmiştir.

Barac ve ark. (2014), *Prunus*'da geliştirilen 26 basit dizi tekrarları (SSR) markörlerini kullanarak Sırbistan'dan toplanan kiraz türlerinin genetik çeşitliliğini araştırmışlardır. Bu materyal, *Prunus cerasus*, *Prunus avium*, *Prunus fruticosa*, *Prunus mahaleb* ve *Prunus serrulata* olmak üzere beş kiraz türünden gelen 77 kiraz aksesyonundan oluşmaktadır. *P. avium*, *P. cerasus*, *P. mahaleb* ve *P. serrulata*'dan oluşan dört türde 9 primer çiftiyle 16 benzersiz, belirli türlerde (species-specific), allel tespit edilmiştir. Temel bileşenler (PC) analizinde ilk iki bileşenden yararlanarak toplam gözlemlenen fenotipik çeşitliliğin %50'den fazlası açıklığa kavuşturulmuştur.

Catalán ve ark. (2014)'nın bu çalışması günümüze kadar yapılan *Brachypodium* araştırmalarının değişik yönlerini kısaca özetlemektedir. Birinci Uluslararası *Brachypodium* Konferansı'nda sunulan bilimsel bildirimleri *Brachypodium distachyon*'un bir model sistem olarak yaygınlaşmasının bir kanıtı olduğunu öne sürmektedirler. Ayrıca bildirimlerde çok geniş bir başlık yelpazesinin (genom evrimi, kökler, abiyotik ve biyotik stress, karşılaştırılmalı genomik, doğal çeşitlilik ve hücre duvarları gibi) bulunması, araştırmacılar topluluğunun kaynak geliştirmekten, biyolojik sorunlara, özellikle de buğdaygillere yönelik bir geçiş gerçekleştirdiğini ve kritik kitlesel bir araç elde ettiklerini belirtmektedirler.

Dell'Acqua ve ark. (2014) çalışmalarında *Brachypodium distachyon* türlerinin lokal gruplarında dizilemeli genotipleme (genotyping-by-sequencing) kullanımını rapor etmişlerdir. Popülasyon genetiği, landscape genomik ve genom ölçekli birlik çalışmalarından yararlanarak, çevresel *B. distachyon*'un rolünü adaptasyon içeren genomik lokusların tespit edilmesine yönelik doğal bir detektör olarak değerlendirmişlerdir. Bunu başarmak için *Brachypodium distachyon* bireyleri değişik ekolojileri ve 16697 SNPs karakterize edilmiş dokuz lokasyonda örneklenmiştir. Dizileme derinliğindeki varyasyonlar zenginleştirilmiş transpoze edilebilir elamanlardaki 8072 genomik depoda tutarlı desenler göstermiştir. İki

ilişkilendirme yöntemi ortaklaşa çevresel adaptasyonla önemli derecede ilişkili olan 15 gen dizisi tespit etmişlerdir.

Filiz ve ark. (2014) yaptıkları bu çalışmayla *Brachypodium*'da büyüme düzenleyici faktör (GRF) gen ailesinin ilk genom ölçekli analizini rapor etmişlerdir. Yapılarını, genomda duplikasyon, muhafaza edilen motifler ve filogenetik ilişkileri içerecek şekilde GRF genlerinin *in silico* karşılaştırmalı analizini gerçekleştirmişlerdir. Araştırma sonucunda, 10 BdGRF genleri tespit edilmiştir. Kromozom 1'de tespit edilen en yüksek GRF genleri 5 üyeli iken, en az gen 2, 4 ve 5 kromozomlarında (sadece 1 üye) bulunmuştur. Filogenetik analizler monokotil ve dikotillerin GRF proteinlerin birleşik ağaçta (joined tree) bir arada kümelendikleri ortaya çıkarılmıştır. Özellikle de monokotil türler yüksek bootstrap değeriyle aynı kümede gruplanmıştır.

Gordon ve ark. (2014), çalışmalarında polimorfizmin kapsamlı bir setini belirlemek ve gen ifadesiyle dağılım ve uyumlarını analiz etmek için altı farklı hattı dizilemişlerdir. Polimorfizmi belirlemek ve kalitelerini doğrulamak amacıyla birçok yöntem ve kontrol kullanılmıştır. Kontrol ve simule edilen kuraklık stres koşulları altında gerçekleştirilen mRNA-seq deneyinde genotip bağımlı kür tepkisiyle 300 gen tespit edilmiştir. Büyük ölçekli sekans değişkenlerinin, genotip bağımlı kür tepkisini içeren yüzlerce genin başkalaşmış gen ifadesiyle son derece yüksek düzeyde uyum gösterdiklerini rapor etmişlerdir. En değişken hatlar için derin bir mRNA veri seti ile *de nova* transkriptom topluluğu oluşturmuşlardır. Bu, referans genomlarda mevcut olmayan yüzlerce gen ve 2400 daha önce açıklanamayan transkriptin keşfine yol açmıştır. Ayrıca yaygın bir şekilde kullanılan kendilenmiş hatlar arasındaki sekans değişkenlerinin araştırılması ve görüntülenmesi için araştırmacılara açık bir veri tabanı oluşturmuşlardır.

Hammami ve ark. (2014) çalışmalarında, Akdeniz ve İber Yarımadası'ndan toplanan yabani buğdaygiller *Brachypodium distachyon* ($2n = 10$)'un 7, *stacei* ($2n = 20$)'nin 4 ve *B. hybridum* ($2n = 30$)'un 13 popülasyonunda mikrosatellit (SSR) ve inter-mikrosatellit (ISSR) markörleri kullanılarak genetik çeşitlilik araştırılmıştır. Analiz edilen 11 SSR markör, toplam 156 polimorfik fragman sağlamıştır. *B. hybridum* popülasyonları (98) *B. stacei* popülasyonlarından (87) fazla, *B. distachyon* popülasyonlarından (44) ise çok daha fazla fragman geri getirmiştir. Bazı fragmanların *B. distachyon* (%3.85), *B. stacei* (%27.56) veya *B. hybridum* (%18.58) popülasyonlarına özgü olduğu görülmüştür. 16 ISSR markörünün analizi benzer sonuçlar göstermiştir: *B. hybridum* popülasyonları *B. distachyon* veya *B. stacei*

popülasyonlarından daha fazla fragmanla geri dönmüştür. Bireyler, popülasyonlar ve türler arasındaki uzaklığa göre SSR ve ISSR fragmanlarının varlığı/yokluğu esasını ölçmeye dayalı yapılan moleküler varyans analizi, varyansların büyük çoğunluğun (%67) popülasyonlar arasında olduğunu göstermiştir. Bunu, %24 ile popülasyon içinde bireyler arasındaki ve son olarak %9 ile türler arası farklılık izlemektedir. UPMA tabanlı gruplaşma ve temel koordinat analizi aynı türlerin popülasyonlarına karşılık gelen üç grubun net bir şekilde ayrıştığını göstermiştir. Temel bileşenler analizi, içerilen kromozom sayısı, düşük molekül ağırlıklı guletinin alt üniteleri, en etkili iklimsel ve coğrafik faktörler de değerlendirilmiştir. Bu, *B. distachyon* ve *B. hybridum* popülasyonları arasındaki açık ayrımı ortaya çıkarmıştır. Akdenizlilik ve rakım indeksi birinci eksenle ilişkili olarak %70.56'lık toplam varyasyonla açıklanmıştır. *B. distachyon* formlarının kıta iç kesimlerde ve yüksek rakımlı alanlarda, *B. hybridum* formlarının ise, büyük miktarda yaz yağmuru alan bölgelerde bulduklarına ve düşük Akdenizlilik indeksine sahip olduğu yönünde bir eğilim görülmüştür.

Lv ve ark. (2014) çalışmalarında, transgenik ve mutant yaklaşımlar kullanarak *Brachypodium distachyon* ve poliploid buğday homologlarından Çiçeklenen Lokus T (FT)'yi karakterize etmişlerdir. Çalışmadan elde ettikleri sonuçlara göre: Vegetatif büyümeden reproduktatif büyüme fazına geçiş çiçeklenen bitkilerin yaşam döngüsünde en kritik dönemlerden birisidir. FT çoklu çiçeklenme yollarından gelen sinyalleri yapraklara entegre ederek ve sürgün apikal meristemlere ileterek bu geçişin düzenlenmesinde merkezi bir rol oynamaktadır. FT1'in aşırı ekspresyonu sürgün rejenerasyonu sırasında hem *Brachypodium* hem de hexaploid buğdayda çok erken çiçeklenmeye ve canlı tohum üretimi için gerekli olan vegetatif dokuda yetersizliğe neden olmaktadır.

Poiré ve ark. (2014) çalışmalarında, model buğdaygillerin (*Brachypodium distachyon* (L.) P. Beauv.), sürgün ve köklerinin klasik hasat ve görüntüleme tekniği kombinasyonlarını kullanarak azot ve fosfor beslemesine tepkilerini ölçmüşlerdir. Referans hattı Bd21-3, bir doz tepki eğrisi elde etmek için 11 fosfor ve 11 azot konsantrasyonu kullanan saksılarda yetiştirilmiştir. Sürgün biyohacmi ve biyokütlesi, kök boyu ve biyokütle, doku fosfor ve azot konsantrasyonu besleyici konsantrasyonlarla artmıştır. Görüntüleme ile ölçülen sürgün biyohacmi kuru ağırlıkla ($R^2 > 0.92$) yüksek seviyede korelasyon göstermiş, hem biyohacim hem de büyüme oranı besin elverişliliğine güçlü tepki vermiştir. Matematiksel modellemeyle eşleştirilmiş görüntü tabanlı bir zaman dizisi yaklaşımının besin arzına yönelik genotipik tepkisinin geleneksel hasat tekniklerinden daha yüksek çözünürlüğünü sağlamak ve üstün

beslenme kullanım verimiyle ilişkili genomik bölgelerin belirlenmesi ve yüksek verimli tarama için umut vermektedir.

Savaş Tuna, G. (2014) Doktora tezinde NKÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü *Brachypodium* koleksiyonunda bulunan ve Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış 59 aksesyonu materyal olarak kullanılmıştır. Flow sitometri ile yapılan çekirdek DNA analizleri sonucunda 48 aksesyonun *B. distachyon*, 11 aksesyonun ise *B. hybridum* olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, koleksiyonu oluşturan aksesyonlar morfolojik ve moleküler yöntemler ile analiz edilerek mevcut genetik çeşitlilik belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla yapılan morfolojik karakterizasyonda 17 morfolojik özellik incelenmiştir. Bu inceleme sonucunda; aksesyonların bitki boylarının 24.7 cm, bayrak yaprak ayası boyunun 5.6 cm, bayrak yaprak ayası eninin 4.5 mm, biyokütlenin (kök hariç) 4.5, g başaklı sap sayısının 34 adet, başaksız sap sayısının 4 adet, bitki başına başakçık sayısının 111 adet, bitki başına tohum sayısının 372 tohum/bitki, bitkilerin sahip olduğu tohum ağırlığının 1.95 g ve bin tane ağırlığının 5.12 g olduğu belirlenmiştir. Ayrıca tohumların çimlenme süresinin 15 gün, bitkilerin başak çıkarma süresinin 125 gün ve çiçeklenme süresinin 136 gün olduğu tespit edilmiştir. Bitkilerin genel olarak yeşil renkte, tüylü yapıda ve dik formda olduğu, ancak bazı aksesyonlarda yatık ve yarı dik formların da bulunduğu belirlenmiştir. 32 *B. distachyon* aksesyonuna ait 142 birey ile 11 SSR primeri kullanılarak yapılan çalışmada 99 allel saptanmıştır. Primer başına allel sayısının 3-15 arasında değiştiği, belirlenen bölgelere göre ortalama allel sayısının 1. Bölge'de 13.67 allel/bölge, 2. Bölge'de ise 11 allel/bölge olduğu görülmüştür. Çalışmada polimorfizm oranının %100, allelik zenginliğin (N_A) 6.302, gen çeşitliliğinin 0.645, gözlenen (H_0) ve beklenen (H_e) heterozigotluk düzeylerinin ise sırası ile 0.0116- 0.0366 ve 0.4111 – 0.8645 değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır. Rakım, çekirdek DNA içeriği ve morfolojik özellikler arasında korelasyon analizi yapılmış çok sayıda negatif ve pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Ayrıca çekirdek DNA içeriği ile rakımın morfolojik özellikler üzerindeki etkilerini belirleyebilmek için çoklu doğrusal regresyon analizi yapılmıştır. Bu analize göre; DNA miktarı arttıkça bayrak yaprak eni ve boyu, tohum ağırlığı, bin tane ağırlığı, bitkideki tüylülük derecesi azalırken; çimlenme, başaklanma ve çiçeklenme sürelerinin arttığı görülmüştür. Rakım arttıkça başaklı sap sayısının arttığı, çekirdek DNA içeriğinin ise azaldığı belirlenmiştir.

Tyler ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada, geniş kendilenmiş hatlar koleksiyonunda fenotipik çeşitliliği incelemişler ve daha sonra biyoyakıt ve tahıl olarak buğdaygillerin kullanımıyla ilgili özelliklere bir vurgu yaparak, daha detaylı analiz için hatların ana

koleksiyonunu seçmişlerdir. İncelenen fenotipik karakterlerin bazıları, bitki boyu, büyüme şekli, sap yoğunluğu, çiçeklenme zamanı ve tohum ağırlığını içermektedir. Ayrıca NIR (Near Infrared Spectroscopy) ve CoMPP (Comprehensive Microarray Polymer Profiling) kullanarak hücre duvarı bileşimindeki farklılıkları incelemişlerdir. Bütün örneklerde, sap yoğunluğunda iki kat ve tohum hacminin 1.7 katı içeren geniş bir doğal varyasyon gözlemlenmiştir. Bu deneydeki maksimum boy, tüm hatlar boyunca 45 cm aralıkla Bd21 için 28 cm'den Adi-6 ve BdTR3e için 60 cm'ye kadar iki kattan fazla değişiklik göstermiştir. Maksimum 32 cm boyunda olan Bd21, Bd21-3 gibi hatlar, nispeten kısadır. Tüm üç tohum özelliklerinde oldukça belirgin varyasyon gözlemlenmiştir. Tohumun eni 1.3 ila 1.6 mm aralığında, boyu 7.6 ila 9.4 mm aralığında ve kütlesi 3.5 ila 5.9 mg/tohum aralığında olmuştur.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Yunanistan'da *Brachypodium* spp.'in toplanması

Akdeniz ile çevrili ve Güneydoğu Avrupa'da yer alan Yunanistan anakarası, Balkanların güneyinde yarımada şeklinde denize uzanır ve en yüksek noktası 2.917m olan Olimpos dağının bulunduğu Peloponnesos yarımadası ile bitmektedir. Kıyı şeridi son derece girintili çıkıntılı ve de çok fazla adaya (200'den fazlasında yaşam olan) sahip olduğu için, 13.676km ile dünyanın 11. en uzun sahil şeridinde sahip ülkesidir. Ülkenin kara sınırlarının uzunluğu 1.160km'dir. Yunanistan, 34° ve 42° kuzey enlemleri ve 19° ve 30° doğu boylamları arasında yer almaktadır. Ülkenin toplam yüzölçümü 131.957 km²'dir.

Brachypodium spp. bitkisi (bundan böyle *Brachypodium*), 2012 yılının Haziran ve Eylül ayları arasında Yunanistan anakarası ve adalarının 60 farklı bölgesinden toplanmıştır. Yunanistan *B. distachyon* türünün anavatanı içinde bulunmasına rağmen; bu, türün Yunanistan'ın her yerinde çok yaygın olarak bulunduğu anlamına gelmemektedir. Doğal popülasyonların orijinal yapısını korumak için, tür örnekleri Hawkes (1980) metodu izlenerek rastgele toplanmıştır. Dikkat edilen tek kriter, özellikle anakarada örnek alınan lokasyonlar arasında minimum 40km'lik bir yol mesafesinin bulunması olmuştur. Ayrıca kolay erişilebilir 5 ada seçilerek, 10 lokasyondan örnekler toplanmıştır.

Lokasyonlarda *Brachypodium* bitki popülasyonu bulunduğu zaman, rastgele 20 adet bitkiden tohumlar toplanmış ve bu tohumlar ayrı ayrı plastik torbalara konulmuştur. Toplam olarak yaklaşık 1.200 adet farklı *Brachypodium* bitkisi toplanmış ve kullanılına kadar bunlar derin dondurucuda (-20°C) saklanmıştır. Ayrıca, lokasyonların betimlemesini yapabilmek için, örneklerin toplandığı yerlerin ve bitkilerin doğal hallerinin (*in situ*) fotoğrafları da çekilmiştir (Şekil 3.1). Örnekleme lokasyonlarının koordinatları ve yükseklikleri GPS aygıtı ile kaydedilmiştir.



Şekil 3.1. Adriani'deki Adri popülasyonunun toplandığı alanın fotoğrafı (Kod no: 48, ölçü birimi: cm)

3.2. Koleksiyon Lokasyonlarına İlişkin Bilgiler

Örneklerin toplandığı lokasyonlar hakkında elde edilen bilgiler, sonraki çalışmalara yardımcı olması için ve Genetik Kaynak Bankalarına bitkisel malzeme olarak gönderilmek üzere Microsoft Access (Şekil 3.2) ile oluşturulan bir veritabanında depolanmıştır. Böylelikle isteyen her araştırmacı örneklerin toplandığı bölgeler ile ilgili ihtiyaç duyduğu bilgilere, özellikle de fotoğraf galerisinden ulaşabilmeleri sağlanacaktır.

Collection Locations of *Brachypodium* spp. from Greece

Code Number: 1

Population's Name: Gera

Prefecture: RETHYMNIS

Region: Gerani

Latitude (N): 35.21.584

Longitude (E): 024.23.352

Altitude (m): 3

Photos:

Comments: Near to the sea, less vegetation, grown on rocks.

Collection Date: 28-Jun-12

Record: 1 of 60 | No Filter | Search

Şekil 3.2. Bitki toplanan lokasyon bilgilerinden Microsoft Access'te oluşturulan veri tabanından bir görünüm

Örneklerin toplandığı her bölge ile ilgili bilgiler EK 2 olarak çalışmanın ekler bölümüne konulmuştur. Sonuçların analizi esnasında popülasyon isimlerinin kullanılmasına imkan vermeyen bazı programlarda, isim yerine bölgelerin kod numaraları kullanılmıştır. GPS cihazından alınan koordinatlar derece:dakika formatında yazılmıştır. Rakım, deniz seviyesinden yükseklik olup metre cinsindedir (bundan böyle metre). Tarih gün-ay-yıl formatındadır. Sayıların popülasyon kodlarına karşılık geldiği WGS 1984 (World Geodetic System) tabanlı oluşturulan *Brachypodium* popülasyon örneklerinin toplandığı 60 lokasyonun haritası (Şekil 3.3)' de görülmektedir. Örnekleme bölgelerinin rakımı 0 ve 1.000 m aralığındadır.



Şekil 3.3. *Brachypodium* spp.'in Yunanistan'da toplandığı bölgelerin WGS 1984 Geographic Coordinate System tabanlı oluşturulan haritası

3.3. Bitki Materyali ve Deneme Aşamaları

Daha önce de belirtildiği gibi, örnekler 60 farklı lokasyondan toplanmıştır. Daha sonra deneme aşamasında bitkilerin flow sitometride PI ve DAPI (4,6 diamino-2-phenylindole) metoduyla türleri belirlenmiştir. Aynı lokasyon orijinli bitkiler doğal bir popülasyon oluşturmaktadır (bundan böyle popülasyon). Aynı bölgeden birden fazla tür toplandığında, artık simpatrik popülasyonlar söz konusudur. Örneğin Gera popülasyonu (Numara 1) *B. distachyon* ve *B. hybridum* simpatrik popülasyonlarından oluşmaktadır, çünkü her iki türün bireyleri de aynı lokasyondan toplanmıştır. Her bir popülasyona bir isim ve kod numarası verilmiştir. Örnekler, popülasyonun kod numarası ile isimlendirilmiş olup, kod numarasını nokta ve 1 ile 10 arasındaki sayılar izlemektedir (Örneğin 1.7 kod numarası, birinci popülasyonun yedinci bitkisi anlamındadır). Ayrıca sonuçlar verilirken bireylere ait oldukları popülasyona atfen, popülasyon ismi verilip, bunu tire işareti ve numara takip etmektedir (böylece örneğin 1.7 kod numarası, Gera-7 bireyini göstermektedir). Bu çalışmada kullanılmak üzere, Yunanistan'da toplanan bütün koleksiyonun her popülasyonundan (toplam olarak 600) rastgele 10'ar bitki seçilmiştir.

Ayrıca bu çalışmada kontrol olarak kullanılmak üzere (large) büyük T-DNA (transfer-DNA) sayısı ile kendilenmiş bir aksesyon olan (Vogel J and Hill T, 2008) Bd21-3 aksesyonu ve İspanya/UPM'de bulunan ve Bayan P. Giraldo tarafından sağlanan 8 aksesyon dahil edilmiştir (EK 3) (Giraldo, 2012). Bundan başka 2010'da IBI (Uluslararası *Brachypodium* Girişimi) tarafından tam gen dizi analizi yayınlanan Bd21 (*B. distachyon*) (IBI, 2010), Prof. Dr. Metin Tuna tarafından toplanan Türkiye orijinli Koz-3 (Vogel, 2009), ABR113 (*B. hybridum*) ve ABR114 (*B. stacei*) aksesyonları sadece genetik karakterizasyon işlemlerinde kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Bd21, Koz-3, ABR113 ve ABR114 kontrol aksesyonları Dr. J.P. Vogel tarafından sağlanmıştır.

Örnek toplama işleminden sonra, çalışmanın deneysel süreçleri üç ana bölümden oluşmaktadır. Bunlar, NKÜ Ziraat Fakültesi serasında yetiştirilen üç türün fenotipik karakterizasyonu, NKÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümündeki Bitki Sitogenetik Laboratuvarında sitogenetik analizlerin gerçekleştirilmesi ve çekirdek DNA içeriğinin tayin edilmesi ve USDA WA/USA (Birleşik Devletler Tarım Bakanlığı Washington Eyaleti) Genotipleme Laboratuvarında gerçekleştirilen genetik karakterizasyonlardır. Aşağıdaki Çizelge 3.1'de deneysel süreçlerin üç bölümünde kullanılan her bir tür ve her bir tür içinde kullanılan bitki sayısı verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmamızın bütün bölümlerinde kullanılan her tür ve her bir türdeki bireylerin sayısı

Türlerin Bireyleri	Fenotipik Karakterizasyon	Çekirdek DNA İçeriği Tespiti	Genetik Karakterizasyon
<i>Brachypodium distachyon</i>	307	307	122
<i>Brachypodium hybridum</i>	278	159	51
<i>Brachypodium stacei</i>	18	18	19
Toplam	603	484	192

Çalışılan bireylerin tamamı kod numaraları ile birlikte, türler ve çalışmaya dahil edilen bölümler EK 1’ de verilmiştir. Bazı durumlarda, analizler popülasyon düzeyinde yapılmıştır. Çizelge 3.2.’de çalışmanın her evresinde kullanılan popülasyonlar ve bireylerin tür karşılıkları verilmiştir. Çalışma esas olarak model bitki olan *B. distachyon* üzerine odaklı olduğundan, analizlerde bu türe ağırlık verilmiş; diğer türler ise mümkün olduğunca imkanlar ölçüsünde analizlere dahil edilmiştir.

Çizelge 3.2. Bu çalışmanın üç bölümünde kullanılan her bir türde yer alan popülasyon sayısı

Türlerin popülasyonları	Fenotipik Karakterizasyon	Çekirdek DNA İçeriği Tespiti	Genetik Karakterizasyon
<i>Brachypodium distachyon</i>	31	31	31
<i>Brachypodium hybridum</i>	26	13	10
<i>Brachypodium stacei</i>	3	3	4
Simpatirik <i>B. distachyon</i> & <i>B. hybridum</i>	6	6	6
Simpatirik <i>B. hybridum</i> & <i>B. stacei</i>	3	3	3
Toplam	69	56	54

3.4. Tohum Ekimi ve Bitki Yetiştirme Koşulları

Yunan koleksiyonundan seçilen 600 tohum ve bunlara ilave edilen dokuz kontrol tohumu, 15 Kasım 2012 tarihinde 7x10 boyutlarındaki viyollere ekilmiştir. Bd21-3 (12 tekerrürlü), AL1.1 ve AL5.2 (2 tekerrürlü, sınırlı sayıda tohumun olması nedeniyle) hariç

diğer her birey üç tekerrürlü olarak ekilmiştir. Tohumların çimlenmeme olasılığını dikkate alarak, kayıpları önlemek amacıyla her viyol gözüne iki adet tohum ekilmiştir. Çıkış yapan fidelerde seyreltme yapılarak her viyolde bir adet bitki bırakılmıştır (Şekil 3.4). Viyol gözlerinin dolgusu, üç birim torf ve bir birim perlit topraksız karışımından oluşmaktadır. İhtiyaç oldukça sulama yapılmıştır. Yaklaşık olarak 2 ay sonra haftada bir kez gübre vermeye başlanmıştır (N/P/K=135/58/112 mg/L, Varış 2002) Bitkiler NKÜ Ziraat Fakültesi'nin cam serasında, kontrolsüz koşullarda yetiştirilmiştir. Çıkış tohumların ekiminden 6 gün sonra başlamış ve 12 gün içinde tamamlanmıştır. Fideler yeterince güçlendiğinde, yaklaşık ekim işleminden 1,5 ay kadar sonra, flow sitometri analizi ve DNA içeriğinin belirlenmesi için örnekler alınmıştır.



Şekil 3.4. *Brachypodium* aksesyonlarının viyollerde filizlenmesi. Fotoğraf 22 Kasım 2013'te çekilmiştir

Fideler 25 Şubat 2013 tarihinde 7cm x7cm boyutlarında ve içinde 5 birim torf, 1 birim perlitten oluşan karışımli saksılara (220 cm³ hacimli) nakledilmiştir (Şekil 3.5 ve Şekil 3.6). Bu nakil işleminden sonra, *B. stacei* türleri başaklanmaya başladığı için bitkiler her gün gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, bazı bitki kayıplarından sonra, 1784 bitki (603 bireye karşılık gelen) yetiştirilmiş olup, bu bitkiler çiçeklenmiş ve olgun tohumlar vermiştir. Bölüm 3.5.1.'de açıklanmış olan fenotipik özelliklerin ölçümü için kullanılmıştır.



Şekil 3.5. Serada şaşırtma işlemi sonrası *Brachypodium* spp. bitkilerinin yetiştirilmesi



Şekil 3.6. Serada şaşırtma işlemi sonrası *Brachypodium* spp. bitkilerinin yetiştirilmesi

Yukarıda bahsedilen genetik analizler için doku hasatı, ABD Washington State Üniversitesi Buğday Araştırma Tesisleri'nde gerçekleştirilmiştir. Seçilen tohumlar, SS5 (sfagnum yosunu torfu 70-80: bahçelik perlit 20-30 oranında) topraksız karışımı 48'lik viyollere 5 Eylül 2013 tarihinde ekilmiştir. Her bir viyol gözüne iki adet tohum ekilmiştir ve daha sonra seyreltme işlemi yapılmıştır. Viyollerdeki bitkiler ilk önce iki hafta filizlendirme

odasında (sıcaklığı, 14 saatlik gündüz süresince 22 °C ve 10 saatlik gece süresince 15 °C olan) inkübe edilmiştir. 20 Eylülde filizlenme tamamlandıktan sonra filizlenen bitkiler, hızlı büyümeleri için başka bir yetiştirme odasına (sıcaklığı, 16 saatlik gündüz süresince 24 °C ve 8 saatlik gece süresince 18 °C olan) alınmıştır. 44.4, 47.1, 47.6, 51.7, 55.7 ve 59.4 bireyleri hariç, neredeyse bütün tohumlarda fide çıkışı gerçekleşmiştir. Yaklaşık olarak bir ay sonra bütün fideler DNA örnekleri alınabilecek kadar büyümüş olup, olgunlaşana kadar serada tutulmuşlardır.

3.5. Fenotipik Karakterizasyon

3.5.1. Ölçülen Bitkisel Karakteristikler

Doğal popülasyonların morfometrik analizleri aşağıdaki beş kronolojik sıraya göre gerçekleştirilmiştir:

1. Çimlenme ve filizlenme sırasında
2. Başaklanma dönemi sırasında
3. Vegetasyon döneminin tamamlanmasından sonra
4. Bitki hasatı sırasında
5. Hasat sonrası ölçümler

Aynı popülasyondaki bireylerin her bir karakteristik ölçümleri, üç tekerrüleriyle beraber aynı günde gerçekleştirilmiştir. Fenotipik karakterizasyon için tüm bitkilerde 16 farklı morfo-anatomik ve fizyolojik ölçüm gerçekleştirilmiştir. Bundan böyle bu ölçümler fenotipik karakterizasyon olarak anılacaktır. Bu karakteristiklere ait ölçüm yöntemleri şunlardır:

Fide çıkışı

Ekim sonrası her gün gözlem yapılarak, toprak üzerinde ilk çıkışın gerçekleşmesi, filizlenme oluşum günü olarak kaydedilmiştir. Ancak filizlenme oluşum günü değerlendirilmeye alınmamıştır, çünkü uygulama sırasında oluşabilecek deneysel hata farklılaşmasını kapatılması (üstesinden gelinmesi), her birey için daha fazla tekerrür gerektirmektedir.

Başaklanma

Her sabah, her bireyin tüm tekerrürleri gözlemlendi. Bitkinin ilk başak kılıçığının ortaya çıktığı zaman, başak oluşum günü olarak kaydedilmiştir. Başaklanma süresi; 26/02/2013'ten 05/05/2013'e kadar, yaklaşık 70 gündür. Bundan böyle bu karakteristik başaklanma olarak

anılabacaktır. Başaklanma değeri, bitkinin ekiminden ilk başak oluşumuna kadar geçen süredeki günlerin sayısıdır.

Sap sayısı

Vegetasyon dönemi tamamlandıktan sonra her bireyin sap sayısı sayılmıştır (bundan böyle Saplar/adet).

Boğum sayısı

Vegetasyon dönemi tamamlandıktan sonra her bireyin en uzun sapındaki boğum sayısı sayılmıştır (bundan böyle Boğumlar/adet).

Bitki boyu

Vegetasyon dönemi tamamlandıktan sonra her bireyin bitki boyu, tacından başak kılıçklarının ucuna kadar ölçülmüştür (bundan böyle Boy/cm).

Salkım boyu

Bitkinin tam olarak çiçeklenmesi sonrası her bireyin en uzun sapının salkımı ölçülmüştür (bundan böyle Salkım/cm).

Salkımlı sap sayısı

Bitkinin tam olarak çiçeklenmesi sonrası üzerinde salkım bulduran sayılmıştır saplar (bundan böyle Salkımlı saplar/adet).

Başakçık sayısı

Bitkinin tam olarak çiçeklenmesi sonrası en uzun sap salkımındaki başakçıklar sayılmıştır (bundan böyle Başakçıklar/adet).

Bayrak Yaprak Boyu (BYB)

Vegetasyon dönemi tamamlandıktan sonra en uzun saptaki bayrak yaprak boyu ölçülmüştür (bundan böyle BYB/cm).

Bayrak Yaprak Eni (BYE)

Vegetasyon dönemi tamamlandıktan sonra en uzun saptaki bayrak yaprak eni boyun 2/3'de ölçülmüştür (bundan böyle BYE/cm).

Bayrak Yaprak Alanı (BYA)

Her bireyin en uzun sapındaki bayrak yaprak alanı (bundan böyle BYA/cm²) BYB x BYE x 0.75 formülüne göre hesaplanmıştır (Mokhtarpour 2010, Farouk 2011).

Biyokütle

Bitkiler hasat edilirken her bireyin tohumlarla birlikte toprak üstü biyokütlesi ölçülmüştür (bundan böyle biyokütle/gr).

Tohum ağırlığı

Bitkiler hasat edildikten sonra her bireyin toplam tohum ağırlığı tartılarak ölçülmüştür. Her bireyden toplanan tohumlar ayrı bir bir kâğıt kâseye konulmuştur (bundan böyle Tohum ağırlığı/gr).

Vegetatif biyokütle

Vegetatif biyokütle, her bireyin toprak üstü biyokütlesinden toplam tohum ağırlığı çıkarılarak hesaplanmıştır (bundan sonra Vegetatif biyokütle/gr).

Tohum verimi

Her bitkiden elde edilen toplam tohum içinden rast gele 50 tohum seçilerek ağırlıkları ölçülmüştür. Birey başına tohum verimi (bundan böyle Tohum verimi/adet) şu formüle göre hesaplanmıştır: $(\text{Toplam tohum ağırlığı}/50 \text{ tohum ağırlığı}) \times 50$.

Bin tane ağırlığı

Her birey için bin tane ağırlığı (bundan böyle BTA/gr) şu formüle göre hesaplanmıştır: $50 \text{ tohum ağırlığı} \times 20$.

3.5.2. İstatistik Analizleri

Fenotipik verilerin istatistiksel analizleri SPSS (IBM SPSS Statistics 20) ve Past3.02 (Hammer, 2001) programlarında yapılmıştır. Bu verilerin hem parametrik hem de non-parametrik analizleri, parametrik testlerdeki varsayımların sağlanıp (satisfy) sağlanmamasına bağlı olarak gerçekleştirilmiştir. Varyans analizi veya ANOVA testi, ayrıştırma (discriminant) testi, doğrusal regrasyon (linear regression), Pearson korelasyonu, F-testi ve t-testi gibi birçok parametrik istatistiksel yöntemlerin, bağımlı değişkenin yaklaşık olarak her bir bağımsız değişken kategorisine dağıtılmasını ve varyansların homojen olmasını gerektirir (Ghasemi, 2012). Bu varsayımların sağlanıp sağlanmadığını kontrol etmek için çeşitli yollar vardır. Bunlardan bazıları, histogramların kontrol edilmesi, normal Q-Q diyagramları ve kutu diyagramları, çarpıklık ve basıklık z değerlerinin (-1.96 ile +1.96 aralığında olmalı) hesaplanması, Shapiro-Wilk ve Kolmogorov-Smirnov testlerinde p değerinin 0.05'in üzerinde olup olmadığının kontrol edilmesidir. Bazı araştırmacılar Kolmogorov-Smirnov testlerinin

güvenilir olmadığını düşünmektedirler (Ghasemi, 2012, Razali, 2011). Ancak değerlerin küçük bir aralıkta olması durumunda Shapiro-Wilk testi de iyi bir performans göstermemektedir. Diğer araştırmacılar, tahminlerde küçük bir sapma olmasına rağmen parametrik testlere parametrik olmayanlardan daha fazla güvenmektedirler (Schmider, 2010).

Bu çalışmada, bağımsız değişkenler türler veya popülasyonlardır. Bağımlı değişkenler ise fenotipik karakteristiklerin değerleridir. Bu nedenle, ilk olarak parametrik test tahminleri ile elde edilen verilerin sağlanıp sağlanmadığı kontrol edilmiş olup, sonuçlar sağlanmış ise parametrik testler kullanılmıştır (MANOVA, ANOVA, Pearson correlation, GLM); Diğer durumlarda ise, Kruskal-Wallis, Wilcoxon ve ki-kare (chi-square) gibi parametrik olmayan testler kullanılmıştır. Bazı durumlarda ise sonuçların karşılaştırılması için her iki kategorideki testler yapılmıştır.

3.5.3. Tanımlayıcı istatistikler

Ortalama, minimum, maksimum, standart sapma, varyans, çarpıklık ve basıklık gibi ortak tanımlayıcı istatistiksel parametreler, standart hatalarıyla birlikte, her türde her fenotipik karakter için ayrı ayrı SPSS 20 istatistik programıyla hesaplanmıştır. Hesaplamalar sonucunda, üç türün her bir fenotipik karakterle beraber kutu diyagramları oluşturulmuştur. Verilerin grafiksel olarak gösterildiği kutu diyagramda, orta siyah çizgi medyan (1), gölgeli bölge değerlerin %50'lik kısmının bulunduğu alan (2), gölgeli bölgenin üstünde uzanan çizgiler %25'lik kısmın üst (upper quartile) ve alt (lower quartile) sınırları (3), kutu diyagramın altında ve üstündeki yatay çizgiler en küçük ve en büyük değerler (aykırı olmayan) (4) ve sınır dışında olan değerler (5) verilmiştir. Kutu diyagramlar hem “orta” hem de “aşırı” aykırı değerleri göstermektedir. Çeyrekler arası aralık (IQR), değerlerin %50'sini kapsar ve genellikle sınırlar dışına çıkan düşük ve yüksek değerleri bulmak için kullanılır. Orta aykırı değerler, diğer değerlerin $1.5 \times IQR$ katından büyük değerlerdir ve boş noktalarla gösterilmiştir. Aşırı aykırı değerler ise, diğer değerlerin $3 \times IQR$ katından büyük değerlerdir ve yıldız ile gösterilmiştir.

3.5.4. Parametrik testler

Çok değişkenli varyans analizi (MANOVA), bir kaç grubun popülasyon ortalamalarını karşılaştırmak için kullanılan istatistiksel test yöntemidir. Bu yöntem iki ya da daha fazla bağımlı değişken varsa kullanılmaktadır. Her bir bağımlı değişkenin istatistiki önemini test etmek için bireysel p (olasılık) değerlerini sağlamaktadır. Aslında MANOVA bir kaç

değişkenli ANOVA testidir. Ancak, ANOVA'ya göre bazı üstünlükleri vardır. Birincisi, tek bir uygulamada bir kaç bağımsız değişkenin ölçümünde gerçekten önemli olan faktörün daha iyi tespit edilmesi şansı vardır. İkincisi, çoklu ANOVA bağımsız olarak yürütülürse, oluşabilecek Tip-I hatalarına karşı koruma sağlar. Ek olarak, ANOVA testlerinde tespit edilemeyen farklılıkları da ortaya çıkartılabilir.

MANOVA testinde de ANOVA testinde olduğu gibi gruplar içindeki bağımlı değişkenlerin normal dağılım gösterdikleri kabul edilmektedir. Daha da önemlisi, çarpıklık (skewness) ve aykırı değerler nedeniyle normal olmayan bir dağılım söz konusu olduğunda, dağılımın normal olup olmadığını kontrol etmek için F testi en uygun yöntemdir. MANOVA testi çizelgenin her bir gözündeki (cell) bütün bağımlı değişken, ortak değişken (covariate) ve bütün bağımlı değişken-ortak değişken çiftleri arasında doğrusal bir ilişki olduğunu varsaymaktadır. Bu yüzden ilişki, doğrusallıktan saptığında analizin gücü riske girecektir. Varyans ve kovaryans homojenliği gerekmektedir.

Parametrik testlerden önce, verilerin gerekli kabullenmelere uygun olup olmadığı kontrol edilmiştir. EK 16'de verilen Q-Q eğrileri (plot), *B. stacei* türünde bazı küçük numunelerden kaynaklanan istisnalar dışında, verilerin normal dağılıma sahip olduğunu göstermektedir. Shapiro-Wilk testi null hipotezinin rejeksiyonunu vermektedir ki, bu çok örnekli durumlarda yaygın bir durumdur (Razali, 2011, sonuçlar sunulmamıştır). Çizelge 4.1, Çizelge 4.2, Çizelge 4.3'de skewness (çarpıklık) ve kurtosis (basıklık) değerleri verilmiştir. Bazı satırlarda limit değerler aşılsa da yeni bir yaklaşımlara göre bu sapmaların parametrik testler için kabul edilebilir olduğunu söylemek mümkündür (Schmider, 2010).

Ancak aykırı değerlerin varsayımların üzerinde olması, düşüncemize göre olası problemlerden biridir. Sapmaları elemine etmek için farklı transformasyon yöntemleri (z-değeri, log ve ln transformasyonları) kullanılmıştır; ancak başarı sağlanamamıştır. Bu yüzden MANOVA analizinin yapılmasına ve sonuçların Wilks'in λ değerinden daha güçlü ve ortak değer matrisindeki sapmaların aşılmasına daha az duyarlı olan Pillai iz kriterleri ile yorumlanmasına karar verilmiştir.

Cramer ve Bock (1966) post-hoc karşılaştırmalarında ve ANOVA'nın takibinde (follow-up) Tip-1 hatalarının oluşmasını önlemek amacıyla ortalamalar üzerinde MANOVA testinin ilk defa uygulandığını belirtmişlerdir. Bu nedenle analizimizde MANOVA testini tercih ettik. Bununla birlikte, MANOVA testi yapılmadan önce bütün bağımlı değişkenlerde uygun aralıklarda korelasyon olup olmadığını (örn. 0.2-0.6; Guarino, 2006) anlamak için

değişkenler arasında Pearson korelasyon serisi uygulanmıştır. EK 18, EK 19 ve EK 20 bağımlı değişkenler arasında anlamlı bir ilişki paterni olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar MANOVA testinin uygulanmasını daha güvenilir hale getirmiştir.

3.5.5. Parametre dışı testler

Kruskal-Wallis testi iki ya da daha fazla populasyonun medyanlarının eşitliğini test eder ve varyans analizinin parametre dışı (non-parametric) eşdeğeridir. Sürekli veya sıralı bağımlı değişkenler üzerinde, bağımsız bir değişkenin iki veya daha fazla grupları arasında önemli istatistiksel farklar bulunup bulunmadığını testpit etmek için kullanılacak sıralılık tabanlı (rank-based) parametre dışı testtir. İki den fazla grupların karşılaştırılmasına izin veren Mann-Whitney U testinin de bir uzantısıdır.

Bütün testlerde olduğu gibi Kruskal-Wallis testini de uygulamak için bazı kabullenmelerin yapılması gerekmektedir: a) bağımlı değişken sıralı ve sürekli düzeyde ölçülmelidir, b) bağımsız değişken iki veya daha fazla katagorik bağımsız grubu içermelidir, c) gözlemler bağımsız olmalıdır, yani grupların kendi aralarında ya da her bir gruptaki gözlemler arasında ilişki olmamalıdır, d) her bir gruptaki dağılım benzer biçime sahip olmalıdır, yani benzer değişkenlik göstermelidir. Parametre dışı testler SPSS 20 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.5.6. Fenotipik verilerde temel bileşenler analizi (PCA)

Temel bileşenler analizi (PCA-Principal Components Analysis), çok değişkenli veri setleri içinde mümkün olduğunca çok varyansı dikkate alarak, hipotetik değişkenleri (bileşenleri) bulur (Davis 1986, Harper 1999). Bu yeni değişkenler orijinal değişkenlerin doğrusal (linear) kombinasyonlarıdır. PCA, grafik çizimlerinde kullanılmak üzere veri setlerinin sadece iki değişkene (ilk iki bileşen) indirgenmesi için kullanılabilir. En önemli bileşenlerin temel değişkenler ile ilişkili olduğu varsayımında bulunulabilir. Morfometrik veriler için bu bileşen boyu (size) olabilirken, ekolojik veriler için fiziksel gradyan (örneğin sıcaklık veya derinlik gibi) olabilmektedir. PCA rutini, SVD (Tekil Değer Ayrışımı- Singular Value Decomposition) algoritmasını kullanarak varyans-kovaryans matrisinin veya korelasyon matrisinin özdeğerlerini ve özvektörlerini bulur. Özdeğerler ilgili özvektördeki (bileşenler) varyans ile bağlantılıdır. Bu bileşenlerden kaynaklanan varyans yüzdeleri ayrıca verilmiştir.

Özdeğerlerin çizgi grafiği (Scree Plot), önemli bileşenlerin sayısını gösterebilir. Bu eğrinin düzleştirilmesinden sonra önemsiz bileşenler gözardı edilebilir. Özdeğerlerin çizgi grafinde, %95 oranında güvenli aralıklar bootstrapping (seç-bağla testi) sonucu olarak gösterilir. Rastgele bir model (Broken Stick) kapsamında beklenen özdeğerlerin isteğe bağlı grafikleri çizdirilebilir ve de çizilen eğri altındaki özdeğerler, önemsiz bileşenler olarak temsil edilebilir (Jackson 1993).

“Biplot” seçeneği, serpilme grafiği üzerinde orjinal eksenlerin (değişkenlerin) projeksiyonunu gösterir. Bu PCA yüklemelerinin (katsayıları) diğer bir görselleştirilme şeklidir. “Yüklemeler” (loadings), farklı orjinal değişkenlerin (x ekseni boyunca sıralı olarak verilen) farklı bileşenler içine ne derece girdiğini göstermektedir. EK 6 ve EK 7’ de, %95 güvenirlilik aralığı ile PC1 ve PC2 katsayıları ve EK 4’da da 15 temel bileşenin yüklemeleri verilmiştir. PCA, Past V3.02 yazılımı ile gerçekleştirilmiştir (Hammer, 2001)

3.5.6.a. Bireylerde PCA

Fenotipik veriler ile PCA yapılırken, 307 adet *B. distachyon*, 278 adet *B. hybridum* ve 18 adet *B. stacei* olmak üzere 603 adet bireye karşılık gelen 1784 bitkinin ortalama değerleri hesaplanmıştır. Üç farklı türün bireyleri sırasıyla yeşil, turuncu ve kırmızı renklerle boyanmıştır. Değerler farklı ölçü birimlerinde olduğu için, korelasyon modeli yaklaşımı kullanılmıştır; bu yaklaşım, bütün değişkenlerin standart sapmalara bölünerek normalleştirilmesi anlamına gelmektedir. Verilen serpilme grafiği, özdeğer ölçeğindeki eksenler ile 10000 bootstrap sonucudur. Çizilen elipsler, popülasyon noktalarında %95 düşüşün beklenildiği bir bölgeyi tahmin etmektedir. Bunlar ortalama değer için güvenilir olmayan bölgelerdir.

3.5.6.b. Popülasyonlarda PCA

Popülasyon ve lokasyonları arasındaki ilişkileri incelemek için, her bir türün popülasyonlarının ortalama değerleri hesaplanmıştır. Simpatrik popülasyonların her bir türü için iki farklı ortalama hesaplanmıştır, böylece 78 adet popülasyon oluşturulmuştur. Bu ortalamalar 10.000 bootstrap desteği ile PCA korelasyon modelinde grafikleştirilmiştir. Serpilme grafiğinde, bütün noktaları içeren en küçük dışbükey poligon olan ve farklı renklerdeki noktalarla kaplı alanları göstermek için kullanılan dışbükey seçeneği de kullanılmıştır.

3.5.7. Ayrıştırma (Discriminant) Analizi

Bu çalışmada ölçülen fenotipik karakteristik kombinasyonlarının ne derecede değerlendirildiğini anlamak ve üç türü ayırt etmek için PAST yazılımında (DA-Ayrıştırma Analizi veya Kanonik Değişken Analiz-CVA) gerçekleştirilmiştir. Ayrıştırma analizi, veri setlerindeki değişken grupları arasındaki ilişkilerin belirlenmesi ile ilgili çok değişkenli bir tekniktir. İlk iki kanonik eksen boyunca olan örneklerin serpilme grafiği maksimal ve bütün gruplar arasındaki maksimal ayırmdaysa ikincidir. Eksenler, PCA'daki gibi orijinal değişkenlerin doğrusal kombinasyonlarıdır ve özdeğerler bu eksenler ile açıklanan varyasyon miktarlarını göstermektedir.

Sınıflandırma seçeneği, her bir noktayı grup ortalamasına minimal Mahalanobis mesafesi veren gruba atayarak verileri sınıflandırmaktadır. Mahalanobis mesafesi, doğrusal diskriminant sınıflayıcısı verilerek, toplanmış grup içi kovaryans matrisi yardımı ile hesaplanır. Her bir nokta için verilen ve tahmin edilen grup atamaları listelenmiştir. Ayrıca, grup atamaları tek çıkarımlı çapraz doğrulama (Jackknifing) yöntemi ile doğrulanmıştır. Sonuç olarak, verilen her bir gruptaki (satırlar) ve bu grupların farklı gruplara (sütunlar) atanmasıyla oluşturulan, nokta sayılarından meydana gelen bir çizelge olarak karışıklık (confusion) matrisi verilmiştir. İdeal olarak, diyagonal karışıklık matrisinin verilmesiyle her bir nokta ilgili olduğu grubuna atanmalıdır. Off-diyagonal (köşegen dışı) hesap, sınıflandırma hatalarının derecesini göstermektedir. Genellikle ayrıştırma analizi, araştırmacının farklı (doğal olarak meydana gelen) grupları ayırt etmesini sağlayan değişkenleri algılayan ve farklı gruplar halindeki durumları tesadüfi kesinlikten daha iyi sınıflandıran bir araçtır.

DA, regresyon yöntemleri ailesine aittir. Bu sebepten dolayı bağımsız değişkenleri veya en azından aynı hesaplamaları içermeyen değişkenleri kullanmaya çalıştık. Yani, bu analizden BYE, BYB ve tohum verimi (Seeds yield) çıkartılmıştır. BYA ve BTA (1000 kernels) değişkenleri aynı bölgeyi kapsamaktadırlar. Hesaplama ayrıntıları PAST yazılımının kullanım klavuzunda verilmektedir (<http://folk.uio.no/ohammer/past/>).

3.5.8. Fenotipik verilerde filogenik yaklaşımlar

Üç türün içinden ve aralarından toplanan bireyler arasındaki ilişkileri daha derinlemesine incelemek ve fenotipik karakteristiklerden türeyen olası güçlü benzerlikleri keşfetmek için, filogenetik analizler yapılmıştır. Genetik temelleri genellikle bilinmediğinden, kompleks ontojenilere sahip olabildiklerinden ve ayrıca araştırmacıların iyice tanımlanmamış

seçim ve sınırlama işlemlerinden geçmiş olabilecekleri için morfolojik karakterlerin gerçekçi olarak modellenmeleri, özellikle zor olabilmektedir (Wiens, 1998). Çoğu durumlarda, kullanılan uzaklık hesaplaması dikkate alınmaksızın, UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean-Aritmetik Ortalamayı Kullanarak Ağırlıklı Olmayan Çift Grup Yöntemi), en doğru sonuçları vermektedir. Bir sonraki en doğru yöntem ise komşu birleştirme (neighbor-joining) ve FM (benzer şekilde gerçekleştirilen) yöntemidir. Fakat bu yöntemlerin doğruluğu sadece CSE akord uzaklığıyla kullanıldığı durumlarda geçerlidir. Tam örnekleme boyutları ile veri setlerinde, sonraki en doğru yöntem genellikle frekans parsimony yöntemidir. Bunu, maksimum olasılık (maximum likelihood), komşu birleştirme yöntemi (NJ), Nei genetik uzaklık ve FM yöntemleri izler (Wiens, 1998). Bu yüzden, mümkün olduğunca güvenilir filogenetik ağaçlar oluşturabilmek için, uzaklık matris yöntemi (UPGMA) ve karakter tabanlı yöntem (Maksimum Olasılık) olmak üzere iki farklı yaklaşım uygulanmıştır.

Ağaçların oluşturulması için, yukarıda bahsedilen ayrıştırma analizindekiler (DA) ile aynı olan 12 adet fenotipik karakteristik kullanılmıştır. Ancak önce standardizasyon işlemi yapılmıştır. Bunun için varyanslardan ortalama değerler çıkarılmış ve standart sapma (z-değerleri) ile bölünmüştür. Aynı ayrı her bir türün ağaçlarının oluşturulması için, orijinal değerlere yeni bir standardizasyon işlemi uygulanmış ve her bir türün her karakteristiği için ortalama değer ile standart sapma hesaplanmıştır.

Ağaçların hepsi Dendroscope V3.2.10 yazılım programıyla oluşturulmuştur (Huson, 2012). Bireylerin çok sayıda olmasından dolayı tüm etiketlerin gösterilmesi mümkün olmamıştır. Bu sebeple ağaçlar, en ilginç bulgulara odaklanacak şekilde düzenlenmiştir. Bütün bireylerin etiketleri PDF formatındaki dikdörtgensel kladogramlarda bulunmaktadır.

3.5.8.a. UPGMA kümelemesi

UPGMA (Sokal and Michener, 1958) hiyerarşik kümeleme yöntemidir ve uzaklık matrisine dayanan bir köklü dendrogram oluşturur. UPGMA, ultrametrikdir. Yani, bütün uç buğumlar (örneğin takson) köke eşit uzaklıktaki mesafededir. UPGMA ağacını oluşturmak için, 1.000 bootstrap (seç-bağla testi) yapılarak dönüştürülmüş verilerde (standart sapmaları) hesaplanan Öklid uzaklığı benzemezlik matrisiyle PAST yazılımı kullanılmıştır. Bootstrap analizi filogenetik ağaçlardaki dallar için destek gücünü değerlendirme olanağı sağlar. Bir boğum tarafından yazılan bir sayı, dalın bittiği noktalardaki klad çözümlmelerini yapan bootstrap ağaçlarının yüzdesini yansıtır. Bu yöntem ile filogenetik ağacın dal sıralanması

(topoloji) kontrol edilebilir. Bootstrapping sonucunda ağaçlar kümesinin özeti olan uyumluluk (consensus) ağacı oluşturulur.

UPGMA ağaçlarında, en iyi ağacın bulunması için maksimum olasılık yöntemi kullanılırken 1.000 bootstrapping işlemi uygulanmıştır. UPGMA yöntemi ile beş farklı ağaç oluşturulmuştur. Ağaçlardan ilkinde tüm bireyler birlikte, üçü her bir tür için ve sonuncusu da popülasyonlar için oluşturulmuştur. Simpatrik popülasyonlarda, özel popülasyon türlerinin her biri için birer adet olmak üzere iki farklı ortalama hesaplanmıştır. Örneğin, Farsa popülasyonunda her bir karakteristik için iki farklı değer hesaplanmıştır. Hesaplamalardan biri *B. distachyon* bitkisi ve diğeri de *B. hybridum* bitkisi içindir. Bunun için bu popülasyon kladogramda yeşil (*B. distachyon*) ve turuncu (*B. hybridum*) renklerde iki defa gösterilmiştir.

3.5.8.b. Maksimum olasılık filogenetik ağacı

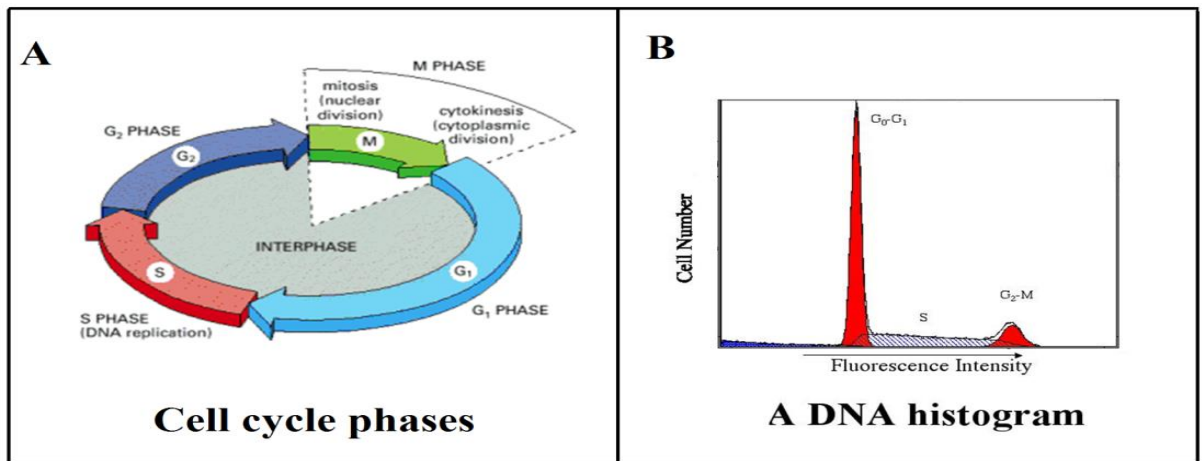
Maksimum olasılık yöntemi, istatistiksel bir yöntem olup verilen verilerin olasılığını maksimize ederek, ağaçlarını bulur. PHYLIP-3.695 yazılım paketindeki Contml opsiyonu, Brown hareket modeline dayalı olan sınırlandırılmış maksimum olasılık yöntemini kullanarak filogenezi tahmin eder ve verilen verilerdeki elde etme olasılığını maksimize eden tekil (single) ağacı araştırır. Giriş verileri, N boyutlarındaki her bir türün koordinatlarının dizisi olarak alınmıştır. Ağaç topolojisi, ağaç segmentlerinin uzunluklarıyla köksüz (unrooted) ağaç diyagramı olarak verilmiştir. Uzunluk birimleri, beklenen birikmiş varyans (zaman değildir) miktarlarıdır. (Felsenstein, 1989). Maksimum olasılık yöntemiyle üç tür için bir ağaç oluşturulmuştur.

3.6. Sitogenetik Analizler

3.6.1. Flow sitometrinin teorik arka planı

Flow sitometri kan hücrelerinin hızlı ve hassas bir şekilde sayımı ve analizi amacıyla geliştirilmiş bir metottur. Teknolojik ilerlemeler ve yeni floresan boyaaların geliştirilmesi, flow sitometriyi biyolojik araştırmalarda yaygın olarak kullanılan vazgeçilmez bir analiz yöntemi konumuna getirmiştir. Flow sitometrinin bitki hücre ve organellerinin analizinde kullanımı yaklaşık 20 yıl önce başlamış olup, günümüzde her geçen gün artmaktadır. Flow sitometri, bitkilerde geniş kullanım potansiyeline sahip olmasına rağmen, bugüne kadar en fazla çekirdek DNA (nuclear DNA content) analizinde kullanılmıştır (Dolezel ve Bartos 2005).

Çekirdek DNA içeriği genellikle “C” değeri olarak ölçülür. Bu terim ilk defa Swift (1950) tarafından kromozom sayısı ile meydana gelebilecek karışıklıkları önlemek için ortaya atılmıştır (Bennet ve Leitch 1995). Herhangi bir genotipin C değeri (1C değeri) genotipin sahip olduğu replike olmamış haploid kromozom takımının içerdiği DNA miktarını ifade etmektedir. Başka bir deyişle bir çekirdeğin 1C DNA içeriği, polen mitozundan hemen sonra polen tanelerinin sahip olduğu çekirdek (DNA’ sı replike olmamış, hücre döngüsünün G1 fazı) DNA içeriğidir. Bir çekirdeğin 2C DNA içeriği, DNA’sı replike olmuş haploid çekirdeğin (polen mitozundan hemen önce çekirdeğin DNA içeriği, hücre döngüsünün G2 fazı) veya DNA’sı henüz replike olmamış diploid çekirdeğin (2n kromozom sayısına sahip diploid bir bitkinin G1 fazı) DNA içeriğidir. Histogramda G1 piki olarak ifade edilir. 4C DNA içeriği ise DNA’sı replike olmuş diploid çekirdeğin DNA içeriğidir (Tuna 2012). Histogramda G2 piki olarak ifade edilir. Çekirdek DNA içeriği hem bir bitkinin hücreleri arasında, hem de aynı türün farklı bireyleri arasında değişmeden sabit kalmakta ve bu nedenle türlere özel olmaktadır (Bennett ve Leitch 1995). Hücrelerin bir kısmı mitoz aşamasından yeni çıkmışken (bölünme henüz gerçekleştiğinde çekirdeğin replike olmamış DNA içeriğine sahip olunan durum), bir kısmı da mitoz aşamasına girmek için son hazırlıklarını yapmaktadır (çekirdeğin replike olmuş DNA içeriğine sahip olunan durum). Hücrelerin geri kalan kısmı da bu iki aşamanın arasında bulunan DNA sentez (S fazı) aşamasında bulunmaktadır. Çekirdeğin DNA içeriği, hücre döngüsünün DNA sentez (S fazı) fazı başlangıcında artmaya başlar ve sonunda çekirdeğin DNA içeriği replike olur (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Bir flow sitometri histogramında hücre döngü fazları. A hücre döngüsü, B G1 ve G2 histogramları

Bir bitkinin çekirdek DNA içeriğini mutlak olarak belirlemek için, bu bitkinin DNA içeriği, DNA içeriği bilinen bir standartla kıyaslanır. Bu standart bitki belirlenirken analiz yapılacak örnekle standardın piklerinin üst üste gelmemesine dikkat edilmelidir. Flow sitometri ile yapılan çekirdek DNA analizlerinde hassas bir analiz için histogram üzerinde bulunan piklerin mümkün olduğunca ince ve uzun olmalıdır. Ayrıca varyasyon katsayısına (CV) bakarak güvenli sonuçlar elde edilebilir. Hazırlanan örneğin kabul edilebilir olması için CV'nin %3 ve daha düşük olması istenir. Fakat bazı zor türlerde kabul edilebilirlik düzeyi %5'e kadar çıkar (Doležel ve Bartoš 2005). Bir örneğin mutlak DNA içeriği, örnek ile seçilen standardın G1 piklerinin floresan yoğunluklarına ait değerler kullanılarak aşağıdaki formül (3.1) aracılığıyla pikogram (1pg = 10⁻¹² gr) olarak hesaplanır. Doležel ve arkadaşlarına göre (2003) bç'ye dönüştürme işlemi şu formüle göre yapılmalıdır: 1 pg DNA = 0.978 × 10⁹ bç.

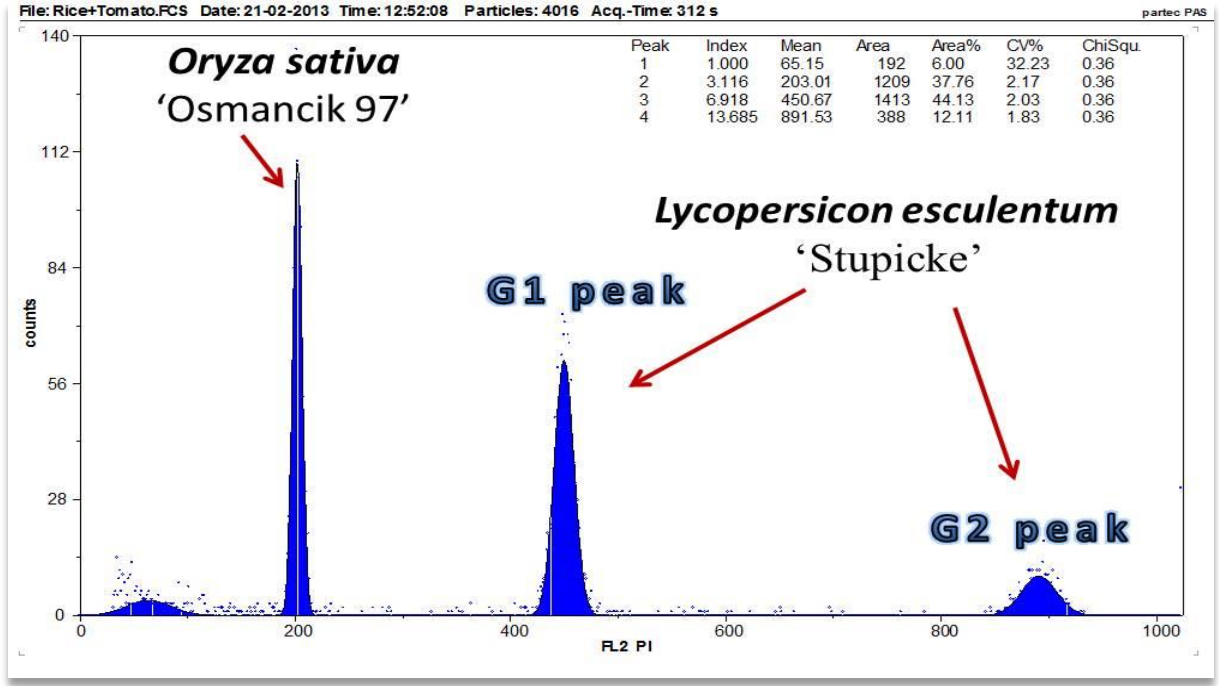
$$\text{Örnek Çekirdek DNA İçeriği (pg)} = \frac{\text{Örneğin Floresan Yoğunluğu (G1 pikinin değeri)}}{\text{Standardın Floresan Yoğunluğu (G1 pikinin değeri)}} \times \text{Standardın Olarak Bilinen DNA İçeriği (pg)} \quad (3.1)$$

3.6.2. İç Standartlar

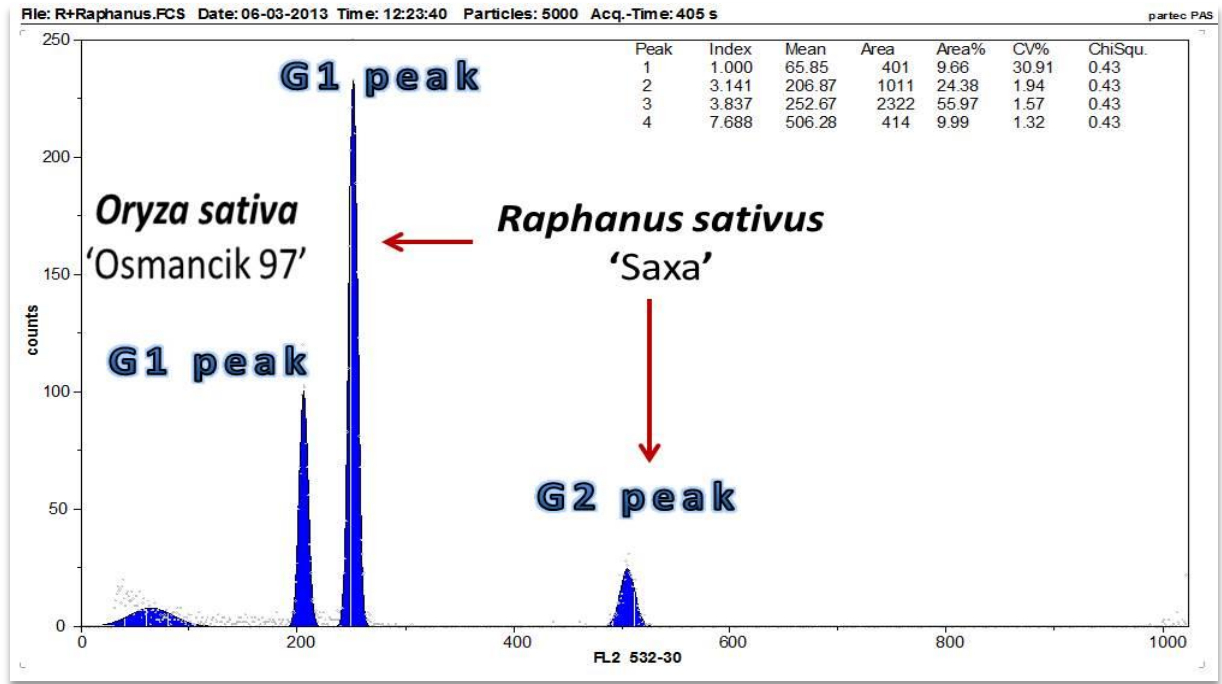
Bir bitkinin çekirdek DNA içeriği mutlak olarak belirlenmek istenirse, bu bitkinin DNA içeriği, DNA içeriği bilinen bir standart ile kıyaslanır. Bu standart bitki belirlenirken analiz yapılacak örnek ile standardın piklerinin üst üste gelmemesine dikkat edilir. Bu durumda standart bitkinin çekirdek DNA içeriği örnek bitkiden ya daha büyük ya da daha küçük olmalıdır. Ayrıca standart seçiminde dikkat edilecek diğer bir nokta ise, örnek ile seçilecek standardın çekirdek DNA içerikleri arasındaki farkın minimum düzeyde olmasıdır. Çünkü aralarındaki fark büyüdükçe hata oranı artmakta ve böylelikle analizin hassasiyeti azalmaktadır.

İç standart olarak popülasyonların ilk taranmasında *Lycopersicon esculentum* 'Stupicke' kullanılırken (Doležel et al. 1992), çekirdek DNA içeriğinin belirlenmesinde

Edirne çeltik merkezinden edinilen *Oryza sativa* ‘Osmancık 97’ çeltiği kullanılmıştır. Bu çeltik çeşitinin çekirdek DNA içeriği, Dr. Doležel’in bize verdiği *Lycopersicon esculentum* ‘Stupicke’ (1.96pg/2C, Şekil 3.8) ve *Raphanus sativus* ‘Saxa’ (1.11pg/2C, Şekil 3.9)’nın birincil referans standardı olarak kullanılmasıyla, PI FCM’li farklı ölçme yöntemleriyle hesaplanmıştır (Doležel ve ark. 1992 ve 1998). İç standart olarak kullanılan çeltiğin çekirdek DNA içeriğini daha kesin olarak hesaplamak için bahsedilen referans standartlar kullanılarak 6 farklı günde toplam 16 farklı hesaplama yapılmıştır. Bu hesaplamalar sonucunda *Oryza sativa* ‘Osmancık 97’ nin çekirdek DNA içeriği 0.90pg/2C (veri sunulmamıştır) olarak hesaplanmış ve *Brachypodium* bireylerine ilişkin yapılan diğer hesaplamalar bu oran esas alınarak yapılmıştır.



Şekil 3.8. *Lycopersicon esculentum* ‘Stupicke’(domates)’e ile *Oryza sativa* ‘Osmancık 97’ nin G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonlarının görünüşü (Domatesin G2 pikide (en sağda) görülmektedir)



Şekil 3.9. *Raphanus sativus* 'Saxa' ile *Oryza sativa* 'Osmancık 97' G1 piklerinin bir birlerine göre pozisyonları (*R. sativus* G2 pikide (en sağda) görülmektedir)

DAPI metodu hem iç hem dış standartta kullanılmıştır. Domates iç standart olarak, Bd21-3 referans aksesyonu dış standart olarak kullanılmıştır.

3.6.3. Sitogenetik analizlerde kullanılan bitki materyali

Başlangıçta FCM (Flow sitometri) Yunanistan'ın ilk *Brachypodium* koleksiyonun hangi türleri içerdiğini tespit etmek için kullanılmıştır. Türleri tespit etmek için her popülasyonun ilk taraması 2012 Aralık ayının sonunda gerçekleştirilmiştir. Dolayısıyla her popülasyondan beşinci birey flow sitometri PI metoduyla, iç standart *Lycopersicon esculentum* 'Stupicke' (1.96pg/2C) kullanılarak kontrol edildi. İhtiyaç duyulduğunda, özellikle simpatrik popülasyonlar söz konusu olduğunda, ekstra analizler yapılmıştır. İlk analizler Yunanistan koleksiyonunun 27'sinin *B. distachyon*, 23'ünün *B. hybridum*, 1'nin *B. stacei*, 6'sının *B. distachyon* ve *B. hybridum* simpatrik popülasyonu ve 3'ünün *B. hybridum* ve *B. stacei* simpatrik popülasyonlarından oluştuğunu ortaya çıkarmıştır. (Çizelge 3.3).

Çekirdek DNA içeriği tespiti araştırması için *B. distachyon*, *B. stacei* ve simpatrik popülasyonları kullanılmıştır. Bu popülasyonların tercihinde *B. distachyon* türlerinin buğdaygiller için model bitki olarak kullanılması ile *B. stacei* türünün dünya araştırmacılar

camiasında nadiren kullanılmış olması etkili olmuştur. Çekirdek DNA içeriğini belirlemek için kullanılan her türün birey sayısı ile karşılık geldikleri lokasyonlar aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir (Çizelge 3.3). Daha öncede de belirtildiği üzere İspanya ve Irak'tan Bd21-3 de kullanılmıştır.

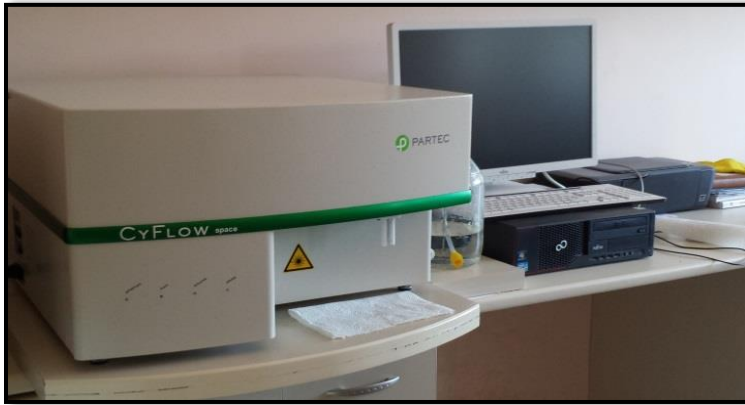
Çizelge 3.3. Çekirdek DNA içeriği tespiti için Flow sitometride kullanılan türlerin birey sayısı

Türler	Birey Sayısı			Karşılık Gelen Lokasyon Sayısı		
	Yunanistan	Diğer	Toplam	Yunanistan	Diğer	Toplam
<i>B. distachyon</i>	303	4	307	27	4	31
<i>B. hybridum</i>	157	2	159	11	2	13
<i>B. stacei</i>	16	2	18	1	2	3
Simpatrik				9	0	9
Toplam	476	8	484	48	8	56

Sahip olduğumuz imkanlar çerçevesinde çekirdek DNA içerik tespitine dahil edilemeyen *B. hybridum* bireyleri, flow sitometri DAPI metoduyla test edilmiştir.

3.6.4. PI metodu

Çalışmada çekirdek DNA analizi, sağlıklı ve genç fidelerden (her popülasyon için 10 bitki) elde edilen taze yaprak dokuları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma NKÜ, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Bitki Genetiği ve Sitogenetiği laboratuvarında bulunan PARTEC marka Flow sitometri cihazı kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Bitki Genetiği ve Sitogenetiği laboratuvarında Flow sitometri cihazı

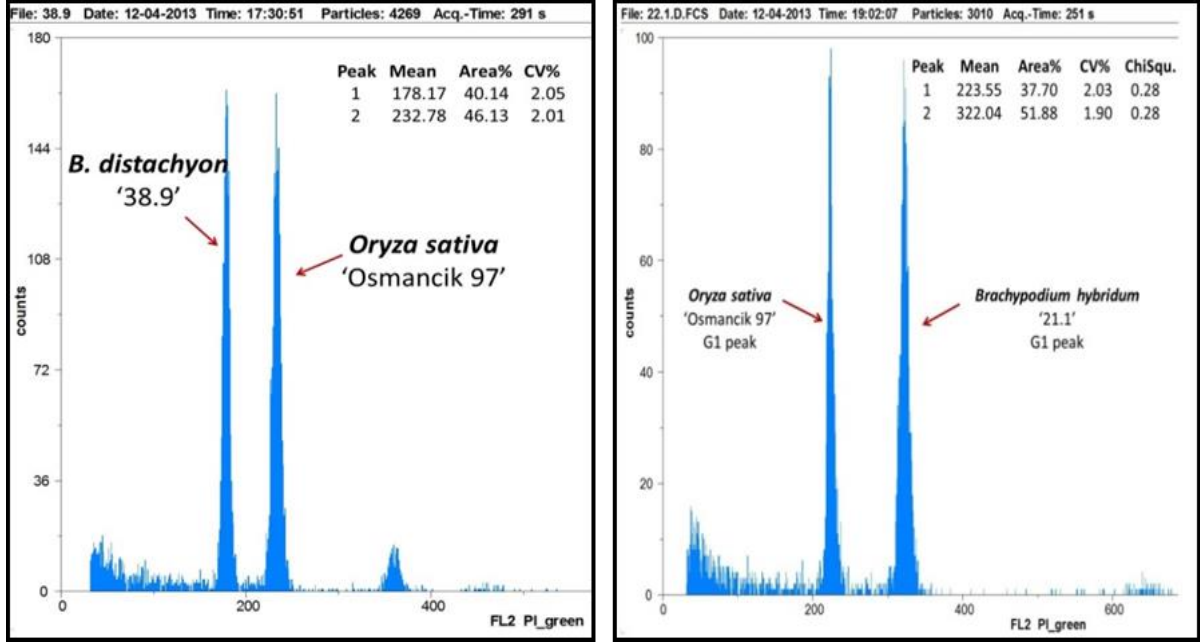
Yapılan çekirdek DNA içeriği analizlerinde PARTEC firmasının hazır kitleri kullanılmıştır. Analizlerde *B. distachyon* aksesyonları için 0,90 pg/2C DNA'ya sahip *Oryza sativa* 'Osmancık 97' (çeltik) standart olarak kullanılmıştır. Çekirdek DNA analizi için öncelikle bitki dokularından çekirdekler izole edilmiştir. Çekirdek izolasyonu prosedürü aşağıdaki gibidir:

1. Yaklaşık olarak 0,5 cm² büyüklüğünde sağlıklı yaprak dokusu petri kabına konur ve üzerine 500 µl Ekstraksiyon Buffer ilave edilir.
2. Yaprak dokusu keskin jilet ile 30-60 saniye süresince küçük parçalara ayrılana kadar parçalanır. Bu şekilde hazırlanmış örnek petri kabı içerisinde 10-15 saniye çalkalanır.
3. Çalkalama işleminden sonra 30-90 saniye kadar petri kabında bekletilen örnek Partec marka 50 µl CellTrics filtre ile süzülerek tüp içerisine transfer edilir.
4. Tüp içerisine daha önce hazırlanmış 2ml staining solüsyon ilave edilerek ışıksız bir ortamda 30-60 dakika inkübe edilir. Bu sürenin sonunda örnekler flow sitometri cihazı kullanılarak analiz edilir.

***Staining Solüsyonun Hazırlanması:** Her örnek için: 2 ml Staining Buffer, 6 µl RNase stok solüsyon, 12 µl PI (Propidium Iodide) stok solüsyonu karıştırılarak staining solüsyonu hazırlanır. Staining solüsyon ışıksız ortamda 4°C'de 1 gün saklanabilir. Eğer örnek hazırlanmış halde ise aynı şartlarda 12 saat kadar muhafaza edilebilir.

Örnek hazırlamada uygulanan prosedürdeki işlemler sonucunda bitki dokusundaki hücreler mekanik olarak parçalanır ve hücre çekirdekleri serbest hale geçer. Ekstraksiyon Buffer içerisinde bulunan deterjan serbest kalan çekirdeklerin zarları üzerinde porlar oluşmasını sağlar. Bu porlardan staining solüsyonunun içinde bulunan PI (nükleik asitlere bağlanma özelliğine sahip florasan boya) çekirdek içerisine girer ve nükleik asitlere bağlanır. Porlardan geçen PI miktarı ile çekirdek DNA içeriği doğru orantılıdır. Yani çekirdek DNA içeriği ne kadar fazla ise çekirdeğin içerisine giren ve bağlanan PI'da bu orana bağlı olarak artış gösterir. Bu protokole göre hazırlanmış olan örnek flow sitometri cihazında analiz edilirken, cihazın yaydığı lazer ışık kaynağının önünden geçen hücreler genetik yapıya bağlanan PI miktarıyla orantılı olarak florasan ışık yayar. Yayılan florasanlar cihazın içerisinde bulunan ilgili bölümlerde bir dizi işlemde geçerek elektrik sinyallerine dönüşür ve bilgisayar monitörüne histogram olarak yansır. Histogramın dikey eksenini; analiz edilen hücre sayısını, yatay eksenini ise; analiz edilen örneklerin florasan yoğunluğunu göstermektedir.

(Şekil 3.11). Yatay eksenin sağına doğru gittikçe çekirdek DNA içeriği artmaktadır (Tuna 2012). Ekranında oluşan histogramda eğer tek bitki analiz edilmiş ise; 2 tane pik oluşur. Histogramın bu şekilde oluşmasının nedeni; örneğin hazırlandığı dokuyu meydana getiren hücrelerin flow sitometri analizi sırasında, hücre döngüsünün değişik aşamalarında bulunmasıdır. Her örneğin ölçümü 3 bin civarında ortalama çekirdek sayısı ile yapılmış ve %3'ten az CV'li örnekler dikkate alınmıştır.



Şekil 3.11. *B. distachyon* (solda) ve *B. hybridum* (sağda) bitkilerine ait G1 piklerinin standart olarak kullanılan *Oryza sativa* bitkisinin G1 pikine göre nispi pozisyonları

Çekirdek DNA içerikleri dağılım normalitesi ve diğer parametrik test varsayımlarıyla kontrol edilmiştir. Üç tür arasındaki ortalamaların tek değişkenli analizi (GLM seleksiyonu), *B. distachyon* ile *B. stacei* bireyleri arasındaki t-testi ve çekirdek DNA içeriği ile koleksiyon lokasyonlarının rakımı arasındaki Pearson korelasyonu IBM SPSS 20 istatistik paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.6.5. DAPI metodu

DAPI (4,6 diamino-2-phenylindole) özellikle DNA'nın AT (adenin-timin) nükleotidlerce zengin olan bölgelerini seçer. Bitki çekirdek DNA analizlerinde genel kullanım için en çok tercih edilen ve sık kullanılan florasan boyalar DAPI ve propidium iodidedir. DAPI nispeten daha ucuz ve çevreye daha duyarlı bir madde olduğu için ploidy

analizlerinde tercih edilen boyadır. Ancak bağlanmak için DNA'nın AT bölgelerine daha fazla meyilli olduğu için genom hacmi belirlemek amacıyla yapılan analizlerde kullanılması önerilmez. Çünkü analiz edilen bitkinin genomu AT nükleotidlerce zenginse bitkinin genom hacmi olduğundan daha yüksek olarak belirlenmiş olacaktır. Tersine durumda ise (GC nükleotidlerce zengin) bitkinin genom hacmi olduğundan daha düşük olarak belirlenmiş olacaktır. Bu gibi durumlarda nükleotid seçiciliğine sahip olmadığı için Propidium iodide kullanılması gerekmektedir (Tuna, 2012).

DAPI metodu için Partec CyStain UV precise P reaksiyoner kit kullanılmış ve aşağıdaki protokol uygulanmıştır:

1. Yaklaşık olarak 0,5 cm² büyüklüğünde sağlıklı yaprak dokusu petri kabına konur ve üzerine 400 µl Extraction Buffer ilave edilir
2. Yaprak dokusu keskin jilet ile 30-60 saniye süresince küçük parçalara ayrılana kadar parçalanır. Bu şekilde hazırlanmış örnek petri kabı içerisinde 10-15 saniye çalkalanır.
3. Çalkalama işleminden sonra 30-90 saniye kadar petri kabında bekletilen (inkübasyon olup) örnek Partec marka 50 µl CellTrics filtre ile süzülerek tüp içerisine transfer edilir.
4. Tüp içerisine daha önce hazırlanmış 1.6ml Staining Buffer ilave edilerek ışısız bir ortamda 30-60 dakika inkübe edilir. Bu sürenin sonunda örnekler flow sitometri cihazı kullanılarak analiz edilir (mavi florens kanalı)

Sonuç olarak her bireyin ait olduğu doğru türü belirlemek için 240 analiz gerçekleştirilmiştir. Bu işlemden sonra PI metodunun sonuçlarından da yararlanarak bitkilerin lokasyon bölgeleri WGS 1984 sistemi aracılığıyla harita üzerine işlenmiştir.

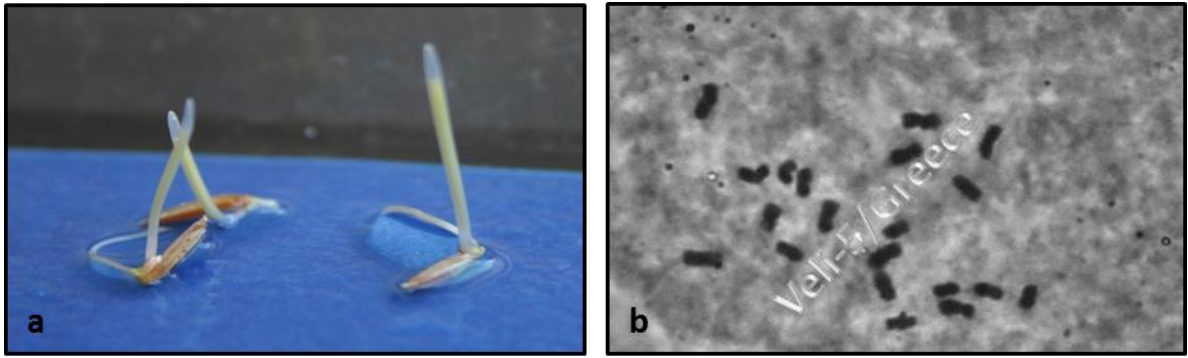
3.6.6. Kromozom sayımı

Düşük çekirdek DNA içeriğine sahip olan bireylerin yeni tanımlan *B. stacei* türüne (Catalán ve ark. 2012) ait olduklarını doğrulamak için bu bireylerin bazılarında asetokarminle klasik kromozom sayım metodu uygulanmıştır. Uygulanan bu metod özetle şöyledir:

1. Tohumlar içerisinde ıslatılmış çimlendirme kağıdı bulunan petri kaplarında oda şartlarında ve karanlık bir ortamda çimlendirilir.
2. Kök uçları 1-1.5 cm olunca hasat edilerek içerisinde soğuk su bulunan cam şişelere yerleştirilmiş ve 20 saat +4°C inkübe edilir.

3. Soğuk su muamelesinden sonra kök uçları farmer solüsyonunda (3 kısım etanol ve bir kısım glacial asetik asit) fikse edilir.
4. Preparat yapmadan önce kök uçları asetokarmin boyası ile boyanmış ve ezme yöntemiyle preparat hazırlanır.

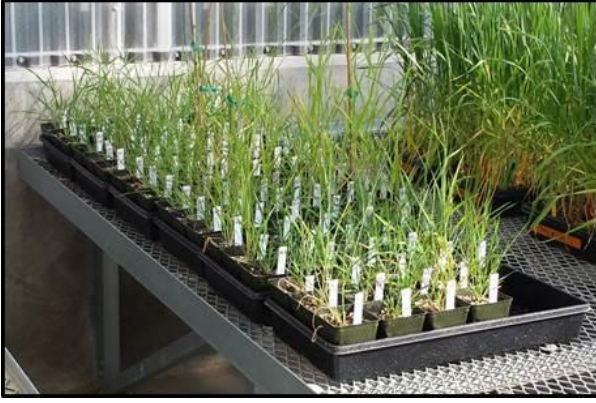
Veli, Gyth, Hota and Amfi (*B. stacei*) popülasyonları kontrol edilmiştir. Ayrıca Fira ve Liva popülasyonlarından *B. hybridum* bireyleri; Fifi ve Olym popülasyonlarından *B. distachyon* bireyleri de bu metotla belirlenmiştir. Aşağıdaki fotoğraflarda (Şekil 3.12) *B. stacei* türünün kök hücrelerinin mitotik kromozomları görülmektedir (Veli-5). Bu türde 20 kromozom bulunmakta ($2n=2x=20$) ve görece *B. distachyon*'dan daha azdır ($2n=2x=10$).



Şekil 3.12. (a) Petri kabında tohumların çimlenmesi ve (b)) asetokarminle boyama sonrası *B. stacei* (Veli-5) mitotik metafaz kromozomlarının görünüşü ($2n=2x=20$)

3.7. Genetik Karakterizasyon

Toplanan bitkilerin genetik karakterizasyonu TUBITAK 2214A bursu kapsamında gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın bu kısmı Dr. Kulvinder S. Gill'in danışmanlığında Washington Eyalet Üniversitesinde (WSU/ABD)) tamamlanmıştır. Genotipleme ve verilerin analizleri Dr. Deven R. See'nin bilimsel desteğiyle, Tarımsal Araştırma Servisi Genotipleme Laboratuvarında (Pullman/ABD) gerçekleştirilmiştir. Bitkiler WSU Bitki Büyütme Tesisine ait buğday araştırma seralarında çimlendirilmiş ve büyütülmüştür.



Şekil 3.13. Şeklin üst kısmında WSU tesislerine ait buğday araştırma serasının fotoğrafı yer almaktadır. Şeklin alt kısmında ise, *B. hybridum* bitkilerinin 7x7 cm² 'lik saksılara dikimi sonrası fotoğrafı yer almaktadır (sol) ve şeklin sağ alt kısmında tüm bitkilerin 48 gözlü viyollerde çekilmiş fotoğrafı yer almaktadır (sağ)

3.7.1. Bitki materyali ve büyüme koşulları

Yunanistan'dan toplanan tüm *Brachypodium* spp. bitki örneklerine ait 183 birey (örnek) genetik analiz için seçilmiştir. Bu bireylerin yanında, daha önce toplanan bitki koleksiyonlarından 9 birey daha genetik analiz çalışmasına dahil edilmiştir. Bd21, Bd21-3, ABR114, ABR113 ve Koz-3 kod nolu bitki örnekleri Dr. Vogel J. tarafından, HU1.6, AL1.1, AL5.2 ve MA1.2 kodlu bitki örnekleri Dr. Giraldo tarafından sağlanmıştır. Toplam olarak 192 bitki örneğinin mikrosatellit lokus çeşitliliğine dayalı olarak genetik karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu bölümde kullanılan örneklerle ait detaylı bilgi EK-1'de gösterilmiştir.

Seçilen örneklerle ait tohumlar 48 gözlü viyollere topraksız SS5 karışımı (%70 Kanada sfagnum yosunu torfu, %30 bahçelik perlit) kullanılarak 4-5 Eylül 2013'te ekilerek çimlenme kabininde 2 hafta bekletilmiştir (Çimlenme koşulları; 22 °C'de 14 saat gün ışığı, 15°C'de 10 saat gece). Bunu takiben bitkiler vernalizasyon kabinine aktararak burada 5 hafta bekletilmiştir (Şekil 3.13). Bu periyottan sonra, bitkiler 7x7cm² (220cm³ hacime sahip) kaplara aynı topraksız karışım kullanılarak nakledilerek, bitkiler olgunlaşmaya (büyüyünceye) kadar kontrollü şartlar altında tutulan serada bekletilmiştir (24°C'de 16 saat gün ışığı; 18°C'de 8 saat gece).

3.7.2. DNA izolasyonu

12 Ekim 2013'te DNA izolasyonu ve genotipleme için yaprak dokusu toplanmıştır. DNA izolasyonu bütün örnekler için aynı anda iki adet 96 kuyucuklu plaka kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla; yaklaşık 3 cm uzunluğundaki yaprak dokuları toplanıp, her bir birey 2-3 parçaya ayrılarak özel 96 kuyucuklu derin plakalara (Phenix-MPI-009) konulmuştur. Plakalar kimwipe doku kâğıdı kullanılarak kaplandıktan sonra bitki materyali 3-4 gün boyunca liyofilize edilmiştir. Bunu takiben kuru dokudan DNA, aşağıda tanımlanan SDS modifiye protokolü kullanılarak izole edilmiştir:

1. Kurutulmuş örnekler, Qiagen öğütme cihazında 25 devir/sn hızda 20 dakika boyunca ezilir (Şekil 3.14).
2. 750 µl önceden ısıtılmış (60° C) SDS izolasyon tamponu plaka üzerindeki her bir kuyucuğa eklenerek plakalar levitasyon cihazında 60° C'de 90 dk. bekletilir.
3. Plakalar oda ısısına geldiğinde, her bir kuyucuğa 750 µl kloroform-isoamilalkol (24:1) karışımı eklenir.
4. Plakalar levitasyon cihazından (mikroplaka karıştırıcıda) oda ısısında 30 dk. tekrar karıştırılır (Şekil 3.14)
5. Plakalar oda ısısında 4000 rpm'de 15 dk. boyunca santrifüj edilir.
6. Üst fazlar yeni bir plakaya aktararak, üst fazın 2 katı hacimde soğuk alkol örneklerle ilave edilmiş ve örnekler pipetlemeyle yavaşça karıştırılır.
7. Plakalar oda ısısında 4000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek, üst faz ortamdan uzaklaştırılmıştır. Kuyucukların dibinde sadece DNA çökeltisi bırakılır.
8. Çökelti (DNA) 1 ml %70 etanol ile yıkayıp oda ısısında 30 dk. bekletilir.

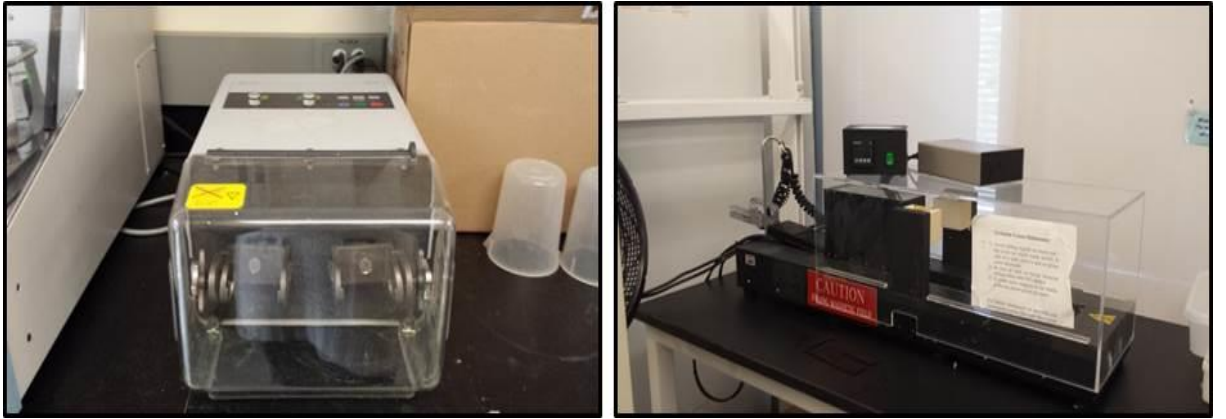
9. 4 dk'lık kısa bir santrifüjlemeden sonra etanol ortamdan uzaklaştırılıp, DNA çökeltisi kurumaya bırakılarak 250 µL TE (10mM Tris :1mM EDTA, pH=7.5) ve 1µL of RNaz eklenir.
10. Elde edilen DNA kullanılmadan önce, 4°C'de gece boyu bekletilir.

SDS ekstraksiyon (izolasyon) tamponu (200ml)

1 M Tris, pH=8.0	20ml
5mM NaCl	20ml
0.5M EDTA pH=8.0	20ml
20% SDS	8.4ml
ddH ₂ O	131.4ml

Kullanmadan önce 0.76 gr. Sodyum bisüfit eklenir ve NaOH ile pH 7.8-8.0'e ayarlanır.

Elde edilen DNA'ların miktar tayini NanoDrop™ 1000 (Thermo Fisher Scientific) spektrofotometresi kullanılarak yapılmış ve her bir bireye ait DNA örneği 15ng/µl olacak şekilde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) için sulandırılmıştır.



Şekil 3.14. 96 kuyucuklu plaka formatında DNA izolasyonu için kullanılan öğütme cihazı solda; levitasyon (mikroplaka çalkalayıcı) sağda yer almaktadır

3.7.3. Mikrosatellit lokusları (SSR) ve primerler

Brachypodium distachyon'un mikrosatellit lokuslarına (Basit dizi tekrarlarına/SSR) dayalı genetik çeşitlilik karakterizasyonu Vogel ve ark. (2009a) tarafından geliştirilmiştir. Aşağıda sunulan tabloda her bir lokus için kullanılan primerler ve markörlere (belirteçlere) ait bilgiler verilmiştir. Stok primerler Dr. John Vogel'in katkılarıyla sağlanmıştır. Toplam olarak, 46 markör incelenmiş (taranmış) ve sonuç olarak çalışma örneklerindeki genetik çeşitlilik için 42'si değerlendirilmiştir (Çizelge 3.4). ALB050, ALB089, ALB149 ve ALB170 markörleri tüm türler için yeterli sonuç verememiştir (Bu markörler için bireylerin %70'ten az bir kısmı skorlanmıştır). Dolayısıyla, sonraki analizlerde bu markörler kullanılamamıştır. İleri primerlere 19 bç içeren M13 üniversal primerleri (CACGACGTTGTAAAACGAC) eklenmiştir.

Çizelge 3.4. Yunanistan'dan toplanmış *Brachypodium* spp.'nin genetik karakterizasyonunda kullanılan mikrosatellit lokuslara dair bilgiler.

Markör adı	Tekrar birimi	Tekrar sayısı	Geri Primer 5'→3'	M13 kuyruk (19bç) +İleri Primer (20bç) 5'→3'
ALB001	ct	22	TTCTCCACCACACTCCT TCC	CACGACGTTGTAAAACGACGATC GTGTTCTTCCCCTTCA
ALB006	gt	15	CCTCCTCCAACAACCAC AGT	CACGACGTTGTAAAACGACTAGT AGCCCCCAAGCCTTCT
ALB004	ag	17	CTCCCACTCGATCTTCT CGT	CACGACGTTGTAAAACGACCCAC AGACGAAGCAGAGACA
ALB008	ctt	13	ATGGGCGAGAAGACAG AGAA	CACGACGTTGTAAAACGACACG GGAACTCACCATTTTAC
ALB013	ga	12	ATCCGTGTTTCGTTCTTT GG	CACGACGTTGTAAAACGACTTTG CCAATGCTTCAAACCTG
ALB022	ct	11	ATTTCTGCCAGCAAAC ACT	CACGACGTTGTAAAACGACGAC CTCCCCTGTCTCAGGT
ALB030	ttg	9	GTAGTCCAGCCCCATCT TCC	CACGACGTTGTAAAACGACCGTC CGCAAGCTTGTTTT
ALB034	aac	9	TGCTGCTTCTTTTGTCG ATG	CACGACGTTGTAAAACGACAAT GGTGGATCTGCAGAAGG
ALB040	ctt	8	AGTCCTCCTCCTCGCTA AGG	CACGACGTTGTAAAACGACCCCT GCTCCCTCTCTCTCT
ALB047	ctgg	7	CTCGCACTCCCTCTTGT TCT	CACGACGTTGTAAAACGACCGCT GAACTTGTGCAGGTA
ALB050*	gt	15	GGAGGGAGAAAAATGC CTTC	CACGACGTTGTAAAACGACTAGT AGCCCCCAAGCCTTCT
ALB056	gt	10	TCCACAGAGACCACA GAAG	CACGACGTTGTAAAACGACTCCT CTGGTTCCTGAGATCG
ALB086	aag	7	CAACTGATCCCGAGCTC TTC	CACGACGTTGTAAAACGACGTCC GGAACCAACGAAAAC

Markör adı	Tekrar birimi	Tekrar sayısı	Geri Primer 5'→3'	M13 kuyruk (19bç) +İleri Primer (20bç) 5'→3'
ALB087	agc	7	GACTTGATGAAGCCCTG CTC	CACGACGTTGTAAAACGACACA GGCAGCAGCAGGAAC
ALB089*	cag	7	TGAGTCGAATAAGCCG GAAG	CACGACGTTGTAAAACGACCTTC ACCCAGCTGCTCATC
ALB100	gca	7	CAGGTACGTCACCAGGT TCA	CACGACGTTGTAAAACGACCGG AGACGACGACAGAGG
ALB131	ggc	7	GACACATCGTTGGCAAT GTC	CACGACGTTGTAAAACGACCAA CGGAGTGGTACGTTGTG
ALB139	aga	7	TGTACCGGAGGATGAA GTCC	CACGACGTTGTAAAACGACGTGC CAAATCCAAGAAGGAA
ALB149*	at	19	AAGATCCTGCAAAAGA TAATCATAA	CACGACGTTGTAAAACGACCTCG ATCTCAAGGGCATCAT
ALB155	ct	15	ATATCACCCCCACAGGA ACC	CACGACGTTGTAAAACGACTGAT CAGAGTCCCCAAAACC
ALB158	gaa	14	TGTCTTGTCCCCTGCGA TA	CACGACGTTGTAAAACGACGCG CTCCTTGAGCTGTATTG
ALB160	ct	13	TGCTGATCCCATTTCCT CAT	CACGACGTTGTAAAACGACGTGC CCGAGGACTATCATGT
ALB165	ata	12	ATTTGCCCCACAAATGG TTA	CACGACGTTGTAAAACGACTTCG TGGTTCAACAACATGG
ALB170*	tg	10	AGGGTGGCTGTTTAGAC GAA	CACGACGTTGTAAAACGACTTGG GAATCTCCAGGTTTCAG
ALB175	tg	10	CTGACGTTAGGGTGGCT GTT	CACGACGTTGTAAAACGACTTGG GAATCTCCAGGTTTCAG
ALB179	ct	9	CACCGGAAGTGGAGAA GAAG	CACGACGTTGTAAAACGACTGAT CAAGTGCAAGGAAACG
ALB181	ac	9	GGGTTCCACCTGTCAGA AAA	CACGACGTTGTAAAACGACATGC CAAATGGGACTGTTTC
ALB183	tct	9	TGGTGATTTAAATGGCA CAA	CACGACGTTGTAAAACGACGGG ATATGCCCAATTTTGAA
ALB223	aat	6	AAGACATCCAACCGAC CAAG	CACGACGTTGTAAAACGACACTG CTGCGTTTCGTCAGA
ALB230	atct	6	TAAAGGGGCAAATTGC AAAG	CACGACGTTGTAAAACGACTCGC AATGAAACCCTAGGTC
ALB257	aatt	5	TGTGATGGATTTTGCTT CCA	CACGACGTTGTAAAACGACTGTC GCTCCTGCATCTATTG
ALB273	ga	8	TCCATCTCCATCATCCC TTC	CACGACGTTGTAAAACGACTGG GGAACATTTCCATCATT
ALB278	tc	8	CCTGGGTTAATTATGGC CTGT	CACGACGTTGTAAAACGACCGTA TCTATTCTCACCTCCGATG
ALB311	ga	6	CGTCGTCTTCAGGTCTT TCC	CACGACGTTGTAAAACGACCCTA ACAGCTTCCGTCTCCA
ALB348	tc	13	TGTGTGCCGAAGTAGTG AAAG	CACGACGTTGTAAAACGACTCCA GGCCCTCACATATCTC
ALB349	tc	13	GGATGGCTCTCAAGGTC ACT	TCACGACGTTGTAAAACGACGA GCATGTGGGTGTGATTT

Markör adı	Tekrar birimi	Tekrar sayısı	Geri Primer 5'→3'	M13 kuyruk (19bç) +İleri Primer (20bç) 5'→3'
ALB355	ctt	11	CAGCAGGTCCTCGTACT CCT	CACGACGTTGTAAAACGACGAT ACATCCCAGCCATTAATCC
ALB372	tatc	9	GGTGCGCAATGGAGAT AGAT	CACGACGTTGTAAAACGACTCTA GGCTCCGTTCCGAGTA
ALB374	gtt	9	AATGGTGGATCTGCAGA AGG	CACGACGTTGTAAAACGACTGCT GCTTCTTTTGTTCGATG
ALB376	ac	9	GGGTTCCACCTGTCAGA AAA	CACGACGTTGTAAAACGACATGC CAAATGGGACTGTTTC
ALB445	gaaa	7	CACCAGCGTTTACGTAG CAG	CACGACGTTGTAAAACGACTGTT CAGTGGGTCGAGTCAA
ALB454	tgc	7	CTTCACCCAGCTGCTCA TC	CACGACGTTGTAAAACGACTGA GTCTGAATAAGCCGGAAG
ALB461	at	7	GGGCCGTCTGCATTTAT CAT	CACGACGTTGTAAAACGACCAG AACTGTCAGTCCCCTTTG
ALB467	at	7	GGCGTCACGAAAGAAG AGAA	CACGACGTTGTAAAACGACCCCC ACCAGCTCTATGAAAT
ALB486	ag	6	GGCCAGCCATGTTAGAC TGT	CACGACGTTGTAAAACGACTAAT CCGCGTCCTCTCTTGT
ALB514	aag	6	AAAAGAACCCCGACCT GAAT	CACGACGTTGTAAAACGACACG GAGGGAGTACACCACAA

* Daha sonraki genetik analizlerde kullanılmamıştır

3.7.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

PZR 384 kuyucuklu mikropalakalarda genetik karakterizasyonda kullanılan tüm bireyler (192) için 2 set primer kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Diğer bir deyişle her bir örnek için 2 markörle birlikte 384 kuyucuklu PZR plakalarında çalışılmıştır.

Her bir reaksiyonun son hacmi 7.5 µl olmuş ve kullanılan tüm boyalar, ileri (F) primere bağlanan M13 kuyruğundan FAM, HEX, NED ve PET flouresan boyları ile işaretlenmiştir. FAM (mavi), HEX (yeşil), NED (sarı) ve PETC (kırmızı) boyları farklı emisyon spektrumuna sahip olduklarından 4 PZR plakası (her boyanın biri) bir ABI plakasında birleşimlerdir. Primer karışımındaki primerlerin konsantrasyonları; ileri primer için 0.33µM ve geri primer için 5µM olacak şekilde ayarlanmıştır. PZR Bio-Rad S1000 ısı-döngü cihazları kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.15).

PZR reaksiyon içerikleri

0.75µl M13-flouresan boya (10µM)

0.75µl 10x PZR tamponu

0.75µl Genomik DNA (15ng/µl)

0.60µl dNTPs (2.5mM)
0.60µl MgCl (25mM)
3.15µl ddH₂O
0.15µl Taq Polimeraz
0.75µl Primer Karışımı

Her bir set primer için PZR aşağıda belirtilen koşullarda gerçekleştirilmiştir.

PZR basamakları ve sikluslar (döngüler)

- | | | | |
|----|---------|-----------------------|------------|
| 1. | 95°C'de | 2 dk. ön denatürasyon | |
| 2. | 95°C'de | 20 sn denatürasyon | } 35 döngü |
| 3. | 54°C'de | 20 sn bağlanma | |
| 4. | 72°C'de | 1 dk uzama | |
| 5. | 72°C'de | 10 dk son uzama | |

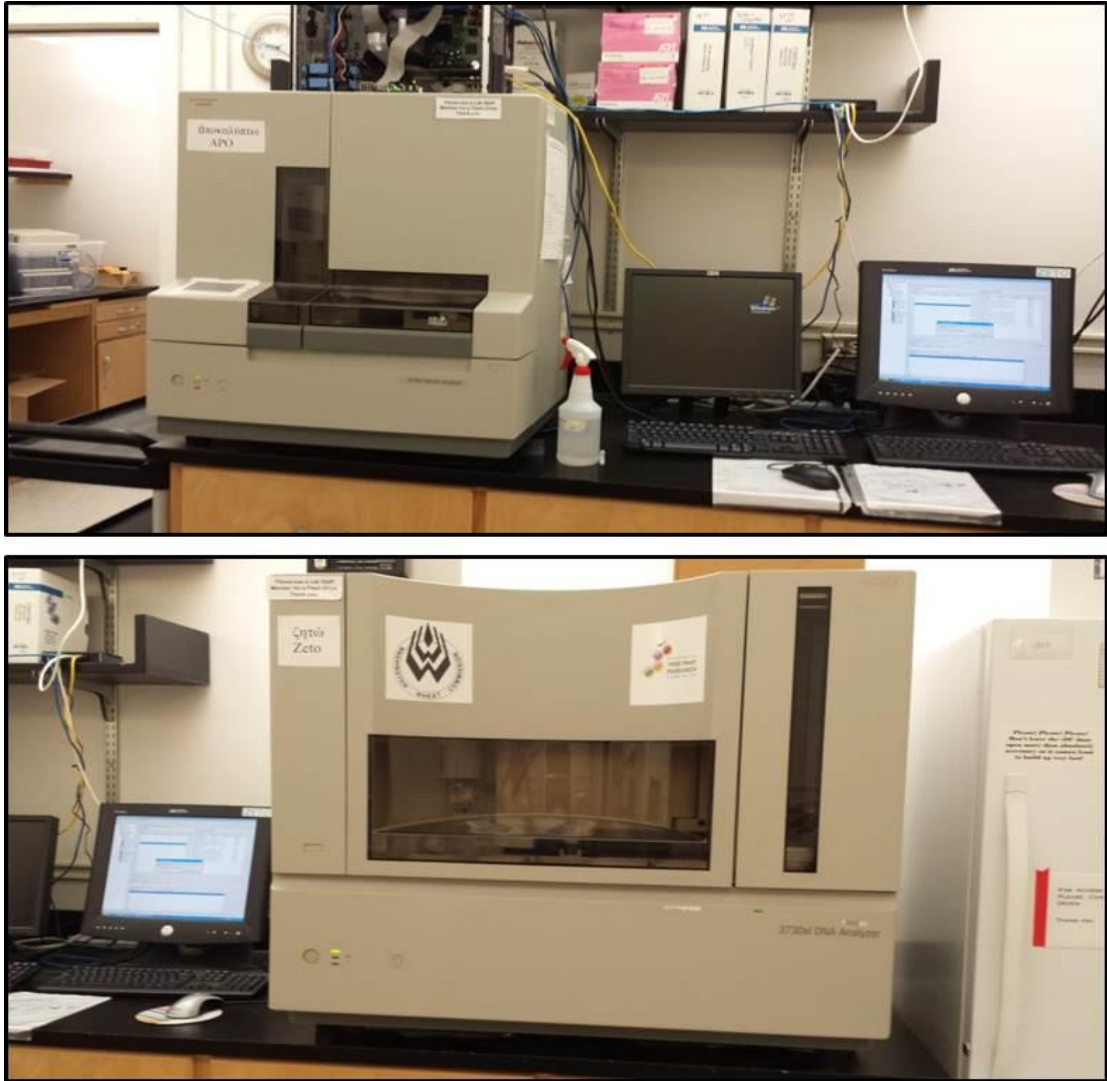
Elde edilen PZR ürünleri kapiller elektroforez için yükleninceye kadar derin dondurucuda (-20°C) saklanmıştır.



Şekil 3.15. Bio-Rad S1000 Isı döngü cihazları

3.7.5. Kapiller elektroforez

Mikrosatellit lokusların fragman analizi ARS/USDA genotipleme laboratuvarında bulunan ABI 3730x1 (Applied Biosystem) otomatik dizi analizi cihazı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.16). Bu basamakta 4 boya multipleks formatta kullanılmıştır. PZR ürünleri yeni bir 384 kuyucuklu plakada belirtildiği gibi sulandırılmıştır: 3µl FAM, 3µl HEX, 4µl NED, 6µl PET ve 9µl ddH₂O (son hacim 25µl). Sulandırılmış 3µl PZR ürünü, 8µl Formamide ve 2µl Cassul 445bç (baz çifti) büyüklük standardı kullanılarak örnekler ABI 3730x1' e özgün plakalar içinde kapiller elektroforez için hazırlanmıştır. Örnekler, elektroforez için kapiller borulara enjeksiyonu öncesinde, 94°C'de 5 dk denatüre edilmiştir.



Şekil 3.16. ABI 3730x1 Otomatik DNA Dizi Analizi Cihazları (Applied Biosystems) yukarıda 16 kapillerli aşağıda ise 48 kapillerli sistem gösterilmiştir

Sonuç olarak, 384 kuyucuklu bir multipleks plaka, dört 384 kuyucuklu PZR plakayı kapsamaktaydı. Bu nedenle sonuç olarak, 24 PZR plakası 8 markör içeren 6 ABI plakasına kombine edilmiştir. Her bir ABI plakasında kullanılan uygun boyalar ile işaretlenmiş markrlar aşağıda Şekil 3.17’de verilmiştir. Markör isminin yanındaki sayılar Vogel ve ark. (2009) tarafından belirtildiği üzere, DNA fragmanlarının beklenen büyüklüğünü göstermektedir.

ABI PLATE I			
ALB006	360	394	FAM
ALB008	116	138	
ALB013	231	341	HEX
ALB022	247	361	
ALB131	284	297	NED
ALB139	305	338	
ALB040	176	234	PET
ALB050	220	293	

✓

✓

✓

✓

ABI PLATE II			
ALB056	195	258	FAM
ALB086	178	340	
ALB155	165	179	HEX
ALB349	158	188	
ALB030	151	246	NED
ALB034	220	250	
ALB223	249	257	PET
ALB461	260	270	

✓

✓

✓

✓

ABI PLATE III			
ALB165	158	198	FAM
ALB348	163	246	
ALB087	193	204	HEX
ALB089	194	215	
ALB160	223	255	NED
ALB374	222	236	
ALB230	236	276	PET
ALB311	236	252	

✓

✓

✓

✓

ABI PLATE IV			
ALB355	167	221	FAM
ALB372	170	216	
ALB273	190	198	HEX
ALB454	188	216	
ALB158	231	276	NED
ALB170	230	256	
ALB100	235	267	PET
ALB257	235	263	

✓

✓

✓

x

ABI PLATE V			
ALB001	182	220	FAM
ALB183	185	200	
ALB278	192	200	HEX
ALB445	192	231	
ALB179	204	236	NED
ALB486	220	226	
ALB181	234	244	PET
ALB175	234	257	

✓

✓

✓

✓

ABI PLATE VI			
ALB004	241	256	FAM
ALB376	233	244	
ALB467	200	208	HEX
ALB514	205	241	
ALB047	200	201	NED
ALB149	237	245	
ALB100	235	267	PET
ALB257	235	263	

✓

✓

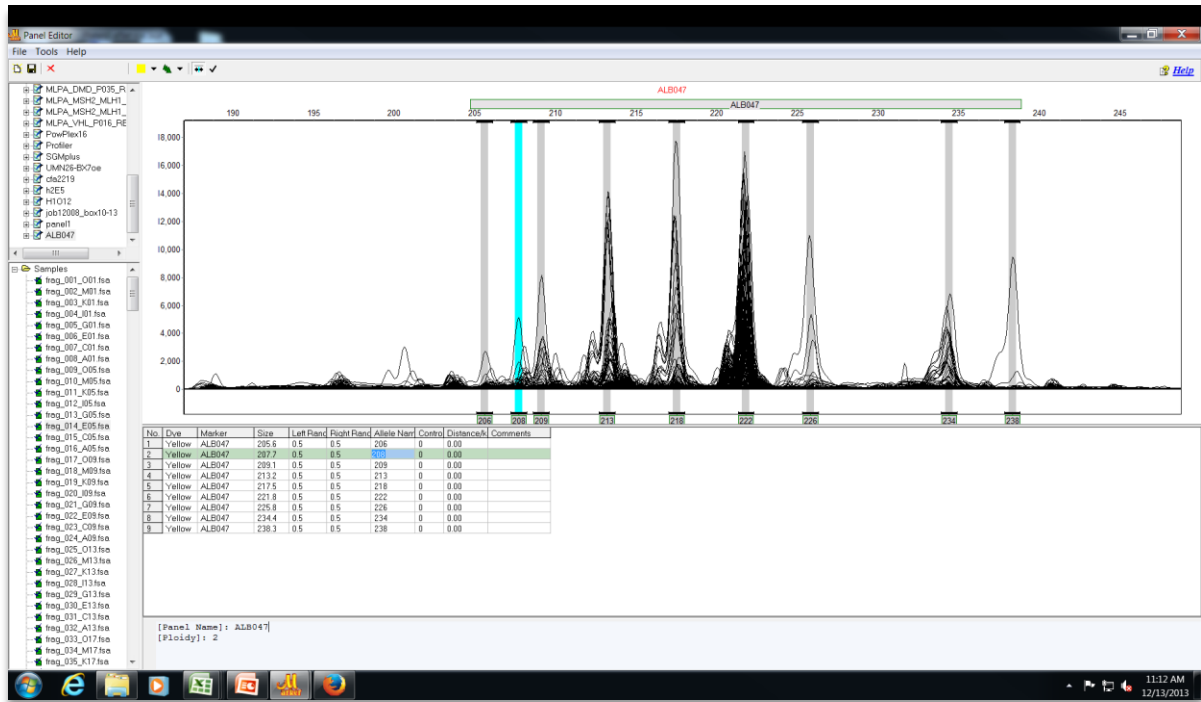
✓

✓

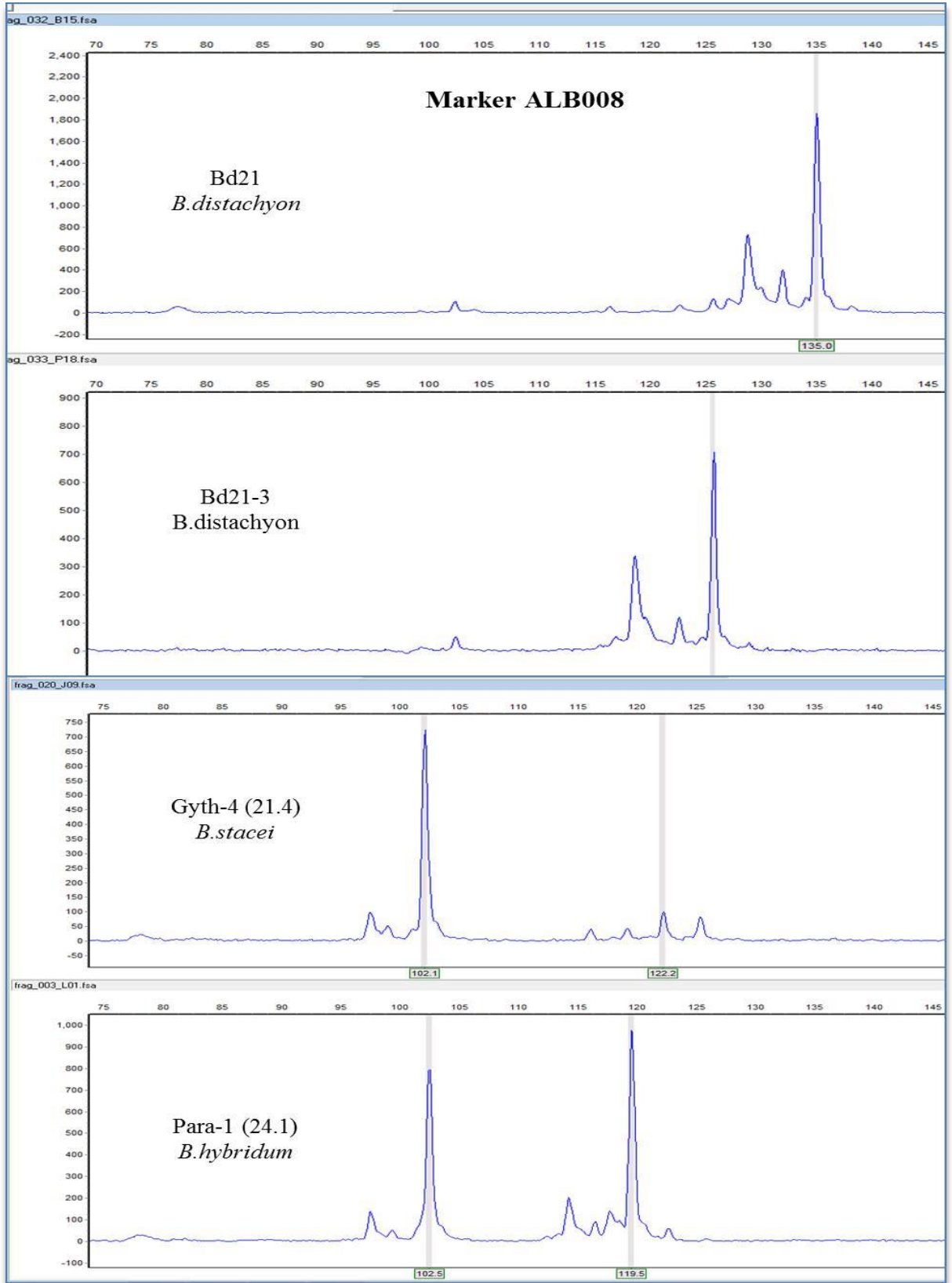
Şekil 3.17. Multipleks formatta uygun boyalara denk gelen markörler yüklenmiş 6 ABI plakası. 8 markör uygulanan tüm bireyleri içeren her bir ABI plakası şekilde gösterilmiştir. ALB100 ve ALB257 nolu markörler tekrar edilmiştir. Markörlerin karşısındaki sütunlardaki sayılar Vogel ve ark. (2009a) tarafından verilen fragman aralığını göstermektedir

3.7.6. Fragman analizi

DNA fragmanlarının değerlendirilmesi GeneMarker® Version 1.95 yazılım programı (Softgenetics LLC®, State College, PA, USA) kullanılarak yapılmıştır. Manuel olarak, her bir markör için tüm allelleri temsil eden bir panel oluşturulmuştur (Şekil 3.18). Her bir lokusa ait alleller markör paneli kullanılarak değerlendirildikten sonra allelleri kontrol edilmiş (alles checked) olarak isimlendirilen pikler, tekrardan her bir birey için ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Her markörde her bir birey için bir veya iki allel değerlendirilmiş (Şekil 3.19) ve ardından tüm markör ve bireyleri içeren diploid formatta bir matris oluşturulmuştur. ALB183 kodlu markör için, Allotetraploid *B. hybridum* bireylerinde üç eşit amplifiye pik tespit edilmiştir. Bu durum üstesinden gelebilmek için bu örneklerde, ALB183 kodlu markör ALB183-1 ve ALB183-2 olarak ikiye bölündükten sonra, fragman büyüklüğünün açık olarak ayrıldığı göz önüne alınarak farklı bir lokus ve bağımsız olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.20).

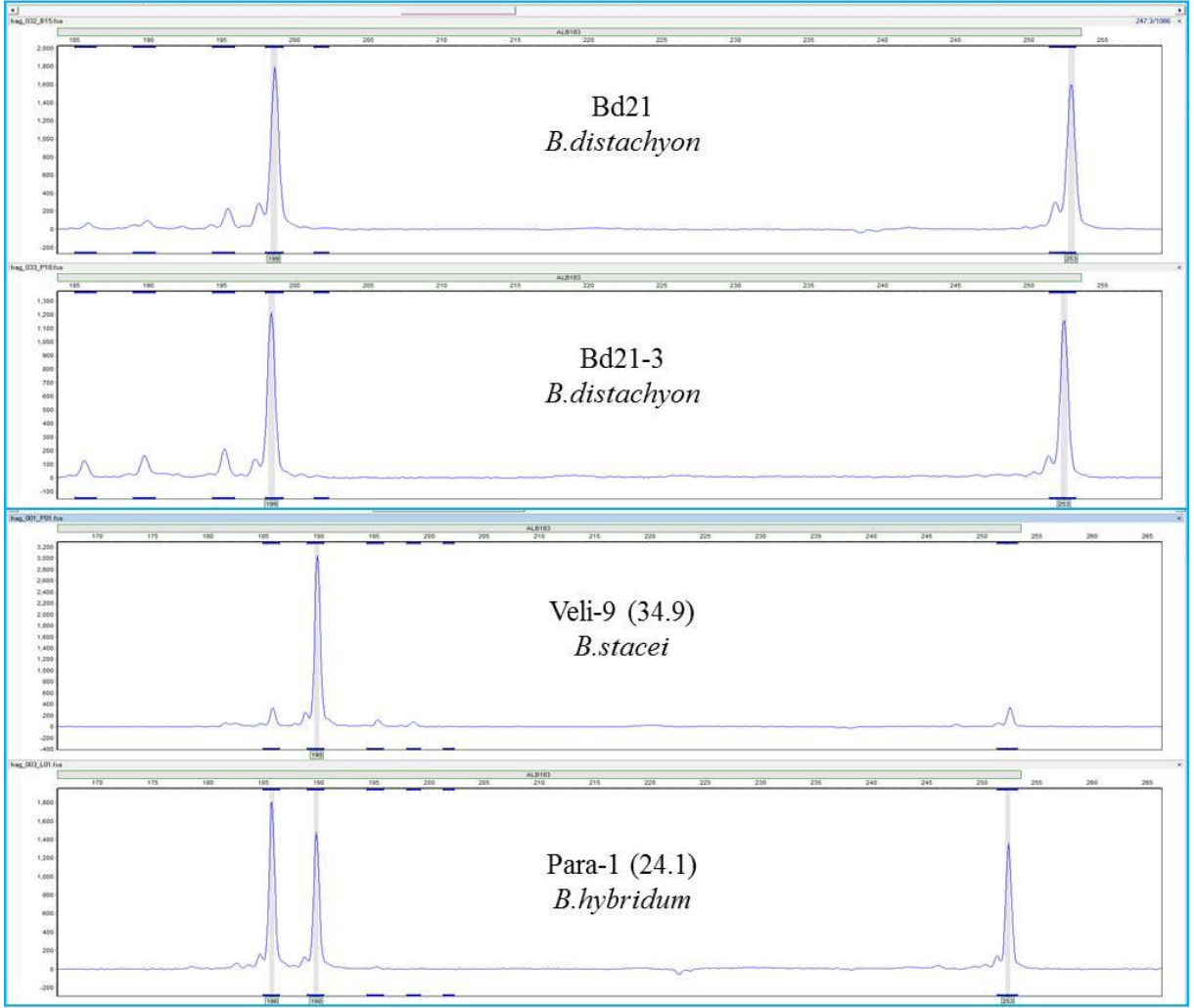


Şekil 3.18. ABI plakası VI da gösterilen bireylere ait piklerle, tetranükleotid ALB47 markör için allel paneli (NED floresan boyası). Bu markör için 206 ile 238 bp arası 9 allel tanımlanmıştır (dikey barlar). En yaygın allel 222 bp büyüklüğe sahiptir



Şekil 3.19. Bd21, Bd21-3, Gyth-4 (*B. stacei*) ve Para-1 (*B. hybridum*) bireylerine ait ALB008 mikrosatellit markör fragmanlarına denk gelen pikler. Karakteristik olarak, iki diploid tür açık olarak bir pike sahipken, allotetraploid Para-1 her bir paternal türden gelen iki pike sahip olmuştur. Bu durumda her iki pik, diploid formatta değerlendirilmiştir

Marker ALB183



ALB183-1

ALB183-2

Şekil 3.20. ALB183 markörü allotetraploid *B. hybridum*'ların çoğunda 3 pik oluşturmuştur. Bu nedenle, analizi basitleştirmek için ve her bir pikin farklı lokuslardan kaynaklandığı göz önüne alınarak ALB183-1 ve ALB183-2 olarak adlandırılan iki marköre bölünmüştür

3.7.7. Genetik çeşitlilik analizleri

Genotipleme verileri, PowerMarker v.3.25 yazılım programının özet istatistikler seçeneği kullanılarak her bir lokus için ortalama allel sayısı, majör allel frekansı, gen çeşitliliği, heterozigotluk, kendileşme katsayısı (inbreeding coefficient) ve polimorfik bilgi içeriği gibi genetik çeşitlilik ölçümlerine tabi tutulmuştur (Liu K and Muse SV, 2005). Bu analizler, hem tüm bitki koleksiyonu hem de her bir tür içinde gerçekleştirilmiştir.

Moleküler varyans analizi (AMOVA) F istatistik ve analoglarında oldukça yaygın kullanılan değerlendirme, popülasyonlar ve bölgeler arası genetik varyasyonların hiyerarşik bölümlenmelerine (ayırımına) izin veren önemli bir istatistiksel metottur. Sıfır (null) hipotezi “popülasyonlar arası herhangi bir fark yoktur ($F_{st}=0$)” olarak kabul edilir. Alternatif H1 hipotezi olarak ise “popülasyonlar arası genetik fark vardır ($F_{st}>0$)” olarak kabul edilir. Bu nedenle, popülasyon farklılığını araştırmak amacıyla, üç türde %5 düzeyde 999 permutasyon ve kodominant allellik seçeneğiyle birlikte AMOVA testi uygulanmıştır. Üç türe ait 49 popülasyonda (31 Bd, 15 Bh ve 3 Bs) yer alan 179 birey (117 Bd, 47 Bh ve 15 Bs) bu analize dahil edilmiştir. Her bir tür için sadece bir bireyi bulunan popülasyonlar (B.d’den Gera-1, Asti-1, Linos-4, Koz-3, HU1.6. ve Bh’den Grik-8, Gyth-4, ABR113, MA1.2.) analize dahil edilmemiştir. İkili Fst, LinFst, Nm hesabı 999 permutasyonun tayininden sonra gerçekleştirilmiştir. Bununla beraber, Nei’s uzaklık ve F’st hesaplanmıştır.

Daha sonra, *B. distachyon* ve *B. hybridum* türleri için moleküler varyans analizi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, 117 *B. distachyon* bireyinde ikili Fst değerleri, 31 popülasyonla (Bd21 ve Bd21-3 bir popülasyon olarak düşünülmüştür.) ve 47 *B. hybridum* bireyinde 15 popülasyonla örtüşerek, 999 permutasyonla AMOVA istatistik uygulamasıyla hesaplanmıştır. Tüm AMOVA ve F-istatistik hesaplamaları GenAIEx 6.501 yazılım programı kullanılarak yapılmıştır (Peakall R and Smouse PE, 2006).

Temel koordinatlar analizi (Principal coordinates analysis (PCoA)) çok değişkenli bir veri seti (örn. Çoklu lokus ve çoklu örnekler) içerisinde başlıca motifi bulunması ve çizilmesine izin veren bir çoklu değişken tekniğidir. PCoA uygulamaları matematiksel olarak karmaşıktır. Ancak, esas itibarıyla PCoA; varyasyonların temel eksenlerinin çok boyutlu bir veri seti içerisinde yerleştirildiği istatistiksel bir süreçtir. Her bir ardışık eksen toplam varyasyondaki azalmayı orantısal olarak açıklamaktadır. Öyle ki fazla sayıda farklı gruplar bulunduğu, ilk iki veya 3 eksen, tipik olarak gruplar arasındaki ayırımın (dağılımın) büyük çoğunluğunu ortaya çıkarmaktadır.

PCoA üç tür için; hem her bir tür için popülasyon düzeyinde ayrı olarak, hem de birey düzeyinde 3 tür için birlikte uygulanmıştır. Çalışmaya alınan tüm bireyler için GenAIEx 6.501 yazılımı (programı) içerisinde yer alan genetik uzaklık kodominant genotip seçeneği kullanılmıştır. Ayrıca, karşılaştırmak amacıyla, PowerMarker yazılımı tarafından hesaplanan paylaşılan allel uzaklık matrisi (D_{SA}) ve Phylip kullanılarak hesaplanan Nei’s 1983 (D_A) uzaklık matrisi gibi, iki veya daha fazla uzaklık matrisi PCoA’da giriş verisi olarak

kullanılmıştır. Daha sonra verilerin standardize edilmesiyle birlikte uzaklık matrisi kullanılarak, analizler gerçekleştirilmiştir.

B. distachyon türlerinde 37 popülasyon üzerinde yansız (tarafsız) Nei's genetik uzaklık GenAIEx yazılımı üzerinde yer alan frekans seçeneği kullanılarak hesaplanmış ve PCoA veri standardizasyonu ile uzaklık matrisi üzerinden gerçekleştirilmiştir (EK 27). Allel saptanamayan markörler hariç tutulup, *B. stacei* türüne ait 7 popülasyon için Nei's genetik uzaklık hesaplanırken (EK 29), *B. hybridum* türüne ait 19 popülasyon için de aynı prosedür uygulanmıştır (EK 28).

3.7.8. Genetik, fenotipik ve coğrafik uzaklıkların korelasyonu

Mantel Testi (Mantel, 1967): Mantel, herhangi iki matrisin eşleşen veri girişleri ile kullanılan matrislerin elemanları arasındaki ilişkiyi değerlendiren çok yönlü parametrik olmayan bir testtir. Diğer bir deyişle, aynı boyutlarda iki matris arasındaki korelasyonun anlamlılığını belirlemek için kullanılan bir istatistiksel yöntemdir. Mantel testi aynı subjelerin iki veya daha fazla uzaklık matrisini kıyaslar. Mantel testindeki sıfır (null) hipotezi ise, A matrisindeki uzaklıkların B matrisindeki uzaklardan bağımsız olması durumudur.

Coğrafik uzaklık ve genetik profiller arasındaki ilişkiyi saptamak amacıyla GenAIEx 6.501 yazılımı üzerinden Mantel testi uygulanmıştır. Coğrafik kayıtları bulunmayan örnekler (Bd21, Bd21-3, Koz-3, ABR113 ve ABR114) analize tabi tutulmayıp, örnekleme havuzuna dahil edilmemiştir. Üç türe ait toplam 187 birey analize dahil edilmiştir. Coğrafik koordinatlar ondalık derecelere dönüştürülüp, coğrafik uzaklık matrisi $\log(1+x)$ transformasyon seçeneği kullanılarak hesaplanmıştır (EK 2). Lineer kodominant genotipik uzaklık seçeneği genetik veri üzerine uygulanmıştır. Smouse ve ark.' (1986) tarafından tanımlanan metoda dayalı olarak 999 permütasyonla Mantel testi uygulanmıştır.

Genotipik ve fenotipik veriler arasındaki bağlantıyı saptamak amacıyla Mantel testi 999 permutasyonla GenAIEx 6.501 yazılım programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu karşılaştırma için genotipik ve fenotipik karakterizasyon için ortak özelliklere sahip toplam 188 örnek analize dahil edilmiştir (ABR113, ABR114, Koz-3 ve Bd21 nolu örnekler hariç tutulmuştur). Biri genotipik veriler için paylaşılan allel algoritması üzerinden oluşturulan matris, diğeri de fenotipik karakterler için oluşturulan Öklid uzaklık matrisi olmak üzere iki uzaklık matrisi analiz için yapılandırılmıştır.

3.7.9. Genetik uzaklıklar ve filogeni

Paylaşılan allel uzaklığı D_{SA} (Jin and Chakraborty, 1993), Cavalli-Sforza ve Edwards (1967)'in D_C uzaklığı ve Nei ve ark. (1983)'nin D_A uzaklığı PowerMarker v.3.25 programı (Liu K and Muse SV, 2005) kullanılarak hesaplanmıştır. D_{SA} değeri ayrıca her bir tür için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Dendrogramlar, D_C ve D_A için 1000 bootstrap destekle, D_{SA} için 1000 bootstrap destekle komşu birleştirme kümelenmesi (neighbor-joining clustering) metodu kullanılarak PowerMarker v.3.25 programında oluşturulmuştur. Çoğunluk kurallı uyumluluk ağacı (Majority rule consensus trees) PHYLIP v.3.695 paketinin CONSENSUS yazılımı kullanılarak oluşturulmuştur (Felsenstein J, 1989). Bununla beraber, PHYLIP paket programı içerisinde yer alan FITCH programı D_A uzaklıkla beraber kullanılmıştır. Bunu takiben, tüm (filogeni) ağaçları Dendroscope v.3.2.10 kullanılarak düzenlenmiştir (Huson DH ve Scornavacca C, 2012).

3.7.10. Bayes popülasyon yapı analizi

Mikrosatellit verileri STRUCTURE v.2.3.4 yazılımı üzerinde uygulanan modele dayalı bir kümeleme algoritması (model-based clustering algorithm) kullanılarak popülasyon yapı varlığı analizleri gerçekleştirilmiştir (Pritchard et al. 2000). Bu yazılım alt popülasyonları belirlemek için bir Bayes kümeleme algoritması uygulamaktadır. Bunun için çalışmaya dahil edilen örnekleri bu alt popülasyonların içine atar ve popülasyon allel frekansını tahmin eder. STRUCTURE yazılımı Markov chain Monte Carlo (MCMC) algoritmasına dayalı genetik benzerliklere göre bireyleri K kümelerine ayırmaktadır. Her bir kümede yer alan her bir birey için tahmin edilen üyelik katsayısına (Q) dayalı olarak en iyi K kümesi seçilir. Parametreleri hesaplamak için birden 20'ye kadar uzanan K değerleri için 100.000'lik uzunluk sayısını (burn-in length) takiben 1.000.000'lük MCMC tekrarlarıyla, 10 bağımsız tekrardan (run) gerçekleştirilmiştir.

B. distachyon popülasyonunun büyük bir kısmı homozigot olduğundan dolayı, üç tür için diploid ayarlama kullanmıştır. “Bağımsız allel frekansı”, allel frekans dağılım parametresi $\lambda=0.8$ ve “ön popülasyon bilgisi yok” ayarlarıyla birlikte karışım modeli kullanılmıştır. Her bir K değeri için belirlenen verinin log -olasılığı K kümesi boyunca kıyaslanarak hesaplanmıştır. Bağımsız çalışmaların en uygun hizalanmalarının tespiti için CLUMPP v.1.1.2 yazılımı kullanılmış (Jakobsson M and Rosenberg NA, 2007) ve elde edilen veriler, küme görüntüleme programı DISTRUCT 1.1 için doğrudan giriş (input) verisi olarak kullanılmıştır (Rosenberg NA, 2004). Optimum alt popülasyon modelleri şu şekilde

incelenmiştir: (1) Pritchard ve Falush (2007) tarafından önerilen enformel işaretçilerin (örneğin platokriteri) uygulanması, (2) SPSS v.20 yazılım paketinde (Rosenberg, 2001) uygulandığı üzere, parametrik olmayan Wilcoxon testi kullanılarak her bir K değeri için on tekrar ile hesaplanan logaritma olasılığı değerleri anlamına gelen L(K) değerinin uygulanması, (3) Evanno ve ark. (2005) tarafından tanımlanan K değeri ile ilgili ikinci düzen oranının değişimi olan $3\Delta K$ değerinin hesaplanması ve (4) STRUCTURE HARVESTER programında uygulandığı gibi (Earl ve von Holdt, 2012), on tekrar ile hesaplanan verilerin logaritma olasılığı L(K) ve ΔK değerlerinin grafiğinin çizilmesi.

Ayrıca, bu çalışmada, Pritchard JK ve Falush D (2007) tarafından önerildiği gibi, sadece bireylerin farklı alt kümeler halinde bölünmüş olduğu tahmini kullanılarak, tür düzeyi verileri takiben STRUCTURE program kullanılarak “hiyerarşik STRUCTURE analizi” uygulanmıştır. Bu yaklaşım için, en iyi K kümesinin belirlenmesinde ΔK metodu kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Fenotipik Karakteristiklerin İstatistiksel Analizi

4.1.1. Tanımlayıcı İstatistikler

Materyal ve Yöntemler bölümünde (başlık 3.5.1) belirtildiği üzere, fenotipik karakterizasyon, 3 türün 603 bireyine karşılık gelen 1.784 bitki üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ölçüm yapılan her bir bitkide her bir karakter için ortalama değerler hesaplanmış, istatistik analizler bu ortalama değerler üzerinden yapılmıştır. Çizelge 4.1, 4.2 ve 4.3'te *B. distachyon*, *B. hybridum* and *B. stacei* türlerine ait 15 karakteristik özelliğin minimum, maksimum, ortalama, standart sapma, varyans, çarpıklık (skewness) ve basıklık (kurtosis) değerleri sırasıyla verilmiştir.

Bu noktada, yetiştirme koşulları ve uygulamalara ya da diğer koşullara bağlı olarak ölçülen karakteristik değerler arasında bazı farklılıklar olabileceğini söylemek mümkündür. Bu tür çalışmalarda değerlerin karşılaştırmalı olarak gruplar arasında ve kendi içlerinde yorumlanması, mutlak değerlerden daha önemlidir. Bu nedenle, değerler arasındaki ilişkiyi daha iyi göstermek için, 3 türe ait her bir özellik SPSS paket programı yardımıyla bir arada kutu diyagramlar halinde çizilerek verilmiştir (EK 11- EK 15). Bu kutu diyagramlara bakıldığında aşağıda özetlenen karakteristiklerin genel özelliklerini görmek mümkündür.

Başaklanma (Heading)

Bu üç türün ilk başaklanma gün sayısında dikkate alındığında, *B. stacei* ilk başaklanan bitki olurken, gün sırasıyla *B. hybridum* ve *B. distachyon* bitkileri onu izlemişlerdir (Şekil 4.1.a) Bununla beraber bitkiler arasında alt veya üst çeyrekte %25'lik örtüşme de gözlenmektedir. Üç türde de bazı aykırı değerler olmuştur. Özellikle *B. stacei* türünde 3 aşırı aykırı değer görülmüştür (AL1.1: 89.0; AL5.2: 93.5 ve Amfi-1: 133.3). Doğal *Brachypodium* aksesyonlarında başaklanma ve çiçeklenme süresi büyük ölçüde sıcaklık ve ışığın niteliklerinden etkilenmektedir (Schwartz, 2010), sonuçta bu karakteristiklerden yalnızca göreceli bir yorum yapılabilir.

Saplar (Tillers)

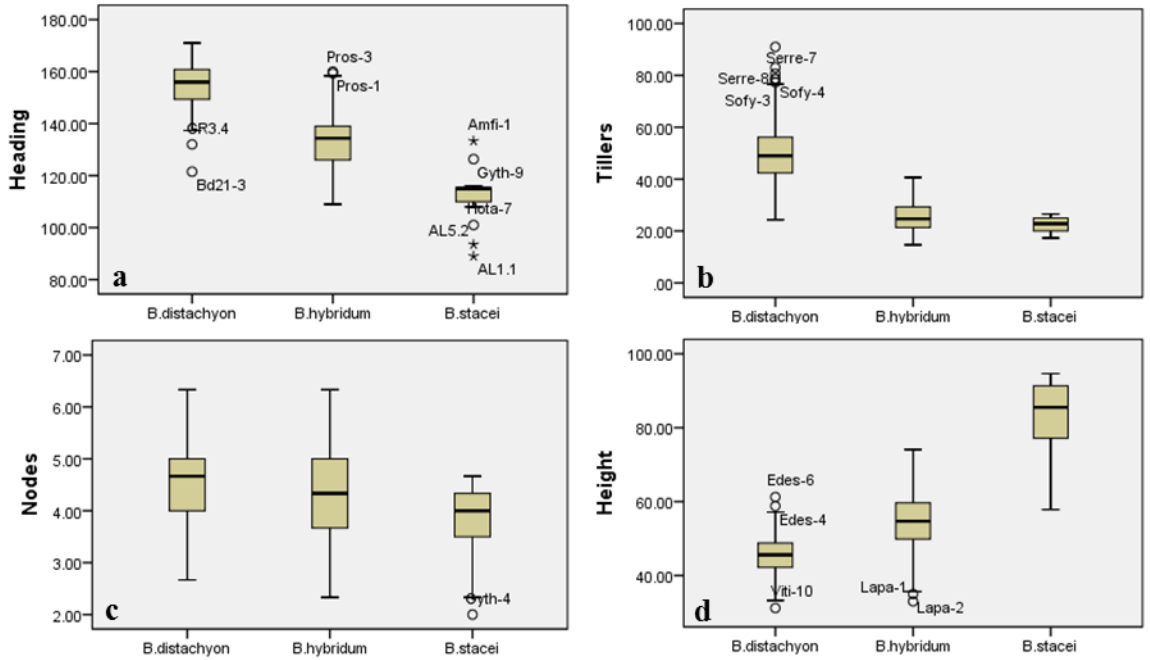
Sap sayıları örneğinde de durum aşağı yukarı aynıdır. *B. stacei* ve *B. hybridum* benzer sap sayılarına sahipken, geniş aralıkta *B. hybridum* ile *B. distachyon* bazı örtüşen durum ve üst düzeydeki orta aykırı değerlerle iki katına sahiptirler (Şekil 4.1.b).

Boğumlar (Nodes)

En uzun saptaki boğum sayıları (Boğumlar) aydınlatıcı nitelikte değildir, çünkü üç türde de aynı sayıları vermektedir (Şekil 4.1.c). Bu da 4 civarındadır.

Boy (Height)

Bitkilerin boyu söz konusu olduğunda durum tam tersidir. *B. stacei* türü 1 metre dolayına ulaşarak *B. distachyon* türünden küçük örtüşmelerle daha yüksek değere ulaşırken, *B. hybridum* türü bu iki türün arasında bir uzunluk değerine sahip olmuştur (Şekil 4.1.d). Bu durumda bile *B. distachyon* and *B. hybridum* türlerinde bazı “orta” aykırı değerlere rastlanmıştır. *B. distachyon* türünde 31-61 cm aralığında bulunan değerlerin, dış ortam koşullarında ABD Kaliforniya’da 28-59 cm aralığında Tyler ve ark. (2014) tarafından bulunan değerlere benzer sonuçlar olduğu görülmüştür. Bd21-3 aksesyonunun 35.9 cm boyunun, Taylor ve ark. (2014) tarafından başak kılıçkları hariç yapılan ölçümde belirtilen 32 cm değeri ile benzer sonuçlar vermesi de dikkat çekicidir.



Şekil 4.1. Üç türde ait fenotipik karakteristiklerinin karşılaştırmasını gösteren kutu diyagramları: (a) Başaklanma/Heading (gün), (b) Saplar/Tillers (adet), (c) Boğumlar/Nodes (adet) ve (d) Boy/Height (cm)

Salkım (Raceme)

En uzun saptaki salkım uzunluğu (raceme) *B. distachyon* bireylerini ilk bakışta *B. stacei* bireylerinden ayıran diğer bir karakteristiktir. *B. distachyon*'un ortalama salkım uzunluğu (5cm), *B. stacei* bireylerinden ortalama salkım uzunluğunun (10cm) yarısı kadardır (Şekil 4.2.a). Yine *B. distachyon* türünden Linos populasyonu bireyleri ve Bd21-3 aksiyonunda bazı aykırı değerlere rastlanmıştır. *B. hybridum* türü 8 cm ortalama değerle diğer iki tür arasında yer almıştır.

Salkımlı saplar (Flowering culms)

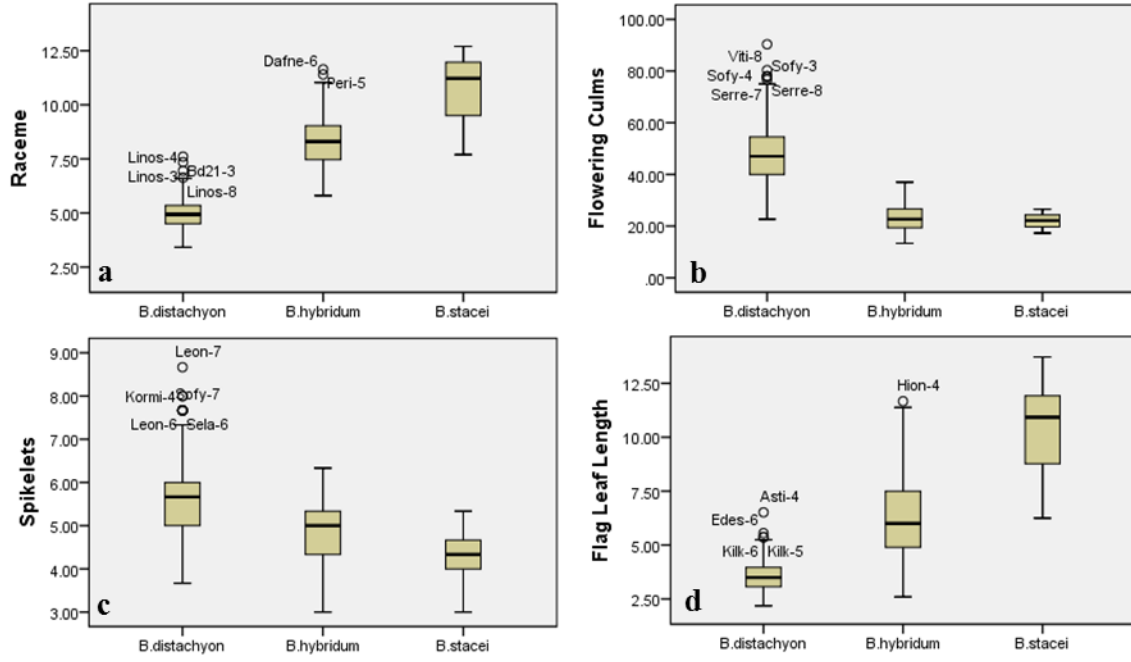
Salkımlı sap sayısı, toplam sap sayısına benzer sonuçlara göstermiştir. *B. distachyon* bireyleri ortalama 48 salkımlı sap sayısı ile, sırasıyla 23 ve 22 salkım sap sayısına sahip *B. hybridum* ve *B. stacei* türlerinden yaklaşık iki kat daha fazla sayıya sahip olmuştur (Şekil 4.2.b). *B. distachyon* salkım sap sayısı bazı bireylerde 90'ın üzerinde çıkmıştır (Sofy-5). Büyük olasılıkla *B. distachyon* türü vernalizasyonun etkisiyle daha fazla sap sayısı ve başaklanma süresine ulaşmıştır. Huan et al (2013)'a göre *Brachypodium*'da dört haftadan uzun soğuklanma periyodu başaklanmayı harekete geçirmektedir. Vernalizasyon süresinin 4 haftadan az olduğu durumlarda bitki başaklanmamaktadır.

Başakçıklar (Spiklets)

Salkım başına 8 başakçık gibi bazı aşırı değerlerle (Leon-7, Sela-5, Eren-4) *B. distachyon* bireyleri salkımlarında genellikle daha fazla başakçık bulunmasına rağmen, başakçık sayıları (başakçıklar) bakımından türler arasında önemli bir fark yoktur (Şekil 4.2.c). In *Brachypodium*'da başaklanma 4 hafta boyunca soğukta bekletilen bitkilerde indüklenebilir. Eğer vernalizasyon süresi 4 haftadan kısa olursa, bitki başaklanmayabilir. (Vogel. 2009).

Bayrak Yaprak Boyu, Bayrak Yaprak Eni ve Bayrak Yaprak Alanı

Bayrak yaprakları boyutları (Bayrak Yaprak Boy (BYB), Bayrak Yaprak Eni (BYE) ve Bayrak Yaprak Alanı (BYA)) bakımından *B. distachyon* ve *B. stacei* türleri arasında oldukça önemli fark olduğu görülmüştür (Şekil 4.2.d, Şekil 4.3.a, Şekil 4.3.b). *B. stacei* bireyleri geniş ve uzun yapraklara sahiptir. *B. hybridum* bireylerinin bayrak yaprakların boyutları yine *B. distachyon* ve the *B. stacei* türleri arasında olmuştur. *B. distachyon* türünde 1 cm², *B. hybridum* türünde 2.3 cm² ve *B. stacei* türünde 5.5 cm² ortalama BYA değerleri ölçülmüştür. Görüldüğü gibi, *B. stacei* türündeki bireylerin ortalama BYA, *B. distachyon* türünün bireylerinin 5 katından fazladır.



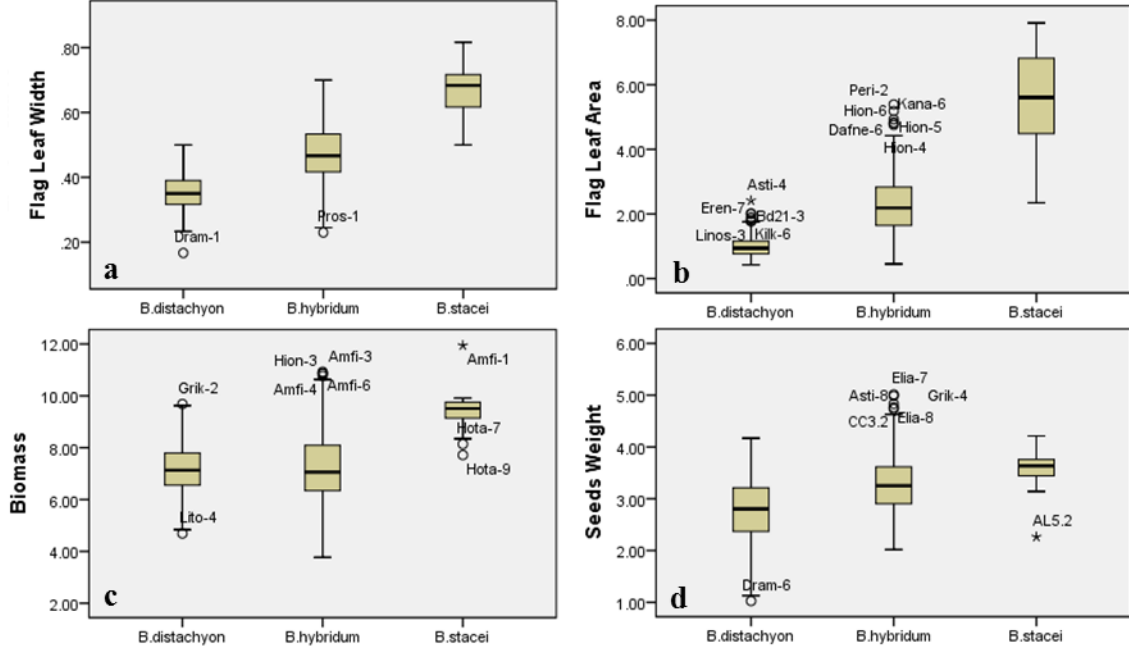
Şekil 4.2. Üç türde ait fenotipik karakteristیکlerinin karşılaştırmasını gösteren kutu diyagramları: (a) Salkım/Raceme (cm), (b) Salkımlı sap/Flowering culms (adet), (c) Başakçık/Spikelets (adet), ve (d) BYB/Flag Leaf Length (cm)

Biyokütle (Biomass)

Toprak üstündeki toplam biyokütle (Biomass) durumu biraz daha karmaşıktır (Şekil 4.3.c). *B. hybridum* türünün bireyleri geniş yapraklara sahip ve daha uzunken, *B. distachyon* bireyleri daha fazla sap ve tohum vermiştir. *B. hybridum* ve *B. distachyon* türleri aynı biyokütleye sahiptirler (sırasıyla 7.3 gr ve 7.2 gr). Bu nedenle vegetatif biyokütleye varyansını kullandık. *B. stacei* türünün bireyleri 9.4 g ortalama biyokütleye ile diğer iki türden daha fazla biyokütleye sahip olmuştur. Bu türde geç çiçeklenen Amfi-1 aksasyonu 11.9 gr biyokütleye değerine ulaşmıştır.

Tohum ağırlığı (Seed weight)

Daha sonra üretilen her bir bireyin tohum ağırlığı ölçülmüştür (Şekil 4.3.d). Üç türde örtüşmeler olsa da, ortalama değerler *B. stacei*, *B. hybridum* ve *B. distachyon* türlerinde sırasıyla 3.6 gr, 3.3 gr ve 2.8 gr olmuştur. En fazla ortalama TA *B. stacei* türü bireylerinde bulunmuştur. Bu karakteristیک bitkinin vegetatif biyokütleye varyansının açıklanmasına da yardımcı olmuştur.



Şekil 4.3. Üç türe ait fenotipik karakteristیکlerinin karşılaştırmasını gösteren kutu diyagramları: (a) BYE/Flag Leaf Width (cm), (b) BYA/Flag Leaf Area (cm), (c) Biyokütle/Biomass (gr) ve (d) Tohum ağırlığına/Seeds weight (gr)

Vegetatif biyokütle (Vegetative biomass)

Daha önce belirtildiği gibi, vegetatif biyokütle toplam biyokütleden tohum ağırlığının çıkartılmasıyla hesaplanmaktadır (Şekil 4.4.a). Bu durumda vegetatif biyokütle ortalama değerleri *B. distachyon* bireylerinde 4.4 gr, *B. hybridum* bireylerinde 4 gr ve *B. stacei* bireylerinde 5.8 gr olmuştur. *B. hybridum* ve *B. distachyon* türlerinin bireyleri ortalama biyokütle değeri bakımından birbirine yakın iken, daha önce belirtildiği gibi *B. hybridum* türü daha fazla tohum ağırlığına sahiptir. Bununla birlikte kutu diyagramlar incelendiğinde *B. hybridum* and *B. stacei* türlerinde, özellikle Amfi popülasyonunda bazı uç değerler olduğu gözlenmektedir.

Tohum verimi (Seeds yield)

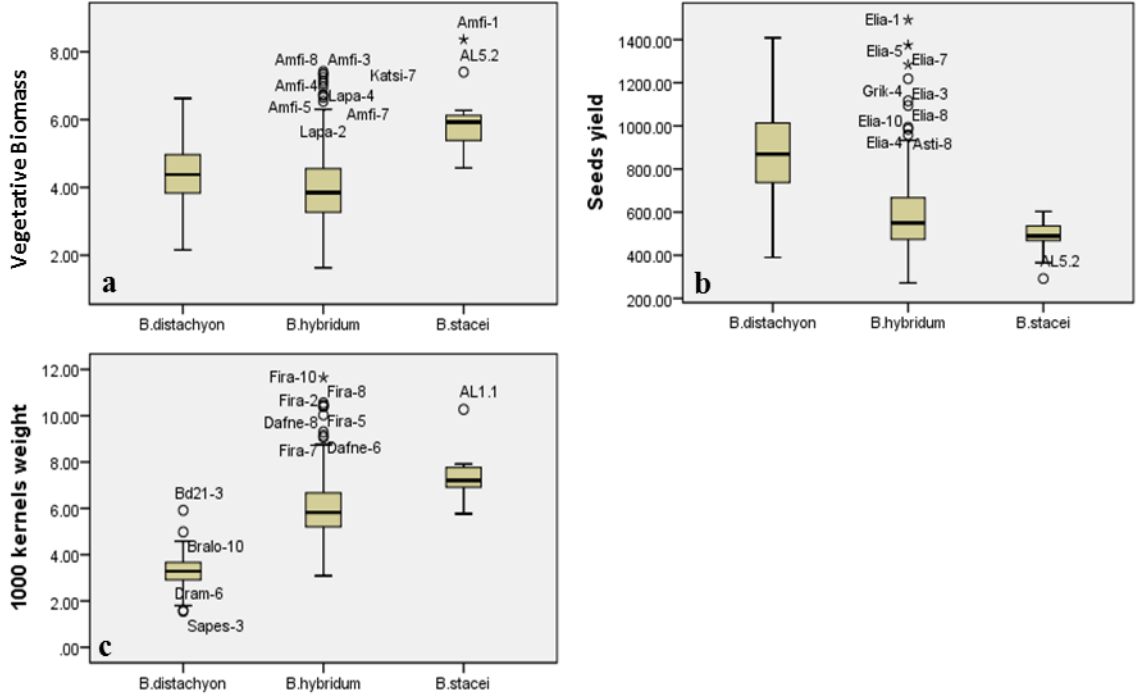
Bitki başına tohum verimi (Tohum verimi) büyük bir varyans göstermektedir (Şelik 4.4.b). *B. distachyon* bireylerinin ortalama değerleri, *B. hybridum* türünün bireylerinin ortalamasından yaklaşık 1.5 kat, *B. stacei* bireylerinin ortalamasının da çok üstündedir. Ancak *B. hybridum* bireylerinin bazılarında *B. distachyon* bireylerinden daha fazla ortalama değerlere sahip bazı bireylere rastlanmıştır. Küçük tohumlara sahip *B. hybridum* popülasyonundan olan bu bireyler, nisbeten küçük tohumlu olup, önemli ölçüde Elia popülasyonundandırlar. *B. distachyon* türünde bitki başına 390-1408 adet aralığında tohum

değerleri elde edilmiştir. Bu oran, yaptıkları araştırmada *B. distachyon* türleri için Filiz ve ark. (2009) bildirdikleri 4-193 tohum/bitki oranı ile Brkljacic ve ark (2011) bildikleri 100-1000 tohum/bitki oranından daha fazladır. Ayrıca Savas Tuna(2014), 372 (36- 853) değerlerini rapor etmiştir.

Bin tane ağırlığı (1000 kernels weight)

Son olarak, tohum sayısının bir göstereci olan bin tane ağırlığının (BTA), en fazla *B. stacei* türünde 7.4 gr, sonra sırasıyla *B. hybridum* türünde 6 gr ve *B. distachyon* türünde 3.3 gr ortalama değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4.c). Ayrıca *B. hybridum* popülasyonundan Fira and Dafne ve bazı Pela bireyleri (AL1.1 hariç), bütün tür bireylerinden, özellikle *B. stacei* türünün ortalama değerinin çok üzerinde, daha ağır tohumlar üretmişlerdir.

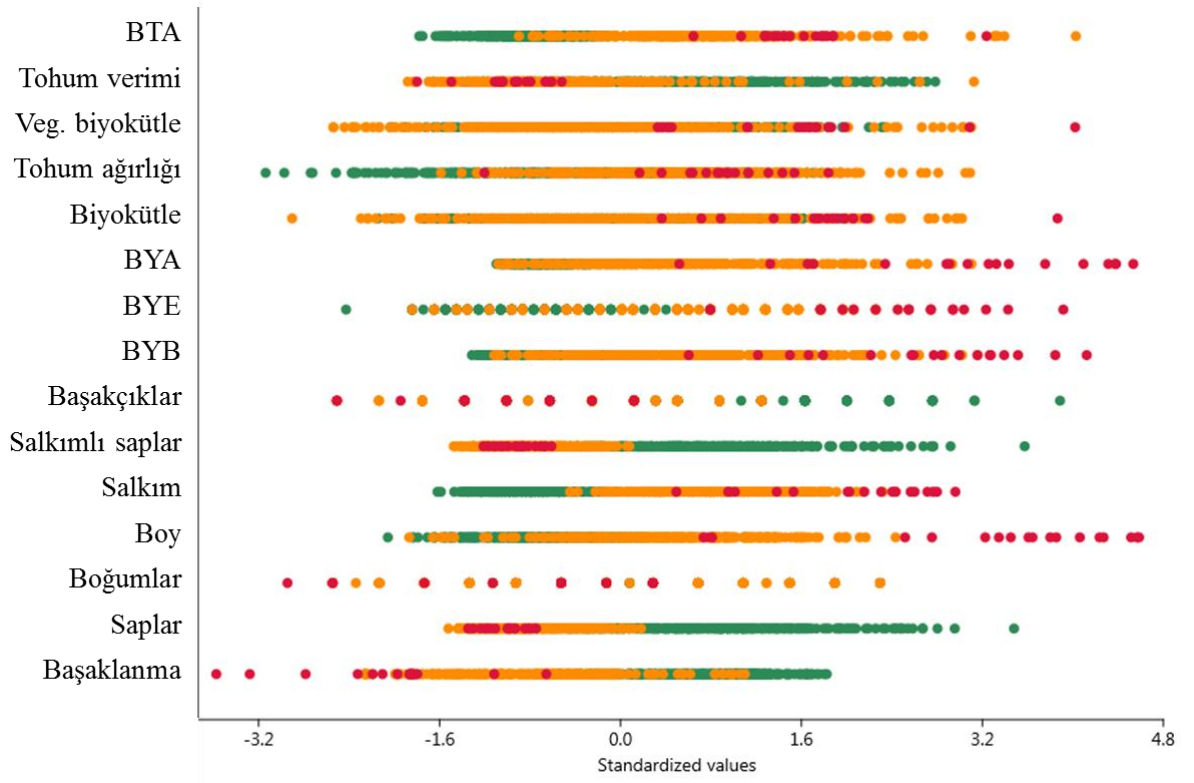
Bu üç popülasyon güney Yunanistan'ın Santorini ve Girit adalarındandır. Diğer yandan *B. distachyon* türünün BTA 1.5 gr ile 5.9 gr aralığında olmuştur. Bu aralıkta en yüksek değer bütün diğer *B. distachyon* bireylerinin üzerinde 1 gr farkla yer alan Bd21-3 aksesyona aittir. 2014'de Tyler et al., Bd21-3 aksesyonunu yetiştirme odası koşullarında yetiştirerek aksesyondan en uzun, geniş ve ağır tohumu elde etmişlerdir (5.9 mg/tohum). Bu araştırmada Bd21-3 de elde edilen tohum verimi, Tyler et. al (2014) tarafından elde edilen tohum verimine benzer olmuştur. Bu durum, bu aksesyonda BTA'nın çevre koşullarından fazla etkilenmediğini ve genetik kalıtımın yüksek olduğuna işaret etmektedir.



Şekil 4.4. Üç türe ait fenotipik karakteristیکlerinin karşılaştırmasını gösteren kutu diyagramları: (a) Vegetatif biyokütle/Vegetative biomass (gr), (b) Tohum verimi/Seeds yield (adet) ve BTA/1000 kernels weight (gr)

Yukarıda tanımlanan fenotipik karakteristیکler, original değerler standardize edildikten sonra jitter grafiği halinde Şekil 4.5’de verilmiştir. Verileri standardize etmek için değerlerden orta değer çıkarılıp standart sapma değerine bölünmüştür. Jitter grafiğindeki her nokta bir bireyin standardize edilmiş değerini göstermektedir. *B. distachyon*, *B. hybridum* ve *B. stacei* bireyleri sırasıyla yeşil, turuncu ve kırmızı nokta renklerle gösterilmiştir. *B. distachyon* bireyleri genellikle daha fazla sap sayısı, salkımlı sap, başakcık, daha küçük tohumlara ve geç başaklanma süresine sahipken, *B. stacei* bireyleri uzun ve geniş bayrak yapraklarıyla uzun boya, daha uzun salkıma ve daha erken başaklanma süresine sahip olmuştur. *B. hybridum* bireyleri, spesifik popülasyonlarının birinden veya diğerinden gelen bazı uç değerlerine rağmen, çoğunlukla bu iki türün değerleri arasında olmuştur. Bu sonuçlar, Catalán et al (2012)’nin üç sitotipin (cytotip) üç değişik türe ayrılması önerdikleri makalelerindeki bulgularıyla uyumludur. Bildirdikleri değerler bizim bulduğumuzdan biraz farklı olmakla birlikte, *B. distachyon*’un en belirgin karakteristiği, küçük boyu, kısa yaprak sapı, kısa başakcıkları ve kısa lemması ile *B. stacei* ve *B. hybridum* türünden kolaylıkla ayırt edilebilmesidir. Catalán et al (2011) göre, çalışmalarındaki morfoanatomik veriler iki diploid arasında (*B. distachyon* ve *B. stacei*) fenotipik farklılıklar göstermiştir. Elde edilen

allotetraploid (*B. hybridum*) kendi fenotipik niteliklerinin bazılarını korurken, bazılarında ebeveynlerinden birinin niteliklerini taşımaktadır. Bizim çalışmamız da bu bulguları destekler niteliktedir. *B. hybridum* bireyleri, ebeveynlerinden *B. distachyon* veya *B. stacei* türlerinden birinin niteliklerine büyük benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada yalnızca fenotipik karakteristik değerlerinin tanımlanması yapılmıştır. Sonraki bölümlerde ölçülen karakteristiklerin ortalamalarındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olup olmadığı araştırılacaktır.



Şekil 4.5. Değerler standardize edildikten sonra jitter diyagramında fenotipik karakteristiklerin gösterimi. *B. distachyon* bireyleri yeşil, *B. hybridum* bireyleri turuncu ve *B. stacei* bireyleri kırmızı renkle gösterilmiştir

Çizelge 4.1. *B. distachyon* türünün 15 fenotipik özelliğine ait tanımlayıcı istatistikler

Karakteristikler	S	Minimum	Maksimum	Ortalama		Std. Sapma	Varyans	Skewness		Kurtosis	
	İstatistik	İstatistik	İstatistik	İstatistik	Std. Hata	İstatistik	İstatistik	İstatistik	Std. Hata	İstatistik	Std. Hata
Başaklanma (gün)	307	121.500	171.000	154.723	0.456	7.991	63.857	-0.530	0.139	0.202	0.277
Saplar (adet)	307	24.333	91.000	49.937	0.658	11.521	132.743	0.506	0.139	0.301	0.277
Boğumlar (adet)	307	2.667	6.333	4.533	0.041	0.715	0.511	0.009	0.139	-0.136	0.277
Boy (cm)	307	31.200	61.250	45.448	0.289	5.056	25.561	-0.081	0.139	-0.115	0.277
Salkım (cm)	307	3.417	7.604	4.968	0.037	0.647	0.419	0.576	0.139	0.879	0.277
Salkımlı saplar (adet)	307	22.667	90.333	48.003	0.652	11.425	130.527	0.515	0.139	0.343	0.277
Başakçıklar (adet)	307	3.667	8.667	5.651	0.048	0.848	0.720	0.563	0.139	0.349	0.277
BYB (cm)	307	2.183	6.517	3.536	0.038	0.674	0.454	0.625	0.139	0.877	0.277
BYE (cm)	307	0.167	0.500	0.357	0.003	0.059	0.003	0.199	0.139	-0.095	0.277
BYA (cm ²)	307	0.427	2.416	0.983	0.018	0.319	0.102	0.942	0.139	1.373	0.277
Biyokütle (gr)	307	4.687	9.687	7.168	0.054	0.953	0.908	0.037	0.139	-0.253	0.277
Tohum ağırlığı (gr)	307	1.026	4.170	2.767	0.035	0.618	0.382	-0.210	0.139	-0.350	0.277
Vegt. biyokütle (gr)	307	2.155	6.629	4.390	0.048	0.846	0.716	0.050	0.139	-0.206	0.277
Tohum ver. (adet)	307	390.086	1408.116	876.596	12.109	212.170	45016.01	0.182	0.139	-0.300	0.277
BTA (gr)	307	1.550	5.917	3.277	0.034	0.601	0.361	0.021	0.139	0.979	0.277

Çizelge 4.2. *B. hybridum* türünün 15 fenotipik özelliğine ait tanımlayıcı istatistikler

Karakteristikler	S	Minimum	Maksimum	Ortalama		Std. Sapma	Varyans	Skewness		Kurtosis	
	İstatistik	İstatistik	İstatistik	İstatistik	Std. Hata	İstatistik	İstatistik	İstatistik	Std. Hata	İstatistik	Std. Hata
Başaklanma (gün)	278	109.00	160.00	132.670	0.613	10.220	104.454	-0.024	0.146	0.316	0.291
Saplar (adet)	278	14.67	40.67	25.598	0.333	5.559	30.905	0.435	0.146	-0.477	0.291
Boğumlar (adet)	278	2.33	6.33	4.364	0.055	0.913	0.834	0.047	0.146	-0.476	0.291
Boy (cm)	278	33.00	74.10	54.804	0.423	7.049	49.685	-0.149	0.146	0.288	0.291
Salkım (cm)	278	5.80	11.63	8.348	0.066	1.093	1.195	0.233	0.146	-0.223	0.291
Salkımlı saplar (adet)	278	13.33	37.00	23.248	0.302	5.028	25.282	0.433	0.146	-0.370	0.291
Başakçıklar (adet)	278	3.00	6.33	4.814	0.040	0.675	0.455	-0.029	0.146	-0.224	0.291
BYB (cm)	278	2.60	11.67	6.189	0.108	1.801	3.243	0.390	0.146	-0.064	0.291
BYE (cm)	278	0.23	0.70	0.471	0.005	0.086	0.007	-0.291	0.146	0.199	0.291
BYA (cm ²)	278	0.45	5.39	2.303	0.058	0.960	0.921	0.538	0.146	0.133	0.291
Biyokütle (gr)	278	3.77	10.92	7.257	0.081	1.344	1.805	0.458	0.146	0.122	0.291
Tohum ağırlığı (gr)	278	2.02	5.01	3.294	0.032	0.540	0.292	0.463	0.146	0.317	0.291
Vegt. biyokütle (gr)	278	1.63	7.42	3.964	0.065	1.081	1.170	0.717	0.146	1.162	0.291
Tohum ver. (adet)	278	271.68	1491.45	583.481	10.365	172.818	29866.20	1.566	0.146	4.928	0.291
BTA (gr)	278	3.08	11.65	5.978	0.080	1.333	1.777	0.909	0.146	2.189	0.291

Çizelge 4.3. *B. stacei* türünün 15 fenotipik özelliğine ait tanımlayıcı istatistikler

Karakteristikler	S	Minimum	Maksimum	Ortalama		Std. Sapma	Varyans	Skewness		Kurtosis	
	İstatistik	İstatistik	İstatistik	İstatistik	Std. Hata	İstatistik	İstatistik	İstatistik	Std. Hata	İstatistik	Std. Hata
Başaklanma (gün)	18	89.000	133.333	112.417	2.406	10.206	104.158	-0.568	0.536	1.608	1.038
Saplar (adet)	18	17.333	26.500	22.389	0.675	2.864	8.203	-0.223	0.536	-1.053	1.038
Boğumlar (adet)	18	2.000	4.667	3.806	0.199	0.845	0.713	-1.090	0.536	0.147	1.038
Boy (cm)	18	57.867	94.667	82.044	2.890	12.260	150.314	-1.177	0.536	0.315	1.038
Salkım (cm)	18	7.700	12.700	10.759	0.363	1.540	2.371	-0.649	0.536	-0.881	1.038
Salkımlı saplar (adet)	18	17.333	26.500	21.944	0.658	2.790	7.784	-0.014	0.536	-1.074	1.038
Başakçıklar (adet)	18	3.000	5.333	4.269	0.158	0.669	0.448	-0.347	0.536	-0.060	1.038
BYB (cm)	18	6.250	13.717	10.550	0.479	2.031	4.126	-0.540	0.536	-0.374	1.038
BYE (cm)	18	0.500	0.817	0.669	0.020	0.084	0.007	-0.570	0.536	0.286	1.038
BYA (cm ²)	18	2.344	7.914	5.472	0.353	1.499	2.246	-0.481	0.536	-0.385	1.038
Biyokütle (gr)	18	7.717	11.943	9.422	0.208	0.883	0.780	0.758	0.536	3.701	1.038
Tohum ağırlığı (gr)	18	2.264	4.212	3.579	0.099	0.418	0.175	-1.782	0.536	5.364	1.038
Vegt. biyokütle (gr)	18	4.575	8.360	5.843	0.224	0.952	0.906	0.971	0.536	1.957	1.038
Tohum ver. (adet)	18	291.810	603.442	491.816	17.803	75.533	5705.278	-1.042	0.536	1.974	1.038
BTA (gr)	18	5.767	10.275	7.394	0.213	0.906	0.820	1.679	0.536	5.990	1.038

4.2.2. Çok değişkenli varyans analizi

Tek yönlü çok değişkenli varyans analizi (MANOVA) üç tür (*B. distachyon*, *B. hybridum* and *B. stacei*) ve fenotipik karakteristik değer ortalamaları arasında bir ya da daha fazla farklılıklar olabileceği varsayımını test etmek için uygulanmıştır. MANOVA'nın istatistiksel önemi elde edilmiştir (Pillais İzi =1.53, F(30, 1174=126,83), p<0.001). Çoklu değişken etkisi (Multivariate Effect) 0.764 olarak hesaplanmıştır. Bu da türler için varyansın %76.4'ü bağımlı değişkenlerden kaynaklandığı anlamına gelmektedir.

ANOVA izleme (follow-up) testleri gerçekleştirilmeden önce, bütün 15 fenotipik karakteristik varyansın homejenlikleri test edilmiştir. Levene serilerine bağlı olarak yapılan F testlerinde p<0.05 önem seviyesinde varyansın homejen olmadığı gözlenmiştir. Leven F testi 15 fenotipik karakteristikle ilgili varyansların homojen olmadığını göstermesine rağmen, standart sapmaların değerlendirmesi (Çizelge 4.4), ANOVA testinin bu durumlarda daha etkili olduğunu göstererek, en büyük standart sapmaların hiç birinin en küçük standart sapmalardan 4 kat daha fazla olmadığını göstermiştir (Howell, 2007).

Çizelge 4.4. Her bir türe ait 15 fenotipik karakteristiklerin ortalama ve standart sapma değerleri

Fenotipik Karakteristikler	Türler	Ortalama	Standart Sapma
Başaklanma (gün)	<i>B. distachyon</i>	154.723	7.991
	<i>B. hybridum</i>	132.670	10.220
	<i>B. stacei</i>	112.417	10.206
Saplar (adet)	<i>B. distachyon</i>	49.937	11.521
	<i>B. hybridum</i>	25.598	5.559
	<i>B. stacei</i>	22.389	2.864
Boğumlar (adet)	<i>B. distachyon</i>	4.533	0.715
	<i>B. hybridum</i>	4.364	0.913
	<i>B. stacei</i>	3.806	0.845
Boy (cm)	<i>B. distachyon</i>	45.448	5.056
	<i>B. hybridum</i>	54.804	7.049
	<i>B. stacei</i>	82.044	12.260
Salkım (cm)	<i>B. distachyon</i>	4.968	0.647
	<i>B. hybridum</i>	8.348	1.093
	<i>B. stacei</i>	10.759	1.540
Salkımlı saplar (adet)	<i>B. distachyon</i>	48.003	11.425

Fenotipik Karakteristikler	Türler	Ortalama	Standart Sapma
	<i>B. hybridum</i>	23.248	5.028
	<i>B. stacei</i>	21.944	2.790
Başakçıklar (adet)	<i>B. distachyon</i>	5.652	0.848
	<i>B. hybridum</i>	4.814	0.675
	<i>B. stacei</i>	4.269	0.669
BYB (cm)	<i>B. distachyon</i>	3.536	0.674
	<i>B. hybridum</i>	6.189	1.801
	<i>B. stacei</i>	10.550	2.031
BYE (cm)	<i>B. distachyon</i>	0.357	0.059
	<i>B. hybridum</i>	0.471	0.086
	<i>B. stacei</i>	0.669	0.084
BYA (cm ²)	<i>B. distachyon</i>	0.983	0.319
	<i>B. hybridum</i>	2.303	0.960
	<i>B. stacei</i>	5.472	1.499
Biyokütle (gr)	<i>B. distachyon</i>	7.168	0.953
	<i>B. hybridum</i>	7.257	1.344
	<i>B. stacei</i>	9.422	0.883
Tohum ağırlığı (gr)	<i>B. distachyon</i>	2.767	0.618
	<i>B. hybridum</i>	3.294	0.540
	<i>B. stacei</i>	3.579	0.418
Vegitatif biyokütle (gr)	<i>B. distachyon</i>	4.390	0.846
	<i>B. hybridum</i>	3.964	1.081
	<i>B. stacei</i>	5.844	0.952
Tohum verimi (adet)	<i>B. distachyon</i>	876.596	212.170
	<i>B. hybridum</i>	583.481	172.818
	<i>B. stacei</i>	491.816	75.533
BTA (gr)	<i>B. distachyon</i>	3.277	0.601
	<i>B. hybridum</i>	5.978	1.333
	<i>B. stacei</i>	7.394	0.906

Parametrik testler için varsayımlar başarılı olduktan sonra, 15 bağımlı değişkenin her biri üzerinde tek yönlü ANOVA serileri MANOVA'ya izleme (follow-up) testi olarak uygulanmıştır. ANOVA'ların hepsi en yüksek 0.798 (Salkım) ile en düşük 0,028 (boğum) aralığında etki boyutlarıyla (kısmi η^2) istatistiki olarak önemli olmuştur (Çizelge 4.5).

Parametrelerden boğum sayısının farklılaşmaya olan katkısı az olsa da, türler arası farklılaşmada salkımın en önemli faktör olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.5. Fenotipik karakteristiğe ait tek yönlü varyans analizi

Fenotipik Karakteristikler	Tip III Kareler Top.	SD	Kareler Ortalaması	F	P	Kısmi η^2	Gözlenen Güç
Başaklanma	88639.09	2	44319.55	529.25	0.000	0.638	1.000
Saplar	90882.00	2	45441.00	552.81	0.000	0.648	1.000
Boğumlar	11.46	2	5.73	8.60	0.000	0.028	0.968
Boy	30817.46	2	15408.73	382.99	0.000	0.561	1.000
Salkım	1972.77	2	986.39	1185.04	0.000	0.798	1.000
Salkımlı saplar	92974.17	2	46487.08	592.49	0.000	0.664	1.000
Başakçıklar	119.36	2	59.68	101.17	0.000	0.252	1.000
BYB	1605.09	2	802.54	434.86	0.000	0.592	1.000
BYE	3.06	2	1.53	284.16	0.000	0.486	1.000
BYA	514.84	2	257.42	476.23	0.000	0.614	1.000
Biyokütle	86.60	2	43.30	32.84	0.000	0.099	1.000
Tohum ağırlığı	45.98	2	22.99	68.72	0.000	0.186	1.000
Veg. biyokütle	74.42	2	37.21	39.97	0.000	0.118	1.000
Tohum verimi	13586756.67	2	6793378.33	184.06	0.000	0.380	1.000
BTA	1204.81	2	602.40	586.30	0.000	0.662	1.000

Sonuçlar, 3 tür ve 15 fenotipik karakteristiğin bireysel ortalamaları arasındaki farklılıkları incelemek için bir düzine post-hoc (Fisher's LSD) testi gerçekleştirilmiştir. Testler, 4 çift hariç bütün post-hoc ortamala karşılaştırılmalarının istatistiksel olarak önemli seviyede ($p < 0.05$) olduğunu göstermiştir. *B. hybridum* ve *B. stacei* türlerinin sap sayılarının ortalamaları arasındaki fark $p = 0.146$ ile 3.21 olmuştur. Bu fark istatistiksel olarak önemli seviyede değildir. Bu iki türün başaklanan sap sayısı ortalamaları arasındaki fark 1.30 ile $p = 0.545$ olurken, tohum verimi ortalamaları farkı $p = 0.05$ ile 91.66 olmuştur ki, bu önemli seviyenin üst limiti içerisinde yer almaktadır. *B. distachyon* ve *B. hybridum* türlerinin biyokütle ortalamaları arasındaki fark 0.09 ile $p = 0.351$ olarak bulunmuştur. Bu iki türün

biyokütle ortalamaları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.6). Sonuç olarak, toplam biyokütle bakımında *B. distachyon* ve *B. hybridum*, sap sayısı, başaklanan sap ve tohumu verimi bakımından *B. hybridum* ve *B. stacei* hariç, bu çalışmada ölçülen bütün fenotipik karakteristیکler üç tür arasında %5'lik önem seviyesinde ayrıştırılmıştır.

Çizelge 4.6. Üç türün fenotipik karakteristیکleri ortalamalarının Fisher's LSD post-hoc çoklu karşılaştırma testleri

Fenotipik karakteristیکler		Ortalama Farkı (I-J)	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı		
					Alt Sınır	Üst Sınır	
Başaklanma	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	22.053*	0.758	0.000	20.565	23.541
		<i>B. stacei</i>	42.306*	2.219	0.000	37.947	46.664
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	-22.053*	0.758	0.000	-23.541	-20.565
		<i>B. stacei</i>	20.253*	2.226	0.000	15.882	24.624
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	-42.306*	2.219	0.000	-46.664	-37.947
		<i>B. hybridum</i>	-20.253*	2.226	0.000	-24.624	-15.882
Saplar	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	24.339*	0.751	0.000	22.865	25.813
		<i>B. stacei</i>	27.548*	2.199	0.000	23.230	31.866
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	-24.339*	0.751	0.000	-25.813	-22.865
		<i>B. stacei</i>	3.209	2.205	0.146	-1.121	7.540
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	-27.548*	2.199	0.000	-31.866	-23.230
		<i>B. hybridum</i>	-3.209	2.205	0.146	-7.540	1.121
Boğumlar	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	0.169*	0.068	0.013	0.036	0.301
		<i>B. stacei</i>	0.727*	0.198	0.000	0.338	1.116
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	-0.169*	0.068	0.013	-0.301	-0.036
		<i>B. stacei</i>	0.558*	0.198	0.005	0.169	0.948
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	-0.727*	0.198	0.000	-1.116	-0.338
		<i>B. hybridum</i>	-0.558*	0.198	0.005	-0.948	-0.169
Boy	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	-9.355*	0.525	0.000	-10.387	-8.324
		<i>B. stacei</i>	-36.595*	1.538	0.000	-39.616	-33.574
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	9.355*	0.525	0.000	8.324	10.387

Fenotipik karakteristikler			Ortalama Farkı (I-J)	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						Alt Sınır	Üst Sınır
		<i>B. stacei</i>	-27.240*	1.543	0.000	-30.270	-24.210
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	36.595*	1.538	0.000	33.574	39.616
		<i>B. hybridum</i>	27.240*	1.543	0.000	24.210	30.270
Salkım	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	-3.380*	0.076	0.000	-3.529	-3.232
		<i>B. stacei</i>	-5.791*	0.221	0.000	-6.226	-5.357
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	3.380*	0.076	0.000	3.232	3.529
		<i>B. stacei</i>	-2.411*	0.222	0.000	-2.847	-1.975
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	5.791*	0.221	0.000	5.357	6.226
		<i>B. hybridum</i>	2.411*	0.222	0.000	1.975	2.847
Salkımlı saplar	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	24.755*	0.733	0.000	23.315	26.196
		<i>B. stacei</i>	26.058*	2.148	0.000	21.840	30.277
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	-24.755*	0.733	0.000	-26.196	-23.315
		<i>B. stacei</i>	1.303	2.154	0.545	-2.928	5.534
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	-26.058*	2.148	0.000	-30.277	-21.840
		<i>B. hybridum</i>	-1.303	2.154	0.545	-5.534	2.928
Başakçıklar	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	0.838*	0.064	0.000	0.713	0.963
		<i>B. stacei</i>	1.383*	0.186	0.000	1.017	1.749
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	-0.838*	0.064	0.000	-0.963	-0.713
		<i>B. stacei</i>	0.545*	0.187	0.004	0.178	0.912
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	-1.383*	0.186	0.000	-1.749	-1.017
		<i>B. hybridum</i>	-0.545*	0.187	0.004	-0.912	-0.178
BYB	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	-2.653*	0.112	0.000	-2.874	-2.432
		<i>B. stacei</i>	-7.014*	0.329	0.000	-7.661	-6.367
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	2.653*	0.112	0.000	2.432	2.874
		<i>B. stacei</i>	-4.361*	0.330	0.000	-5.010	-3.712
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	7.014*	0.329	0.000	6.367	7.661
		<i>B. hybridum</i>	4.361*	0.330	0.000	3.712	5.010
BYE	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	-0.114*	0.006	0.000	-0.126	-0.102

Fenotipik karakteristikler			Ortalama Farkı (I-J)	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						Alt Sınır	Üst Sınır
		<i>B. stacei</i>	-0.312*	0.018	0.000	-0.347	-0.277
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	0.114*	0.006	0.000	0.102	0.126
		<i>B. stacei</i>	-0.198*	0.018	0.000	-0.233	-0.163
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	0.312*	0.018	0.000	0.277	0.347
		<i>B. hybridum</i>	0.198*	0.018	0.000	0.163	0.233
	BYA	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	-1.321*	0.061	0.000	-1.440
<i>B. stacei</i>			-4.489*	0.178	0.000	-4.839	-4.139
<i>B. hybridum</i>		<i>B. distachyon</i>	1.321*	0.061	0.000	1.201	1.440
		<i>B. stacei</i>	-3.168*	0.179	0.000	-3.519	-2.817
<i>B. stacei</i>		<i>B. distachyon</i>	4.489*	0.178	0.000	4.139	4.839
		<i>B. hybridum</i>	3.168*	0.179	0.000	2.817	3.519
Biyokütle	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	-0.089	0.095	0.351	-0.275	0.098
		<i>B. stacei</i>	-2.254*	0.278	0.000	-2.801	-1.707
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	0.089	0.095	0.351	-0.098	0.275
		<i>B. stacei</i>	-2.166*	0.279	0.000	-2.714	-1.617
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	2.254*	0.278	0.000	1.707	2.801
		<i>B. hybridum</i>	2.166*	0.279	0.000	1.617	2.714
Tohum ağırlığı	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	-0.527*	0.048	0.000	-0.621	-0.433
		<i>B. stacei</i>	-0.811*	0.140	0.000	-1.087	-0.536
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	0.527*	0.048	0.000	0.433	0.621
		<i>B. stacei</i>	-0.285*	0.141	0.043	-0.561	-0.008
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	0.811*	0.140	0.000	0.536	1.087
		<i>B. hybridum</i>	0.285*	0.141	0.043	0.008	0.561
Vegitatif Biyokütle	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	0.426*	0.080	0.000	0.270	0.583
		<i>B. stacei</i>	-1.453*	0.234	0.000	-1.913	-0.994
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	-0.426*	0.080	0.000	-0.583	-0.270
		<i>B. stacei</i>	-1.880*	0.235	0.000	-2.341	-1.419
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	1.453*	0.234	0.000	0.994	1.913

Fenotipik karakteristikler			Ortalama Farkı (I-J)	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı	
						Alt Sınır	Üst Sınır
		<i>B. hybridum</i>	1.880*	0.235	0.000	1.419	2.341
Tohum Verimi	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	293.115*	15.905	0.000	261.878	324.352
		<i>B. stacei</i>	384.780*	46.590	0.000	293.280	476.280
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	-293.115*	15.905	0.000	-324.352	-261.878
		<i>B. stacei</i>	91.665	46.725	0.050	-0.099	183.429
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	-384.780*	46.590	0.000	-476.280	-293.280
		<i>B. hybridum</i>	-91.665	46.725	0.050	-183.429	0.099
BTA	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	-2.701*	0.084	0.000	-2.866	-2.537
		<i>B. stacei</i>	-4.117*	0.246	0.000	-4.600	-3.634
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	2.701*	0.084	0.000	2.537	2.866
		<i>B. stacei</i>	-1.415*	0.247	0.000	-1.899	-0.931
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	4.117*	0.246	0.000	3.634	4.600
		<i>B. hybridum</i>	1.415*	0.247	0.000	0.931	1.899

* Ortalama farkının %5 seviyesinde olması önemlidir

4.1.3. Parametre dışı testler

Her bir fenotipik karakterin medyan değişimleri üzerinden üç tür (*B. distachyon*, *B. hybridum* and *B. stacei*) arasındaki farklılıkları değerlendirmek için Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır. Bağlı sıralılık (tied ranks) için düzeltilen test, ölçülen tüm fenotipik karakteristikler için 0.024 (boğum sayısı) ile 0.753 (Salkım uzunluğu) arasında değişen etki boyutlarıyla (η^2) önemli olmuştur (Çizelge 4.7). Bu sonuçlar daha önceki bölümde verilen ANOVA sonuçları ile hemen hemen özdeştir. Etki boyutu $\eta^2 = X^2/N-1$ bağıntısıyla hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7. Üç tür ve 15 fenotipik karakteristiğin Kruskal-Wallis test sonuçları

Fenotipik Karakteristikler	χ^2	sd	p	η^2
Başaklanma	389.362	2	0.000	0.647

Fenotipik Karakteristikler	χ^2	sd	p	η^2
Saplar	420.534	2	0.000	0.699
Boğumlar	14.603	2	0.001	0.024
Boy	269.062	2	0.000	0.447
Salkım	453.187	2	0.000	0.753
Saplar	429.100	2	0.000	0.713
Başakçıklar	156.289	2	0.000	0.260
BYB	347.278	2	0.000	0.577
BYE	264.170	2	0.000	0.439
BYA	336.582	2	0.000	0.559
Biyokütle	39.934	2	0.000	0.066
Tohum ağırlığı	108.442	2	0.000	0.180
Veg. Biyokütle	69.861	2	0.000	0.116
Tohum Verimi	258.477	2	0.000	0.429
BTA	421.696	2	0.000	0.700

Bütün Kruskal-Wallis testleri önemli olduğundan, türler arasında ikili farklılıkları değerlendirmek için, seçilen iki tür arasında izleme (follow-up) Kruskal-Wallis analizleri yürütülmüştür. Üç bağımsız karşılaştırmanın sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir. Daha önce de değinildiği üzere, her çift için etki boyutu hesaplanmıştır.

Çizelge 4.8. Türlerin üç çifti için 15 fenotipik karakteristiğin follow-up Kruskal-Wallis testleri

Fenotipik Karakteristikler	<i>B. distachyon vs B. hybridum</i>			<i>B. distachyon vs B. stacei</i>			<i>B. hybridum vs B. stacei</i>		
	χ^2	p	η^2	χ^2	p	η^2	χ^2	p	η^2
Başaklanma	361.928	0.000	0.620	50.755	0.000	0.157	37.299	0.000	0.126
Saplar	403.533	0.000	0.691	50.678	0.000	0.156	5.700	0.017	0.019
Boğumlar	6.639	0.010	0.011	11.216	0.001	0.035	4.393	0.036	0.015
Boy	233.845	0.000	0.400	50.633	0.000	0.156	40.334	0.000	0.137
Salkım	431.302	0.000	0.739	50.862	0.000	0.157	29.692	0.000	0.101

Fenotipik Karakteristikler	<i>B. distachyon</i> vs <i>B. hybridum</i>			<i>B. distachyon</i> vs <i>B. stacei</i>			<i>B. hybridum</i> vs <i>B. stacei</i>		
	χ^2	p	η^2	χ^2	p	η^2	χ^2	p	η^2
Salkımlı saplar	413.922	0.000	0.709	50.492	0.000	0.156	0.799	0.371	0.003
Başakçıklar	137.299	0.000	0.235	35.067	0.000	0.108	9.294	0.002	0.032
BYB	316.964	0.000	0.543	50.824	0.000	0.157	38.674	0.000	0.131
BYE	228.532	0.000	0.391	50.906	0.000	0.157	40.423	0.000	0.137
BYA	304.705	0.000	0.522	50.816	0.000	0.157	41.790	0.000	0.142
Biyokütle	0.001	0.974	0.000	43.809	0.000	0.135	33.471	0.000	0.113
Tohum ağırlığı	91.963	0.000	0.157	28.350	0.000	0.087	8.327	0.004	0.028
Veg. biyokütle	38.569	0.000	0.066	30.306	0.000	0.094	34.264	0.000	0.116
Tohum verimi	239.320	0.000	0.410	43.723	0.000	0.135	6.140	0.013	0.021
BTA	399.394	0.000	0.684	50.822	0.000	0.157	24.970	0.000	0.085

İkili karşılaştırmalarda, ikisi hariç, bütün sıfır hipotezi geri çevrimlerinde (rejected null hypothesis): gruplar arasındaki ortalama sıralılıktaki (rank) farklılıkları göstermek istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Kruskal-Wallis testi *B. distachyon* ve *B. hybridum* arasında toplam biyokütle için ($\chi^2=0.001$ ve $p=0.974$) ile ortalama sıralılıkta fark olmadığını göstermiştir. Ayrıca, *B. hybridum* ve *B. stacei* ikili testinde salkımlı saplar sayısında ($\chi^2=0.799$ ve $p=0.371$) ile ortalama sıralılık farkı görülmemiştir.

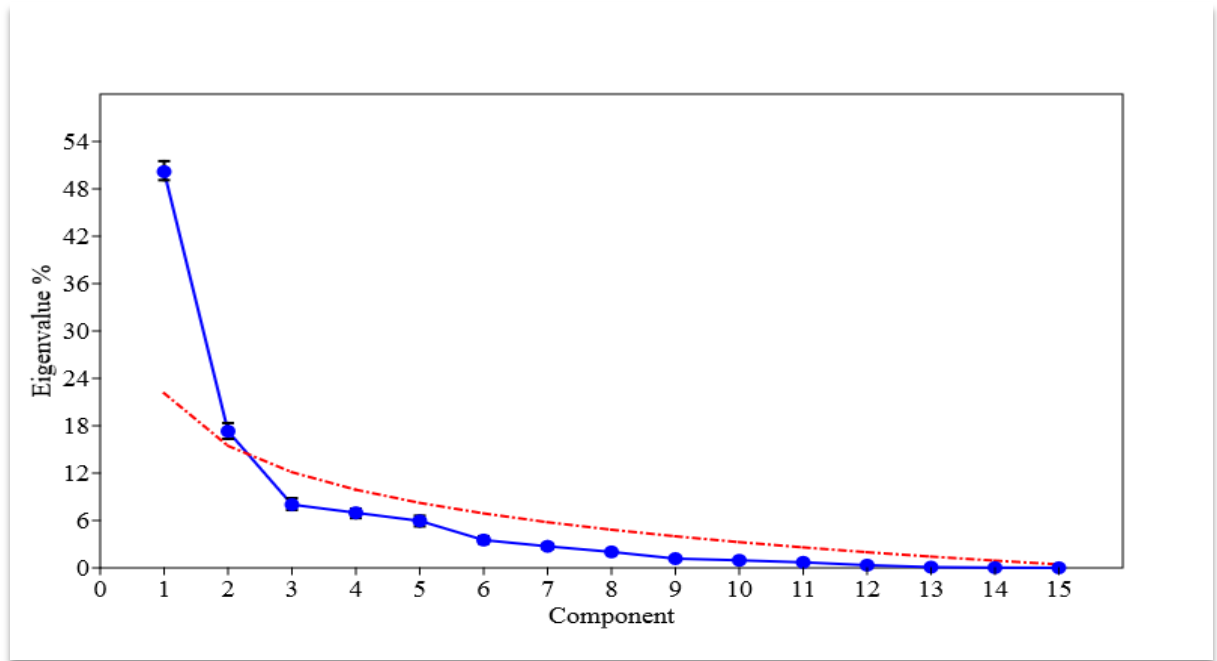
4.2. Fenotipik Karakteristiklerin Çok-değişkenli Analizi

4.2.1. Bireylerin temel bileşenler analizi

Fenotipik veriler esas alınarak yapılan temel bileşenler analizi (PCA) iyi bir performans göstermiş ve %92'lik varyans Çizelge 4.9'de gösterildiği üzere, ilk altı bileşenle açıklanmıştır. Bileşenlerin özdeğer çizgi grafiği, üç türün bireylerinde incelenen 15 fenotipik karakteristikteki varyansların büyük çoğunluğunu açıklayabilen iki ana bileşeni doğrulamaktadır (Şekil 4.6).

Çizelge 4.9. 603 bireyle gerçekleştirilen PCA’da ilk altı bileşenle açıklanan varyans

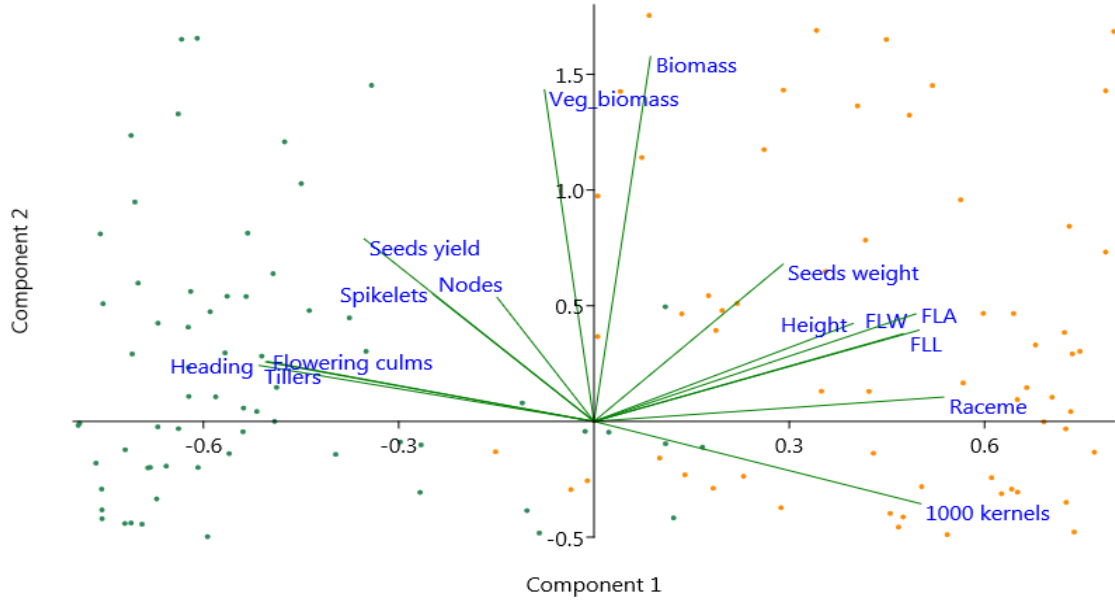
PC	Özdeğer	Varyans (%)	EİG 2,5%	EİG 97,5%
1	7.527	<u>50.180</u>	49.070	51.424
2	2.595	<u>17.301</u>	16.318	18.328
3	1.202	8.011	7.371	8.876
4	1.047	6.979	6.347	7.543
5	0.893	5.952	5.184	6.659
6	0.528	3.521	3.072	4.010



Şekil 4.6. Bileşenlerin özdeğeriyle bireylerin PCA’sının çizgi grafiği (mavi çizgi) ve önemsiz bileşenlerin temsil edildiği kesikli çizgiler (kırmızı çizgi). İlk iki bileşen kırmızı çizginin üstündedir

Temel bileşenler analizinde 15 fenotipik karakteristiktan her birinin katkısının ölçüldüğü bu çalışmada, tek ya da daha çok bileşen yansıtılarak yük katsayıları (loadings coefficients) ifade edilmiştir. (EK 4, EK 6, EK 7). Şekil 4.7’de PC1 ve PC2 eksenlerinde iki boyutlu serpilme grafiği verilmiştir. Bu grafikte belirgin olarak görülmektedir ki: *B. distachyon* bitkileri (yeşil noktalar) için başaklanma, sap, salkımlı sap, başakçık ve tohum verimi gibi yüksek değere sahip karakteristikler aynı yönde II. çeyrek dairedeyken (quadrant); bitkilerinin boy, salkım, BYA, BYE, BYB *B. stacei* bitkilerinin görüldüğü

(kırmızı noktalar, bu grafikte gösterilmemiştir) I. çeyrek dairededir. Elbette, asıl üç boyutlu grafiğin iki ekseninde (PC1 ve PC2) gösterilmesi yanıltıcı olmamalı, eksenlerin yerini değiştirirsek, asıl değişkenlerin göreceli konumu da değişir.

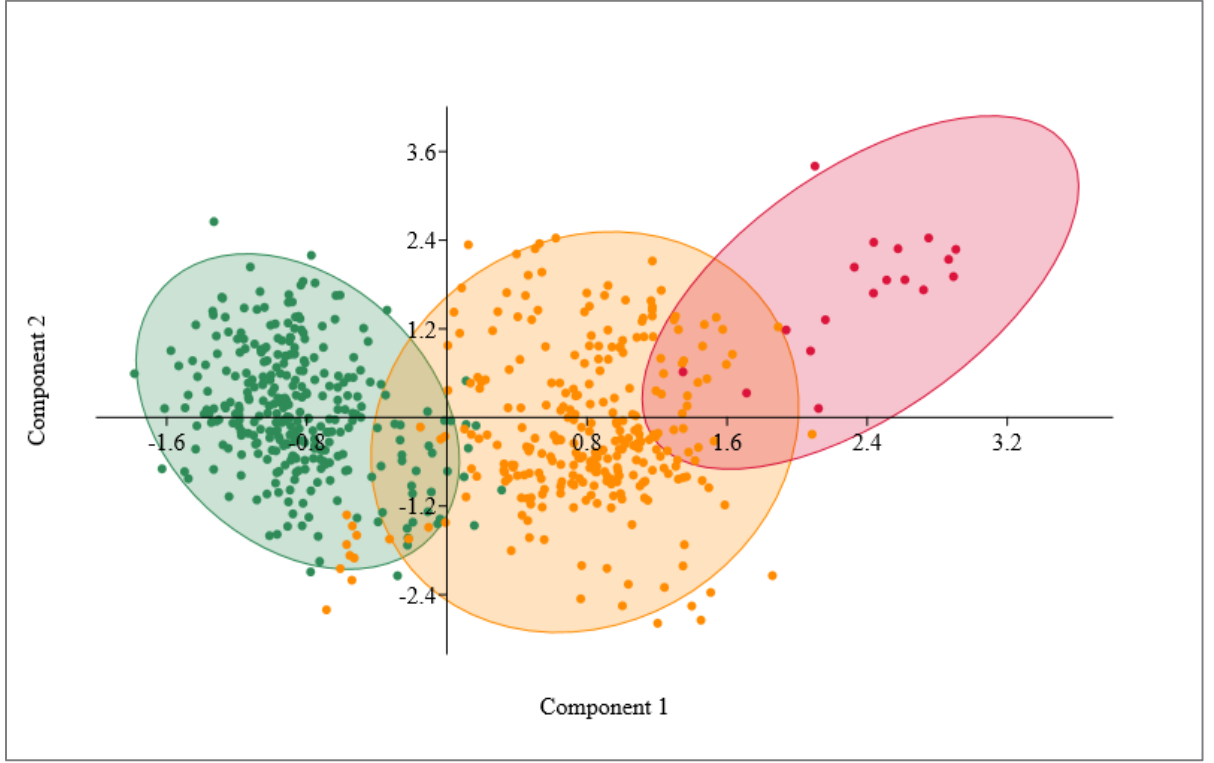


Şekil 4.7. Özdeğer skalasında ilk iki bileşenle 15 orjinal fenotipik varyansın serpilme grafiğinde gösterimi, (x-ekseninde PC1 ve y-ekseninde PC2)

Üç ayrı tür için uygulanan PCA'nın serpilme grafiği (Şekil 4.8) göstermektedir ki: bu çalışmada ölçülen fenotipik karakterlerin kombinasyonu, *B. hybridum* (turuncu) ve *B. distachyon* (yeşil) ile *B. hybridum* ve *B. stacei* (kırmızı) arasında küçük örtüşme olmasına rağmen, genellikle üç türün bireylerini ayırmaktadır, *B. hybridum*'un evrimsel olarak *B. distachyon* (baba soyu) ve *B. stacei* (anne soyu) türlerinin atası olduğu göz önüne alınacak olursa, bu normaldir (Wolny ve Hasterok 2009 and Hasterok, 2004). Renkli elipsler, popülasyonun %95'nin içinde yer alması beklenen bölgeyi öngörmektedir. *B. distachyon* ve *B. stacei* popülasyonları arasında örtüşme bulunmadığı aşikârdır. Aslında bu iki tür aynı çevre ve aynı yetiştirme koşullarında yan yana yetişmiş olsa bile genel görünümleri gözlemlenerek bir birinden kolayca ayırt edilebilmektedirler.

Elipslerin dışına odaklanacak olursak, özellikle III. ve IV. Çeyrek dairelerde (x-ekseninin altında) elipsler dışında diğer türlerin alanına dahil bazı bireylerin varlığını

görebiliriz (turuncu ve yeşil karışık noktalar, Şekil 4.8). İlk bakışta bu bir hataymış gibi görünse de, daha detaylı bir incelemeyle ve bireylerin kimliğiyle bunların çoğunun özel durumlar olduğunun farkına varabiliriz. Ayrıca fenotipik karakterizasyondan tamamen bağımsız olan genetik veri analizinde, aynı türlerin diğer bireylerinden büyük farklılık göstermektedirler.



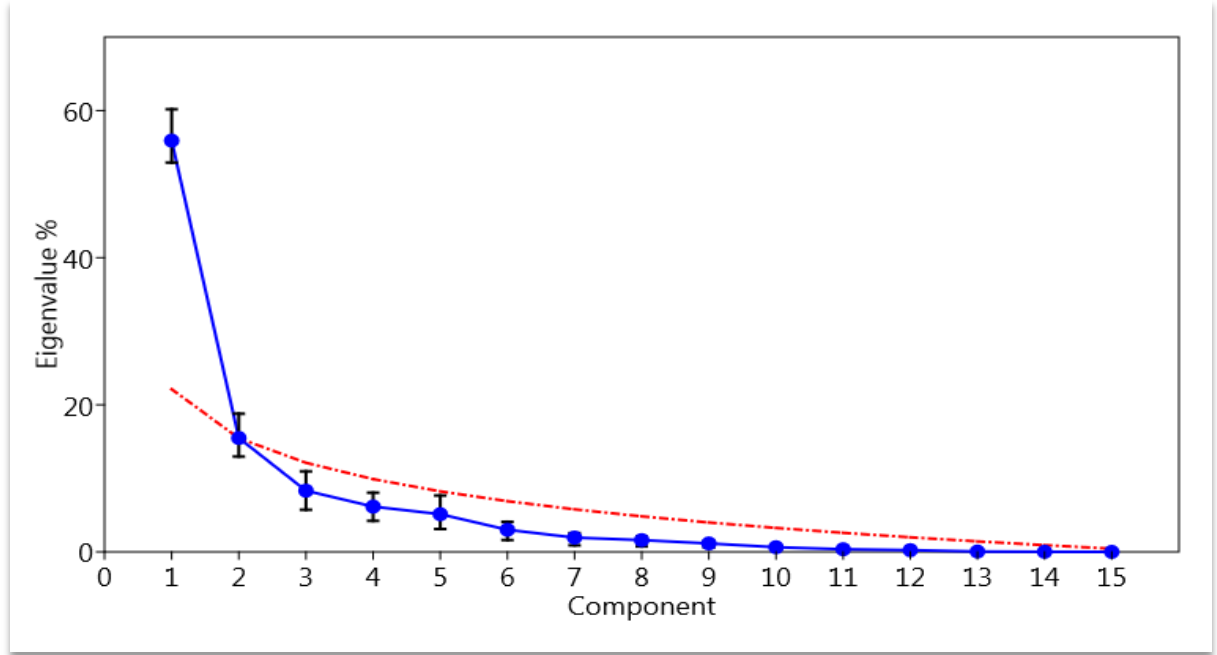
Şekil 4.8. 603 bireyin fenotipik karakteristیکleriyle gerçekleştirilen PCA. Yeşil noktalar *B. distachyon*, turuncu noktalar *B. hybridum* ve kırmızı noktalar *B. stacei* bitki bireylerini göstermektedir

4.2.2. Popülasyonların temel bileşenler analizi

Her popülasyonun toplandığı lokasyon ile fenotipik karakteristیکler arasında bir ilişki olup olmadığını tespit etmek amacıyla popülasyon düzeyinde PCA yapılmıştır. Çizelge 4.10'de gösterildiği üzere, ilk bileşen PC1 değişkenlerin toplam varyansının %55,918'ini, ikinci bileşen PC2 ise %15,486'sını içermektedir. Bu iki bileşen 15 fenotipik karakteristiğın %71,4'lük varyansını içerdiğinden, fenotipik verilere göre popülasyon yapısını açıklamak için serpilme grafiğinin güvenilir olduğunu söyleyebiliriz. PC1, PC2 ve 15 karakteristiğın yüklenme grafikleri (loading plot) EK 8, EK 9 ve EK 5'de sırasıyla verilmiştir.

Çizelge 4.10. 15 fenotipik karakterin popülasyon ortalamalarıyla PCA'dan elde edilen 6 bileşene ait özdeğer ve varyanslar

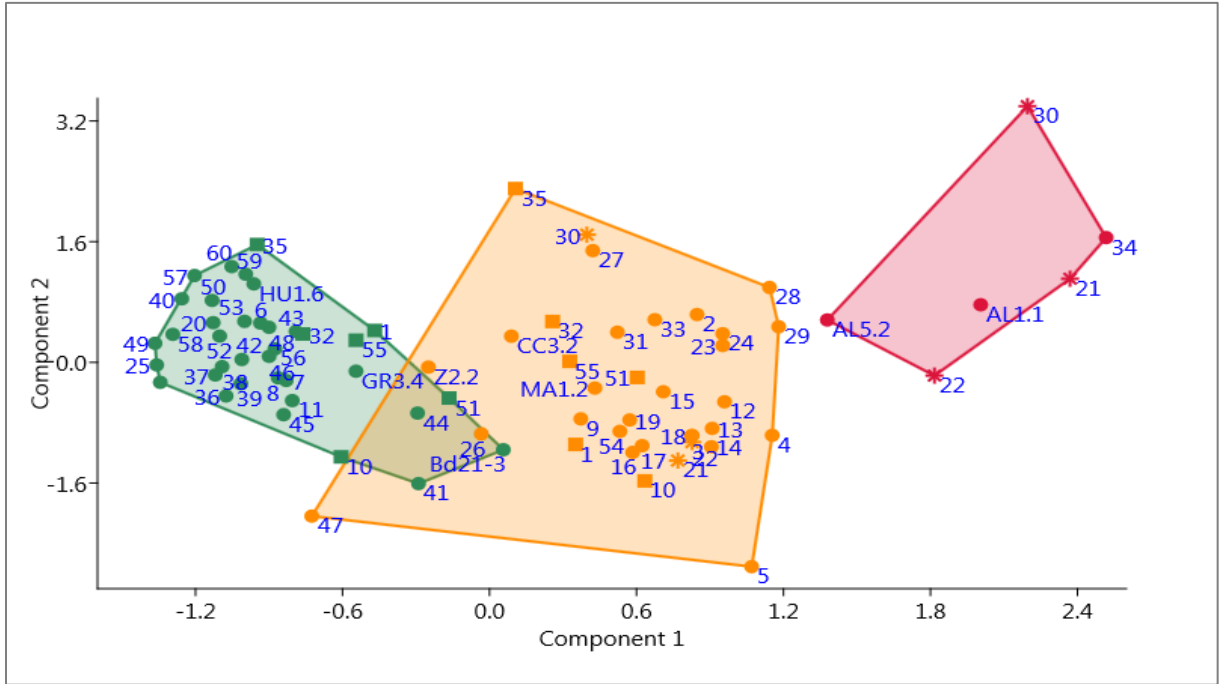
PC	Özdeğer	Varyans (%)	EIG 2,5%	EIG 97,5%
1	8.38765	<u>55.918</u>	52.974	60.153
2	2.32289	15.486	12.964	18.84
3	1.24772	8.3181	5.7793	11.028
4	0.923556	6.157	4.2153	8.1002
5	0.768953	5.1264	3.1464	7.5647
6	0.451227	3.0082	1.6048	3.9918



Şekil 4.9. Bileşenlerin özdeğeriyle (mavi çizgi) PCA'da popülasyon çizgi grafiği ve önemsiz (non-significant) bileşenlerin temsil edildiği kesikli çizgi (kırmızı çizgi)

Şekil 4.10'de görülen dışbükey şekiller üç türün popülasyonlarını içermekle birlikte *B. distachyon* ve *B. hybridum* türleri için kesişim kümesini de göstermektedir. Bu kümede Kilk (41), Edes (44), Linos (51) ve Bd21-3 popülasyonları yer almaktadır. Bu *B. distachyon* popülasyonlarının bireyleri gerçekleştirilen analizlerde diğerlerine göre büyük farklılıklar göstermektedir. Üstelik Linos lokasyonundan, *B. distachyon* ve *B. hybridum* bireylerini içeren iki simpatrik popülasyon toplanmıştır. Fenotipik veriler toplanırken özellikle Kilk ve Edes

bitki popülasyonlarının diğerlerinden farklı oldukları dikkat çekmiştir. İleride genetik karakterizasyon analizlerinde de gösterileceği üzere, PCA sonuçları, muhtemelen genetik çeşitlilik geçmişine sahip ve ilk gözlemlenen fenotipik çeşitliği desteklemektedir. Bd21-3 Irak orijinli, baharda kendilenmiş bir aksesyon olduğundan, denemede küçük gövdesi ve iri tohumlarıyla, ilk başaklanan ve çiçeklenen aksesyon olmuştur; bu sonuç hiç de şaşırtıcı değildir. Bd21-3 aksesyonunu denememize, analiz ve ölçümlerimizde kontrol işlevi görmesi için dahil ettiğimizden, bu aksesyonun Yunanistan'dan toplanan bütün bireylerden farklı olması beklenmekteydi. Ayrıca Gera (1), Farsa (10), Grik (35), Linos (51), Asti (55), (Katsi, 32 hariç) gibi lokasyonlardan gelen bütün *B. distachyon* simpatrik popülasyonlarının (convex hull) dışbükey şeklin çevresinde yer alması dikkat çekicidir. Bu durum, bu türlerin yüksek seviye kendilenmiş olmasına rağmen, simpatrik popülasyonların muhtemelen bir birinden etkilenmiş olduklarını gösteren güçlü bir delildir, ya da bitki toplanan lokasyonlardaki çevresel koşullar, bir epigenetik faktör olarak onların fenotiplerinde bir ayrışma yaratmıştır.

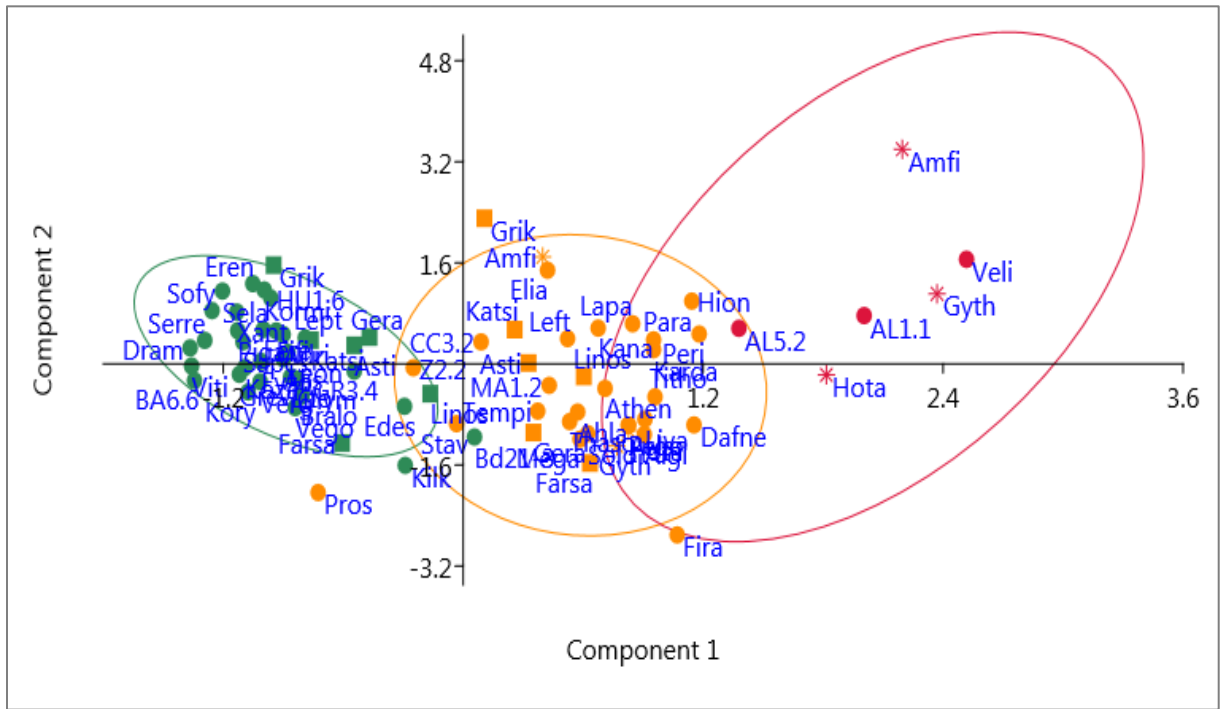


Şekil 4.10. Her türün dış bükey şekille belirtildiği popülasyon ortalamalarıyla PCA. Renkler türleri, şekiller ise hangi popülasyondan olduklarını göstermektedir. Kare (□) *B. distachyon* ve *B. hybridum* bitkilerle simpatrik popülasyonu, yıldız (*) *B. hybridum* and *B. stacei* bitkilerle simpatrik popülasyonu işaret etmektedir

B. hybridum popülasyonlar söz konusu olduğunda simpatrik popülasyonların dışbükey şeklin çevresinde yer aldıkları söylenemez, çünkü dışbükey şeklin içine yayılmışlardır. Şekil 4.11’de açıkça görüldüğü üzere, üç popülasyonun %90’lık elipslerin dışında yer alması çok önemli bir bulgudur.

Grik popülasyonu sadece bir *B. hybridum* bireylerini temsil eder (diğer 9’u *B. distachyon*’dur), bu yüzden simpatrik *B. distachyon* popülasyonuna (yeşil karedeki Grik) yakın görünüyorsa bile, buna çok fazla itimat edemeyiz. Daha çok Pros ve Fira popülasyonları üzerinde durmak gerekir. Pros, Kuzey Yunanistan’dan toplanan iki *B. hybridum* popülasyonundan biridir. Toplanan lokasyon, bitkinin görünümü ve gelişme şekilleri *B. distachyon*’nunkine çok benzemektedir. Bu nedenle çekirdek DNA içeriği belirlendikten sonra bağlı olduğu tür tespit edilebilmiştir.

B. hybridum içinde Fira popülasyonunun bireyleri belki de en dikkat çekici olanıdır, çünkü oldukça iri tohumlarla ilk başaklanan bitkilerdir. Boyları çok uzun değildir ve olgunlaştıklarında renkleri kızıl kahverengiye dönmektedir. Aşağıdaki bölümde de açıklandığı üzere, genetik veri analizlerinde farklılık gösteren popülasyonlardan biridir.



Şekil 4.11. Popülasyon ortalamalarıyla her tür için %90’lık elipslerin çizildiği PCA

B. stacei popülasyonuna ilişkin çok fazla güvenilir bilgi vermek mümkün değildir. Çünkü, 6 popülasyondan sadece Veli popülasyonu 10 adet *B. stacei* bitkisi içermektedir. Gyth, Hota ve Amfi popülasyonları sırasıyla 3, 2 ve 1 bireyle temsil edilmiştir. Ayrıca, İspanyol AL1.2 ve AL5.2 aksesyonlarının her biri iki replikasyonda birer bireyle temsil edilmiştir. Belkide popülasyonların I. çeyrek dairede toplanmalarına rağmen, diğer türlerden ayrışmasının, %90'lık elipsle dışbükey şeklin 3-4 katı kadar bir alanı kaplamasının ve belkide *B. hybridum* elipslerinin iki katı kadar olmasının nedeni budur.

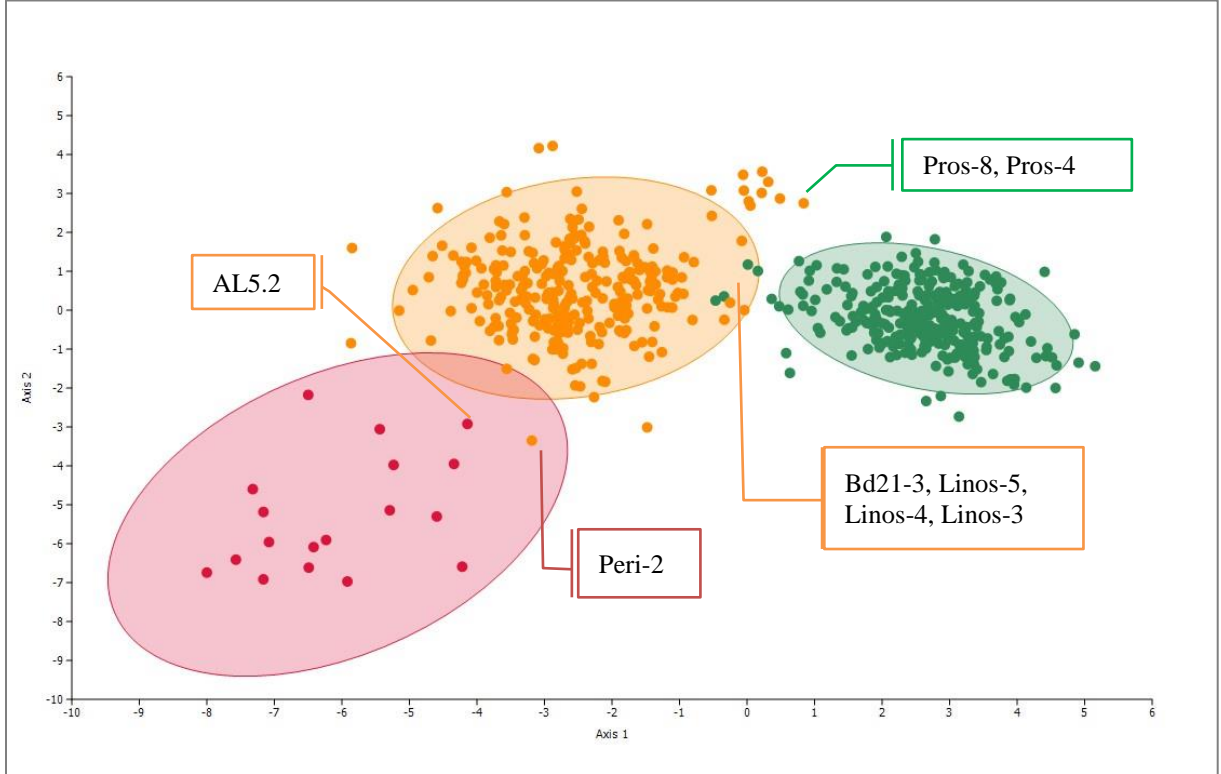
4.2.3. Ayrışma (diskriminant) analizi (DA)

On bir (11) varyansla gerçekleştirilen ayrışma (diskriminant) analiziyle bireylerin %98.84'ü doğru bir şekilde sınıflandırılırken, Jackknife testinden sonra bu oran % 98.67'ye düşmüştür. 603 bireyden sadece 8 tanesi hatalı sınıflandırılmıştır. Bunlardan daha önce *B. distachyon* türüne dahil olan 4'ü *B. hybridum* türü olarak, yine daha önce *B. hybridum* türüne dahil 3'ünden 2 tanesi *B. distachyon* türü ve 1 tanesi de *B. stacei* türü olarak sınıflandırılmıştır. Hatta Jackknife testinden sonra, daha önce *B. stacei* olan bir birey daha *B. hybridum* olarak sınıflandırıldı. Sınıflandırma ve Jackknife testinin sonuçları Çizelge 4.11'de gösterilmektedir. Burada her türün bireylerinin önceden tanımlanmış sayıları son sütunda, analizlerle sınıflandırılan bireylerinki son satırda verilmiştir.

Çizelge 4.11. Jackknife testi öncesi ve sonrası üç türdeki bireylerin sınıflandırılması. Son sütun tür başına önce verilen bireylerin sayısını, son satır ise tür başına Jackknife testi öncesi ve sonrası sınıflandırılan bireyleri göstermektedir.

	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>	Toplam
<i>B. distachyon</i>	303	4	0	307
<i>B. hybridum</i>	2	275	1	278
<i>B. stacei</i>	0	0	18	18
Toplam	305	279	19	603
Jackknife testi sonrası sınıflandırılan bireyler				
<i>B. distachyon</i>	303	4	0	307
<i>B. hybridum</i>	2	275	1	278
<i>B. stacei</i>	0	1	17	18
Toplam	305	280	18	603

Ayrıştırma analizinin serpilme grafiği, her bir türün bireylerinin %95'inin içinde yer alması beklenen elipslerle Şekil 4.12'de gösterilmiştir. Grafik etiketlerinde hatalı sınıflandırılan bireyler Jackknife sınıflandırmasındaki renkleriyle gösterilmektedir. Analiz yükleri (loadings) Ek 10'da verilmiştir.



Şekil 4.12. Üç türün ayrıştırma analiziyle yapılan serpilme grafiği. Yeşil, turuncu ve kırmızı noktalar sırasıyla *B. distachyon*, *B. hybridum*, *B. stacei* bitkilerini göstermektedir. Grafik etiketlerinde hatalı sınıflandırılan bireyler verilmiştir

Üç tür içindeki tüm bireylerden 8 tanesi doğru olarak sınıflandırılmamıştır (Çizelge 4.12). Bd21-3 ve AL5.2 aksiyonlarının bu çizelgede yer alması da dikkat çekicidir. Ayrıştırma analizi (DA), genel olarak, %98,67'lik bir başarı ile gerçekleştirilmiştir, ancak materyal ve metod bölümünde bahsedildiği gibi, bu konuda kesin konuşabilmek için takip edilmesi gereken bazı varsayımlar bulunmaktadır. Bunlardan birisi verilerdeki aykırı değerlerin (outliers) varlığıdır. Aykırı değerler korelasyon katsayılarının büyüklüğünü büyük ölçüde etkilemektedir. Bunun aksiyonların hatalı sınıflandırılmasına neden olduğuna inanmaktayız. Tanımlayıcı istatistikteki karakteristikleri, kutu grafiğini dikkate alarak tekrar incelenecek

olursa, bunların bazılarında aynı bireylerin aykırı değer olarak hatalı sınıflandırıldığı görülmektedir. Aykırı değerler birçok parametrik istatistiksel analiz için problem teşkil etmektedir; ancak bu çalışmanın amacı kolleksiyonun çeşitliliğini bulmak ve karakterize etmek olduğundan, aykırı değer gibi görünen bireyler, ıraksal doğaları yüzünden değerlendirme dışı tutulamazlar.

Çizelge 4.12. Ayırışma analiziyle hatalı sınıflandırılan bireyler

Bireyler	Verilen Gruplar	Sınıflandırma	Jackknife sonrası
Linos-3	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. hybridum</i>
Linos-4	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. hybridum</i>
Linos-5	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. hybridum</i>
Bd21_3	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. hybridum</i>
Peri-2	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>	<i>B. stacei</i>
Pros-4	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	<i>B. distachyon</i>
Pros-8	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	<i>B. distachyon</i>
AL5.2	<i>B. stacei</i>	<i>B. stacei</i>	<i>B. hybridum</i>

4.3. Fenotipik Verilerde Filogenetik Yaklaşımlar

4.3.1. Üç türle UPGMA ağacı

Üç türün tüm bireyleri ilkin küme analizi (cluster analysis) için kullanılmıştır. Şekil 4.13’de 1000 bootstrap (seç-bağla testi) sonrası elde edilen UPGMA uyumluluk (consensus) ağacı gösterilmiştir. Ağaç, 307 *B. distachyon* (yeşil), 278 *B. hybridum* (turuncu) ve 18 *B. stacei* (mavi) bitkisinden oluşmaktadır. Öncelikle kümelerin göreceli konumu ile kümeler ve alt kümelerdeki bireylerin önemli olmadığını belirtmek gerekir. Burada önemli olan bireylerin birlikte nasıl kümelendiklerini gösteren topolojidir.

Şekil 4.13’de de açıkça görüldüğü üzere, ağaç, %100’lük bootstrap desteğiyle iki ana kümeden oluşmaktadır. İlk küme Yunanistan’dan toplanan (Amfi-1 hariç) tüm *B. stacei* bireylerini, ikinci küme ise kalan *B. stacei* bireylerini (Amfi-1, AL1.1 ve AL5.2) ve tüm *B. distachyon*, *B. hybridum* bireylerini içermektedir.

Biraz daha dikkatli bakıldığında, Şekil 4.14 yardımıyla beş ana kümeyi bir birlerine olan uzaklıklarını dikkate alarak ayırmanın mümkün olduğu görülür. İlk küme Yunanistan'dan toplanan (Amfi popülasyonundan tek *B. stacei* olan Amfi-1 hariç) tüm *B. stacei* bitkilerinden oluşmaktadır, geriye kalanlar ise *B. hybridum*'dur.

İkinci küme, *B. stacei* ve *B. hybridum* bitkileriyle Amfi popülasyonundan Amfi-10 hariç, İspanya'dan, AL1.1 ve AL5.2 ile Hion-3, Grik-4 ve Katsi-7. Bireylerini içermektedir.

Üçüncü küme *B. hybridum* (Pros popülasyonunun hepsi, Stav-6, Stav-9) ve bazı *B. distachyon* bireylerinden oluşmaktadır. İkincisinden farklı olarak, üçüncü kümenin Kilk popülasyonunun tüm bireylerini, Edes-1,2,8,10, Farsa-2,3,4,7,9, Bralo-3,7,10, Viti-1,10, Vego-10 ve Lito-3 bireylerini içerdiğini belirtmeliyiz. Bu küme, diğer analizlerinde gösterdiği gibi, diğer türlerden oldukça farklı bireylerden oluşmaktadır. Bunlar türlerarası kümede daha detaylı olarak incelenecektir.

Dördüncü küme geniş bir kümedir; geriye kalan bütün *B. hybridum* bireylerini (İspanya Z2.2 aksasyonu hariç), Bd21-3, Edes-2,3,4,5,7,8 ve Linos-2,3,4,5,7,8 *B. distachyon* bireylerini içermektedir. Bd21-3 kendilenmiş hattı Irak orijinli bahar aksasyonu olup, NJ (Komşu birleştirme ağacı), tek bağ (Single linkage) ve Ward metodu (sonuçları bu çalışmada yer almamaktadır) gibi farklı analizlerde de daima *B. hybridum* ile aynı kümede yer almaktadır. Üstelik, bu kümenin bazı bireyleri ile öncekiler aynı bağlantı noktalarına sahiptirler ve genotip verileriyle gerçekleştirilen STRUCTURE analizlerinde birlikte kümelenmektedirler.

Son olarak, beşinci küme geriye kalan *B. distachyon* bireyleri ile İspanya'dan gelen *B. hybridum*'un Z2.2 aksasyonundan oluşmaktadır. Tüm analizlerde, PCA'da da gösterildiği üzere (Şekil 4.8), bu kümenin *B. distachyon* bitkileri daha baskın (constrained) ve bireyleri arasındaki benzerlik daha fazladır. Elbette, Şekil 4.13'de açık bir şekilde gösterildiği gibi, birçok alt grup vardır, ancak bootstrap desteği bize ayrıntılı yorum yapma imkanı sağlayacak kadar yeterli değildir. Türlerarası filojeni bize her türü derinlemesine inceleme fırsatı sağlayacaktır.

4.3.2. Üç türde Maksimum olasılık ağacı

Daha önce de belirtildiği üzere, maksimum olasılık (Maximum Likelihood) filogenetik yaklaşımına UPGMA algoritmasıyla birlikte küme analizini test etmek için başvurulmuştur.

Bu istatistiksel yöntem genellikle diğer ağaçlarla karşılaştırılması güç olan köksüz ağaç oluşturmaktadır. Buna rağmen, UPGMA ağacının beş ana kümesine bakılarak iki prosedürü karşılaştırmak mümkündür. Maksimum olasılık yöntemi bütün *B. stacei* bireylerinden (Amfi-1 hariç) oluşan bir grubu da vermektedir. Bu grupta İspanyol AL1.1 ve AL5.2 bireyleri de dahildir (Şekil 4.15). Amfi-1, benze şekilde Hion, Elia, Grik-4, Katsi, Linos-6, Linos-9 gibi, aynı popülasyondan *B. hybridum* bireyleriyle ikinci gruba bağlıdır.

Üçüncü simpatrik grup, resimde birinci grubun yanında yer almakta; Pros, Farsa ve Stav popülasyonlarından *B. hybridum* ve Edes, Kilk, Linos ve Farsa popülasyonlarından *B. distachyon* bireylerini içermektedir. Bu küme UPGMA filogramındaki 3. ve 4. kümelere benzemektedir. Dördüncü küme, geriye kalan *B. hybridum* bireylerini ve Bd21-3 aksesyonunu içerirken, beşinci küme de geriye kalan bütün *B. distachyon* bireyleriyle İspanyol Z2.2 aksesyonunu içermekte.

Sonuç olarak maksimum olasılık yönteminin elde edilen topoloji, UPGMA kümelerinden tamamen farklı bir filogenetik yaklaşım olmasına rağmen, bootstrapping desteği öylesine güçlü olamasa bile, bize oluşturulan ağaca güvenme imkanı sağlamaktadır.

4.3.3. *B. distachyon* türünde UPGMA ağacı

Üç türün birlikte yapılan filogenetik analizi, bize kolleksiyonun olası yapısı ve popülasyonlar ile türler arasındaki bağlantılar hakkında genel bir bilgi vermektedir. Türler içindeki ilişkileri ve bireylerin gruplanış şekillerini incelemek amacıyla 307 *B. distachyon* bireyiyle bir UPGMA uyumluluk ağacı oluşturulmuştur (Şekil 4.16).

Beklenildiği üzere, orijinal değerlerin yeni standardizasyonu nedeniyle ağacın görünümü biraz farklıdır. Aslında, üç tür, diğer gruplarla kümelenen bireyleri, yeniden pozisyonlayarak ağacın sol alt tarafında toplar gibi görülmektedir. Şöyle bir göz atıldığında, radyal filogram farklı büyüklükte sekiz küme içeriyor görünmektedir. İlk dikkat çeken durum, Bd21-3 kendilenmiş aksesyonun diğer bireylerle bir benzerlik göstermemesi ve tek başına %100 bootstrapping desteği ile bir küme oluşturmasıdır.

İkinci küme %74 bootstrapping desteği ile geriye kalan bireylerden ayrılan, 31 bireyden oluşmaktadır. Tüm Linos 2, 3, 4, 5, 7 ve 8; Farsa 2, 3, 4, 7, 9; Edes 9 hariç, Kilk (3 numara hariç) ve ayrıca Asti 4, 10'dan gelen *B. distachyon* bireyleri bu kümeye bağlıdır. Bu bitkiler, %95'lik elipslerin dışındaki noktaların bu gruptan bitkilere bağlı olduğu bireylerle

yapılan PCA'da (Şekil 4.8) ve *B. distachyon* olarak hatalı sınıflandırıldıkları DA gibi bazı analizlerde, diğer bütün *B. distachyon* bireylerinden ayrılmaktadır. Yine, popülasyonların ortalamalarıyla (Şekil 4.11) gerçekleştirilen PCA'da 41,44 ve 51 rakamlarına sırasıyla karşılık gelen Kilk, Edes ve Linos çevrede yer almaktadır.

Bd21-3 gibi çok farklı bir aksesyonun varlığının diğer *B. distachyon* bireylerin kümelenmesini etkilediği varsayımını önlemek için, bu defa Bd21-3 aksesyonu olmaksızın bir *de novo* kümeleme analizi gerçekleştirilmiştir. Yeni ağaç, %100 bootstrapping desteğiyle daha önce bahsedilen bireyleri bütün geriye kalanlardan ayırıştırarak aynı sonucu vermiştir. Bu popülasyonlar arasında büyük coğrafik uzaklık bulunduğunu ve her üç popülasyonun her birinden en az bir bireyin (Farsa-8, Edes-9, Kilk-3, Asti-1, 2, 5, 7, 9) bu gruba dahil edilmediğini belirtmek gerekmektedir. Başka bir deyişle, geniş varyasyon içerebilen yabani (doğal) popülasyonlarda bireysellik daha önemli gibi görünmektedir. Araştırmanın ana konusu olmamakla birlikte, popülasyonlar arası etkileşim ve popülasyon analizleri verilirken, bir çok analizin bireyler düzeyinde verimesinin nedeni budur.

Sonuç olarak, üçüncü küme tüm geriye kalan bireyleri altı alt kümede içermektedir. Elbette, özellikle aynı popülasyondan bireylerle düşük seviyelerde yüksek bootstrapping desteği ile daha çok alt küme elde edilebilir, bu da muhtemelen onların yakın akraba oldukları anlamına gelmektedir.

4.3.4. *B. hybridum* türü UPGMA ağacı

Burada Şekil 4.17'de gösterildiği üzere, 278 bireyden oluşan *B. hybridum* türü analiz edilmiş ve bir UPGMA uyumluluk ağacı oluşturulmuştur. Bu ağaç ana üç kümeden, üçüncü küme de yedi alt kümeden oluşmaktadır. İlk küme, %100 bootstrapping desteği ile diğerlerinden ayrılan sadece Dafne-6 bireyini içermektedir. İkinci küme ise, %90 bootstrapping desteğiyle diğerlerinden ayrılan Pros bireylerini içermektedir. Pros popülasyonunun bireyleri bir birleriyle çok yakından ilişkilidirler ve bu çalışma sırasında yapılan ve teze dahil edilmeyen analizler sırasında da bütün örneklerde (cases) bir arada bulunmuştur. Ayrıca, aynı popülasyon PCA analizinin çevresinde yer almıştır (Şekil 4.10). DA analizinde, 4.2.2. ve 4.2.3 bölümlerinde de belirtildiği gibi, bazı bireyler hatalı sınıflandırma olarak rapor edilmiştir. Bu popülasyon Yunanistan'ın kuzeyinden toplamış tek *B. hybridum* popülasyonudur ve Şekil 4.14'de seçilen ikinci kümesinden *B. distachyon* bireyleriyle büyük benzerlikler göstermektedir.

Üçüncü küme zayıf bootstrapping ile desteklenmiş yedi alt kümeden oluştuğundan, alt kümeleri yorumlamak güvenilir değildir. Burada sadece Fira popülasyonunun tamamı ile Mega-1 ve Pela-10 bireylerini de içeren 7. alt kümede Dafne-6'nın aşağıda yer aldığını vurgulamalıyız. Beş numarayla kodlanan Fira popülasyonu çoğunlukla diğer *B. hybridum* bireylerinden ayrılmaktadır. PCA'da (Şekil 4.8) %95'lik elipslerin dışında yer almıştır ki, bu da iç çeşitlilik (enclosed diversity) için güçlü bir delil oluşturmaktadır. Eğer çalışmamızın amacı ekolojik odaklı olsaydı, Ege Denizi'ndeki Santorini Adasın'dan toplanan bu popülasyonun diğer bütün popülasyonlardan uzak ve ada evrimsel modeli veya Foster kuralı (Foster, 1964) gibi görüldüğünü hatırlatmamız gerekirdi. Bu popülasyonun genotipik verilerinin analizine ileride değinilecektir.

4.3.5. *B. stacei* türü UPGMA ağacı

18 *B. stacei* bireylerinden çıkarılan filogeni Şekil 4.18'de dikdörtgen kladogramla gösterilmiştir. Bu örnekteki kümeleşme çok nettir ve bootstrapping ile çok iyi desteklenmektedir. İlk grup, %100 bootstrapping ile diğerlerinden her zaman ayrılan İspanyol AL1.1 ve AL5.2 bireylerinden oluşmaktadır. İkinci grup sadece Amfi-1 bireylerini içermektedir. Bu hiç de şaşırtıcı değildir, çünkü Amfi-1 bütün tür filogenileriyle bile her zaman farklı farklı kümelerde sınıflandırılmaktadır (Şekil 4.14, ikinci küme). Ayrıca PCA'da (Şekil 4.11) Amfi-1 I. Çeyrek dairede, *B. stacei* %95'lik elipsinin dışında tek kırmızı nokta olarak yer almaktadır. Üçüncü küme, Veli, Gyth ve Hota popülasyonlarının bütün bireylerini içermektedir.

4.3.6. Tüm popülasyonların UPGMA ağacı

Bundan başka, popülasyonlar arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmak amacıyla her bir türün her popülasyonun ortalama değeriyle bir UPGMA uyumluluk ağacı (Şekil 4.19) oluşturulmuştur. Kırmızı kesikli kalın çizgi, popülasyonların bu eşikte birlikte gruplanmaya karşın, birbirine daha çok yaklaştığı bölgeyi göstermek için yaklaşık olarak 4.8 uzaklığında çizilmiştir. Simpatrik popülasyonlar her bir tür için iki defa verilmiştir. Sonuçlandırılmış 78 popülasyon, her biri için üç alt küme olacak şekilde iki ayrı kümede gruplandırılmıştır.

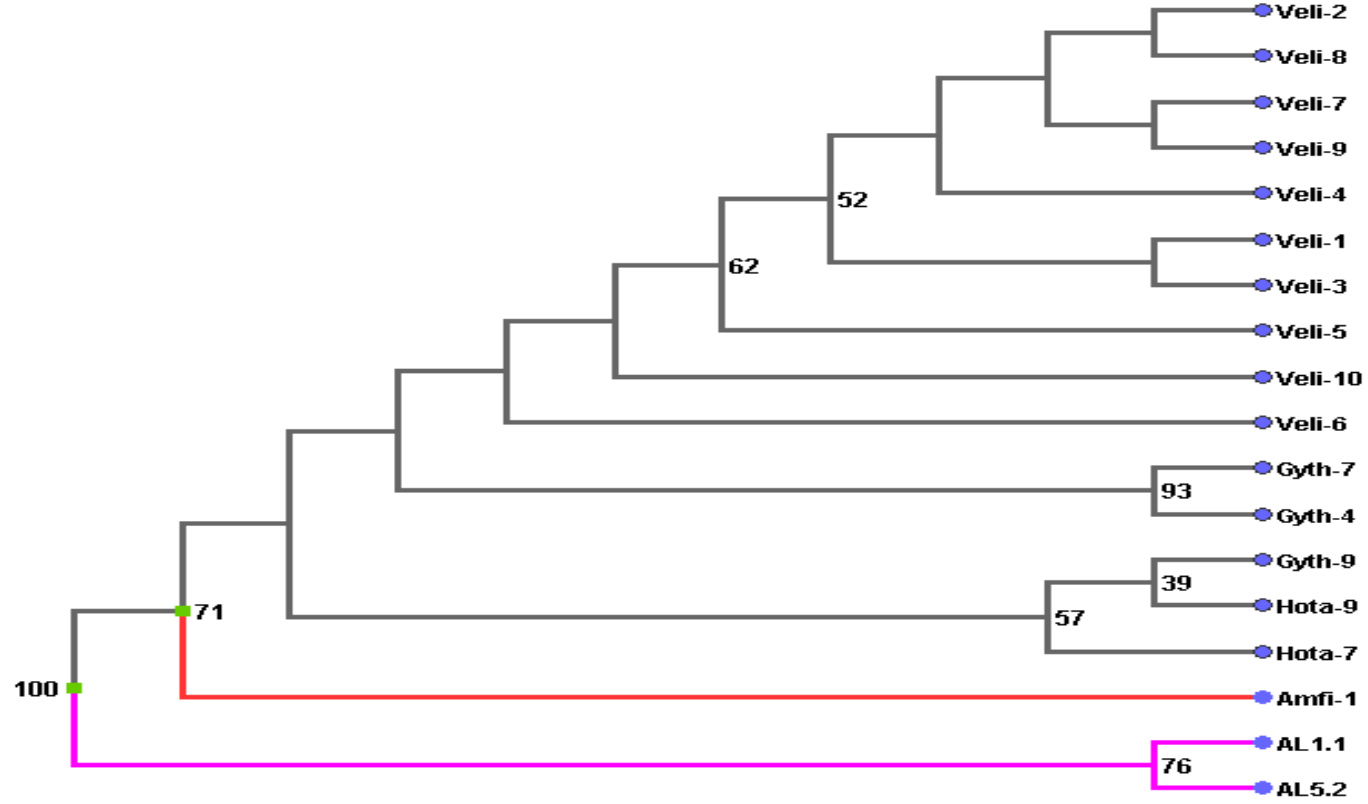
İlk küme tüm *B. stacei* popülasyonunu içerir ve %100 bootstrapping desteği ile ikinci kümeden ayrılır. Bunun içerisinde üç alt küme bulunmaktadır; bu alt kümelere ilki Gyth,

Veli ve Hota popülasyonunu, ikincisi AL1.1 ve AL5.2 ve üçüncüsü de Amfi popülasyonunu içermektedir.

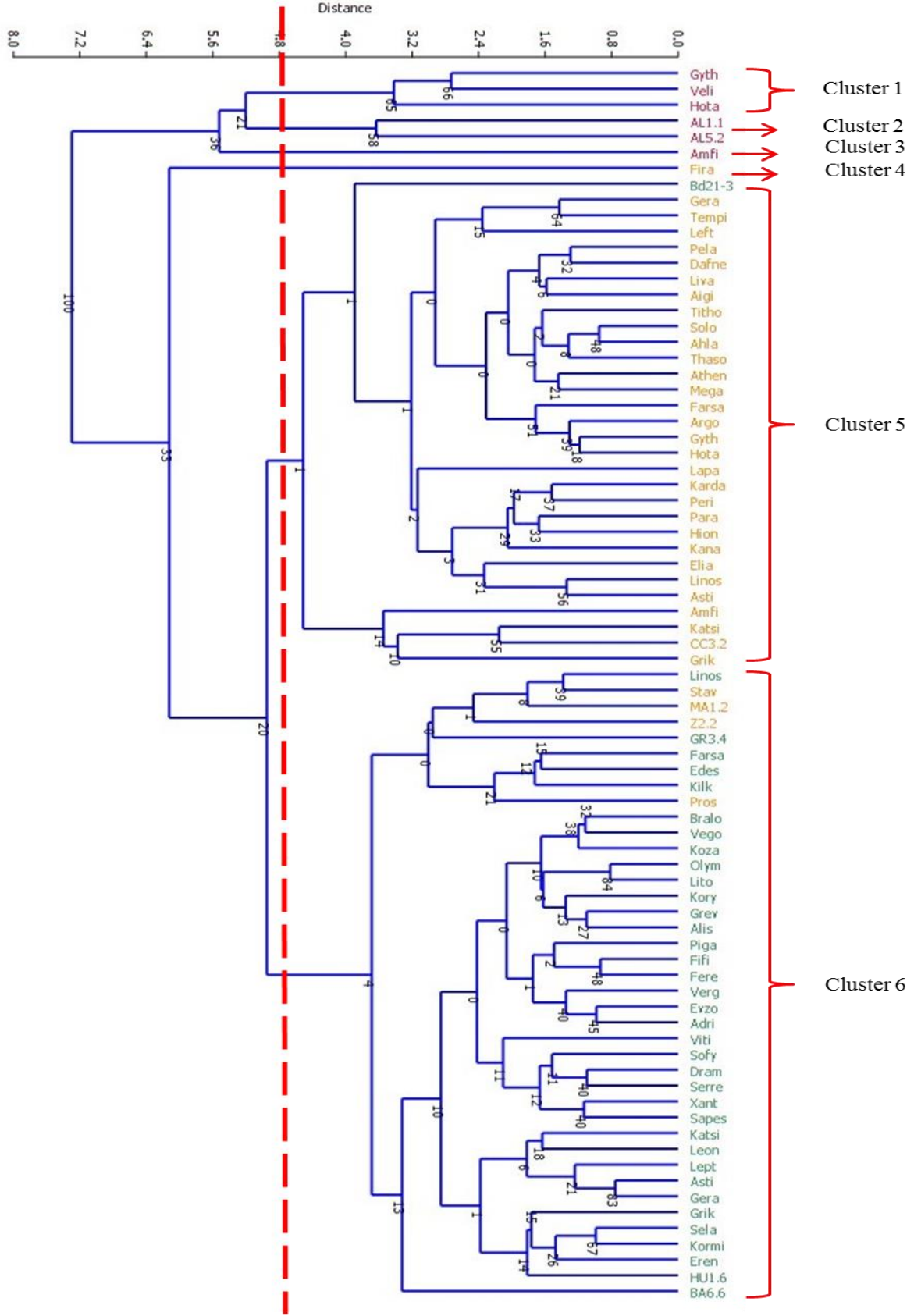
İkinci ana küme bütün *B. distachyon* ve *B. hybridum* popülasyonlarını içerip üç alt kümeye ayrılmaktadır. İlk alt kümeyi, daha önce ayrıntılı şekilde anlatılan Fira popülasyonu (*B. hybridum*) oluşturmaktadır. İkinci alt kümeyi, Pros, Stav, İspanyol MA1.2 ve Z2.2 hariç bütün *B. hybridum* popülasyonu oluşturmaktadır. Ayrıca *B. distachyon* olan ve *B. hybridum* popülasyonu ile birçok benzerliği bulunan Bd21-3'ü de içermektedir. Üçüncü alt küme ise, bütün diğer *B. distachyon* popülasyonu ile Pros, Stav, MA1.2 ve Z2.2 *B. hybridum*'dan oluşmaktadır.

Bu kümelemeden *B. stacei* popülasyonunun, bütün diğer *B. distachyon* ve *B. hybridum* popülasyonlarından oldukça farklı olduğu sunucuna varmak mümkündür. Ayrıca, diğerleriyle karşılaştırıldığında bu tür içinde çeşitliliğe daha kapalıdır ve sayıca az olmasına rağmen, diğer 6 gruptan 3'ünü kapsamaktadır. İkinci dikkat çekici bulgu ise, Fira popülasyonunun ne *B. distachyon* ne de *B. hybridum* popülasyonlarıyla ortak paydasının bulunmasıdır. Bu popülasyonun ayırt edici özelliklerinden bahsedilmiş olmakla birlikte, ileriki aşamalarda daha fazla araştırılması planlanmaktadır.

Materyal ve Yöntem bölümünde de belirtildiği üzere, fenotipik karakterizasyon çalışması, ölçülen 15 daimi ve ayırık karaktere dayanmakta olup, çıkarsamalı (inferring) filogenetik ve çok değişkenli analizler de bundan kaynaklanmaktadır. Bu durumda farklı veri setlerinin verilmesi durumunda, farklı açıklamaların getirilmesi de mümkündür. Sonuç olarak çalışmada sadece fenotipik karakteristik özelliklerle (ya da morfometrikle) *B. stacei* ve *B. distachyon* türlerini ayırt etmenin mümkün olduğunu, fakat *B. hybridum* ile *B. distachyon* veya *B. stacei* türlerini bir birinden ayırt etmenin zor olduğu anlaşılmaktadır. Bu durumda PI yöntemiyle flow sitometri oldukça başarılı sonuç vermektedir. Ayrıca yeni koleksiyon diğerlerinden oldukça ayrılan bazı popülasyonlarla birlikte her tür içinde yüksek bir çeşitlilik sergilemektedir.



Şekil 4.18. Bin bootstrap sonrası 18 *B. stacei* birey topolojisini gösteren UPGMA uyumluluk dikdörtgen kladogramı. Sayılar bootstrapping desteğini göstermektedir



Şekil 4.19. Bin bootstrap sonrası UPGMA uyumluluk ağacı üç türün popülasyonlarının topolojisini göstermektedir. *B. distachyon* yeşil, *B. hybridum* turuncu ve *B. stacei* kırmızı renklerle gösterilmiştir

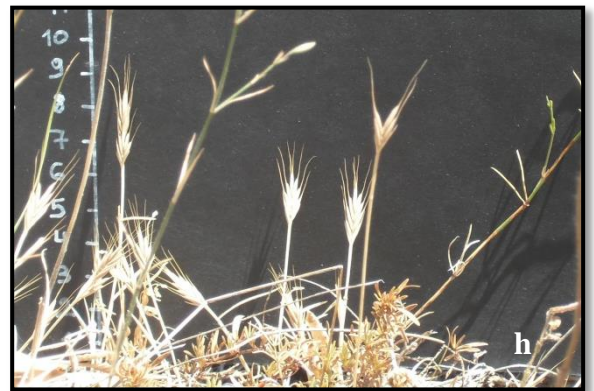
4.4. *Brachypodium* spp. Koleksiyonunda Fenetik Gözlemler

4.4.1. *Brachypodium* bitkilerinin toplandığı lokasyonlardan fotoğraflar

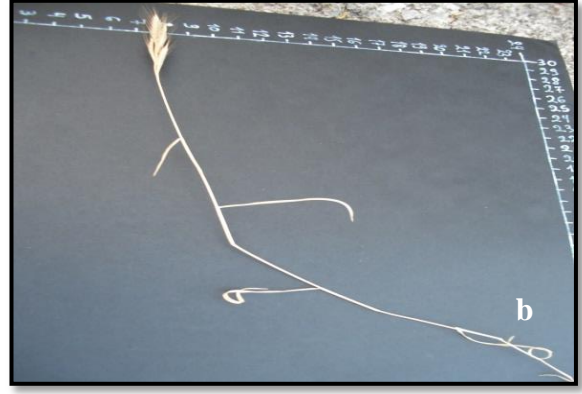
Materyal ve Yöntem Bölümü 3.1’de değinildiği üzere, hemen hemen tüm *Brachypodium* bitkilerinin toplandığı lokasyon ve çevrelerinin fotoğrafları çekilmiştir. Aşağıda koleksiyon alanları ile *in situ* yetişen bitkilerin fotoğrafları verilmiştir. Mümkün olduğu yerlerde cm ölçüsü kullanılmıştır.



Şekil 4.20. Grit Adası’ndan değişik bölgelerden koleksiyon alanlarıyla bitkiler: (a)-(b), Gera ve (c)-(d), Lapa



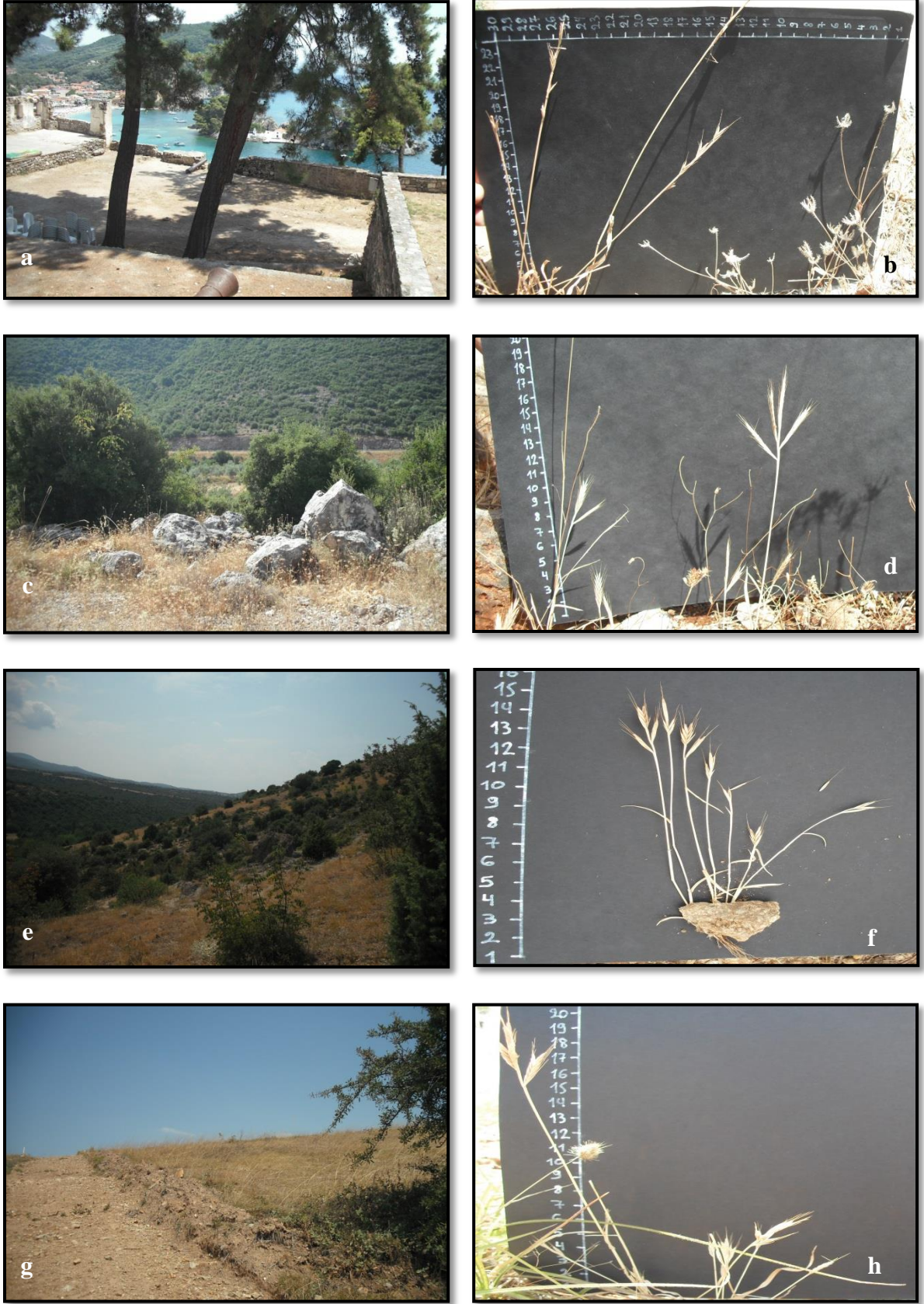
Şekil 4.21. (a)-(b), Olym; (c)-(d), Lito; (e)-(f), Tembi ve (g)-(h), Bralo'dandır



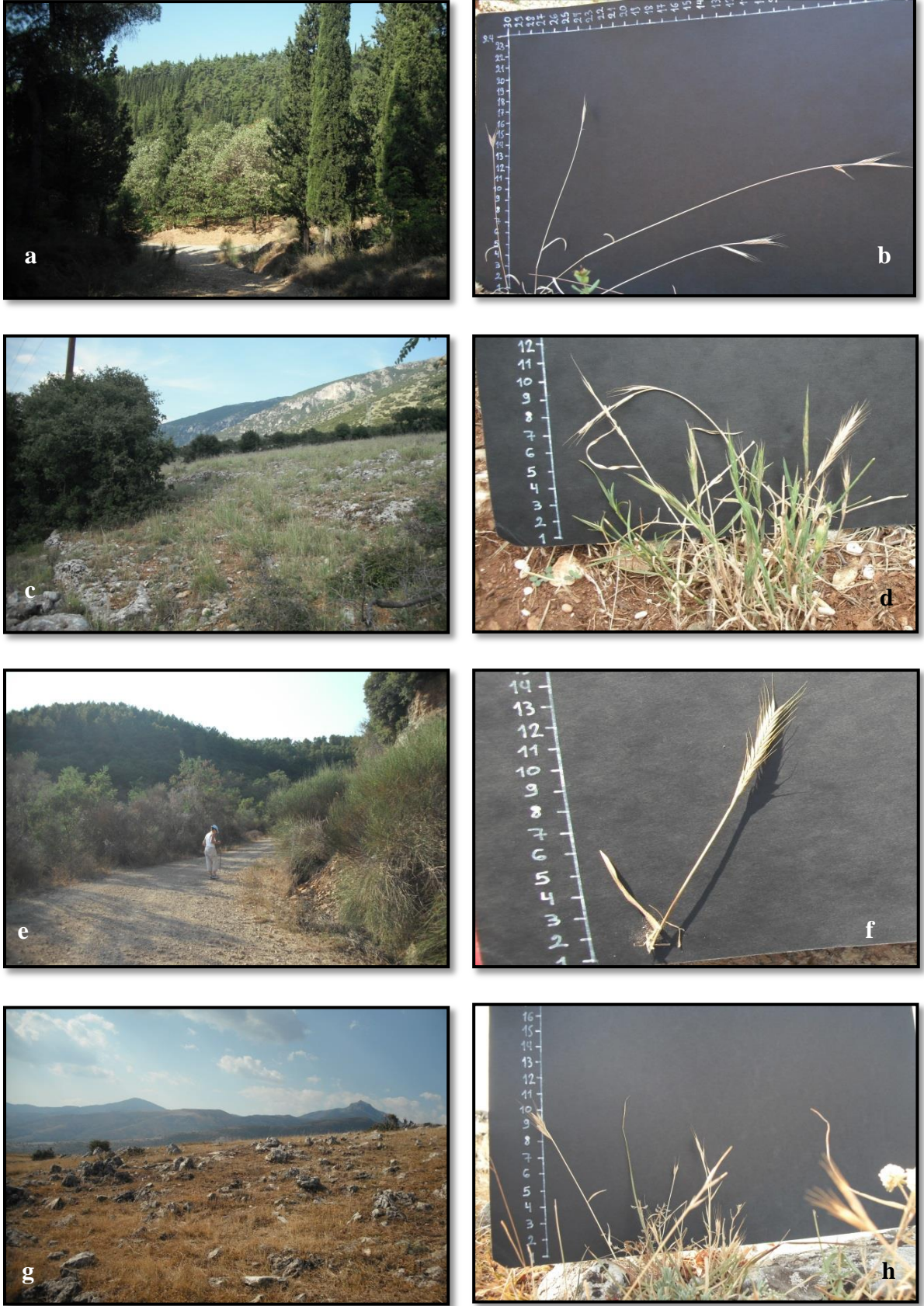
Şekil 4.22. (a)-(b), Athen; (c)-(d), Mega; (e)-(f), Piga ve (g)-(f), Gyth' dendir.



Şekil 4.23. (a)-(b), Hota; (c)-(d), Para; (e)-(f), Amfi ve (g)-(h), Peri'dendir.



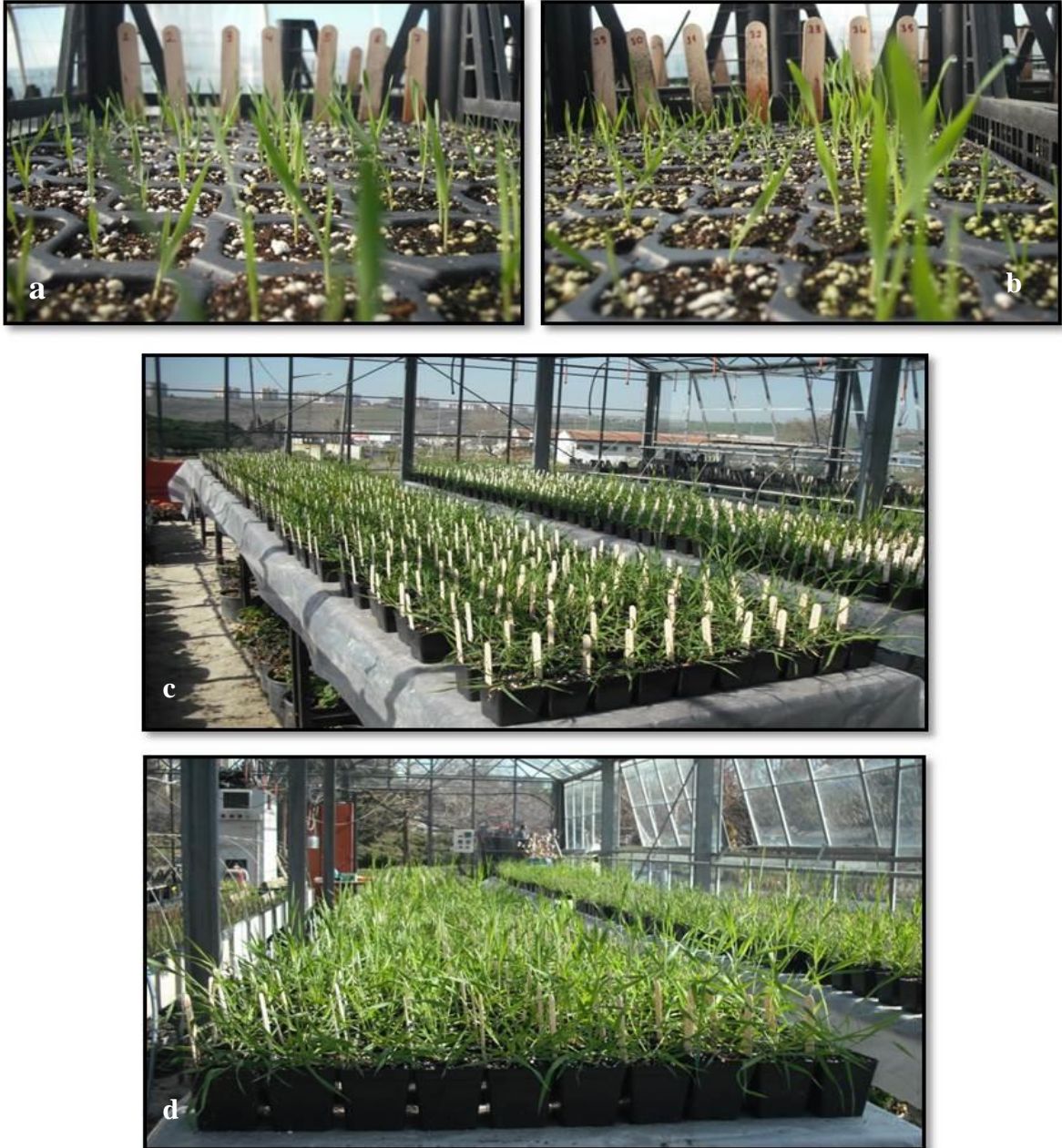
Şekil 4.24. (a)-(b), Veli; (c)-(d), Grik; (e)-(f), Sofy ve (g)-(h), Kilk'dendir



Şekil 4.25. (a)-(b), Edes; (c)-(d), Pros; (e)-(f), Linos ve (g)-(h), Sere'dendir

4.4.2. Tekirdağ'da *Brachypodium* bitkilerinin yetiştirilmesi

Seçilen bireyler NKÜ Ziraat Fakültesi'nin cam serasında yetiştirilmiştir. Aşağıda *Brachypodium* bitkilerinin, viyollerdeki iki yaprak aşaması ile 220 cm³'lük hacimli saksılara transplantasyonları sonrası fotoğrafları sunulmuştur (Şekil 4.26). Türe göre sınıflandırmadan önce bile, *B. stacei* bitkilerinden oluşan Veli (34) popülasyonunun farklı bir gelişme gösterdiği açıkça görülmektedir (Fotoğraf b).



Şekil 4.26. (a), ekimden 15 gün sonra, 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 nolu popülasyonların fotoğrafları. (b): 29, 30, 31, 32, 33, 34 ve 35 nolu popülasyonlar. (c) ve (d) 1 Mart 2013'de çekilmiştir (ekimden 3.5 ay sonra)

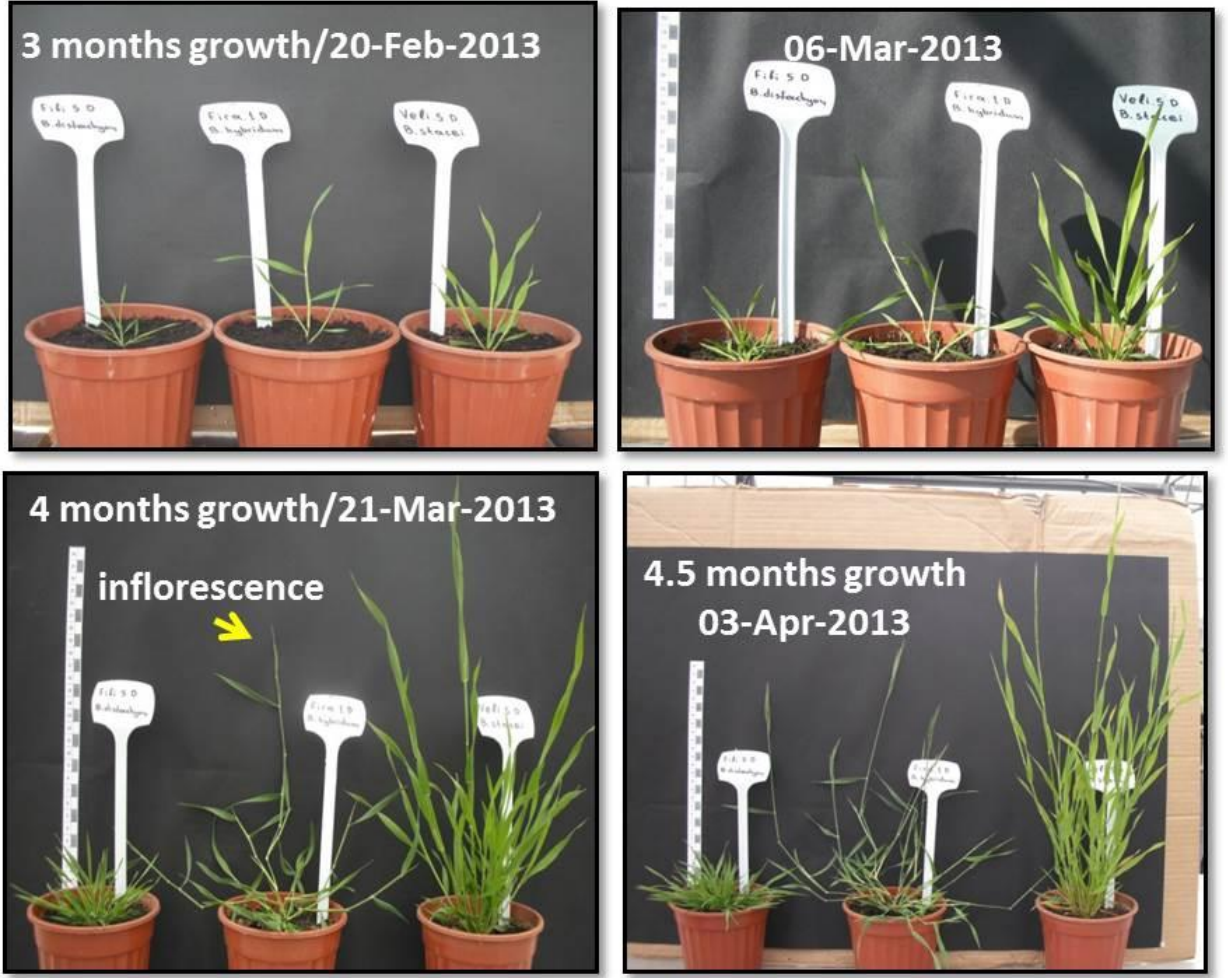


Şekil 4.27. Fotoğraf (a) 2 Nisan 2013'te, (b) 10 Mayıs 2013'te. Fotoğraf (c) ve (d) Haziran 2013'te hasat öncesi

4.4.3. Üç türün kıyaslanması

Üç türü farklı gelişim aşamalarında kıyaslamak için fazladan bir deneme daha kurulmuştur. Her türden birer birey seçilerek yan yana daha büyük saksılarda yetiştirilmişlerdir. Hasat zamanına kadar her hafta fotoğrafları çekilmiştir. Aşağıda bu fotoğraflardan bazıları sunulmuştur (Şekil 4.28, Şekil 4.29). Bu amaç için seçilen bireyler, soldan sağa Fifi-5 (*B. distachyon*), Fira-1 (*B. hybridum*) ve Veli-5 (*B. stacei*)'dir. Üç ayın ilk aşamalarından itibaren, *B. distachyon*, *B. hybridum* ve the *B. stacei* türleri. Farklı yetiştirme özellikleri (habitus) göstermişlerdir. Veli-5, geniş, açık yeşil yapraklarıyla uzun ve dik yapıda olurken, Fira-1, koyu yeşil yaprakla yatay dallara ve az sayıda sapa; Fifi-5 ise, sonuçta daha fazla sap, tohum, biyokütle ve geç başaklanmaya neden olan uzun kardeşlenme periyoduna sahip olmuştur. Sonuçta Veli-5'in boyu 85 cm olurken, Fira-1 ile Fifi-5'in boyları sırasıyla 35 cm ve 40 cm olmuştur. Burada belirtmek gerekir ki, aynı yetiştirme koşullarında üç türü ayırt etmek kolay olduğu halde, doğal yetiştirme çevrelerinde bu söz konusu değildir. Şekil 4.24'te (a-b) fotoğraflarında *B. stacei*'nin toplandığı lokasyondan (Veli) bitkiler, Şekil 4.25'deki (a-b) fotoğraflarında ise *B. distachyon*'un toplandığı lokasyondan bitkiler gösterilmiştir. Sonraki

bölümde açıklandığı üzere, ayırt edilebilen tek morfometrik karakteristik salkım şekli olarak görülmektedir.



Şekil 4.28. Her türün bir bireyinin kıyaslamalı gelişimi. , Soldan sağa Fifi-5 (*B. distachyon*), Fira-1 (*B. hybridum*) ve Veli-5 (*B. stacei*). Skala: 25 cm

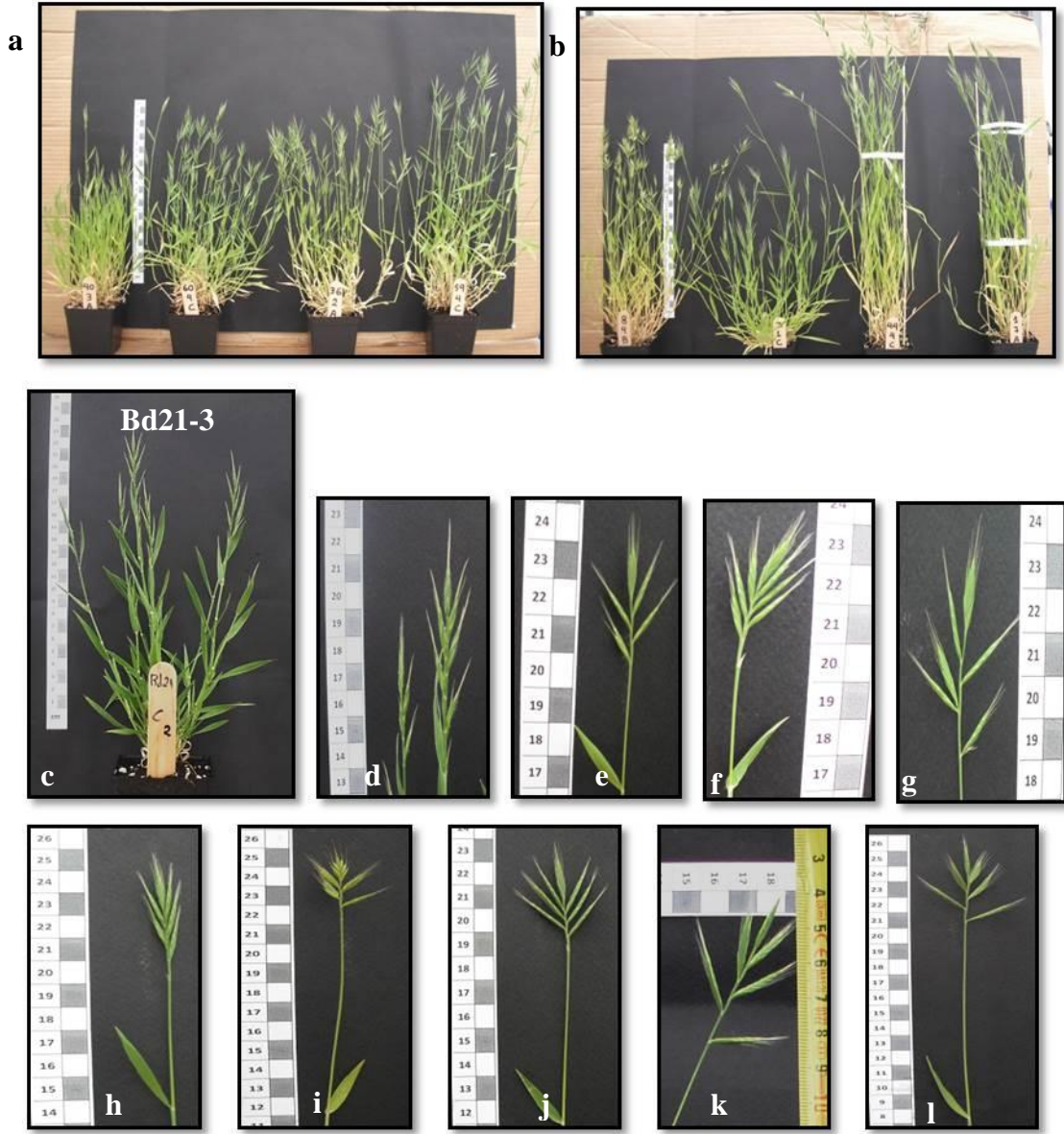


Şekil 4.29. Her türün bir bireyinin kıyaslamalı gelişimi. Soldan sağa Fifi-5 (*B. distachyon*), Fira-1 (*B. hybridum*) ve Veli-5 (*B. stacei*). Skala: 25 cm

4.4.4. Üç tür içindeki çeşitliliğin ana hatları

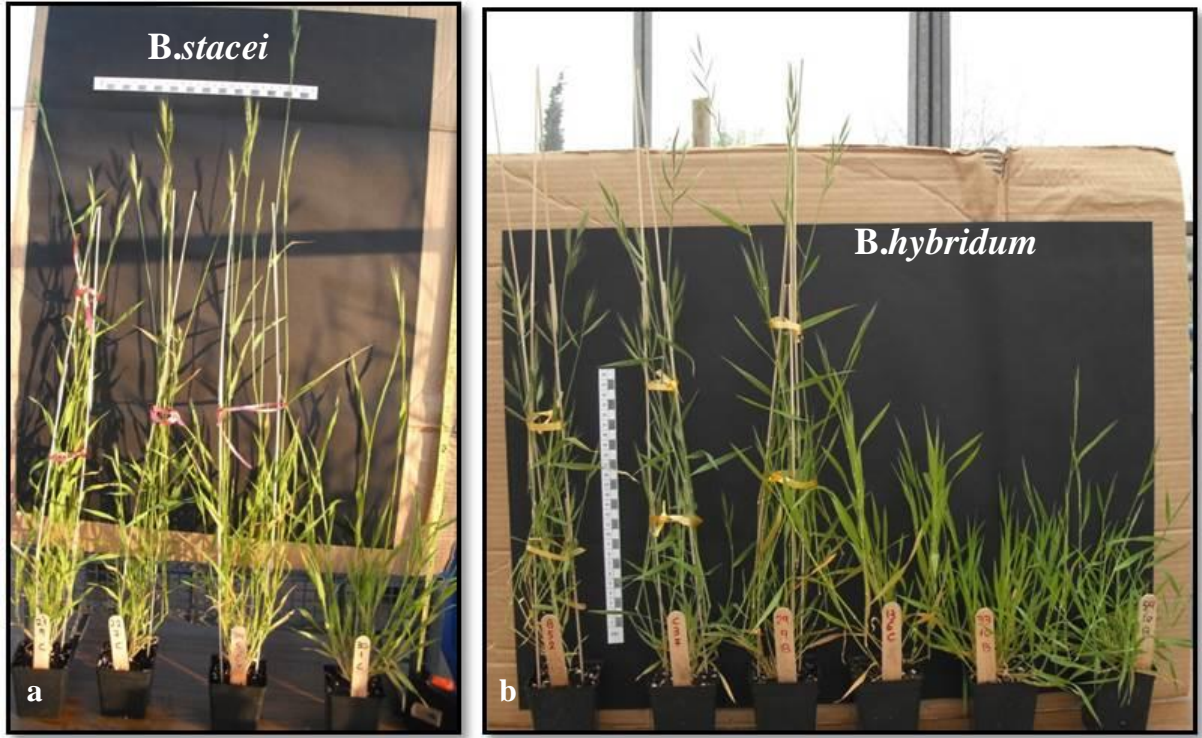
Bitkilerin serada yetiştirme sürecinde, üç tür içinde morfoloji ve genel görünüm bakımından büyük bir çeşitlilik gösterdiği dikkat çekmiştir. Bu nedenle her türden bazı bireyler seçilerek, yan yana konularak fotoğrafları çekilmiştir. Şekil 4.30'de kendi aralarında ve kontrol aksiyonu Bd21-3 ile büyük çeşitlilik gösteren bazı *B. distachyon* bireylerinin fotoğrafları

sunulmuştur. Bundan başka, bayrak yaprağıyla beraber çoğunda görülen salkım uzama (elongation) şeklinin ekstra resimleri çekilmiştir.



Şekil 4.30. Tam çiçeklenmede vegetatif büyümelerini tamamladıktan sonra *B. distachyon* bireyleri. Soldan sağa (a) ve (b) fotoğrafındaki bireyler: Sofy-3, Eren-4, Kory-2, Kormi-4, Lito-4, Olym-1, Edes-4 ve Gera-7'dir. (c) ve (d) fotoğraflarındaki kontrol aksiyonu Bd21-3'tür. Diğer fotoğraflarda sırasıyla: (e) Sofy-3, (f) Eren-4, (g) Kory-2, (h) Kormi-4, (i) Lito-4, (j) Olym-1, (k) Edes-4 ve (l) Gera-7 sunulmuştur

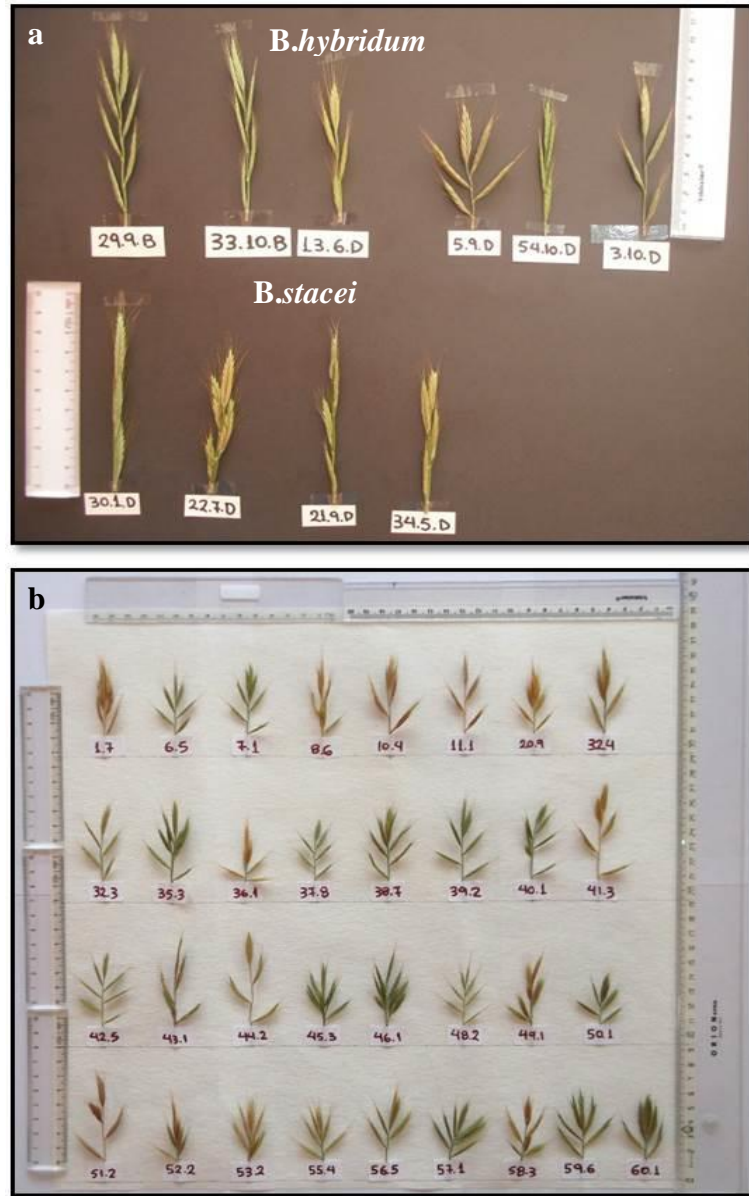
Diğer şekilde (Şekil 4.31) *B. stacei* ve *B. hybridum* türlerinden bireyler gösterilmiştir. *B. hybridum* türünden (sağda) çok sayıda bireyin toplanmış olması, görünümdeki geniş varyasyonun nedeni olabilir.



Şekil 4.31. Fotoğraf (a) *B. stacei* bireyleri, soldan sağa: Gyth-9, Hota-7, Veli-5 ve Amfi-1. Fotoğraf (b) *B. hybridum* bireyleri, soldan sağa: Fira-2, Pela-7, Peri-9, Liva-6, Kana-10 ve Thaso-10

4.4.5. Salkımlarla herbarium

Yukarıda da değinildiği üzere, üç türün salkım morfolojisinde pek çok fark dikkat çekmektedir. Yeni koleksiyon için mümkün olduğunca fazla bilgi toplamak ve materyale daha fazla atıf yapacak gelecek araştırmaları desteklemek amacıyla, her popülasyondan seçilen birer bireyle her tür için salkımlarla bir herbarium oluşturulmuştur (Şekil 4.32). İlk bakışta; salkım boyunda, başakçık sayısında, rachise doğru başakçık açısında, rachis çevresinde başakçığın yakın konumu ve başakçık şeklinde açıkça görülmektedir. Elbette bu gözlemler bilimsel botanik çerçevesinde olmuş, detaylı olarak gerçekleştirilmemiştir.



Şekil 4.32. (a) *B. hybridum* (yukarıda) ve *B. stacei* (aşağıda) bireylerinin salkım şekliyle yapılan herbarium. Soldan sağa: Peri-9, Kana-10, Liva-6, Fira-9, Thaso-10, Pela-10, Amfi-1, Hota-7, Gyth-9 ve Veli-5. (b) 33 farklı lokasyondan toplanan *B. distachyon* biyerlerinin salkım şekilleriyle yapılan herbarium

4.5. Sitogenetik Analizler

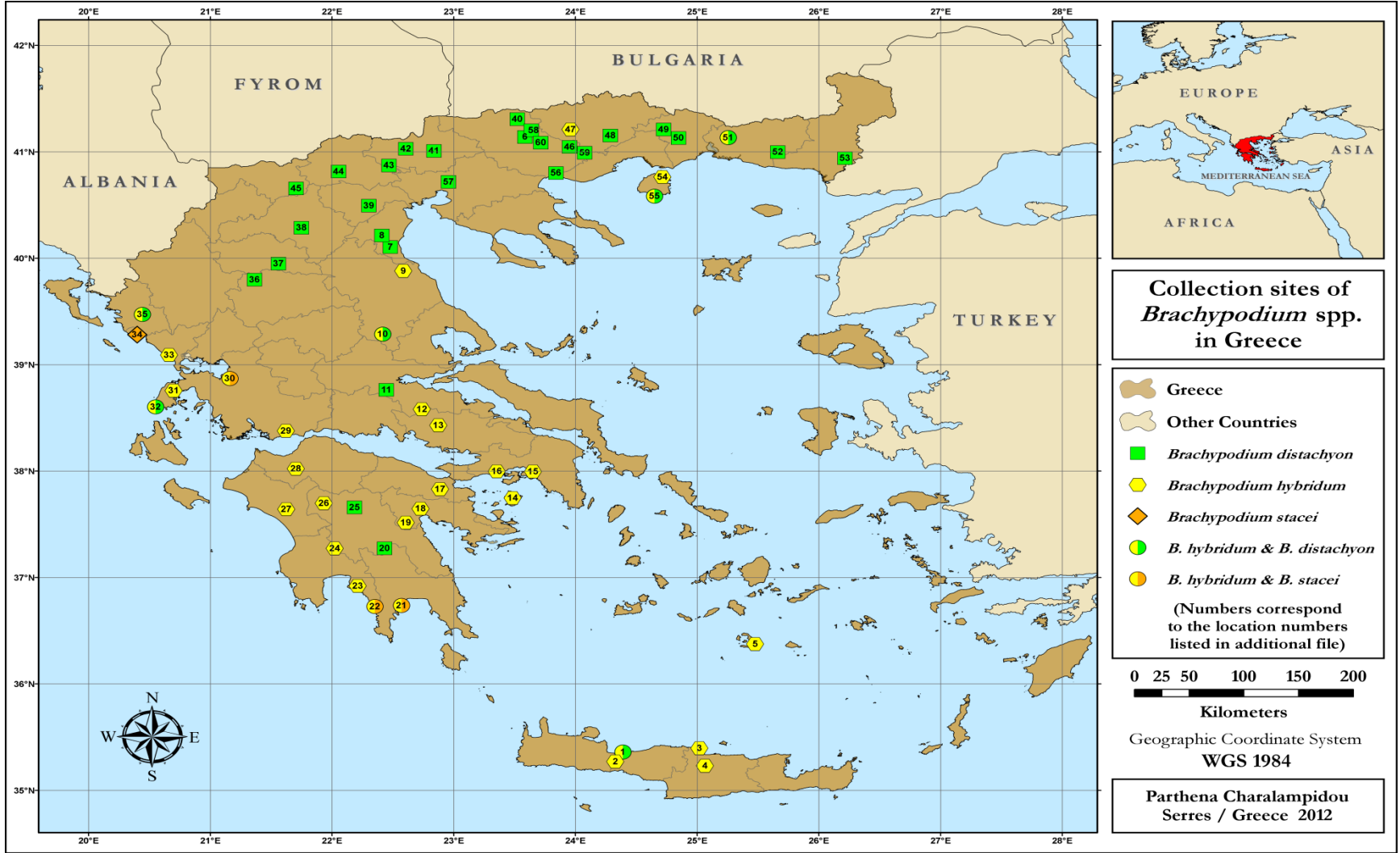
4.5.1. İncelenen türlerin çekirdek DNA içerikleri

Türlerin çekirdek DNA içerikleri PI ve DAPI metotlarıyla tam olarak analiz edildikten sonra, her türün toplandığı coğrafik lokasyonlar, toplandıkları lokasyonlarında türlere göre farklı özel işaretlerle gösterilen bir harita üzerine yeniden işlenmiştir. Yeni harita üzerinde 27

B. distachyon popülasyonu yeşil renkli kareyle (■), 23 *B. hybridum* popülasyonu sarı renkli altıgenle (⬡), bir *B. stacei* popülasyonu turuncu eşkenar dörtgenle (◆), 9 simpatrik popülasyonun *B. distachyon* ve *B. hybridum*'dan oluşan 6'sı yarı sarı-yarı yeşil renkli daireyle (◐) ve *B. hybridum* ve *B. stacei*'den oluşan 3'ü yarı sarı, yarı turuncu daireyle (◑) işaretlenerek, yeni harita üzerinde gösterilmiştir (Şekil 4.33). Şekillerin içinde yer alan sayılar popülasyonlara karşılık gelen kod numarasını göstermektedir.

Harita incelendiğinde *B. distachyon* ve *B. hybridum* popülasyonlarının çok daha yaygın olduğu, buna karşılık *B. stacei* popülasyonunun sadece Yunanistan'ın batı sahil kesimlerinde denize oldukça yakın üç lokasyonda *B. hybridum* bitkisiyle birlikte bulunduğu görülmektedir. Yine haritada, *B. hybridum*- *B. distachyon* ve *B. hybridum*-*B. stacei*'den oluşan simpatrik popülasyonların bulunmasına rağmen, *B. distachyon* ve *B. stacei* bireylerinden oluşan hiçbir simpatrik popülasyonun bulunmaması oldukça dikkate değerdir. Bu durum, iki diploid türün aynı çevreye uyum sağlayamadıklarının bir göstergesi olabilir.

Giraldo ve ark. (2012) da İber yarımadası koleksiyonunda diploid *B. distachyon* veya *B. stacei* türüyle simpatrik allotetraploid *B. hybridum* simpatrik popülasyonu bulmuşlardır. Manzaneda ve ark. (2012) tarafından İspanya'da toplanan diğer 57 doğal popülasyon koleksiyonunda da *B. hybridum* ve *B. distachyon* bireylerinden oluşan 12 simpatrik popülasyon rapor edilmiştir. Ayrıca, Türkiye'de Vogel ve ark. (2009a), Filiz ve ark. (2009a), tarafından oluşturulan geniş pöpülasyonda *B. hybridum* ve *B. distachyon* bitkilerinden oluşan simpatrik popülasyonlar bulunurken, Bakker ve ark. (2009)'nın oluşturduğu Kalifornia koleksiyonunda sadece allotetraploids *B. hybridum* bitkisi bulunmuştur. Yukarıdaki açıklamalar ışığında, *B. distachyon*'un anavatanı Akdeniz bölgesinde yakın akrabaları *B. hybridum* ve *B. stacei*'nin de bulunduğu, ancak *B. stacei* türünün bu bölgede çok nadir görüldüğü sonucuna varılabilir.



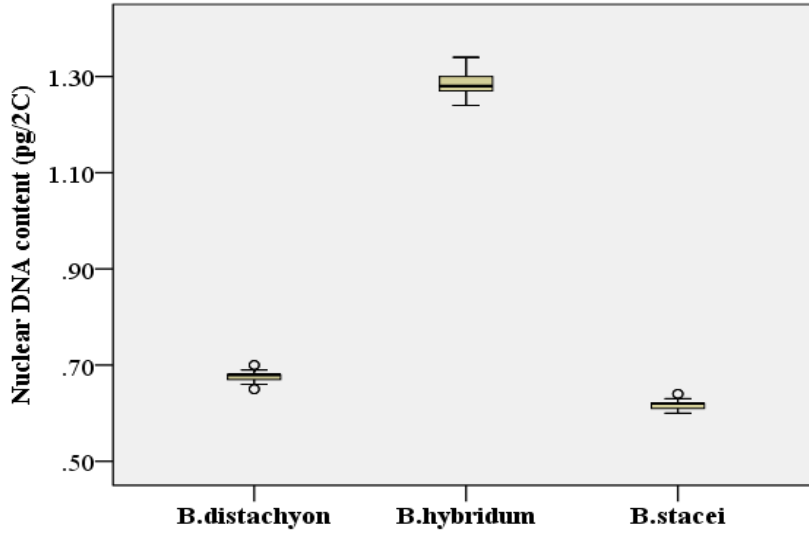
Şekil 4.33. Yunanistan *B. distachyon*, *B. hybridum* and *B. stacei* türlerinin WGS 1984 sistemiyle haritada işlenen koleksiyon lokasyonları. Yeşil kare *B. distachyon* (■), sarı altıgen *B. hybridum* (⬡), turuncu eşkenar dörgen *B. stacei* (◆), yarı sarı-yarı yeşil *B. distachyon* ve *B. hybridum* (◐), yarı sarı-yarı turuncu *B. hybridum* ve *B. stacei* (◑) popülasyonlarını göstermektedir

Çekirdek DNA içeriği PI metoduyla flow sitometride analiz edilen üç türün analiz sonuçları aşağıdaki çizilede verilmiştir. (Çizelge 4.13). Allotetraploid *B. hybridum* türünün DNA içeriği 1.285 pg/2C (628 Mbp/C) ortalamayla, *B. hybridum*'un evrimsel anne ve baba atası olan *B. distachyon* (0.676 pg/2C= 331 Mbp/C) ve *B. stacei* (0.616 pg/2C= 301 Mbp/C) türlerinin DNA içerik toplamına neredeyse eşittir (Hasterok ve ark. 2004). Allopolyploidizasyon sırasında genom boyutunda ilavesel olmayan değişikliklerin rapor edildiği büyük buğday genomunun aksine, *B. distachyon* genomunu karakterize eden küçük boyutlu ve tekrarlayan DNA'nın düşük miktarı dikkate alındığında, bu eşitlik, normaldir (Özkan ve ark. 2003). Üç türün genom boyutuna ilişkin benzer değerler İber Yarımadası'ndan topladıkları yeni koleksiyonda (Bd=0.66-0.69 pg/2C and Bh=1.27-1.34 pg/2C) Mur ve ark. (2011) tarafından rapor edilmiştir.

Çizelge 4.13. Üç *Brachypodium* türünde çekirdek DNA içeriğinin (pg/2C) tanımlayıcı istatistikleri

	S	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	Minimum	Maksimum
<i>B. distachyon</i>	315	0.676	0.008	0.000	0.650	0.700
<i>B. hybridum</i>	159	1.285	0.018	0.001	1.240	1.340
<i>B. stacei</i>	35	0.616	0.010	0.002	0.600	0.640

B. stacei kromozomları göreceli olarak küçük boyutlu oldukları için, 10 kromozomlu diploid *B. distachyon*'un, 20 kromozomlu diploid *B. stacei*'ye göre daha fazla DNA içeriğine sahip olduğunu belirtmekte fayda vardır. Ayrıca, iki diploid tür, aynı çekirde DNA içeriklerine sahip olmakla beraber, üç türün ayırt edilmesi konusunda net sonuçlar sağlayan flow sitometri analizlerinin gösterdiği gibi (Şekil 4.34), minimum ve maksimum değerlerde örtüşmemektedirler.



Şekil 4.34. İncelenen üç türde çekirdek DNA içeriği kutu diyagramı

Üç türün çekirdek DNA içeriğinin ortalama değerlerindeki bu farklılıkların istatistiksel yöntemlerle de desteklenip desteklenmeyeceğini test etmek için varyans analizi gerçekleştirilmiş ve sonuçları, Çizelge 4.14’de verilmiştir. Genel linear model, kayda değer bir etki değeri vermiştir, $F(2,506)=139394.792$, $p<0.001$, $\eta^2= 0.998$. Nitekim üç türün çekirdek DNA içeriklerinin ortalamaları arasında farklılık olmadığına dair sıfır analizi reddedilmiş, çekirdek DNA içeriğindeki varyansın % 99,8’i türler için hesaplanmıştır. Son olarak , üç tür arasındaki çekirdek DNA içeriği ortalama farklarının karşılaştırmasını ayrıca incelemek için bir dizi post-hoc (çoklu karşılaştırma) analizi (Fisher’s LSD and Sheffe) gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, Çizelge 4.15’de görüldüğü üzere post-hoc ortalama kıyaslamalarının istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle, *B. distachyon* ve *B. stacei*’nin çekirdek DNA içerik ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli olmuştur, $t(348)= 39.881$, $p=0.000$.

Çizelge 4.14. Tekdeğişkenli varyans analizi, çekirdek DNA içeriğine (pg/2C) bağımlı değişkene göre subjeler arası etki testleri

Kaynak	Tip III Kareler top.	SD	Kareler ortalaması	F	P	Kısmi η^2
Düzeltilmiş Model	41.520	2	20.760	139394.792	0.000	0.998
Kesişim	174.530	1	174.530	1171886.385	0.000	1.000
Türler	41.520	2	20.760	139394.792	0.000	0.998

Kaynak	Tip III Kareler top.	SD	Kareler ortalaması	F	P	Kısmi η^2
Hata	0.075	506	0.000			
Toplam	419.740	509				
Düzeltilmiş Top.	41.596	508				

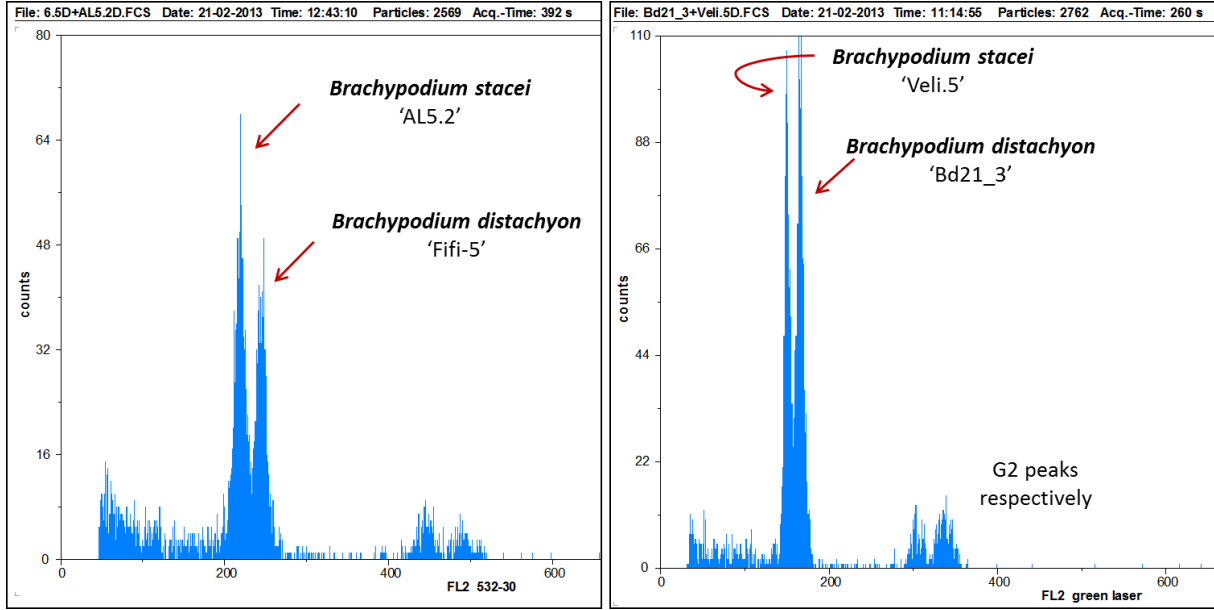
Çizelge 4.15. Scheffe ve LSD metoduyla çekirdek DNA içerik (pg/2C) bağımlı değişkenine göre çoklu karşılaştırmalı varyans analizi

		Ortalama Farkı (I-J)	Std. Hata	P	95% Güven Aralığı		
(I) Türler	(J) Türler				Alt Sınır	Üst Sınır	
Scheffe	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	-0.6094*	0.001	0.000	-0.612	-0.606
		<i>B. stacei</i>	0.0600*	0.002	0.000	0.055	0.065
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	0.6094*	0.001	0.000	0.606	0.612
		<i>B. stacei</i>	0.6694*	0.002	0.000	0.664	0.675
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	-0.0600*	0.002	0.000	-0.065	-0.055
		<i>B. hybridum</i>	-0.6694*	0.002	0.000	-0.675	-0.664
LSD	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	-0.6094*	0.001	0.000	-0.612	-0.607
		<i>B. stacei</i>	0.0600*	0.002	0.000	0.056	0.064
	<i>B. hybridum</i>	<i>B. distachyon</i>	0.6094*	0.001	0.000	0.607	0.612
		<i>B. stacei</i>	0.6694*	0.002	0.000	0.665	0.674
	<i>B. stacei</i>	<i>B. distachyon</i>	-0.0600*	0.002	0.000	-0.064	-0.056
		<i>B. hybridum</i>	-0.6694*	0.002	0.000	-0.674	-0.665

*Ortalama farkın 0.05 seviyesinde olması önemlidir

İki diploid türü arasındaki DNA içeriği farkı çok küçük olmasına rağmen, önce yapılan istatistik analizler, onları PI metoduyla ayırt etmenin mümkün olduğu yolundaki düşüncemizi desteklemektedir. Bu düşüncemizi destekleyen en tipik örnek, aynı örnek içerisinde iki türün bireylerini birlikte analiz ettikten sonra ortaya çıkan grafiklerdir. Bu örnekte, bir birlerine oldukça yakın olmalarına rağmen iki G1 piki ayırt edilmektedir (Şekil 4.35).

Aşağıdaki resimlerde *B. distachyon* ve *B. stacei* bireylerinin birlikte hazırlandığı farklı örneklerin grafikleri verilmiştir. Bu nedenle çok sayıda *B. distachyon*, *B. hybridum* ve *B. stacei* bireylerini kontrol etmek, ayırmak ve türleri içinde sınıflandırmak istenildiğinde, her birey için kromozom sayma yönteminden daha hızlı bir yöntem olan FCM daha güvenli bir şekilde kullanılabilir.



Peak	Index	Mean	Area	Area%	CV%	Peak	Mean	Area%	CV%	ChiSqu.
1	1.000	82.21	331	16.38	25.55	1	150.35	36.35	2.31	0.25
2	2.656	218.32	854	42.27	3.48	2	165.73	48.12	2.67	0.25
3	2.975	244.59	612	30.29	2.59	3	304.00	5.58	2.43	0.25
4	5.412	444.88	134	6.64	2.21	4	336.81	9.94	2.67	0.25
5	5.983	491.87	89	4.42	2.05					

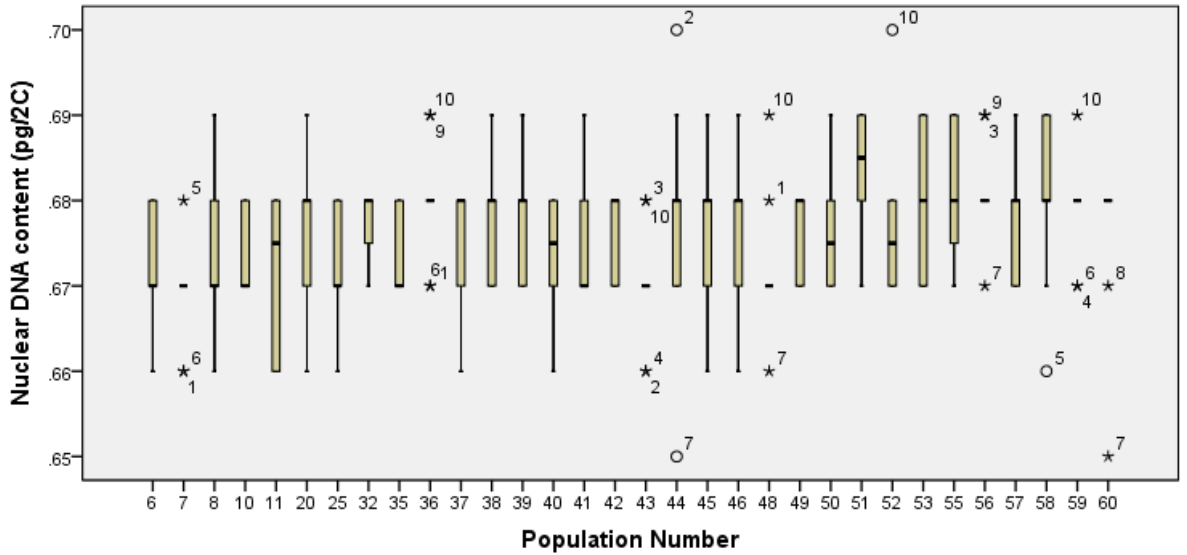
Şekil 4.35. Aynı örnekteki *B. distachyon* ve *B. stacei* bireyleri ile yapılan flow sitometri analizlerinin histogramları. Solda AL5.2 (İspanya'dan Bs) ve Fifi-5 (Yunanistan'dan Bd). Sağda Veli-5 (Yunanistan'dan Bs) ve Bd21-3 (Irak'tan Bd).

4.5.2. *B. distachyon* çekirdek DNA içeriğinde varyasyon

Bu çalışmada *B. distachyon*'nun ortalama çekirdek DNA içerik değeri $0.676 \text{ pg}/2C=331 \text{ Mbp}/C$ olarak hesaplanmıştır. Bu rakam IBI (2010) tarafından rapor edilen *B. distachyon* (272 Mbp/C) toplanmış genomundan daha büyük, fakat flow sitometri metodu kullanılarak Filiz ve ark. (2009b) tarafından bildirilen değere ($0.67 \text{ pg}/2C$ for Bd) daha yakındır. 2012'de, Catalán ve ark. (2012) farklı iç standartlarla flow sitometri metodunu kullanarak, *B.*

distachyon'un taksonomik ayrımını yaptıkları çalışmada üç tür için daha küçük değerler bildirmişlerdir. Vogel ve ark. (2006a) bazı *Brachypodium* hatlarının ploidy seviyesini tespit etmek için flow sitometri kullanmış ve tavuk kırmızı kan hücrelerini iç standart olarak kullanarak, 0.39-0.49 pg/C arasındaki değerleri elde etmişlerdir. Ayrıca, Öney (2013) ve Savaş Tuna (2014)'a göre *B. distachyon*'un çekirdek DNA içeriği daha büyük değere sahiptir (0.74 pg/2C). Savaş Tuna (2014) tarafından yapılan varyans analizi sonuçlarına göre, tür içi varyasyon *B. distachyon*'da istatistiki açıdan önemlidir. Bununla beraber tür içi çekirdek DNA varyasyonunun bulunduğu tespiti yapılırken, oldukça dikkatli olmak gerekmektedir; çünkü Tiryaki ve Tuna (2012)'nin belirttikleri üzere, genom boyutu varyasyonundaki uyumsuzlukların nedeni iç standart farklılıkları yanında, metodolojik ve entsrümantel sapmalardan da kaynaklanmaktadır.

B. distachyon popülasyonlarının genom boyutundaki türlerarası varyasyon aşağıdaki Şekil 4.36'de verilmiştir. Grafikte uçdeğerler olarak gösterilen bazı ayırık örnekler dışında, Yunanistan'dan toplanan iki yabancı popülasyon arasındaki çekirdek DNA'sının genelde sabit olduğu görülmektedir. Bu örneklerde bile popülasyonun ortalama değer farkı FCM'nin deneysel hata (techizat veya metodolojik hata) aralığında bulunan %4'ten daha büyük değildir (Doležel et al. 2007).



Şekil 4.36. *B. distachyon* bireylerinin çekirdek DNA içeriği. x-eksenindeki sayılar popülasyon kod numaralarını göstermektedir. Plot grafiğindeki rakamlar her popülasyondaki bitki sayısını göstermektedir

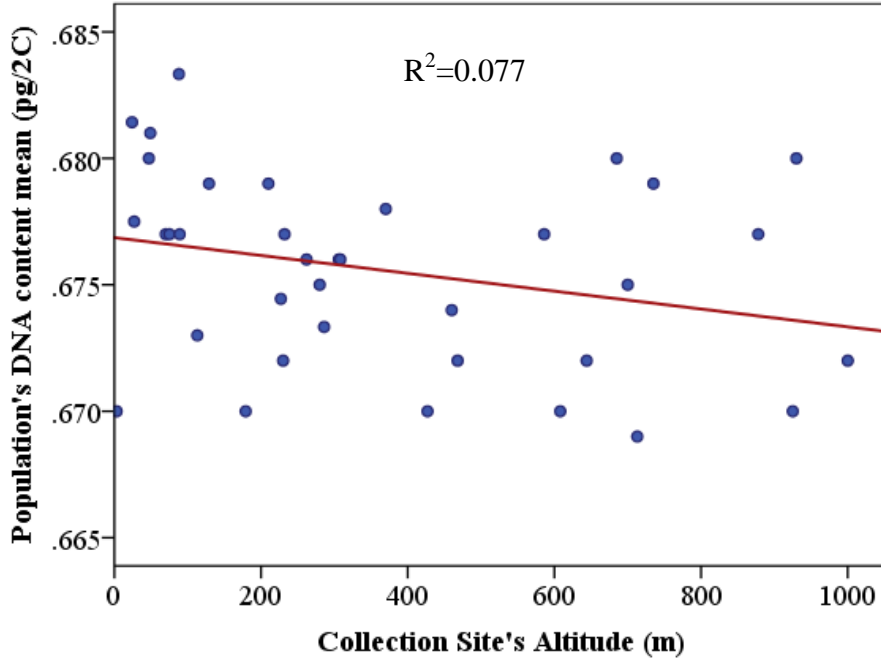
4.5.3 *B. distachyon* çekirdek DNA içeriği ile rakım arasındaki korelasyon

B. distachyon'un farklı popülasyonlarının çekirdek DNA içeriği ile koleksiyon lokasyonlarının rakımları arasında herhangi bir korelasyon olup olmadığı sorusunu yanıt aramak amacıyla, ilk olarak her lokasyondan (popülasyon) bireylerin DNA içeriklerinin ortalama değerleri hesaplanmıştır. Daha sonra parametrik test için gerekli tüm varsayımlar incelenerek, iki uçlu Pearson korelasyon analizi yapılmıştır. (Çizelge 4.16). Bu analizin de gösterdiği üzere, DNA içeriği ile rakım arasında, istatistiksel bakımdan önemli seviyede bulunmayan ($p=0.101 > 0.05$) zayıf negatif bir korelasyon (-0.277) bulunmaktadır. Bu da, korelasyonun tesadüfi olarak ortaya çıktığını ve popülasyonda korelasyon bulunduğunu gösteren yeterli delil olmadığını göstermektedir.

Çizelge 4.16. Koleksiyon lokasyonu rakımı (m) ile *B. distachyon* çekirdek DNA içeriği ortalamasının 2-uçlu Pearson korelasyonu

		Koleksiyon Lokasyonu rakımı	Populasyonun DNA içerik ortalaması
Koleksiyon Lokasyonu Rakımı	Pearson Correlation	1	-0.277
	Sig. (2-tailed)		0.101
	S	36	36
Populasyonun DNA içerik ortalaması	Pearson Correlation	-0.277	1
	Sig. (2-tailed)	0.101	
	S	36	37

Grafikte 37 *B. distachyon* populasyonu DNA içerikleri y-ekseninde, koleksiyon lokasyonlarının rakımı ise x ekseninde gösterilmiştir (Şekil 4.37). Grafikselsel olarak zayıf negatif bir korelasyon bulunmasına rağmen, bu istatistiksel olarak önemli bir seviyede değildir. Özkan ve ark. (2010) da genom boyutu varyasyonunun diploid ve tetraploid yabancı buğdayda oluştuğunu ve bunun coğrafik ve iklimsel değişkenlerle korelasyon göstermediğini bildirmişlerdir. Birçok potansiyel aktif retroelementlerin varlığına rağmen, yabancı kendi döllenmiş *Triticum* türünün genom boyutunun genelde sabit kaldığı sonucuna varmışlardır. Diğer taraftan çekirdek DNA içeriği ile koleksiyon lokasyonları rakımı arasında önemli korelasyon olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur (Reeves ve ark. 1998, Öney 2013 ve Savaş Tuna 2014).



Şekil 4.37. Lokasyon rakımlarına (m) göre her *B. distachyon* popülasyonunun çekirdek DNA içerik ortalaması

4.6. SSR Markörlerinin Özellikleri ve İstatistik Özetleri

4.6.1. Üç türde lokus bazında verilerin incelenmesi

Aşağıdaki tabloda tüm koleksiyonda toplam olarak, 43 markörün tanımlayıcı istatistik bilgileri özetlenmiştir (Çizelge 4.17). Allellerin aralığı, ana allel frekansı (MAF), genotip sayısı, örnek sayısı, gözlem sayısı, gen çeşitliliği (veya beklenen heterozigotluk), heterozigotluk (gözlenen) ve polimorfik bilgi içeriği (PIC) her bir lokus için bağımsız olarak kabul edilip, ayrı ayrı hesaplanmıştır. Toplamda 530 genotip için 424 allel tespit edilmiştir. Tüm kullanılan markörler arasında PIC değeri 0.282 (ALB445) ile 0.928 (ALB230) arasında değişmiş olup bu markörlerin ortalama PIC değerleri 0.649 olarak bulunmuştur. 35 adet markörün PIC değeri 0.5'ten daha büyük olmuştur. 2 (ALB183-2) ile 40 (ALB160) arasında değişen ortalama 12.326 genotip sayısı varken, tüm lokuslar arasındaki allel sayısı 9.86 olmuş ve 2 (ALB183-2) ile 26 (ALB230) arasında değişmiştir. MAF değerleri ortalaması 0.446 olarak gerçekleşmiş ve 0.123 (ALB230) ile 0.801 (ALB445) arasında değişmiştir. Heterozigotluk, beklendiği gibi lokuslar üzerinde 0.081 ortalama ile küçük değerler almıştır. Heterozigotluk bağımsız olarak, her tür için markörlerin özet istatistiklerinde daha ayrıntılı

olarak ele alınacaktır. Son olarak, 192 örnekten lokuslar üzerinde ortalama 169 örnek skorlanmıştır.

Çizelge 4.17. Üç tür için genetik karakterizasyonda kullanılan 43 markör için lokus bazında istatistik özetleri

Markör Adı	Allel Aralığı	MAF	Genotip S	Örnek S	Gözlenen S	Allel S	Gen. Çeşitl.	Heterozigotluk	PIC
ALB001	182-210	0.357	10	192	182	7	0.755	0.044	0.716
ALB004	223-268	0.182	16	192	148	16	0.888	0.000	0.878
ALB006	316-397	0.168	32	192	173	24	0.908	0.266	0.901
ALB008	99-135	0.396	22	192	173	14	0.765	0.260	0.737
ALB013	235-244	0.453	8	192	128	8	0.682	0.000	0.631
ALB022	283-380	0.182	21	192	143	21	0.907	0.000	0.900
ALB030	151-154	0.607	3	192	168	3	0.486	0.000	0.379
ALB034	217-232	0.547	7	192	179	7	0.618	0.000	0.566
ALB040	164-195	0.451	10	192	144	10	0.696	0.000	0.654
ALB047	201-238	0.655	11	192	174	8	0.542	0.023	0.517
ALB056	237-253	0.374	10	192	115	10	0.764	0.000	0.733
ALB086	154-198	0.578	6	192	185	6	0.588	0.016	0.535
ALB087	195-205	0.572	6	192	125	5	0.509	0.008	0.402
ALB100	243-284	0.229	15	192	190	12	0.853	0.258	0.837
ALB131	290-298	0.448	5	192	154	5	0.686	0.000	0.634
ALB139	298-348	0.509	16	192	174	13	0.705	0.086	0.685
ALB155	167-181	0.608	10	192	176	8	0.592	0.023	0.562
ALB158	237-274	0.311	12	192	188	11	0.827	0.027	0.808
ALB160	232-260	0.160	40	192	184	21	0.908	0.255	0.901
ALB165	140-193	0.530	18	192	183	15	0.676	0.240	0.651
ALB175	245-267	0.345	13	192	184	10	0.755	0.038	0.717
ALB179	208-265	0.372	17	192	164	15	0.807	0.073	0.790
ALB181	235-249	0.283	16	192	182	13	0.856	0.027	0.843
ALB183-1	186-202	0.380	9	192	191	6	0.734	0.251	0.689
ALB183-2	252-253	0.639	2	192	169	2	0.461	0.000	0.355
ALB223	259-271	0.441	8	192	170	7	0.678	0.012	0.624
ALB230	243-285	0.123	27	192	171	26	0.932	0.006	0.928

Markör Adı	Allel Aralığı	MAF	Genotip S	Örnek S	Gözlenen S	Allel S	Gen. Çeşitl.	Heterozigotluk	PIC
ALB257	223-296	0.631	16	192	160	12	0.572	0.069	0.549
ALB273	193-199	0.757	5	192	187	4	0.405	0.005	0.379
ALB278	146-200	0.343	14	192	188	8	0.783	0.255	0.754
ALB311	246-253	0.449	7	192	187	4	0.651	0.267	0.581
ALB348	168-199	0.269	18	192	160	14	0.855	0.225	0.840
ALB349	160-189	0.313	26	192	190	16	0.826	0.253	0.807
ALB355	202-224	0.404	8	192	99	8	0.755	0.000	0.724
ALB372	177-202	0.667	8	192	186	8	0.513	0.000	0.474
ALB374	220-236	0.538	7	192	183	7	0.623	0.005	0.568
ALB376	235-246	0.391	7	192	179	7	0.743	0.000	0.705
ALB445	206-226	0.801	4	192	176	4	0.325	0.000	0.282
ALB454	200-215	0.250	11	192	120	8	0.811	0.117	0.784
ALB461	270-274	0.759	3	192	191	3	0.368	0.000	0.304
ALB467	197-206	0.605	7	192	181	4	0.564	0.276	0.511
ALB486	208-228	0.353	8	192	184	5	0.742	0.043	0.698
ALB514	170-225	0.753	11	192	180	9	0.415	0.050	0.394
Ortalama		0.446	12.326	192	169.023	9.860	0.687	0.081	0.649

Materyal ve metot bölümünde bahsedildiği gibi, bu EST-kökenli SSR markörleri *B. distachyon* türleri için Vogel ve ark. (2009) tarafından geliştirilmiştir. Catalán ve ark. (2012), *B. distachyon*'un yakın akraba olarak kabul edilen *B. hybridum* ve *B. stacei* türleri ile üçe ayrıldığını belirtmiştir. Bu markörlerin her türde nasıl ayrı ayrı davrandığını incelemek ve eşit ölçütlerle bunları karşılaştırmak için fazladan her tür için ekstra parametrik kendileşme katsayısı (inbreeding coefficient) (f) olarak adlandırılan özetleyici istatistikler hesaplanmıştır. Burada $f=1$ ise tamamen, benzer $f=-1$ ise tamamen benzemediklerini belirtmektedir (Bkz. Çizelge 4.18, Çizelge 4.19 ve Çizelge 4.20).

4.6.2. *B. distachyon* türünde markörlerin istatistik özetleri

B. hybridum türlerinde, lokus başına ortalama 111 gözlemede, 361 genotiple ilişkili toplam olarak 424 allel belirlenmiştir (Çizelge 4.18). Kullanılan tüm markörler 0.078 (ALB514) ile 0.922 (ALB230) arasında değişen ve 0.571 ortalama PIC değeri ile yüksek

oranda polimorfik olmuşlar ve 28 markör 0.5 ten daha yüksek PIC değerlerine sahip olmuştur. 2 (ALB183-2) ile 25 (ALB230) arasında değişen genotiplerin sayısı ortalama 8.395 iken, tüm lokusların allellerinin ortalama sayısı 8.093 olarak belirlenmiştir. 0.000 ile 0.071 (ALB514) arasında değişen heterozigotluk ortalaması 0.007 iken, ortalama MAF değeri 0.528 olarak gerçekleşmiş ve 0.176 (ALB230) ile 0.959 (ALB445) arasında değişmiştir. Ortalama kendileşme katsayısı 0.988 olmuştur. Bu da *B. distachyon*'un benzerlik doğasını rapor eden diğer çalışmalar tarafından desteklenmektedir (Vogel ve ark., 2009, Bakker ve ark., 2009). Lokuslardaki f değeri 0.766 (ALB514) ile 1.000 (29 lokus için) arasında değişmiştir.

Vogel ve ark. (2009) 187 *B. distachyon* bireyinde hemen hemen aynı markörleri kullanmış ve 3 (ALB486) ile 24 (ALB179) arasında değişen ortalama 10 adet alleli rapor etmiştir. Dahası çalışmalarında ortalama PIC değerini 0.5085 ve lokuslardaki heterozigotluğun daha düşük olduğunu (0.0005) ve sadece ALB089'un sıfırdan farklı değere sahip olduğunu açıklamışlardır. Ortalama MAF değeri, ALB374 markörü için 0.8877 maksimum değeriyle biraz daha büyük değer olan 0.6028 olmuştur. Daha önce de belirtildiği gibi, her iki çalışmada kullanılan markörlerdeki ölçümlerin ortalama değerleri yaklaşık aynı, ancak marjinal değerleri farklıdır. Ayrıca, Savaş (2014) 142 *B. distachyon* bireyinde 11 markörlük bir alt seti kullandığı tezinde lokus başına ortalama 9 allel olduğunu, allel sayısının 3 (ALB087) ile 15 (ALB050) arasında değiştiğini ve ortalama 0.645 genotipin olduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda bu değer biraz daha düşük (0.609) olarak gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.18. *B. distachyon* türünde 43 markör için lokus bazında istatistik özetleri

Markör Adı	f	MAF	Genotip S	Örnek S	Gözlenen S	Allel S	Gen. Çeşitl.	Heterozigotluk	PIC
ALB001	1.000	0.521	6	122	119	6	0.659	0.000	0.618
ALB004	1.000	0.258	11	122	93	11	0.827	0.000	0.806
ALB006	1.000	0.274	15	122	106	15	0.836	0.000	0.817
ALB008	0.984	0.619	11	122	109	11	0.581	0.009	0.553
ALB013	1.000	0.356	8	122	90	8	0.725	0.000	0.679
ALB022	1.000	0.192	16	122	99	16	0.903	0.000	0.895
ALB030	1.000	0.588	3	122	119	3	0.498	0.000	0.389
ALB034	1.000	0.752	5	122	121	5	0.400	0.000	0.360
ALB040	1.000	0.589	8	122	95	8	0.606	0.000	0.573
ALB047	1.000	0.542	8	122	107	8	0.651	0.000	0.617
ALB056	1.000	0.741	6	122	58	6	0.435	0.000	0.417

Markör Adı	<i>f</i>	MAF	Genotip S	Örnek S	Gözlenen S	Allel S	Gen. Çeşitl.	Heterozigotluk	PIC
ALB086	0.961	0.450	6	122	120	6	0.643	0.025	0.576
ALB087	1.000	0.538	5	122	93	5	0.526	0.000	0.418
ALB100	1.000	0.317	9	122	120	9	0.815	0.000	0.793
ALB131	1.000	0.651	5	122	106	5	0.515	0.000	0.463
ALB139	0.972	0.555	10	122	110	8	0.649	0.018	0.621
ALB155	0.937	0.649	10	122	114	8	0.552	0.035	0.529
ALB158	0.990	0.263	12	122	120	11	0.837	0.008	0.819
ALB160	0.990	0.227	15	122	119	15	0.874	0.008	0.863
ALB165	1.000	0.598	11.	122	122	11	0.619	0.000	0.603
ALB175	0.987	0.496	11	122	116	10	0.663	0.009	0.616
ALB179	0.965	0.313	13	122	104	12	0.822	0.029	0.802
ALB181	0.989	0.392	10	122	120	10	0.781	0.008	0.757
ALB183-1	0.972	0.557	5	122	122	4	0.573	0.016	0.499
ALB183-2	1.000	0.647	2	122	119	2	0.457	0.000	0.352
ALB223	1.000	0.495	6	122	109	6	0.608	0.000	0.535
ALB230	1.000	0.176	25	122	119	25	0.926	0.000	0.922
ALB257	1.000	0.656	8	122	122	8	0.535	0.000	0.504
ALB273	1.000	0.785	4	122	121	4	0.367	0.000	0.347
ALB278	1.000	0.471	6	122	121	6	0.672	0.000	0.621
ALB311	1.000	0.697	3	122	119	3	0.432	0.000	0.352
ALB348	1.000	0.382	12	122	102	12	0.775	0.000	0.748
ALB349	0.946	0.455	18	122	122	15	0.756	0.041	0.739
ALB355	1.000	0.333	8	122	72	8	0.767	0.000	0.733
ALB372	1.000	0.760	6	122	121	6	0.401	0.000	0.377
ALB374	1.000	0.738	5	122	122	5	0.418	0.000	0.377
ALB376	1.000	0.537	6	122	121	6	0.628	0.000	0.576
ALB445	1.000	0.959	4	122	122	4	0.080	0.000	0.078
ALB454	1.000	0.278	6	122	97	6	0.759	0.000	0.716
ALB461	1.000	0.811	3	122	122	3	0.309	0.000	0.266
ALB467	0.972	0.820	4	122	114	4	0.312	0.009	0.291
ALB486	0.963	0.417	6	122	115	5	0.690	0.026	0.634
ALB514	0.766	0.830	10	122	112	9	0.303	0.071	0.294

Markör Adı	<i>f</i>	MAF	Genotip S	Örnek S	Gözlenen S	Allel S	Gen. Çeşitl.	Hetero-zigotluk	PIC
Mean	0.988	0.528	8.395	122	111.023	8.093	0.609	0.007	0.571

4.6.3. *B. hybridum* türünde markörlerin istatistik özetleri

B. hybridum türünde gözlenen toplam allel sayısı 243 olmuş ve 264 genotip oluşturulmuştur (Çizelge 4.19). Tüm lokus polimorfik olmuş ve *B. distachyon* aksesyonlarının geliştirildiği markörler yanında lokus ALB454, ALB257, ALB355 dışında çok sayıda null allel tespit edilmemiştir. 0.030 (ALB087) ile 0.874 (ALB160) arasında değişen PIC değerlerinin ortalaması 0.536 olarak gerçekleşmiştir. Bu yüzden, ortalama 45.6 gözlemdeki (örnek hacmi 51), ortalama allel sayısı 5.651 olmuş ve 2 (ALB030, ALB087, ALB461) ile 19 (ALB160) arasında değişmiş ve ortalama genotip sayısı 6.140 (2-24) olmuş, maksimum değer ALB160'tan elde edilmiştir. Ortalama MAF değeri 0.540 olmuş ve 0.208 (ALB230) ile 0.984 (ALB087) arasında değişmiştir. Heterozigotluk marjinal değerlere çok sayıda markörle birlikte yerleşerek 0.284 (0.000-1.000) olmuştur. Kendileşme katsayısı -0.890 (ALB311) ile 1.000 (19 lokus için) arasında geniş bir aralıkta, 0.524'lik bir ortalama değere sahip olmuştur.

Çizelge 4.19. *B. hybridum* türlerinde 43 markör için lokus bazında istatistik özetleri

Markör Adı	<i>f</i>	MAF	Genotip S	Örnek S	Gözlenen S	Allel S	Gen. Çeşitl.	Hetero-zigotluk	PIC
ALB001	1.000	0.633	4	51	49	4	0.549	0.000	0.507
ALB004	1.000	0.432	9	51	44	9	0.761	0.000	0.740
ALB006	-0.159	0.292	14	51	48	12	0.819	0.958	0.797
ALB008	-0.308	0.456	11	51	45	10	0.742	0.978	0.719
ALB013	1.000	0.676	4	51	37	4	0.489	0.000	0.439
ALB022	1.000	0.366	11	51	41	11	0.792	0.000	0.770
ALB030	1.000	0.674	2	51	46	2	0.440	0.000	0.343
ALB034	1.000	0.612	3	51	49	3	0.515	0.000	0.431
ALB040	1.000	0.625	5	51	40	5	0.565	0.000	0.529
ALB047	0.884	0.910	5	51	50	4	0.169	0.020	0.164
ALB056	1.000	0.571	4	51	42	4	0.591	0.000	0.535
ALB086	1.000	0.820	3	51	50	3	0.306	0.000	0.278
ALB087	0.000	0.984	2	51	32	2	0.031	0.031	0.030

Markör Adı	<i>f</i>	MAF	Genotip S	Örnek S	Gözlenen S	Allel S	Gen. Çeşitl.	Heterozigotluk	PIC
ALB100	-0.478	0.480	7	51	51	5	0.647	0.961	0.585
ALB131	1.000	0.729	4	51	48	4	0.444	0.000	0.417
ALB139	0.886	0.468	10	51	47	10	0.730	0.085	0.706
ALB155	1.000	0.440	3	51	50	3	0.621	0.000	0.541
ALB158	1.000	0.373	6	51	51	6	0.750	0.000	0.711
ALB160	-0.097	0.234	24	51	47	19	0.883	0.979	0.874
ALB165	-0.555	0.490	7	51	49	7	0.575	0.898	0.485
ALB175	0.927	0.850	5	51	50	4	0.268	0.020	0.255
ALB179	0.764	0.430	10	51	50	9	0.750	0.180	0.724
ALB181	0.950	0.367	11	51	49	10	0.805	0.041	0.786
ALB183-1	-0.597	0.500	5	51	50	3	0.574	0.920	0.483
ALB183-2	1.000	0.620	2	51	50	2	0.471	0.000	0.360
ALB223	0.969	0.446	6	51	46	5	0.683	0.022	0.629
ALB230	1.000	0.208	8	51	48	8	0.839	0.000	0.819
ALB257	0.553	0.370	8	51	23	7	0.751	0.348	0.715
ALB273	0.964	0.630	5	51	50	4	0.546	0.020	0.500
ALB278	-0.260	0.302	6	51	48	6	0.788	1.000	0.755
ALB311	-0.890	0.500	3	51	50	4	0.529	1.000	0.418
ALB348	-0.317	0.455	7	51	44	5	0.616	0.818	0.540
ALB349	-0.188	0.449	11	51	49	11	0.733	0.878	0.704
ALB355	1.000	0.593	4	51	27	4	0.579	0.000	0.527
ALB372	1.000	0.367	5	51	49	5	0.684	0.000	0.620
ALB374	1.000	0.620	3	51	50	3	0.510	0.000	0.427
ALB376	1.000	0.500	6	51	46	6	0.646	0.000	0.591
ALB445	1.000	0.580	3	51	50	3	0.503	0.000	0.395
ALB454	-0.338	0.467	5	51	15	5	0.682	0.933	0.633
ALB461	1.000	0.720	2	51	50	2	0.403	0.000	0.322
ALB467	-0.630	0.500	2	51	48	3	0.611	1.000	0.535
ALB486	0.511	0.892	5	51	51	4	0.197	0.098	0.187
ALB514	0.967	0.578	4	51	51	3	0.577	0.020	0.513
Mean	0.524	0.540	6.140	51	45.581	5.651	0.585	0.284	0.536

4.6.4. *B. stacei* türünde markörlerin istatistik özetleri

B. stacei türü diğer türlerden farklıdır. Toplam 43 markörden 4 tanesi (ALB087, ALB131, ALB183-2, ALB355) bu tür içinde amplifiye olmamıştır ve 7 tanesi de (ALB013, ALB100, ALB165, ALB311, ALB445, ALB454, ALB486) monomorfik olarak belirlenmiştir. Aşağıdaki tabloda (Çizelge 4.20) tüm markörler verilmiştir, ancak Çizelge 4.21'deki ortalama maksimum ve minimum değerler gri ile belirtilen 11 lokus çıkarıldıktan sonra hesaplanmıştır. Bu nedenle, sadece *B. stacei* türleri analiz edildiğinde, 32 lokus yanlış hesaplamaları ve null allellerin etkilerini minimize etmek için kullanılmıştır.

Toplamda, 32 markörden 111 genotip üreten 104 allel gözlenmiştir. Ortalama PIC değeri 0.393 olmuş ve bu değerler 0.050 (ALB467) ile 0.790 (ALB181) arasında değişmiştir. 3 ile 19 arasında değişen 14.2'lik ortalama gözlem sayısı (örnek sayısı 19) primerlerin doğru bir şekilde amplifiye edemediği diğer markörlerin de olduğunu göstermektedir. 2 (ALB181) ile 7 (ALB160) aralığında değişen allel sayısı ortalaması 3.250, ortalama genotip sayısı 3.469 (2-8 aralığında) olmuş, maksimum değer ALB181 ve ALB175'ten elde edilmiştir. MAF ortalaması 0.668 olmuş ve 0.278 (ALB160) ile 0.974 (ALB467) arasında değişmiştir. Heterozigotluk 0.081 (0.000-0.571) olarak gerçekleşmiştir. -0.202 (ALB001) ile 1.000 (21 lokus için) arasında değişen kendileşme katsayısı (inbreeding coefficient) 0.829 ortalama değere sahiptir. Yukarıdaki istatistiksel sonuçlar, özellikle kendileşme katsayısının yüksek olduğu markörlerde null allelin varlığından dolayı dikkatle değerlendirilmelidir (Peakall ve ark. 2005).

Çizelge 4.20. *B. stacei* türlerinde 43 markör için lokus bazında istatistik özetleri

Markör Adı	<i>f</i>	MAF	Genotip S	Örnek S	Gözlenen S	Allel S	Gen. Çeşitl.	Heterozigotluk	PIC
ALB001	-0.202	0.714	4	19	14	4	0.462	0.571	0.433
ALB004	1.000	0.636	2	19	11	2	0.463	0.000	0.356
ALB006	1.000	0.474	4	19	19	4	0.648	0.000	0.585
ALB008	1.000	0.895	2	19	19	2	0.188	0.000	0.171
ALB013	NaN	1.000	1	19	1	1	0.000	0.000	0.000
ALB022	1.000	0.333	3	19	3	3	0.667	0.000	0.593
ALB030	1.000	0.667	2	19	3	2	0.444	0.000	0.346
ALB034	1.000	0.778	2	19	9	2	0.346	0.000	0.286
ALB040	1.000	0.667	4	19	9	4	0.519	0.000	0.485

Markör Adı	<i>f</i>	MAF	Genotip S	Örnek S	Gözlenen S	Allel S	Gen. Çeşitl.	Heterozigotluk	PIC
ALB047	0.690	0.618	5	19	17	3	0.542	0.176	0.480
ALB056	1.000	0.400	3	19	15	3	0.658	0.000	0.584
ALB086	1.000	0.800	4	19	15	4	0.347	0.000	0.329
ALB087	NaN	NaN	0	19	0	0	NaN	NaN	NaN
ALB100	NaN	1.000	1	19	19	1	0.000	0.000	0.000
ALB131	NaN	NaN	0	19	0	0	NaN	NaN	NaN
ALB139	-0.180	0.676	3	19	17	2	0.438	0.529	0.342
ALB155	1.000	0.917	2	19	12	2	0.153	0.000	0.141
ALB158	0.660	0.471	5	19	17	4	0.657	0.235	0.598
ALB160	1.000	0.278	7	19	18	7	0.802	0.000	0.776
ALB165	NaN	1.000	1	19	12	1	0.000	0.000	0.000
ALB175	0.637	0.417	8	19	18	6	0.730	0.278	0.691
ALB179	1.000	0.700	4	19	10	4	0.480	0.000	0.450
ALB181	0.824	0.308	8	19	13	7	0.814	0.154	0.790
ALB183-1	1.000	0.947	2	19	19	2	0.100	0.000	0.095
ALB183-2	NaN	NaN	0	19	0	0	NaN	NaN	NaN
ALB223	0.881	0.533	3	19	15	3	0.527	0.067	0.419
ALB230	0.700	0.500	3	19	4	4	0.656	0.250	0.605
ALB257	0.349	0.833	5	19	15	4	0.293	0.200	0.276
ALB273	1.000	0.938	2	19	16	2	0.117	0.000	0.110
ALB278	1.000	0.737	2	19	19	2	0.388	0.000	0.313
ALB311	NaN	1.000	1	19	18	1	0.000	0.000	0.000
ALB348	1.000	0.786	3	19	14	3	0.357	0.000	0.325
ALB349	1.000	0.947	2	19	19	2	0.100	0.000	0.095
ALB355	NaN	NaN	0	19	0	0	NaN	NaN	NaN
ALB372	1.000	0.875	3	19	16	3	0.227	0.000	0.215
ALB374	0.773	0.773	3	19	11	3	0.368	0.091	0.326
ALB376	1.000	0.500	4	19	12	4	0.653	0.000	0.599
ALB445	NaN	1.000	1	19	4	1	0.000	0.000	0.000
ALB454	NaN	1.000	1	19	8	1	0.000	0.000	0.000
ALB461	1.000	0.526	2	19	19	2	0.499	0.000	0.374
ALB467	0.000	0.974	2	19	19	2	0.051	0.053	0.050

Markör Adı	<i>f</i>	MAF	Genotip S	Örnek S	Gözlenen S	Allel S	Gen. Çeşitl.	Heterozigotluk	PIC
ALB486	NaN	1.000	1	19	18	1	0.000	0.000	0.000
ALB514	1.000	0.765	3	19	17	3	0.381	0.000	0.340

4.6.5. Üç türün istatistik özetlerinin karşılaştırılması

Yukarıda anlatılanlar ışığında, kullanılan markörlerin *B. distachyon* ve *B. hybridum* türleri için yeterli, *B. stacei* türleri içinse sınırlı sonuçlar verdiği açıktır. Bu, yarı genomunu *B. distachyon*'dan ve diğer yarısını *B. stacei*'den alan *B. hybridum* allopoliploidin doğasına uymaktadır (Hasterok, 2004). Aşağıda verilen Çizelge 4.21 gösterildiği gibi, yalnızca *B. hybridum* özellikle homolog kromozomlarından dolayı yüksek oranda heterozigotluk göstermiştir. İncelenen lokuslardan sadece birisi 2 den fazla allel oluşturmuş ve bu yüzden markör ikiye bölünmüştür (ALB183-1 ve ALB183-2, bakınız Material ve Metot 3.6). *B. distachyon* türünde ortalama allel sayıları diğer iki türden çok daha fazladır. *B. hybridum*'dan iki ve *B. stacei*'den 5 kat daha fazla olan *B. distachyon* bireylerinin sayısı göz önüne alındığında, bu türün diğer iki türle allel sayısını kıyaslamak kolay değildir. Kendileşme katsayısı iki diploid tür için çok yüksek ve allotetraploid *B. hybridum* için orta derecededir. Heterozigot allotetraploid *B. hybridum* genomuna katkıda bulunan iki diploid anaç türün yüksek homozigot genomlarının neden olduğu kleistogamik *B. distachyon* ve *B. stacei* türlerinin nerdeyse sadece kendine döllenmiş üreme sistemi göz önüne alındığında, bunlar beklenen sonuçlardır (López-Alvarez et al. 2012).

Ayrıca, allotetraploid *B. hybridum*'un ALB311 ve ALB165 gibi bazı lokuslarının tamamen heterozigot kombinasyonlarındaki düşük kendileşme katsayısı (-1 e yakın), büyük olasılıkla homolog kromozomların bir sonucudur. Giraldo ve ark. (2012) çalışmalarında basit agaroz jelle *Brachypodium* türlerinin tanımlanmasına olanak veren SSR markörü ALB165'te gözlenen dikkate değer boyutta farklılıktan bahsetmektedir. Ayrıca, *B. distachyon* ve *B. stacei* genomları arasında ALB311 için 4-8 bç farklılık bulunduğunu da açıklamışlardır. Bu çalışmada, lokus ve türlerin allel frekanslarının gösterildiği Şekil 4.38'den de açıkça görüleceği gibi ALB004, ALB056, ALB100 ve ALB278 markörlerinde de benzer farklılıkları belirlemiştir. *B. distachyon*'u yakın akrabalarından ayırt etme metodu, üç türün tamamıyla tanımlanmasına katkı yapacak dizi barkodlama (sequencing barcoding) (López-Alvarez, 2012) ve flow sitometri (bu çalışma) gibi diğer metotlarla kombine bir şekilde ortaya konması

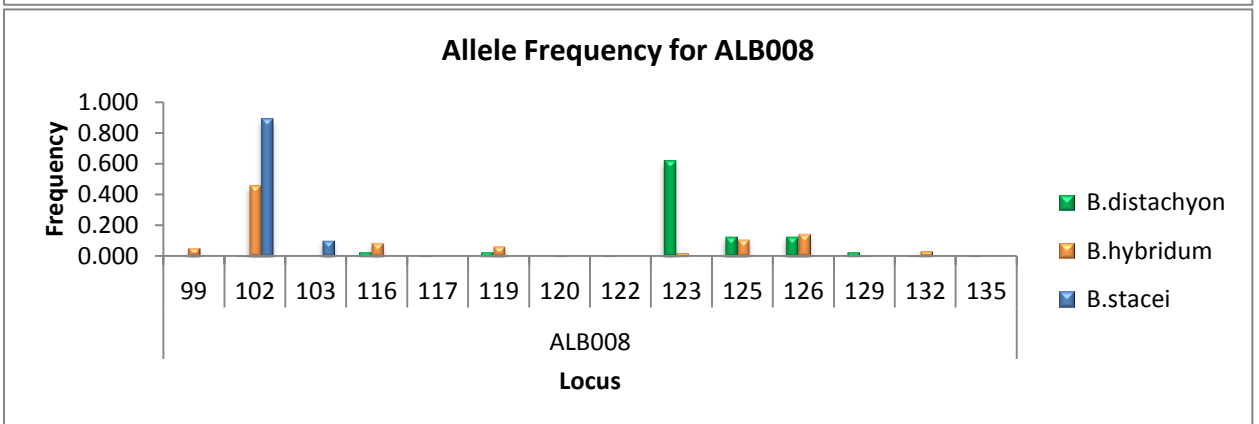
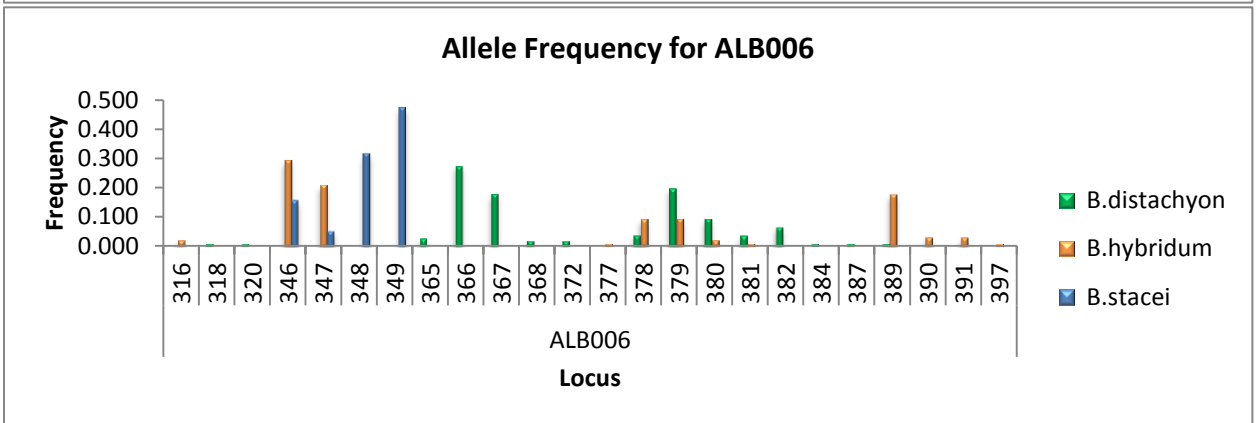
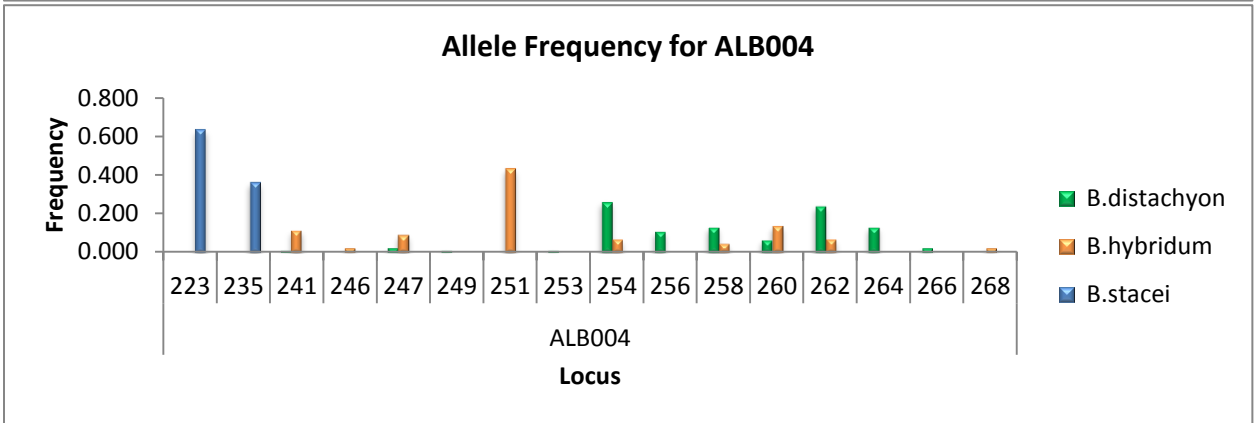
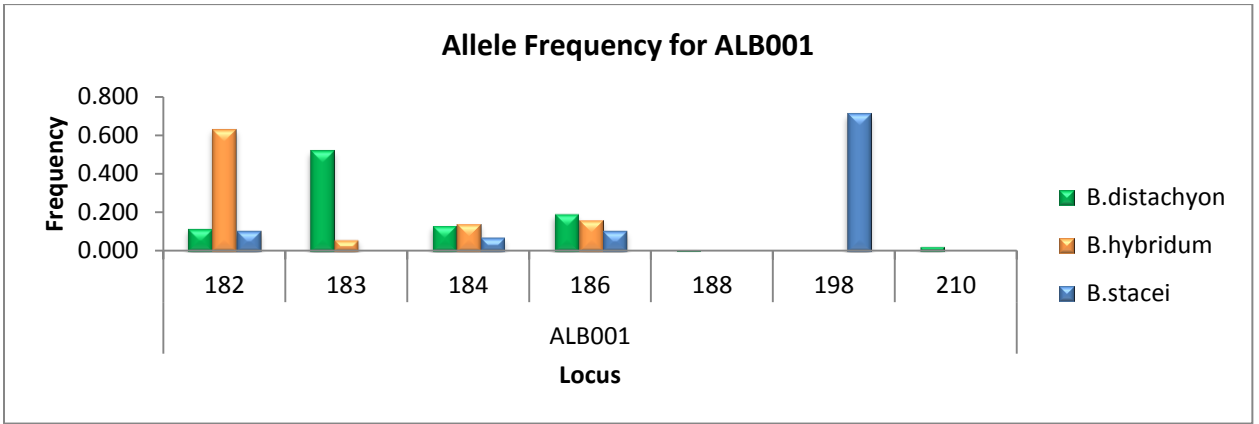
önemlidir. Bu sonucun diğer bir boyutu da, basit genomların allopoliploidleşme durumundaki poliploid türlerinde bile kullanılmasının olası olmasıdır (*Triticum* türlerindeki gibi).

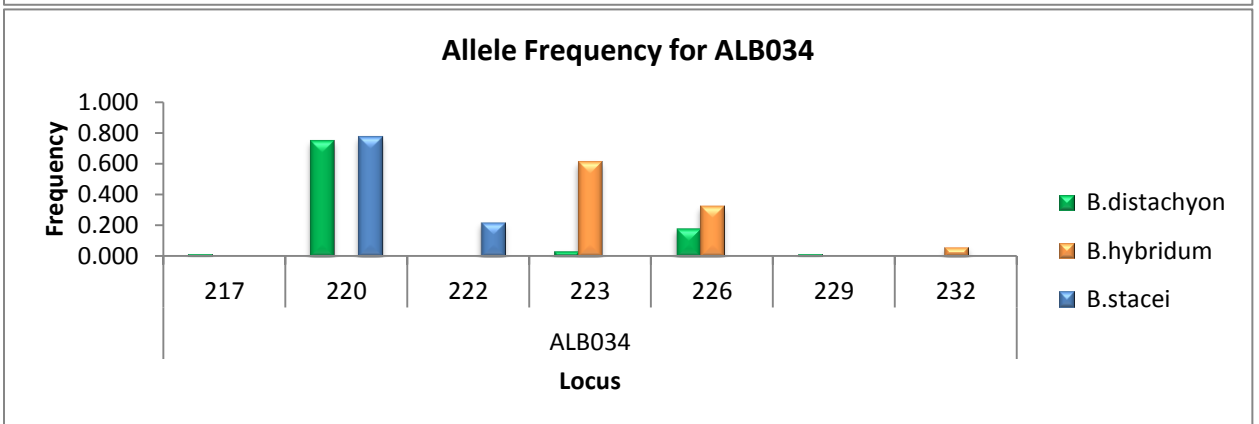
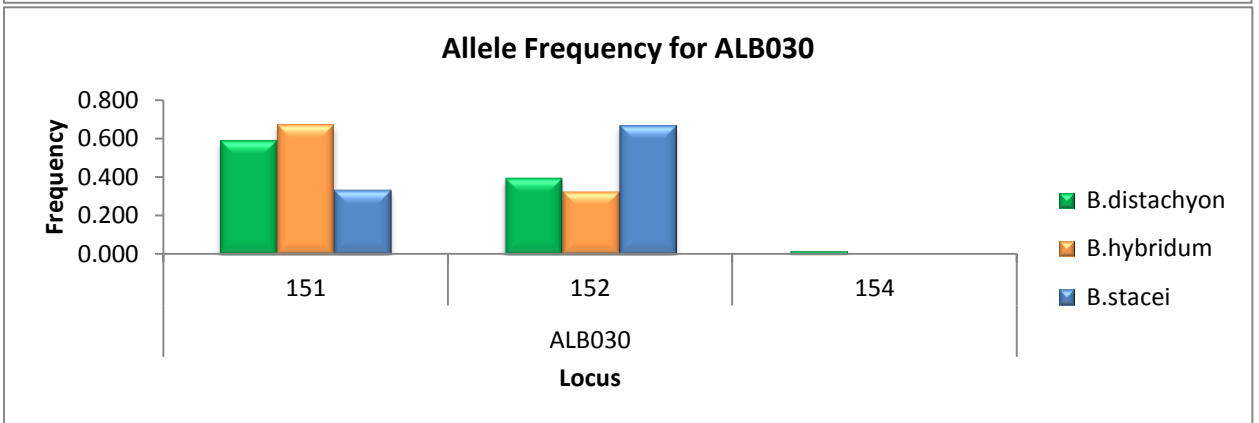
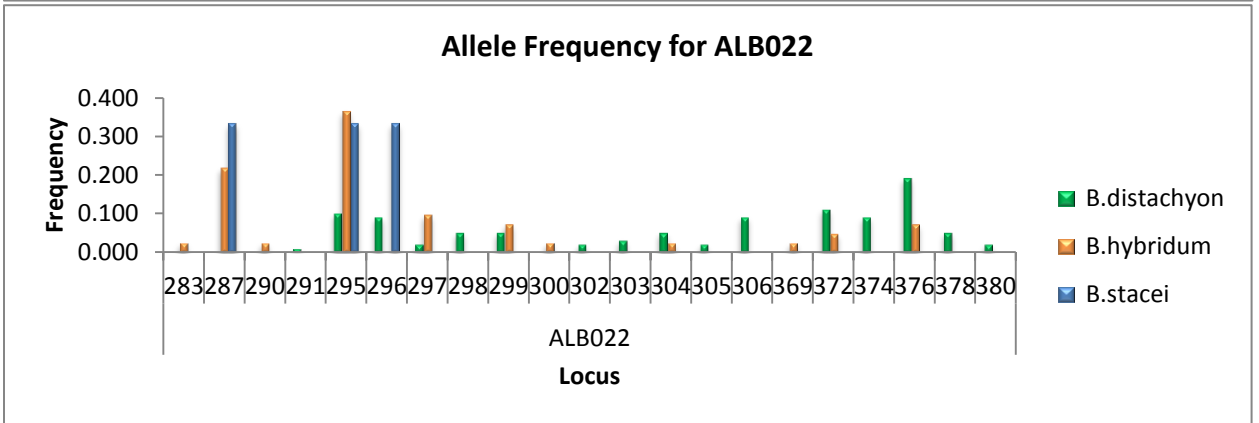
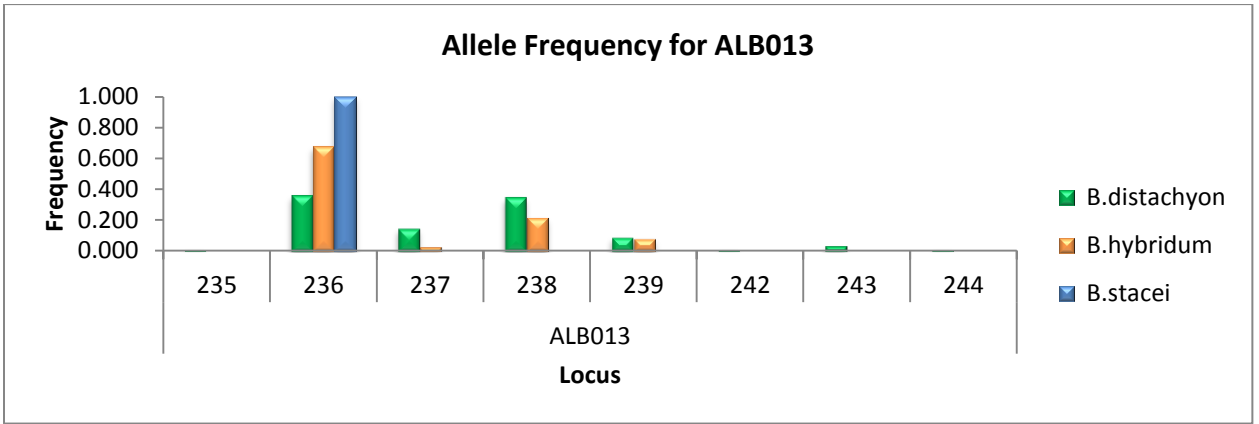
Çizelge 4.21. Üç türün markörler bakımından ortalama istatistik özetleri

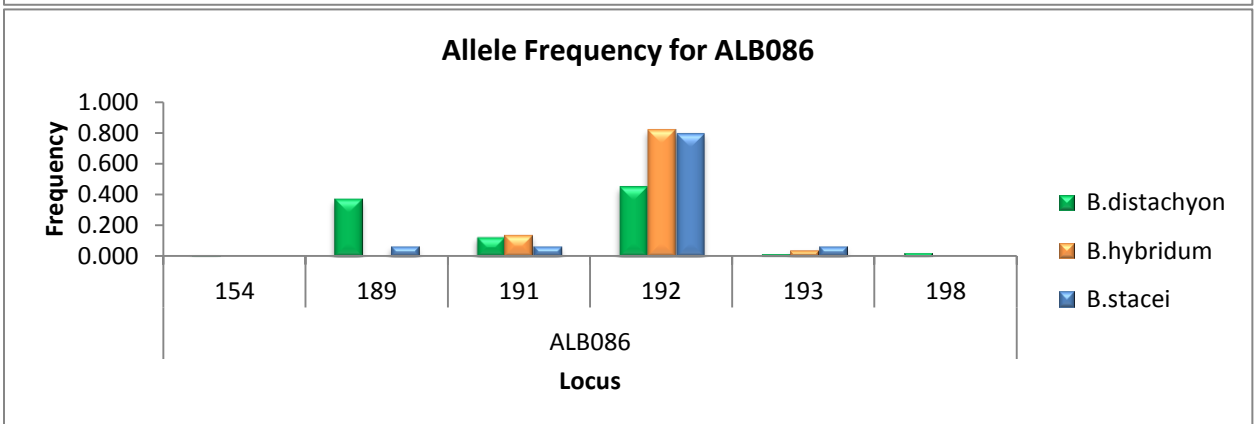
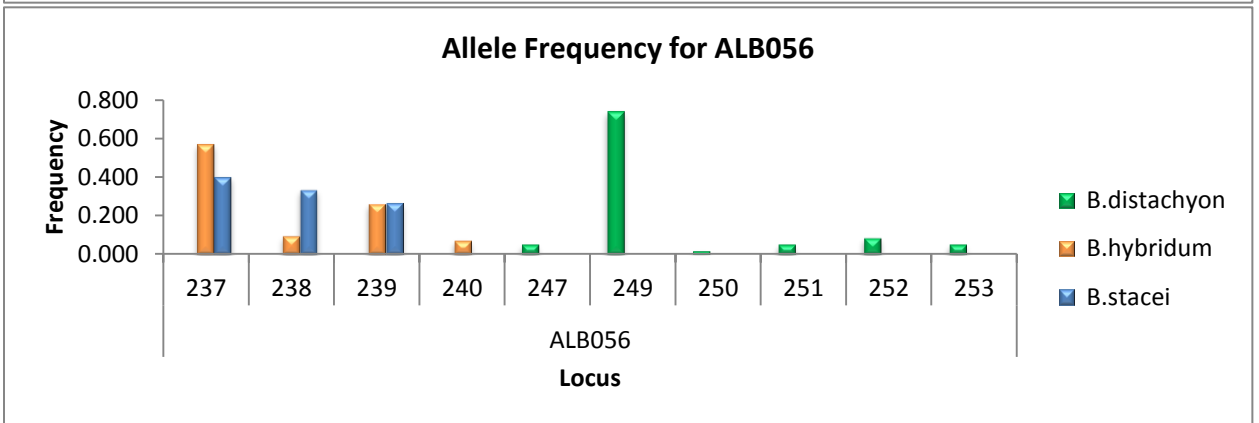
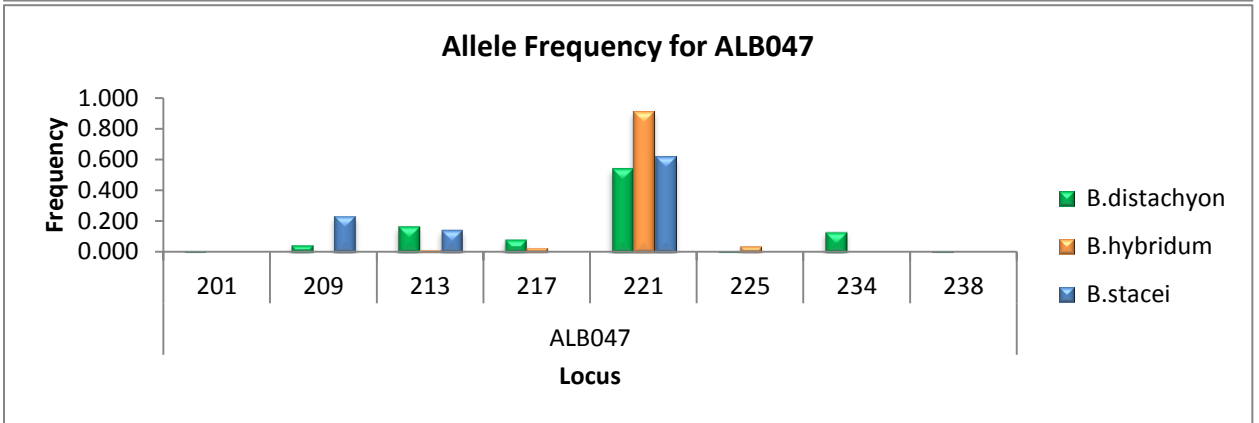
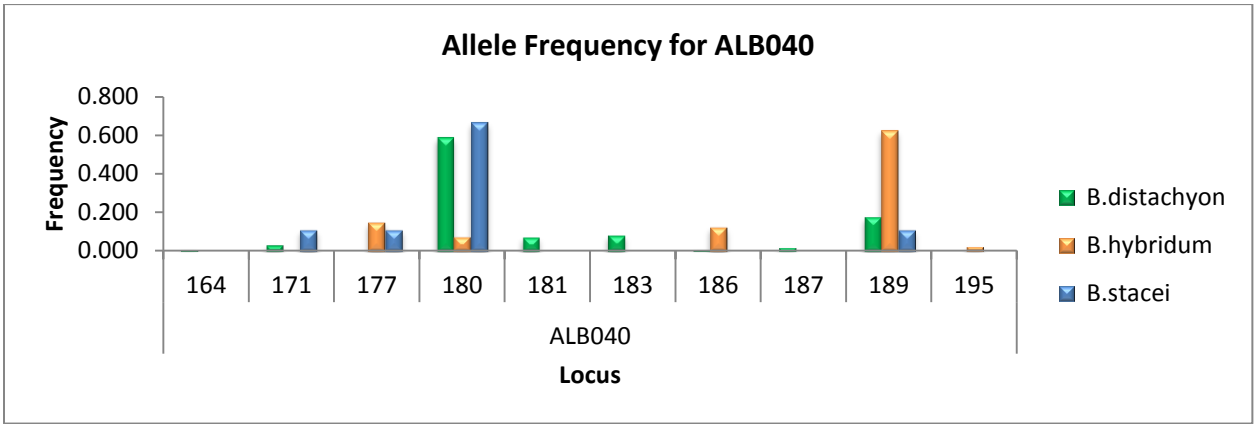
Türler	<i>f</i>	MAF	Genotip S	Örnek S	Gözlenen S	Allel S	Gen. Çeşitl.	Hetero-zigotluk	PIC
<i>B. distachyon</i>	0.988	0.528	8.395	122	111.023	8.093	0.603	0.007	0.571
Minimum	0.766	0.176	2	122	58	2	0.080	0.000	0.078
Maksimum	1.000	0.959	25	122	122	25	0.926	0.071	0.922
<i>B. hybridum</i>	0.524	0.540	6.140	51	45.581	5.651	0.575	0.284	0.536
Minimum	-0.890	0.208	2	51	15	2	0.031	0.000	0.030
Maksimum	1.000	0.984	24	51	51	19	0.883	1.000	0.874
<i>B. stacei</i>	0.829	0.668	3.469	19	14.188	3.250	0.440	0.081	0.393
Minimum	-0.202	0.278	2	19	3	2	0.051	0.000	0.050
Maksimum	1.000	0.974	8	19	19	7	0.814	0.571	0.790
Tüm türler	0.883	0.446	12.326	192	169.023	9.860	0.687	0.081	0.649
Minimum	0.512	0.123	2	192	99	2	0.325	0.000	0.282
Maksimum	1.000	0.801	40	192	191	26	0.932	0.276	0.928

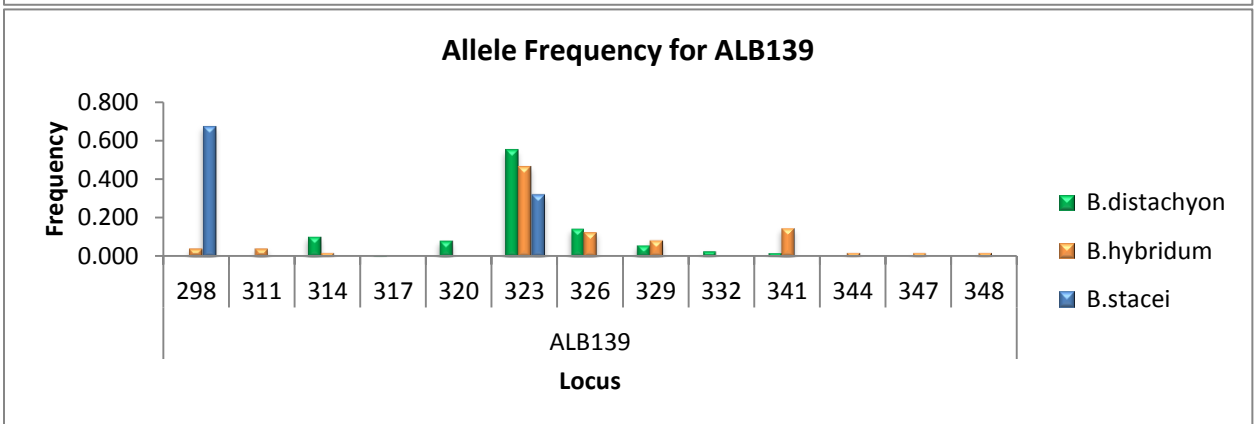
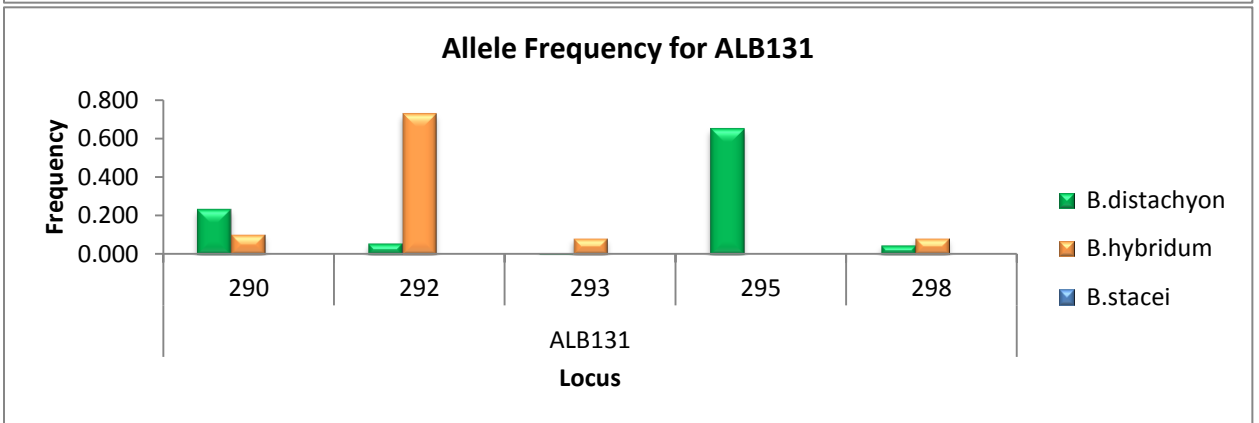
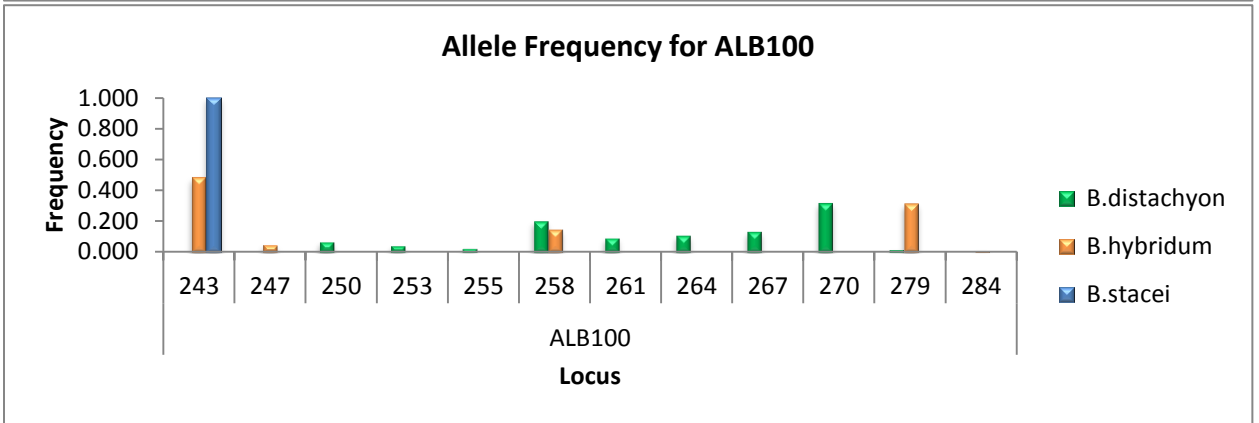
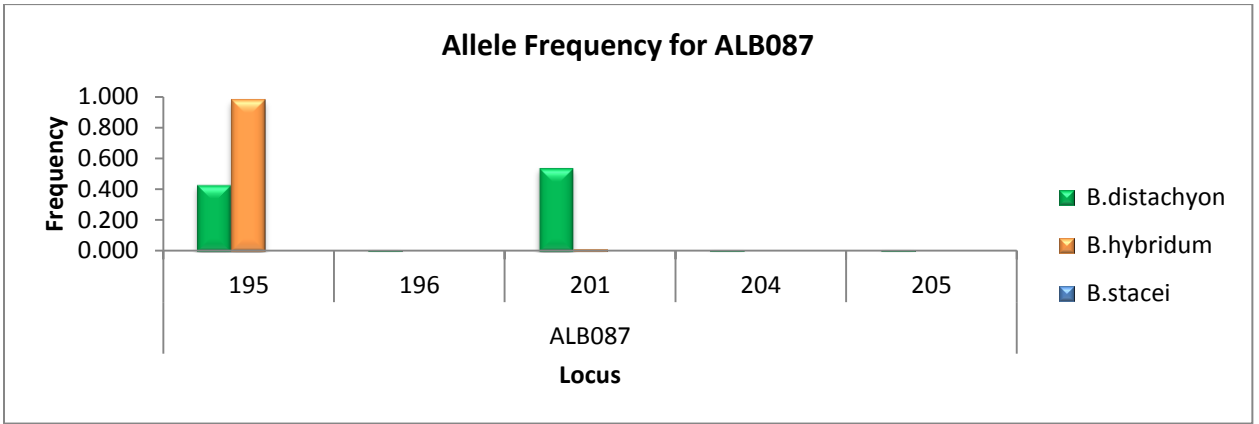
4.6.6. Her lokus için allel frekanslarının plot diyagramları

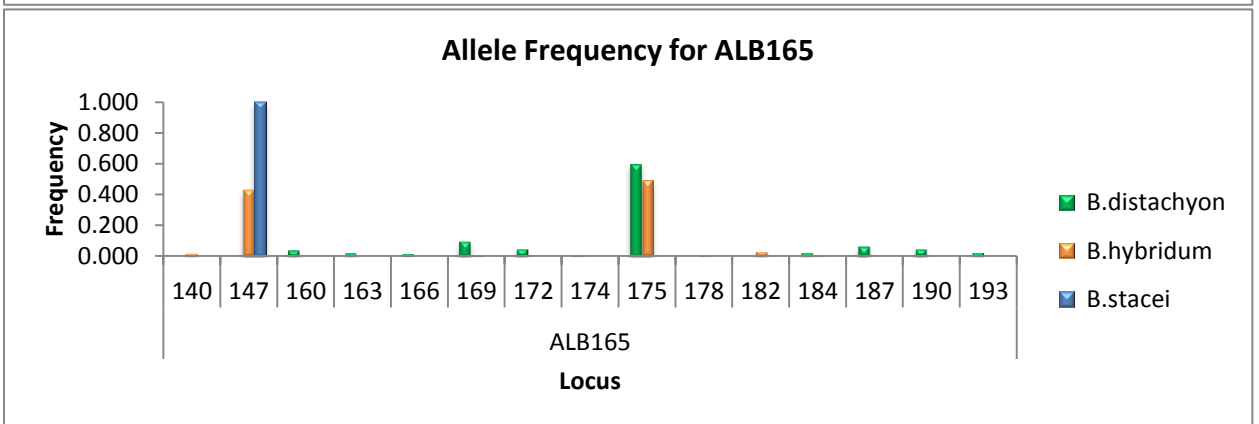
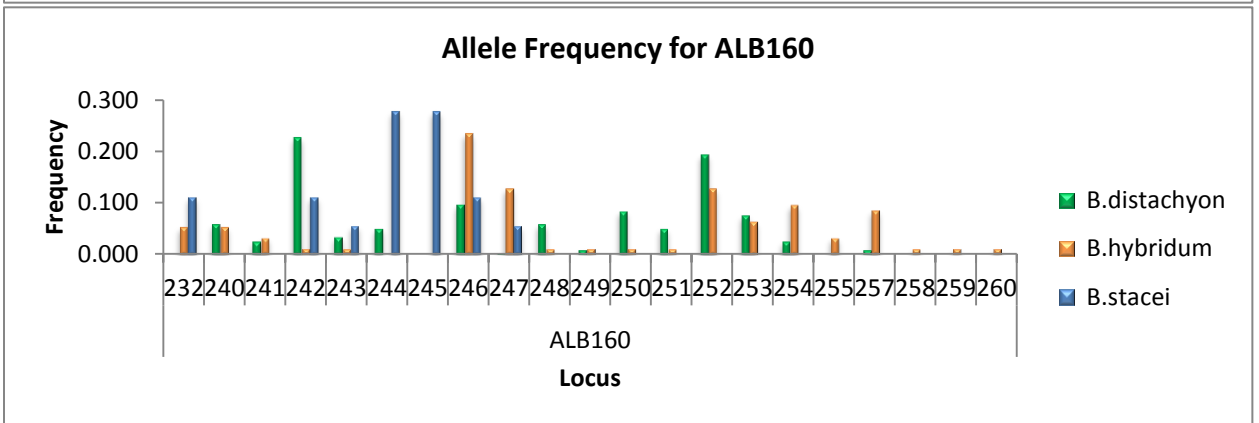
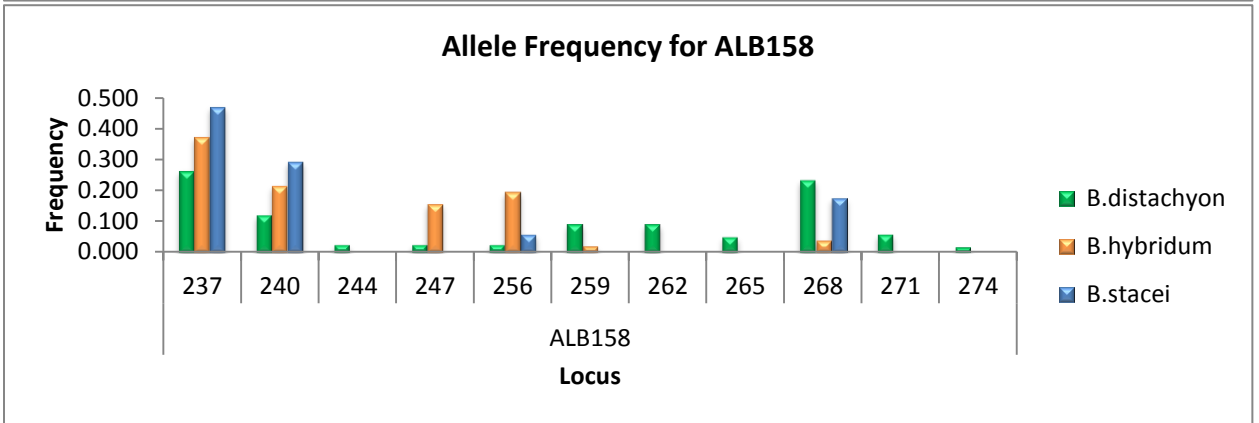
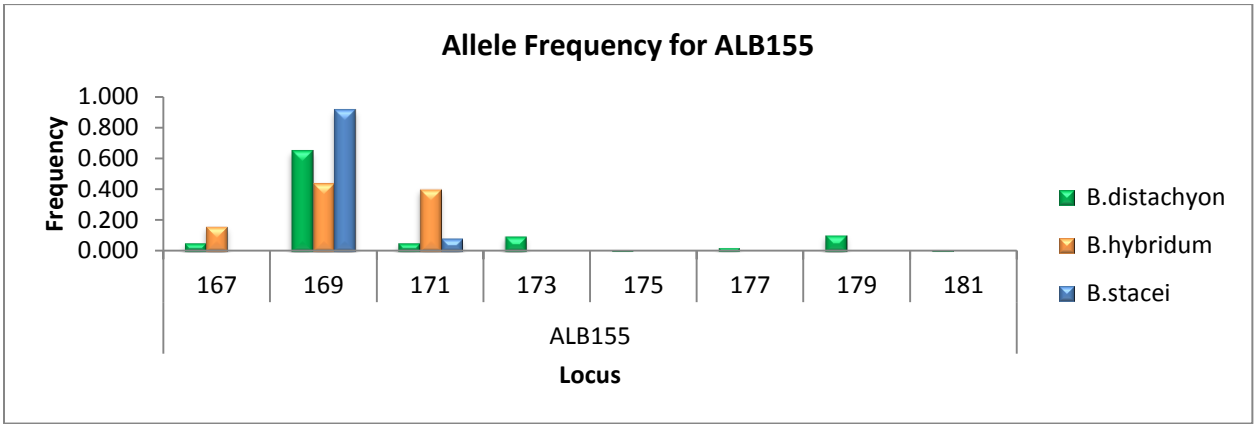
Türlerin her bir SSR lokusu için allel frekanslarının dağılımı Şekil 4.38'de gösterilmiştir. x-ekseni her lokustaki allellerin uzunluğunu, y-ekseni her tür için gözlenen frekansı göstermekte; *B. distachyon* yeşil, *B. hybridum* turuncu ve *B. stacei* mavi renklerle gösterilmiştir (Şekil 4.38).

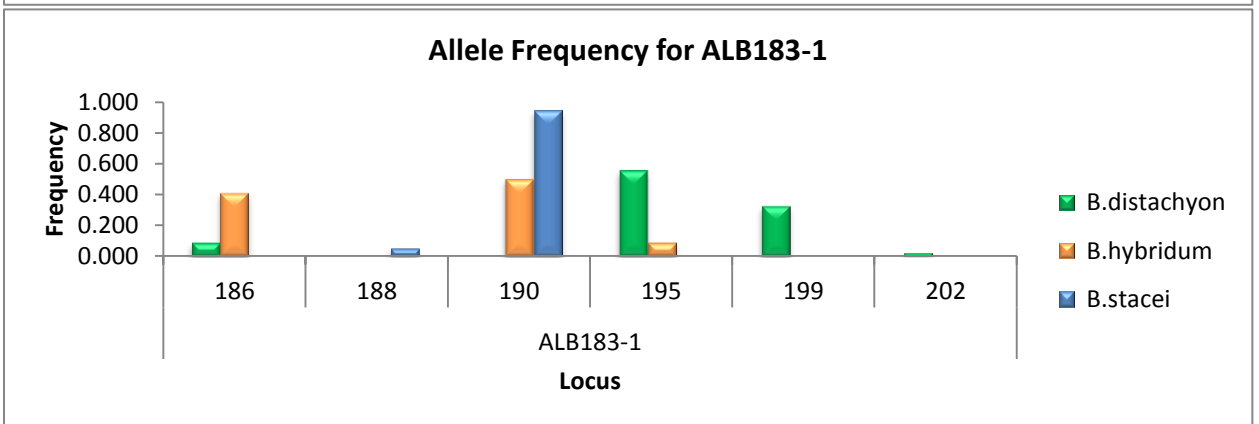
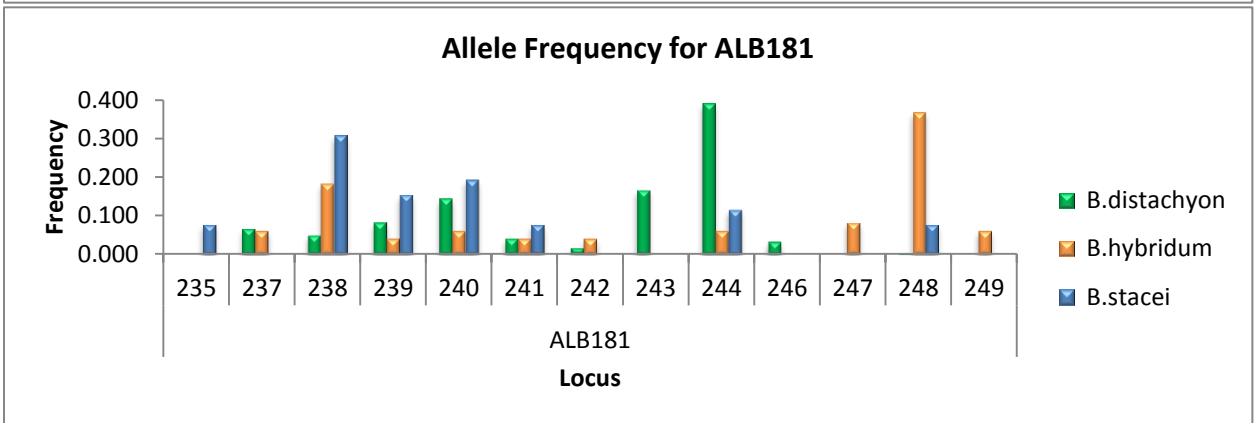
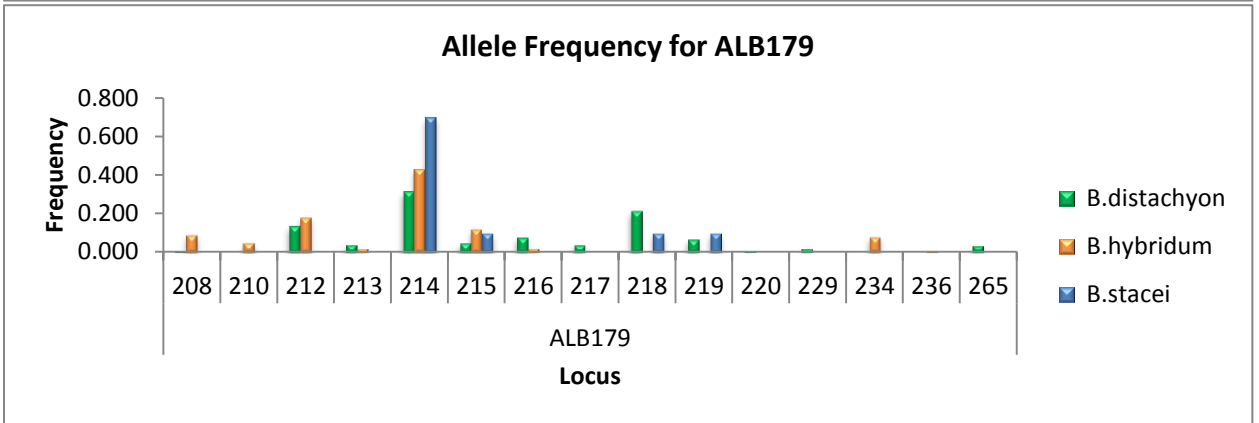
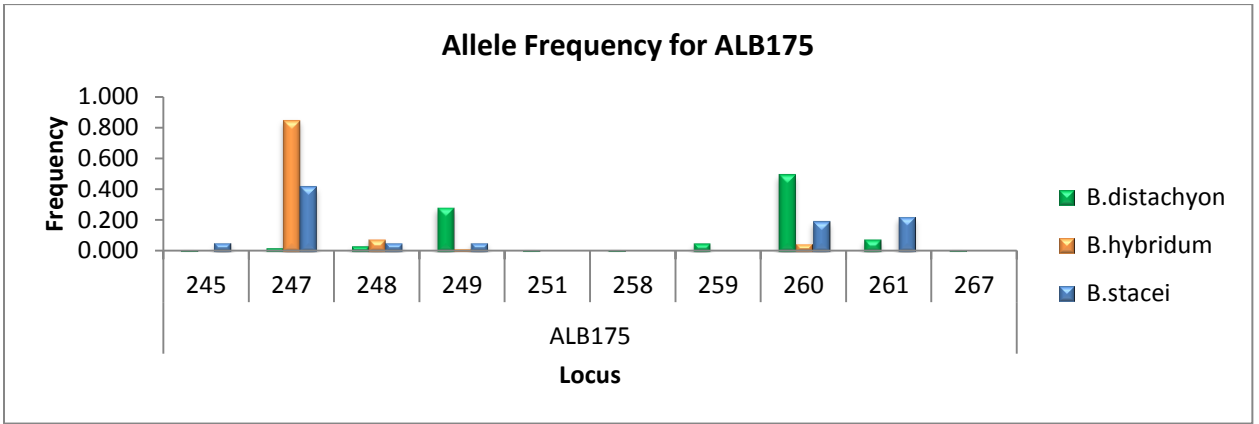


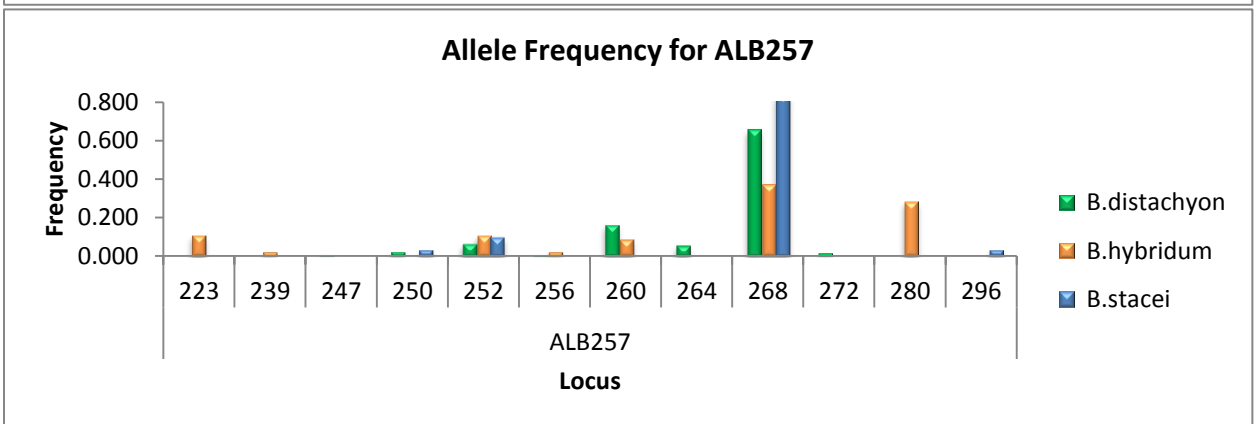
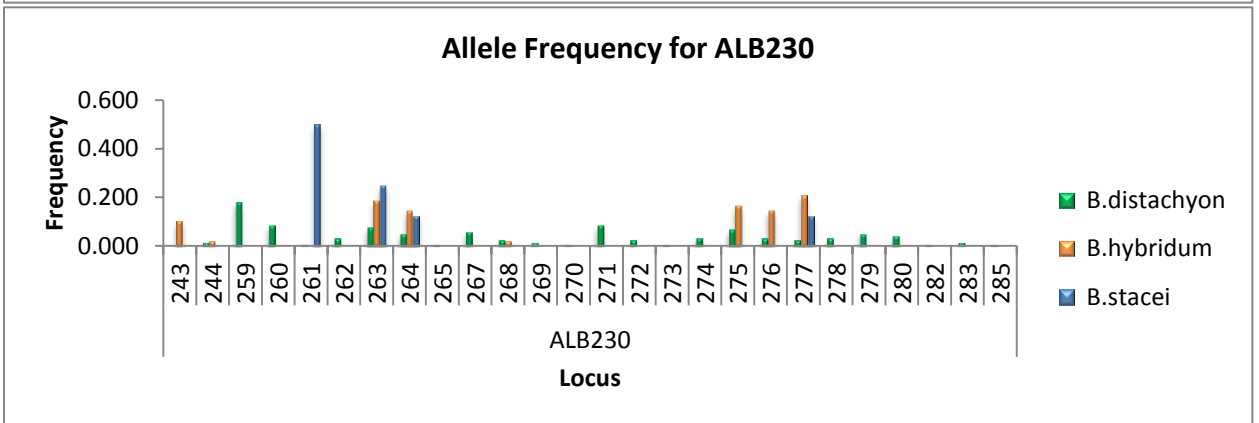
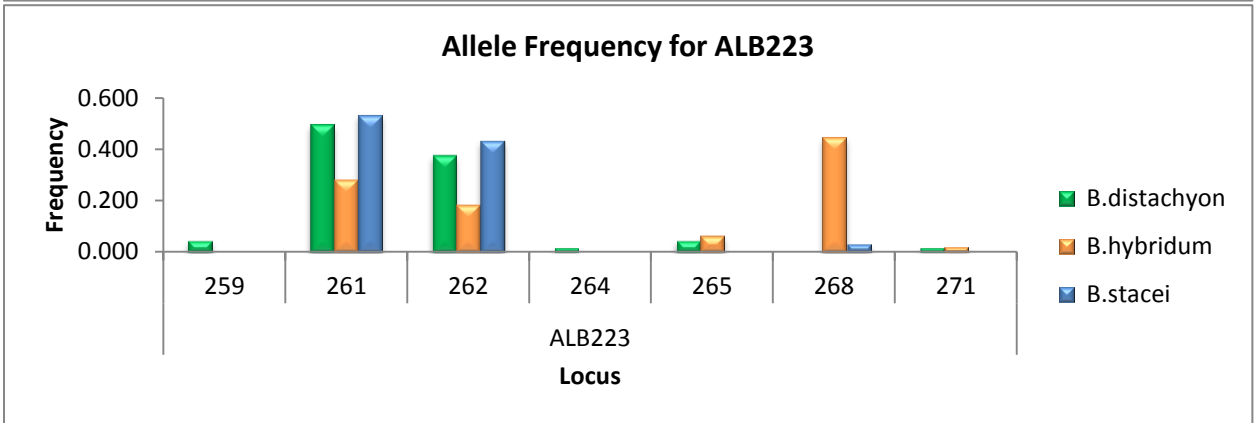
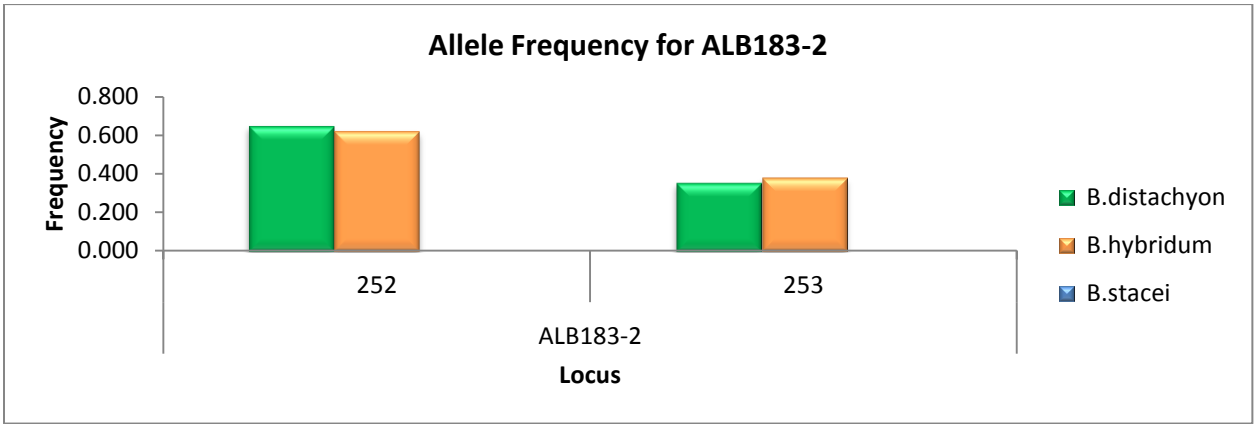


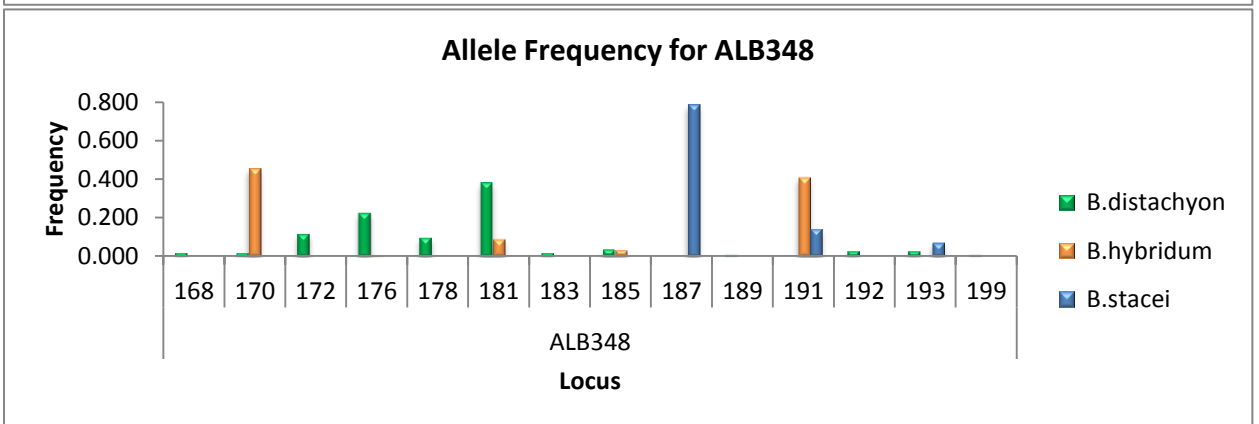
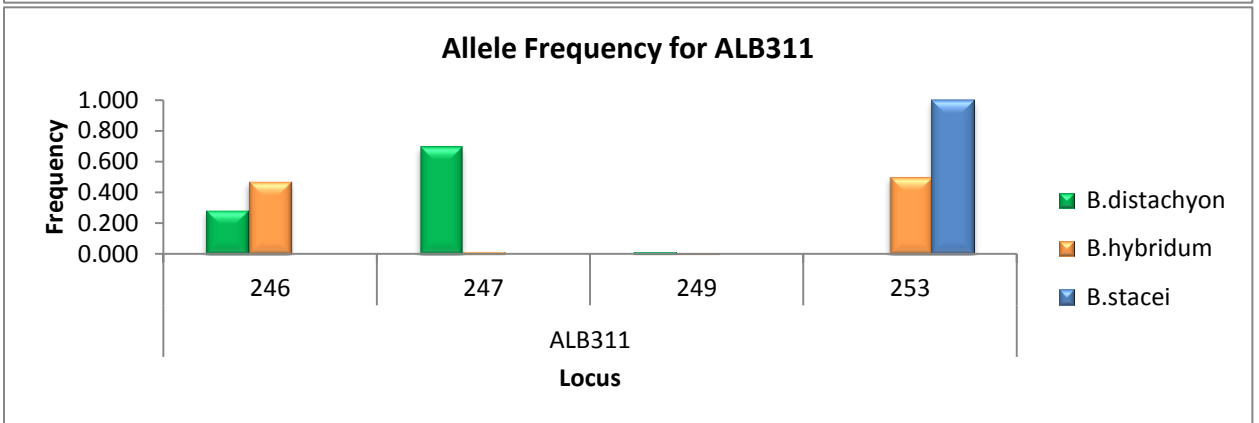
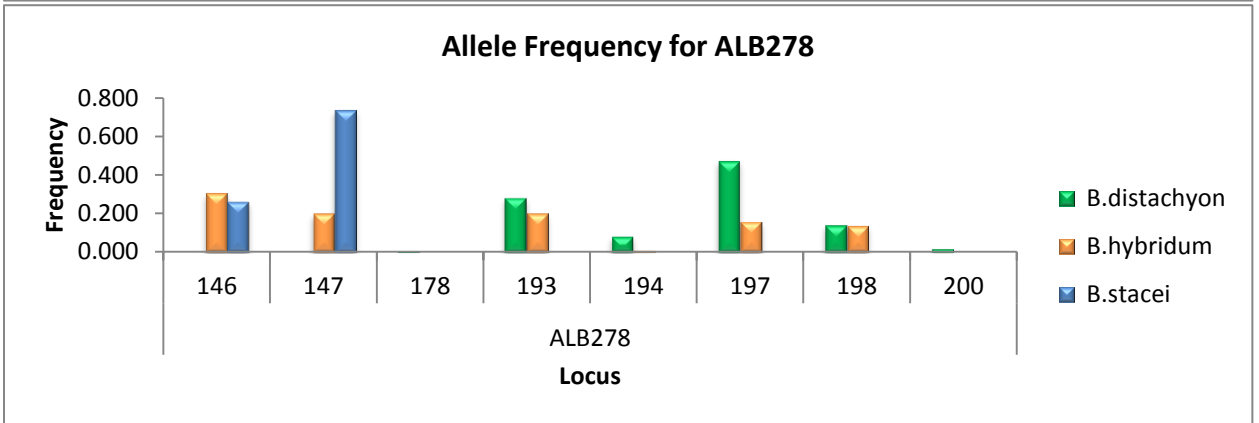
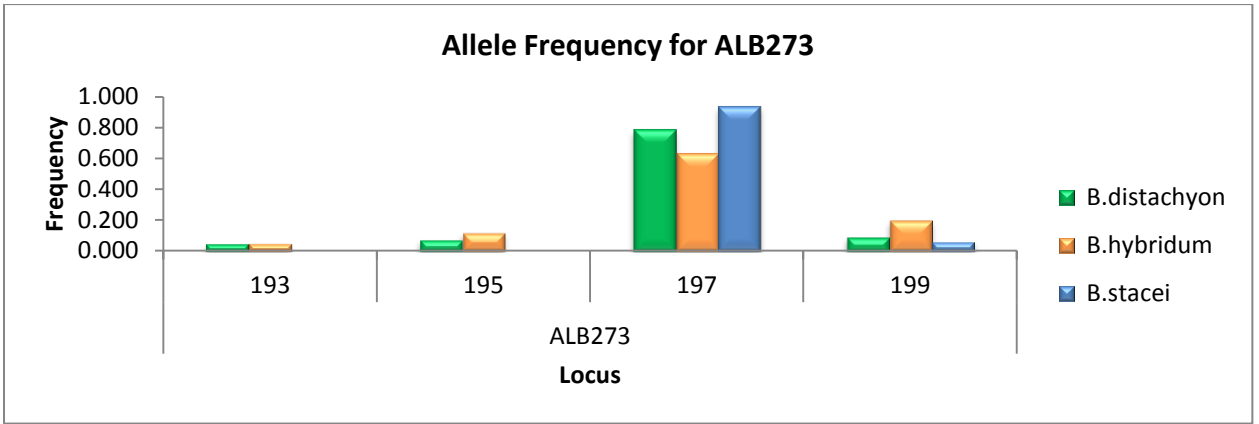


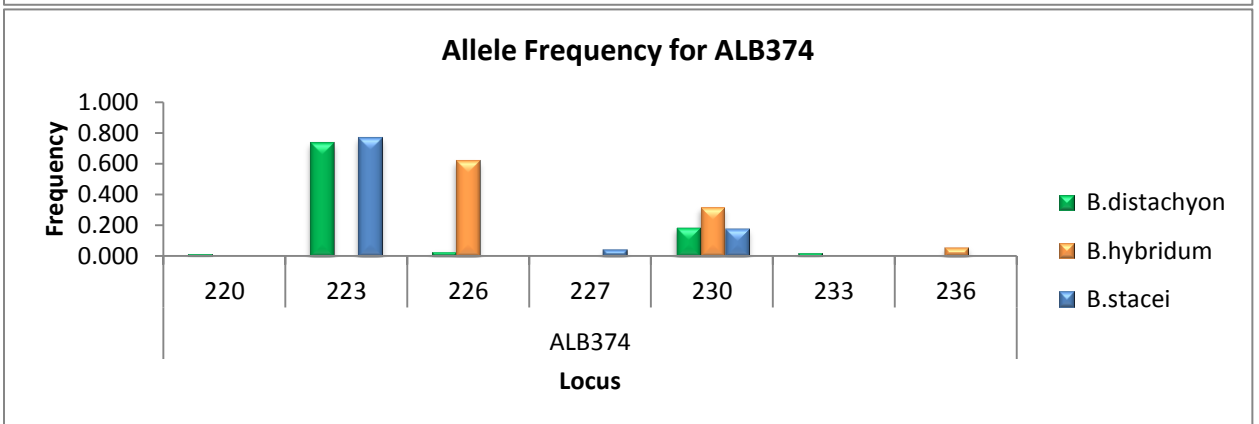
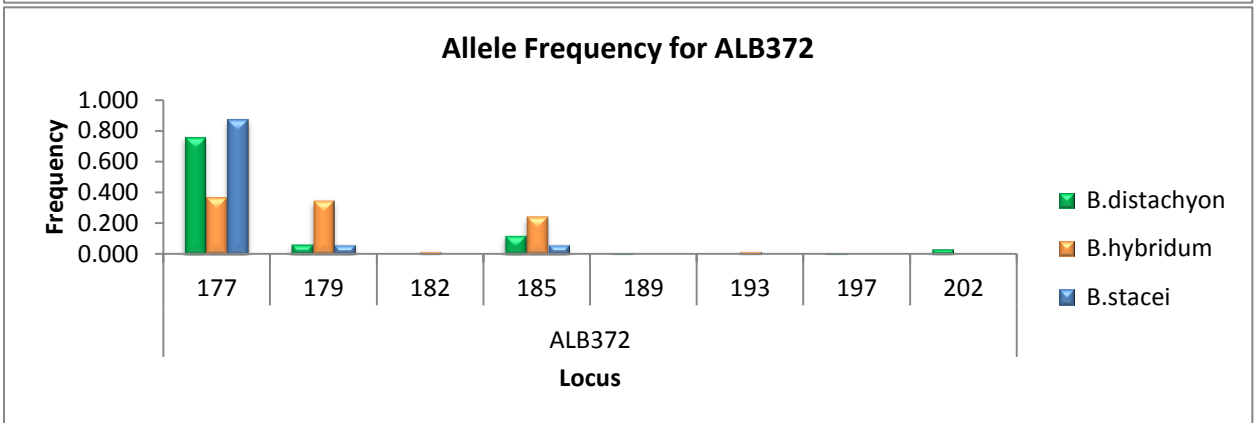
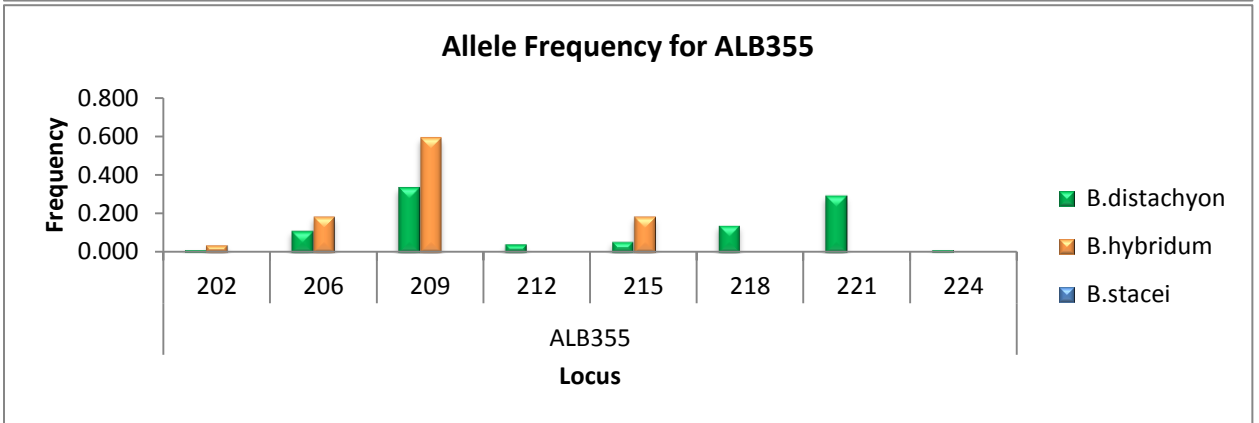
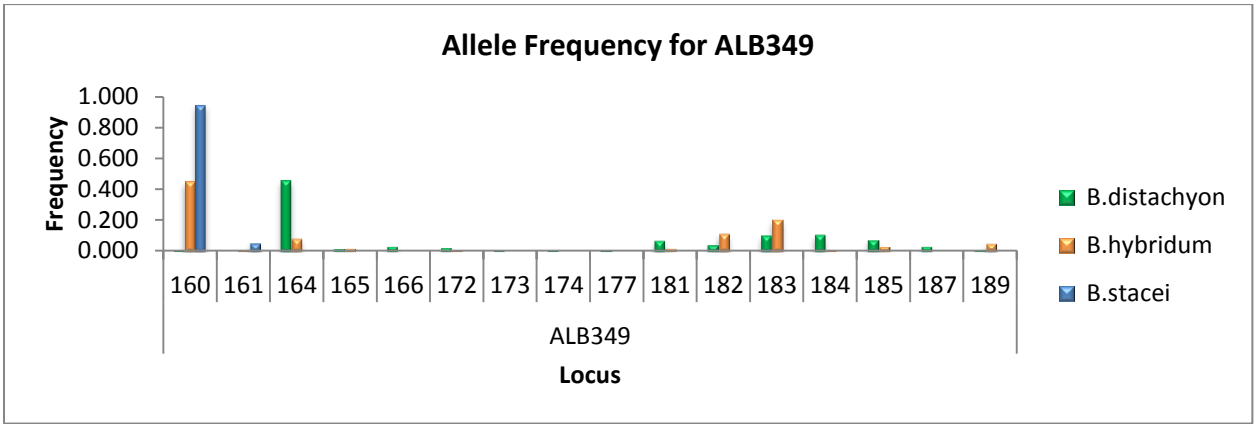


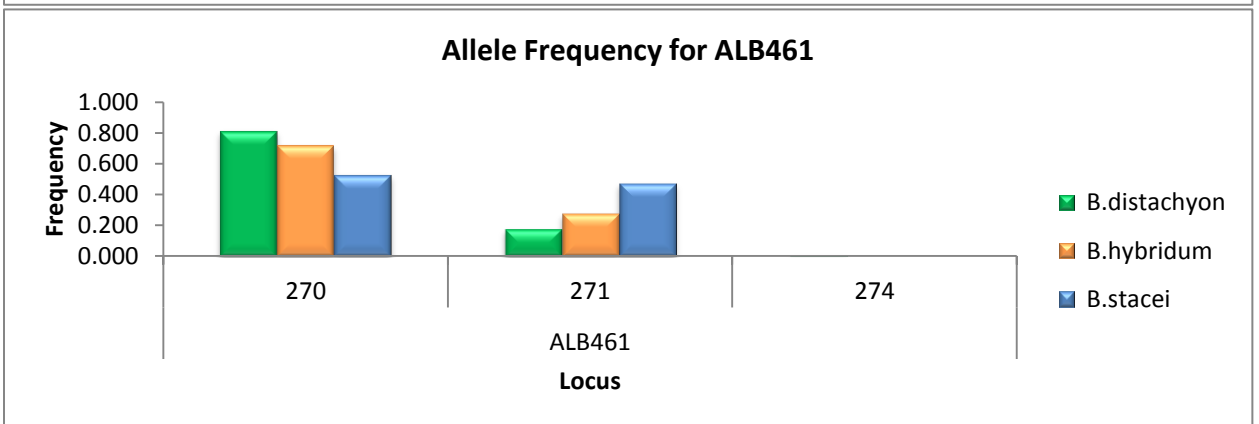
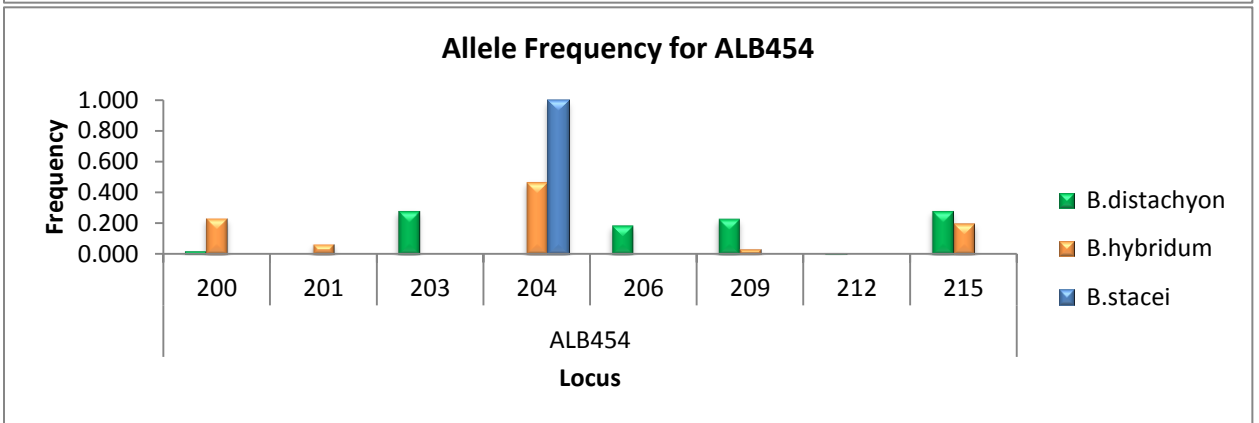
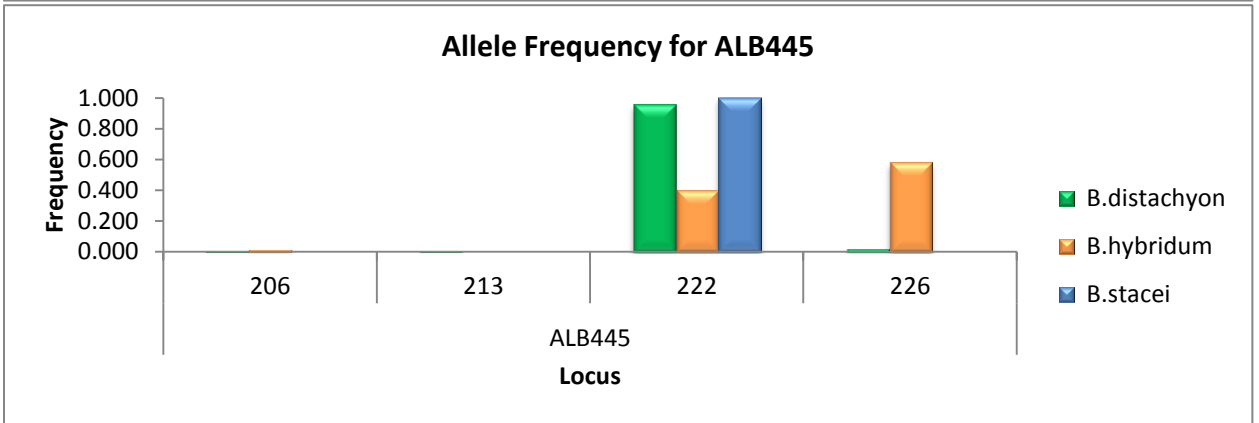
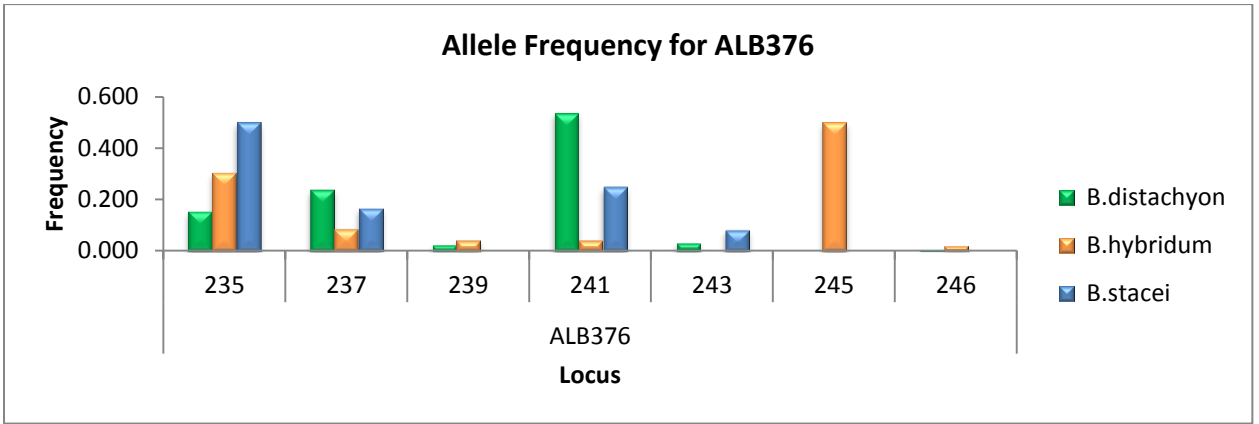


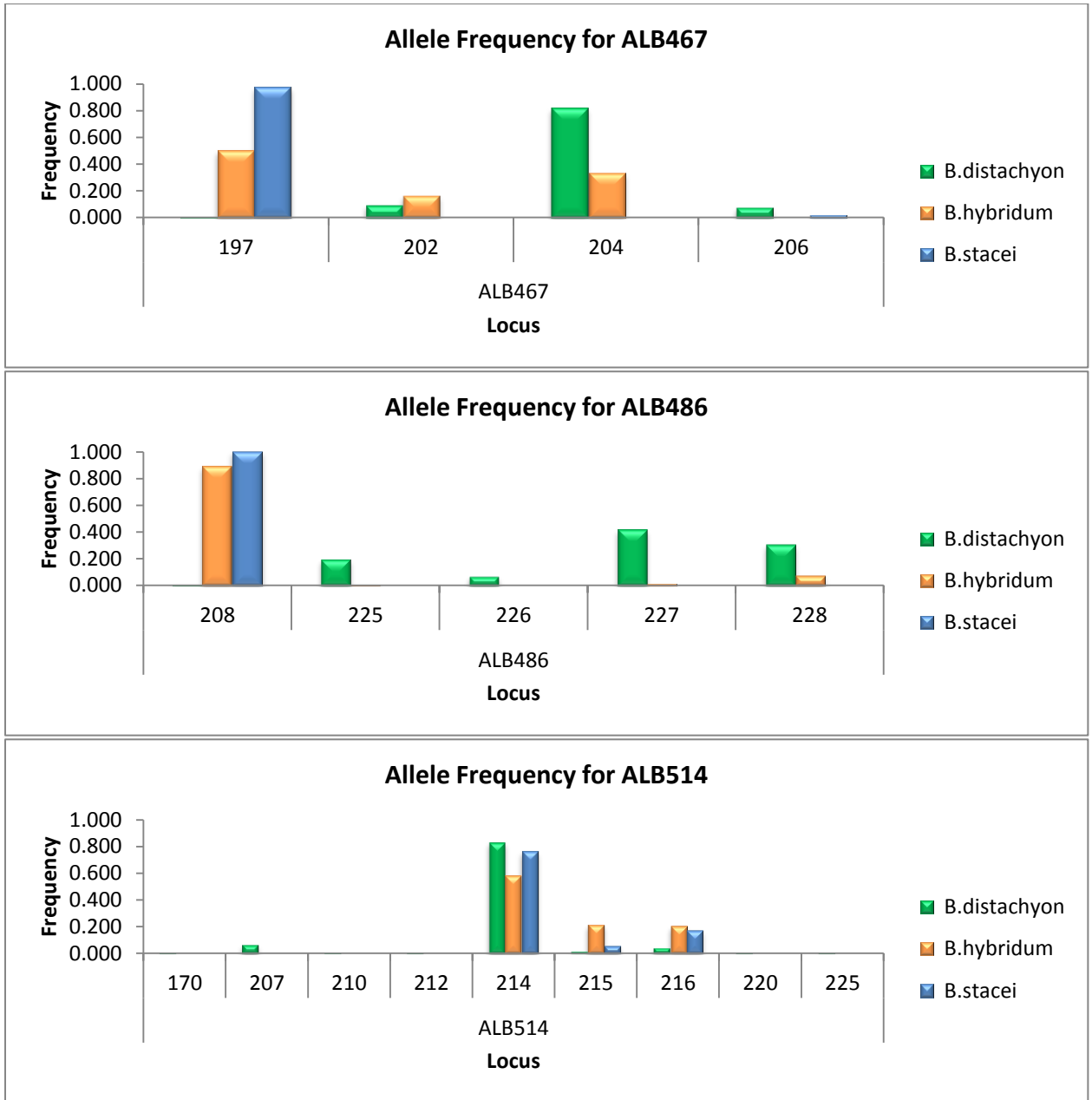












Şekil 4.38. Üç türdeki her bir SSR lokusu için allellerin frekans dağılımı: *B. distachyon* yeşil, *B. hybridum* turuncu ve *B. stacei* mavi renkli barlarla gösterilmiştir. x-kseninde allellerin boyutu , y- ekseninde frekansları verilmiştir.

4.7. Koleksiyonda Genetik Farklılaşmasının İncelenmesi

4.7.1. Üç türde Moleküler Varyans Analizi (AMOVA)

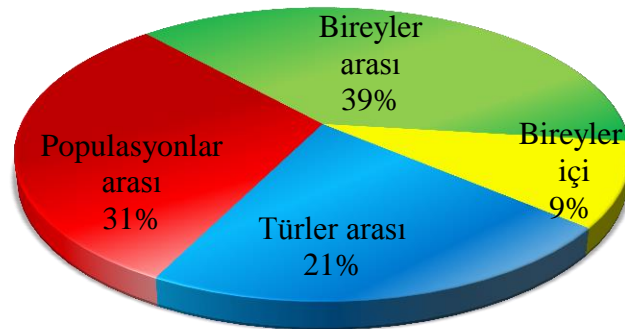
SSR verilerine ilişkin F değerleri, lokuslar üzerindeki ortalamasıyla, toplam genetik varyasyonun büyük çoğunluğunun aynı popülasyonun bireyleri arasında (%39) çok büyük oranda farklılıklar ($F_{st} = 0.521$, $P = 0.001$) olduğunu ortaya koymuştur (Çizelge 4.22). Şekil

4.39 de gösterildiği gibi, toplama göre türler arasında paylaşılan genetik varyans oranı %21 oranında gerçekleşirken ($F_{rt}=0.214$, $P=0.001$); varyasyonun önemli bir kısmı %31’lik bir oranla her türdeki popülasyonlar arasında gerçekleşmiştir ($F_{sr}=0.391$, $P=0.001$). Küçük, ancak dikkate değer bir varyasyon (%9) da bireyler içinde oluşmuştur ($F_{is}=0.808$, $P=0.001$). Tüm varyans bileşenleri istatistiksel olarak önemli seviyede olmuştur. Bu bulgular, aynı türlerin popülasyonları içinde %46; popülasyonlar arasında %29 ve 3 türün 24 popülasyonunda %25’lik varyasyon bulunduğunu bildiren Hammami ve ark. (2014)’nin sonuçlarıyla benzerlikler göstermektedir.

Çizelge 4.22. 999 permütasyon sonrası üç *Brachypodium* türünün 179 bireyiyle moleküler varyansın farklı düzeylerdeki hiyerarşik analizle açıklanan tahmini varyansları (Tah. Var.)

Kaynak	df	SS	MS	Tah. Var.	Yüzde
Türler arası	2	804.169	402.085	3.708	21%
Popülasyonlar arası	46	2444.392	53.139	5.338	31%
Bireyler arası	130	1954.000	15.031	6.715	39%
Bireyler içi	179	286.500	1.601	1.601	9%
Toplam	357	5489.061		17.361	100%

Moleküler Varyans Yüzdeleri



Şekil 4.39. Toplam 179 bireyde, 31 *B. distachyon*, 15 *B. hybridum* ve 3 *B. stacei* popülasyonunu içeren 3 *Brachypodium* türünde moleküler varyans analizi

4.7.2. Türler arası ikili genetik varyasyon

Türler arasında genetik farklılığı gösteren ikili (pairwise) Fst değerleri, *B. distachyon* ve *B. stacei* için 0.302, *B. hybridum* ve *B. stacei* için 0.250 ve *B. distachyon* ve *B. hybridum* için 0.203 gibi yüksek değerlere sahip olmuştur. Doğrusal F değerleri ve Nm (Number of migrants) tahminleri için de benzer sonuçlar oluşmuştur. Daha önce bahsedilen tüm ölçümler istatistiksel olarak önemli seviyede gerçekleşmiştir (P=0.001). Öte yandan, Nei standart genetik uzaklık (Hedrick, 2000; Nei 1972; Nei, 1978) *B. distachyon* ve *B. stacei* (0.751) ikilisinde daha büyük olurken; bu ikiliyi, sırasıyla *B. distachyon* ve *B. hybridum* (0.655) ile *B. hybridum* ve *B. stacei* (0.485) ikilileri izlemiştir. F parametresi, *B. distachyon* ile *B. stacei* türleri (0.751) arasında yüksek seviyede farklılaşma göstererek, hemen hemen diğer iki ikiliyle benzer değerleri vermiştir (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. 999 permütasyon sonrası ikili popülasyon Fst değerleri, doğrusal Fst değerleri, Nm tahminleri ve olasılıkları (P) . Türler arasında Nei standart genetik uzaklık (NeiD) ve F'st değerleri

Pop1	Pop2	Fst	LinFst	Nm	P	Nei D	F'st
<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	0.203	0.255	0.982	0.001	0.655	0.567
<i>B. distachyon</i>	<i>B. stacei</i>	0.302	0.433	0.578	0.001	0.751	0.718
<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>	0.250	0.334	0.749	0.001	0.485	0.565

4.7.3. *B. distachyon* türüyle AMOVA

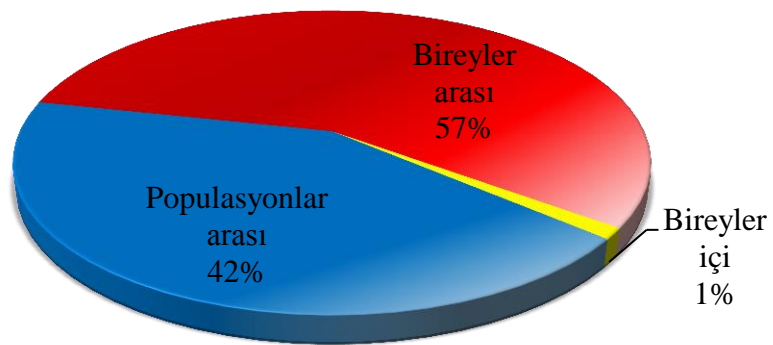
Yeni koleksiyonun *B. distachyon* türünde genetik çeşitliliği araştırmak amacıyla 31 popülasyon üzerinde, 117 bireyle AMOVA gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.24). Analizler sonucunda, aynı popülasyon bireyleri arasında %57'ye (Fis= 0.981, P=0.001) ulaşan oranda büyük bir varyasyon olduğu ve Fst= 0.424'lük büyük bir değer, toplamda popülasyonlar arasında %42'lik varyansa karşılık geldiği görülmüştür. Bireyler içindeki farklılıklar, varyasyonun sadece %1'ini açıklamaktadır (Fit=0.989, P=0.001). Tüm varyans bileşenleri istatistiksel olarak önemli seviyede olmuştur. F'st değeri 0.675 olmuştur. Bu sonuçlar, *B. distachyon*'nun (Vogel ve ark. 2009 ve Catalán ve ark. 2012) yüksek düzey kendileme doğasından bahseden mevcut çalışmaları desteklemekte ve aynı zamanda, yeni koleksiyonun popülasyonları arasında mevcut olan yüksek farklılaşmalara da işaret etmektedir (Şekil 4.40). SSR markörleriyle Zhao ve ark. (2013) tarafından *Solanum rostratum* türlerinin yerli ve

yabancı popülasyonları üzerine yapılan bir çalışmada; genetik varyasyonun büyük bir kısmının (%70), popülasyonlar içindeki bireyler arasında (0.299) Fst değeri içerdikleri bildirilmiştir. Fst bazındaki bu sonuçlar; çalışmalarında, *Rhododendron ferrugineum*'da %66'dan daha büyük bir popülasyon varyasyonunun bulunduğunu belirten Charrier ve ark. (2014)'na göre, mikrosatelitlerde olduğu gibi polimorfik lokuslar için de beklenmektedir. Ayrıca AFLP markörleriyle Türkiye'den topladıkları *B. distachyon* bireylerini inceleyen Filiz ve ark. (2009a), hem 3 geniş coğrafik bölge arasında ve hem de içinde yüksek varyasyonun bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.24. *B. distachyon* türlerinin 31 popülasyonu ve 117 bireyi arasında tahmin edilen varyanslar

Kaynak	df	SS	MS	Tah. Var.	Yüzde
Popülasyonlar arası	30	1805.188	60.173	5.880	42%
Bireyler arası	86	1361.483	15.831	7.839	57%
Bireyler içi	117	18.000	0.154	0.154	1%
Toplam	233	3184.671		13.873	100%

Moleküler Varyans Yüzdeleri



Şekil 4.40. 31 *B. distachyon* popülasyonunun 117 bireyinde moleküler varyans yüzdeleri

Popülasyonlar arasındaki ikili Fst değerleri EK 24'nin alt köşegeninde, olasılıklar ise üst köşegeninde verilmiştir. Değerler, 0.048 (Lito vs Farsa) ile 0.832 (Katsi vs Verg) arasında

değişmiştir. Popülasyonların 465 adet olan tüm ikilileri EK 22'deki tabloda gri renkle işaretlenen 8 ikili hariç, istatistiksel olarak önemli değerlere sahip olmuşlardır. Kilk popülasyonunun; ileride filogenetik analizinde gösterileceği üzere, PCoA'da yan yana kümelenen Edes (Fst=0.315) hariç, diğer tüm popülasyonlarla 0.547 ile 0.737 arasında değişen aralıkta istatistiksel olarak önemli seviyede Fst değerleri gösterdiğini belirtmek önemlidir. Ayrıca Linos (51) ile birlikte bu iki popülasyon, çevresel koşullara bakılmaksızın fenotipe yansıyan güçlü bir genetik yapıyı vurgulayan fenotipik verilerle gerçekleştirilen PCA'da geriye kalan *B. distachyon* popülasyonlarından da ayrılmıştır (Şekil 4.11).

4.7.4. *B. hybridum* türüyle AMOVA

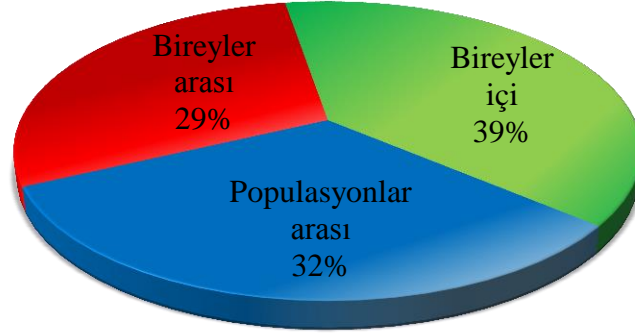
Yeni koleksiyonun *B. hybridum* türünde genetik çeşitliliği incelemek için 15 popülasyon üzerinden 47 bireyle AMOVA gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.25). Analiz sonuçları, varyasyonun 3 hiyerarşik seviyeye nerdeyse eşit olarak paylaşıldığını göstermektedir. Bireyler içindeki varyasyon, toplamın %39'unu (Fit= 0.612, P=0.001) oluşturmakta olup, %32 (Fst=0.319, P=0.001) olarak açıklanan popülasyonlar arası varyasyon ile %29 (Fis=0.430, P=0.001) olarak açıklanan bireyler arası varyasyondan biraz daha büyüktür. Tüm varyans bileşenleri 0.569'luk F'st değeriyle istatistiksel olarak önemli seviyededir (Şekil 4.41). Daha önce açıklandığı üzere, *B. hybridum* koleksiyonu üç seviyede yüksek çeşitlilik ve orta derecede heterozigotluk göstermektedir. Bu heterozigotluk, tüm incelenen markörler için lokus başına iki allelden daha fazla allel bulunmadığı için (ALB183 hariç) *B. hybridum*'un homozigot homolog kromozomlarına işaret etmekte olup, büyük olasılıkla allotetraploidinin doğasından kaynaklanmaktadır. Bakker ve ark. (2009) tarafından yürütülen benzer bir çalışmada, Kaliforniya'dan toplanan tetraploid *Brachypodium* bireylerinin (popülasyonlara eşit) coğrafik kümeleri arasındaki farklılaşmanın çok yüksek oran gösterdiği (Fst=0.92) ve coğrafik kümeler arasındaki toplam varyasyonun %91.6 olduğu belirtilmiştir. Yunanistan, türün anavatanı içinde yer alırken, *B. hybridum* Kaliforniya'da sadece baskın bir tür olarak bulunmaktadır.

Çizelge 4.25. *B. hybridum* türünün 15 popülasyonu ile 47 bireyi arasındaki varyasyon tahminleri

Kaynak	df	SS	MS	Est. Var.	Yüzde
Popülasyonlar arası	14	575.438	41.103	4.427	32%
Bireyler arası	32	432.583	13.518	4.068	29%

Kaynak	df	SS	MS	Est. Var.	Yüzde
Bireyler içi	47	253.000	5.383	5.383	39%
Toplam	93	1261.021		13.878	100%

Moleküler Varyans Yüzdeleri



Şekil 4.41. 15 *B. hybridum* popülasyonu ile 47 bireyinde moleküler varyans yüzdeleri

15 popülasyon arasındaki farklılaşmaya ilişkin ikili Fst değerleri, EK 25'ün alt köşegeninde, temsili olasılık değerleri ise üst köşegeninde verilmiştir. En çok ayrışan Farsa ve Pros (Fst=0.614) popülasyonları olmasına rağmen, en düşük değer Ahla vs Para (Fst=0.047) ikilisinden elde edilmiştir. EK 25'teki çizelgede gri renkle işaretlenen 14 ikili hariç, popülasyonlardan 105 ikili istatistiksel olarak önemli seviyede Fst değerlerine sahip olmuşlardır. Pros popülasyonunun 0.340 ile 0.614 aralığında değişen Fst değerleriyle diğer tüm popülasyonlardan ayrıştığını belirtmek gerekir. Bu popülasyon, PCA'da farklı bir serpilme grafiği ve UPGMA ağacında farklı bir küme oluşturarak (Şekil 4.11 ve Şekil 4.17), fenotipik karakterizasyonda da diğerlerinden farklılaşmıştır.

4.7.5. Bireylerle PCoA

Üç türün 192 bireyinin temel koordinatlar analizi (PCoA) ilk üç koordinatın varyasyonun önemli bir yüzdesini açıkladığını göstermiştir (Çizelge 4.26). En iyi PCoA, ilk üç eksen aracılığıyla toplam varyasyonun %36.23'ünün açıklandığı Nei uzaklık matrisi (D_A) yoluyla elde edilmiştir. Kodominant genotipik uzaklık değerinde, ilk üç eksen için %31.86'ya

düşmesine rağmen, %36.06'ya ulaşan allel paylaşım uzaklığı (D_{SA}) yoluyla benzer sonuç elde edilmiştir

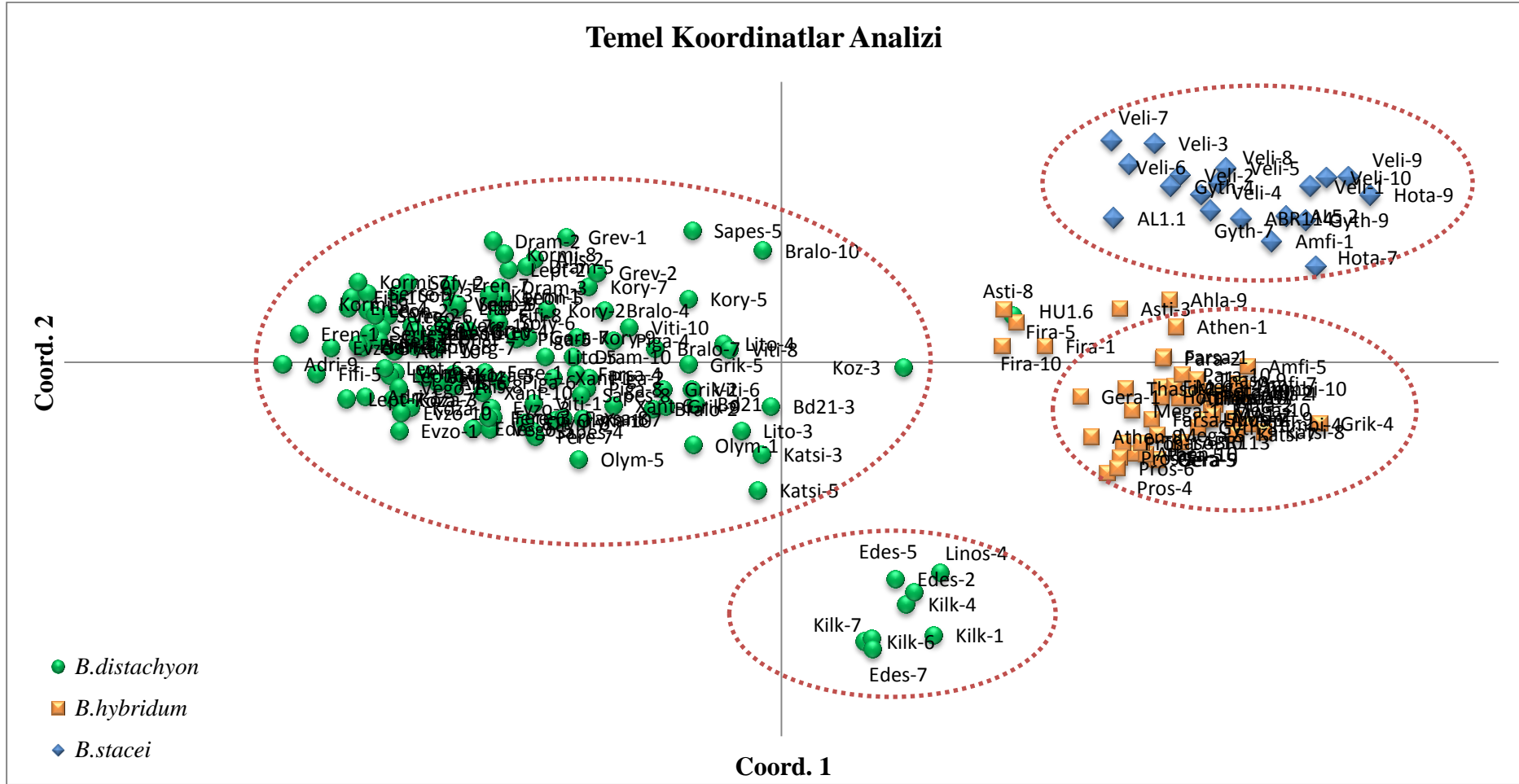
Çizelge 4.26. Giriş verisi olarak üç farklı uzaklık matrisi kullanılarak 192 bireyin PCoA'sının ilk üç ekseninde açıklanan varyasyon. İkili kodominat genotipik uzaklık matrisi, allel paylaşım uzaklık matrisi (D_{SA}) ve Nei's 1983 (D_A)

Genetik Uzaklık	Eksen	Varyasyon %	Kümülatif varyasyon (%)
Kodominant Genotipik (GenALEx)	1	17.92	17.92
	2	8.16	26.09
	3	5.77	31.86
Allel paylaşımı (PowerMarker)	1	21.34	21.34
	2	8.26	29.60
	3	6.46	36.06
Nei's 1983 (Phylip)	1	21.36	21.32
	2	8.32	29.68
	3	6.55	36.23

Kodominant genotipik uzaklık yoluyla oluşturulan PCoA grafiği Şekil 4.42'te verilmiştir. Diyagramlarda (plot) açık bir şekilde dört küme tanımlanmaktadır. Grupların dışına serpilmiş bazı *B. hybridum* bireyleri bulunmakla beraber, iki ana küme *B. distachyon* bireylerinden ve bir küme de *B. hybridum* ve *B. stacei*'den oluşmuştur. Kilk popülasyonunun, Edes-2, Edes-5, Edes-7 ve Linos-4 bitkilerini içeren *B. distachyon* bireylerinden oluşan küçük bir grubun durumu dikkat çekmektedir. Bu bireyler; PCA'da (Şekil 4.8) ve fenotipik verilerle oluşturulan filogenetik ağaçlarında (Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.16), daha önce değinildiği üzere büyük bir ikili F_{st} değerleri vererek dikkate değer bir şekilde diğerlerinden farklılık göstermişlerdir. Ayrıca, ana kümenin dışına serpilmiş *B. hybridum* bireyleri esasen, fenotipik karakteristiklerle ilgili bölümde bahsedilen büyük tane ve erken başaklanma gibi çok farklı fenotipik karakteristik gösteren Fira popülasyonundan gelmektedirler. Bunlar, fenotip ve genotip gibi iki veri tipi arasında korelasyon bulunduğunu ve popülasyon yapısının fenotip ve genotip yaklaşımları açısından güçlü olduğunu gösteren önemli kanıtlardır.

Singh ve ark. (2013), Hindistan çeltik çeşitlerindeki %13.33 kümülatif varyasyonun iki eksen üzerinde tek düze (uniform) dağılım gösterdiklerini açıklarken, Oliveira

ve ark. (2012), çalışmalarında inceledikleri tetraploid yerel buğdaydaki varyasyonun %8.2'sinin PCA'daki birinci bileşenden ve %4.3'ünün ise ikinci bileşenden geldiğini bildirmişlerdir. Ayrıca Emanuelli ve ark. (2013) *Vitis vinifera* spp. *sativa*'nın 2273'ü bulan çok geniş aksasyonu ile onların yabani akrabalarını (*V. vinifera* ssp. *sylvestris*), genetik uzaklık matrisi bazında 22 mikrosatellit lokus kullanarak inceledikleri çalışmalarında, PCoA'nın sırasıyla %38.51 ve %21.29'lik oranlarla birinci ve ikinci ekseninde açıklandığını bildirmiştir.



Şekil 4.42. GenAIEx yazılımında kodominant genotipik seçeneğiyle yapılan PCoA'nın ilk iki koordinatında üç türün 192 bireyinin diyagramı. Yeşil noktalar *B. distachyon*, turuncu kareler *B. hybridum* ve mavi eşkenar dörtgenler *B. stacei* bireylerini göstermektedir

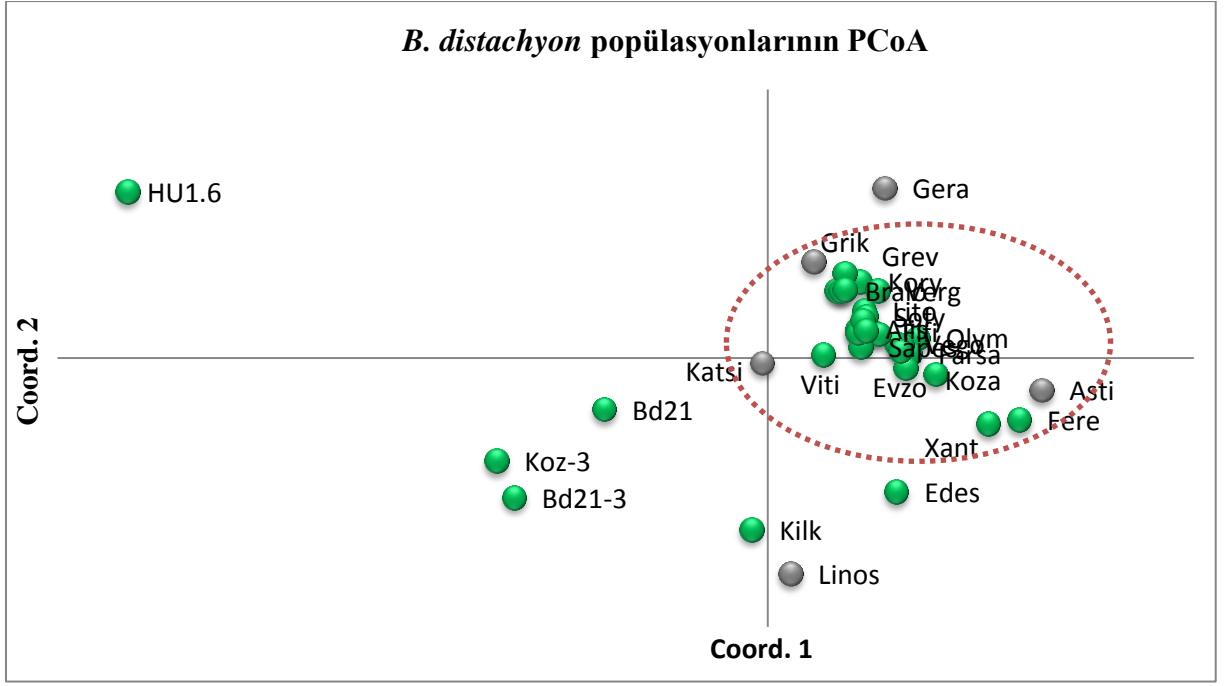
4.7.6. *B. distachyon* popülasyonlarıyla PCoA

B. distachyon türü içindeki popülasyon yapısını incelemek amacıyla 37 popülasyonun Nei yansız (unbiased) genetik uzaklık temelinde bir temel koordinatlar analizi gerçekleştirilmiştir. Çok yüksek derecede varyasyonun ilk üç koordinatta elde edildiğini gösteren toplam varyasyonun %72'si ilk 3 eksende açıklanmıştır (Çizelge 4.27).

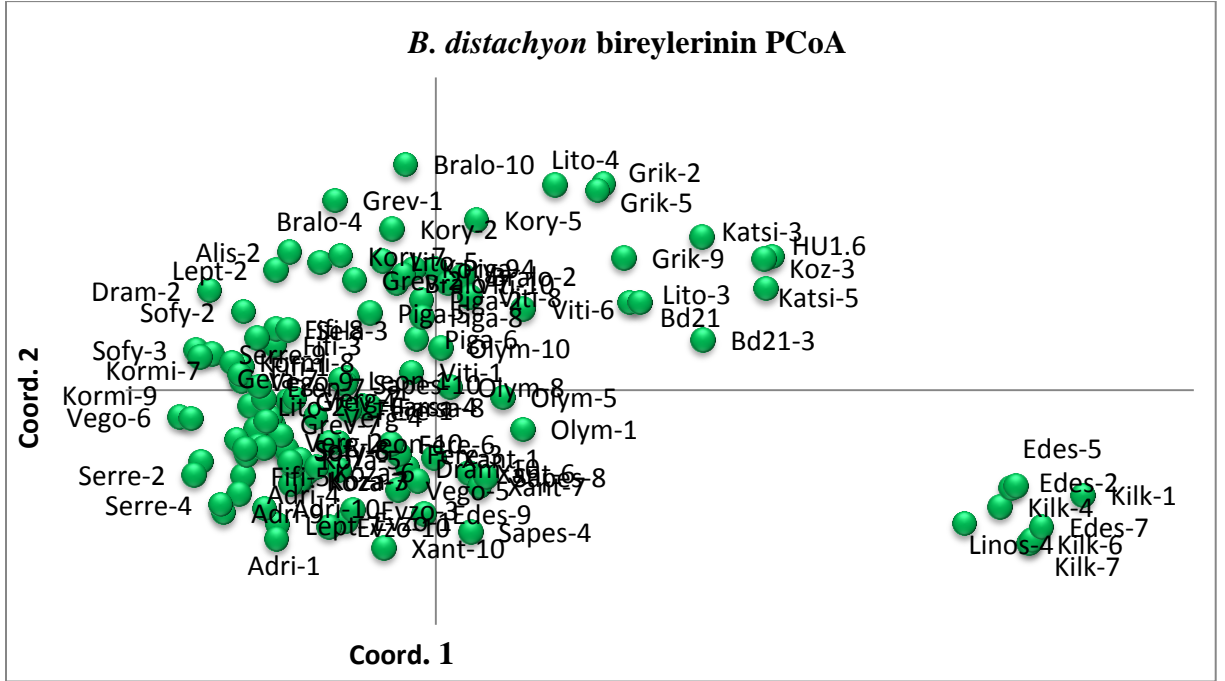
Çizelge 4.27. Nei yansız genetik uzaklık matrisinde oluşturulan PCoA'nın ilk üç koordinatında açıklanan varyasyon

Eksen	1	2	3
Varyasyon (%)	42.79	16.93	12.28
Kümülatif varyasyon (%)	42.79	59.72	72.00

Diyagramdan (plot) görüldüğü üzere (Şekil 4.43), Yunanistan'dan toplanmış popülasyonların çoğunluğunu içeren (kırmızı halka ile çizilmiş) ana (core) bir alan bulunmaktadır. Gri renkle işaretlenen tüm simpatrik popülasyonlar, Farsa popülasyonu hariç, halkanın dışında veya çevresinde yerleşmişlerdir. Diyagramdan da görüleceği gibi, 3 popülasyon; Kilk, Linos ve Edes fenotipik inceleme bölümünde gözlemlendiği üzere, diğerlerinden daha yüksek seviyede varyasyon göstermişlerdir. İspanya'dan gelen HU1.6 bireyi II. çeyrek dairede diğerlerinden çok uzakta yer alırken; Bd21, Bd21-3 ve Koz-3 kontrollerinden oluşan grup, ana alandan uzakta III. çeyrek dairede yer almıştır. Gera, Linos, Bd21, Bd21-3, Koz-3 ve HU1.6 popülasyonları birer bireyle temsil edildiğinden, popülasyon farklılıkları bireylerin farklılıklarını yansıtmaktadır. Her halükarda, *B. distachyon* türü içinde yapılan AMOVA'nın da gösterdiği üzere, türlerin aynı popülasyonlarının bireyleri arasında büyük bir varyasyon gerçekleşmiştir (Şekil 4.40); bu nedenle bireyler seviyesinde sonuçları yorumlamak daha mantıklı olacaktır. Bunun için, yalnızca *B. distachyon* bireyleriyle fazladan bir PCoA gerçekleştirilerek, kodominant genotipik uzaklık matrisi yoluyla ilk 3 eksen de varyasyonun %31.41'inin açıkladığı ortaya çıkarılmıştır. Bu diyagram (Şekil 4.44), Kilk, Edes ve Linos popülasyonlarının yedi bireyinin açık izolasyonu ile 3 türün bireyleriyle yapılan PCoA ile aynı deseni göstermiştir.



Şekil 4.43. Nei yansız genetik uzaklık makrisiyle oluşturulan 37 *B. distachyon* popülasyonunun PCoA'sı. Yeşil renk *B. distachyon*, gri renk *B. hybridum* ile simpatrik popülasyonları göstermektedir.



Şekil 4.44. Kodominant genotipik uzaklık matrisiyle oluşturulan 122 *B. distachyon* bireyinin PCoA'sı

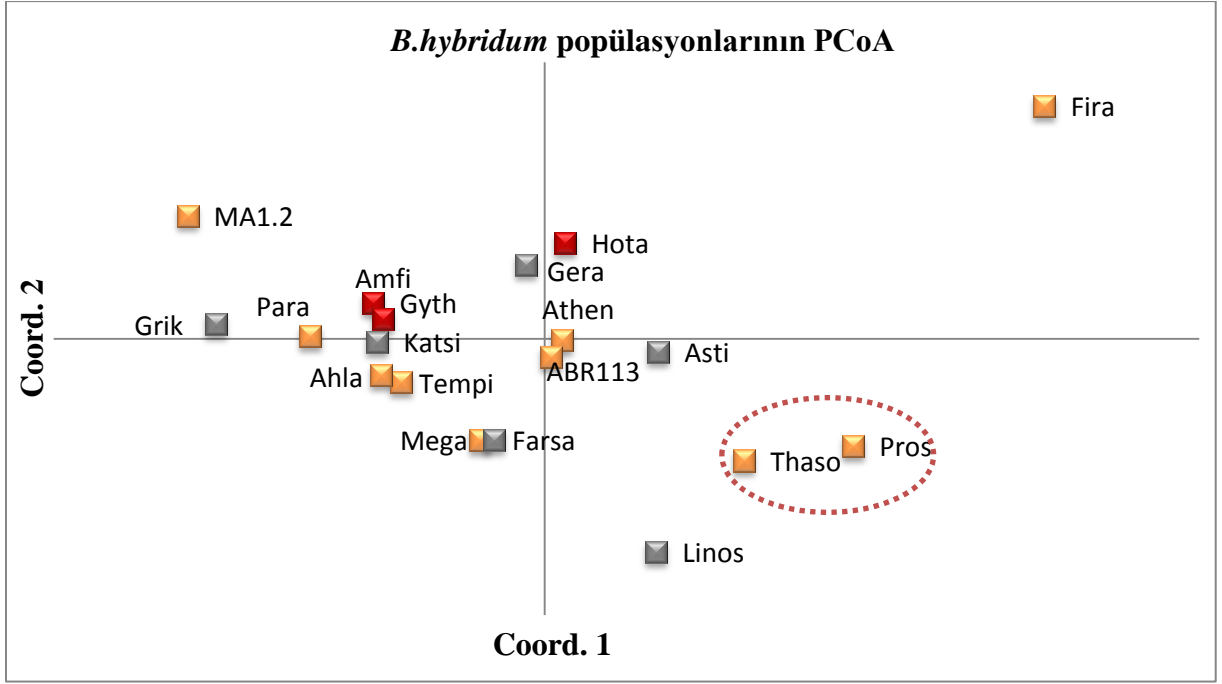
4.7.7. *B. hybridum* popülasyonlarıyla PCoA

B. hybridum türü içinde, 19 *B. hybridum* popülasyonunun Nei yansız genetik uzaklıklarıyla oluşturulan PCoA sonucu, *B. distachyon* türünde yaklaşık %9 daha az olan toplam varyasyonun %63.13'ünü (Çizelge 4.28) ilk 3 koordinatın açıkladığı ortaya koymuştur (Şekil 4.45). Diyagramdaki turuncu kareler *B. hybridum* popülasyonlarını, kırmızılar *B. stacei*'nin simpatrik popülasyonlarını ve gri olanlar da *B. distachyon*'un simpatrik popülasyonlarını göstermektedir.

PCoA'yı gösteren Şekil 4.45'te, tüm diğerlerinden daha uzakta bulunan Fira popülasyonunun özel konumu gösterilmiştir. Bu popülasyon, diğerlerinden oldukça uzakta yer alan Ege Denizi'ndeki Santorini Adasından toplanmıştır (haritada 5 kod numaralı lokasyona bakınız). Ayrıca, bu popülasyon fenotipik karakteristiklere yansıyan uzaklıkla ilgili olası izolasyonun varlığına işaret eden fenotipik verilerle yapılan PCA'da da (Şekil 4.11) çok uzakta yer almıştır. Diyagramda, IV. çeyrek dairede yer alan Pros ve Thaso popülasyonlarının pozisyonu da özeldir. Bu popülasyonların ortak yanı, sadece Kuzey Yunanistan'dan toplanan *B. hybridum* popülasyonlarından olmalarıdır (haritada 47 ve 54 kod numaralı lokasyonlara bakınız). Diğer bir bulgu da, *B. distachyon* bireylerinin simpatrik popülasyonlarıyla aynı lokasyondan gelen Linos popülasyonunun (51 kod numaralı) diyagramın alt kısmında yerleşmiş olmasıdır. Aynı lokasyonun *B. distachyon* bireylerindeki (Linos) farklılaşma, bu popülasyonun bireylerini iki türde birleştirmeden önce de gözlenmiştir. Bu popülasyonların ilk iki eksene yayılması, simpatrik ve *B. hybridum* popülasyonlarının ilişkileri hakkında herhangi bir özel bilgi sağlamamıştır.

Çizelge 4.28. Nei yansız genetik mesafe matrisiyle oluşturulan PCoA'nın ilk üç ekseninde açıklanan varyans

Eksen	1	2	3
Varyasyon (%)	30.52	20.90	11.72
Kümülatif varyasyon (%)	30.52	51.41	63.13



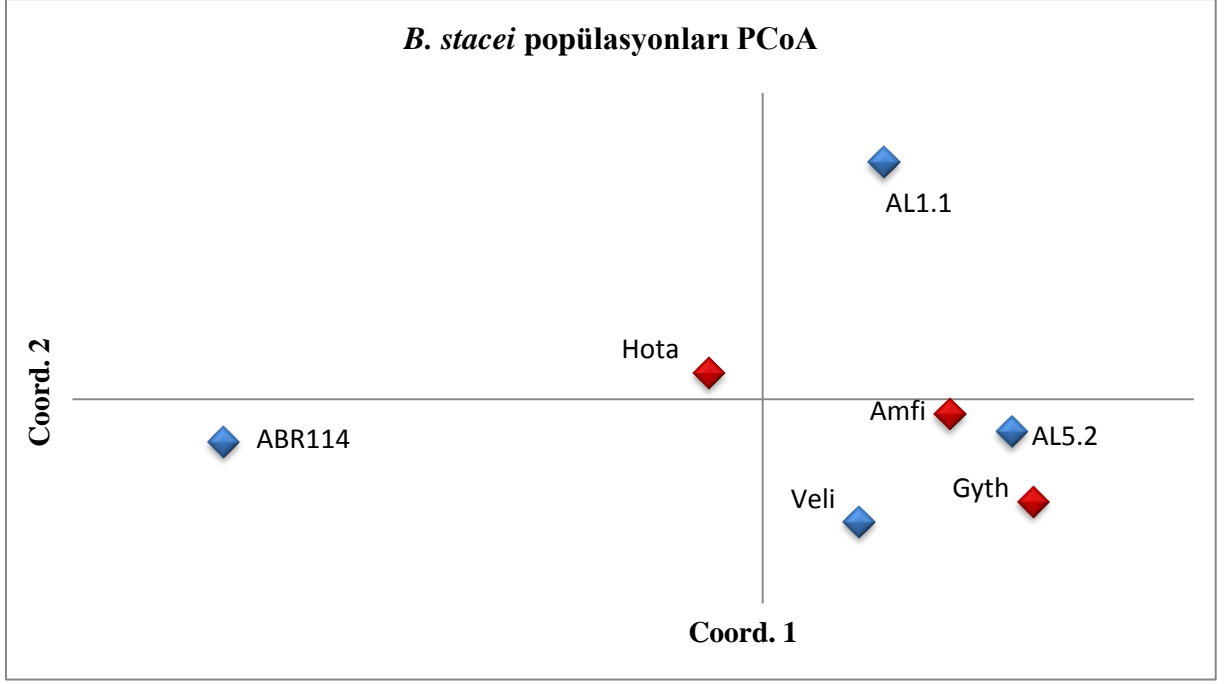
Şekil 4.45. GenAlEx yazılımında Nei yansız genetik uzaklık matrisiyle oluşturulan 19 *B. hybridum* popülasyonunun PCoA'sı. Turuncu renk *B. hybridum* popülasyonları, kırmızı renk *B. stacei* ile simparik popülasyonları ve gri renk *B. distachyon* ile simpatik popülasyonları göstermektedir.

4.7.8. *B. stacei* popülasyonu ile PCoA

Nei genetik uzaklık matrisi ile oluşturulan 7 *B. stacei* popülasyonunun PCoA'sı, ilk 3 koordinatla varyansın %86.92'sini açıklamaktadır (Çizelge 4.29). Varyasyonun yarısından çoğu birinci eksendedir (52.65%). İkili uzaklıklar EK 26'daki çizelgede verilmiştir (Şekil 4.46).

Çizelge 4.29. Nei genetik uzaklık matrisiyle oluşturulan PCoA'nın ilk üç ekseninde açıklanan varyasyon

Eksen	1	2	3
Varyasyon (%)	52.65	26.33	7.94
Kümülatif varyasyon (%)	52.65	78.98	86.92



Şekil 4.46. GenAlEx yazılımında Nei genetik uzaklık matrisiyle oluşturulan 7 *B. stacei* popülasyonunun PCoA'sı. Mavi renk *B. stacei* popülasyonlarını ve kırmızı renk *B. hybridum* ile simpatrik popülasyonları göstermektedir

Burada, *B. stacei* türü çok yaygın olmadığını ve sadece bazı popülasyonlarının, özellikle ABR114 aksesyonunun yeterince çalışılmış olduğunu belirtmeliyiz. Bu çalışma, bu yüzden 7 farklı popülasyonla *B. stacei* türünün genetik çeşitliliğini keşfetmek için eşsiz bir fırsat sağlamaktadır.

4.8. Genetik, Fenotipik ve Coğrafik Uzaklık Korelasyonu

Fenotipik ve genotipik veri analizlerinin elde edilen önceki tüm sonuçları coğrafik uzaklık ile fenotip ve genotip arasında bir ilişkinin var olabileceğini düşündürmektedir. Bunlar arasında bir korelasyon olup olmadığını tespit etmek amacıyla iki çift Mantel testi gerçekleştirilmiştir.

4.8.1. Coğrafik ve genotipleme verileri arası Mantel testi

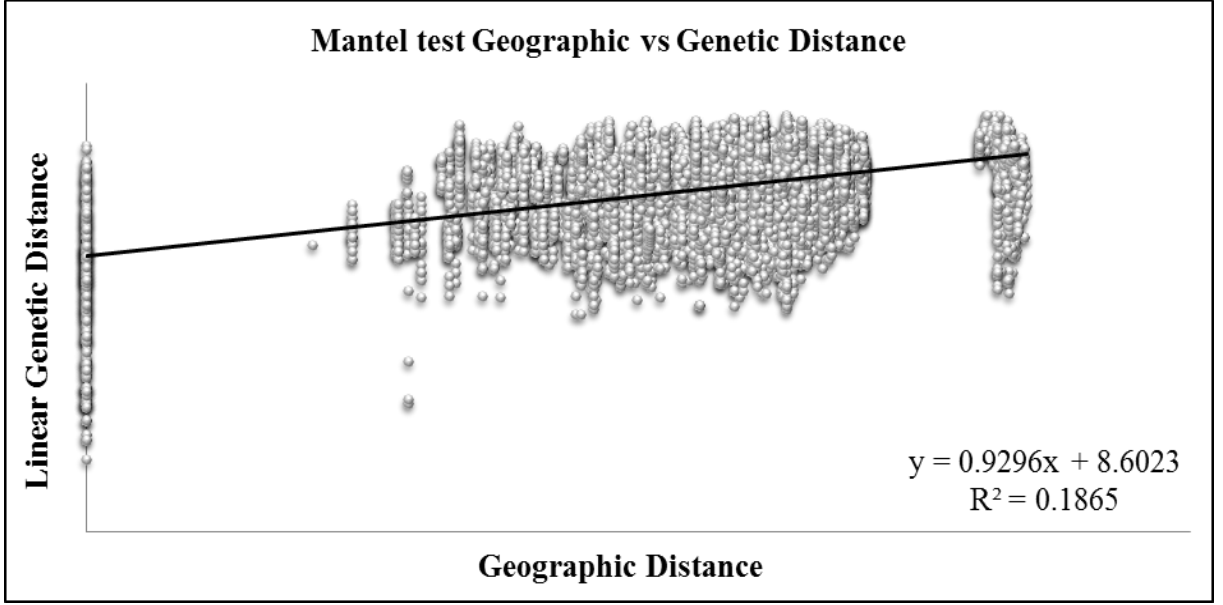
Üç türün 187 bireyinde genetik uzaklıkla coğrafik uzaklık arasında yapılan karşılaştırma, aralarında istatistiksel olarak önemli orta seviyede pozitif bir korelasyon ($R_{xy}=0.432$, $P=0.001$) olduğu ortaya konulmuştur (Çizelge 4.30). Başka bir deyişle, incelenen bireylerdeki genetik farklılaşmanın %18.6'sı coğrafik uzaklıktan kaynaklanmaktadır.

Aşağıdaki şekilde ikili değerler ve oluşturulan Mantel testi regresyon eşitliği sunulmuştur (Şekil 4.47). Ayrıca bu korelasyon, *B. distachyon*'un özellikle kuzey Yunanistan'dan, *B. hybridum*'un da güney Yunanistan'dan toplandığı koleksiyon lokasyonlarını gösteren haritadaki türlerin dağılımının dolaylı bir şekilde olası açıklaması olabilir (Şekil 4.33). Elbette, coğrafik koordinatlar, bu çalışmada ele alınmayan diğer çevresel parametrelere az da olsa bağlı olan bu dağılımın nedenlerinden yalnızca biridir.

Çizelge 4.30. Üç türün 187 bireyi, yalnız Yunanistan orijinli üç türün 183 bireyi ve 119 *B. distachyon* bireyleri arası üç farklı Mantel testinin istatistiksel ölçümleri

Bireyler	Kareler Toplamı (x)	Kareler Toplamı (y)	Toplam Çarpım (xy)	Korelasyon Katsayısı (Rxy)	P
187 (Yunanistan-İspanya)	4250.576	19691.548	3951.246	0.432	0.001
183 (Yunanistan)	3478.431	18696.315	3550.336	0.440	0.001
119 <i>B. distachyon</i>	1767.647	8073.711	1847.447	0.489	0.001

Yunanistan ana koleksiyonundan oldukça uzak olan, İspanya orijinli bireyler yüzünden oluşabilecek olası suni (artifact) sonuçları engellemek için özellikle Yunanistan'dan toplanmış 183 bireyle başka bir Mantel testi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz öncekine göre biraz daha büyük korelasyon katsayısı ($R_{xy}=0.440$, $P=0.001$) vermiş ve Yunanistan *Brachypodium* spp. koleksiyonunda coğrafi ve genetik uzaklık arasında istatistiksel olarak önemli orta seviyede pozitif bir korelasyon göstermiştir. Koleksiyonun en önemli parçasını oluşturan *B. distachyon* türünün analizi incelediğinde, korelasyon katsayısının daha da arttığı görülmüştür ($R_{xy}=0.489$, $P=0.001$). Bu da göstermektedir ki, coğrafik ve genetik uzaklık arasında orta seviyede pozitif bir korelasyon vardır ve incelenen *B. distachyon* bireylerindeki genetik farklılığın %23.9'u coğrafik dağılımdan kaynaklanmaktadır (Çizelge 4.30).



Şekil 4.47. Üç türün 187 bireyinin coğrafik ve genetik uzaklık matrisleri arası Mantel testi regresyonu

Bakker ve ark. (2009) Kaliforniya’da ekstradan topladıkları yeni *B. hybridum* bireylerinin koleksiyonuyla birlikte *Brachypodium*’un benzer üç türünü inceleyip Kaliforniya aksesyollarının coğrafik uzaklıkla ile genetik farklılık arasındaki bir korelasyon gösterdiğini bulmuşlar (Mantel $r=0.3844$, $P<0.001$) ve bunun mesafe izolasyonunun bir kanıtı olabileceğini rapor etmişlerdir. Avrasya aksesyolları arasında yaptıkları mesafe izolasyon çalışmasında zayıf bir korelasyon bulmuşlardır ($r=0.2859$, $P<0.001$). Diğer yandan, Filiz ve ark. (2009) popülasyonların coğrafik ve genetik uzaklıkları arasında yaptıkları karşılaştırmalarda, coğrafik bölgeler içinde pozitif bir korelasyon bulamamışlardır.

Zhang ve ark. (2011) microsattelit markörlerle diğer türlerden kakaodaki genetik çeşitliliği incelemişler, coğrafik ve genetik uzaklıklar arasında pozitif ilişki bulunduğunu rapor etmişlerdir ($R_{xy}=0.276$, $p<0.001$). Yabani arpada (*Hordeum spontaneum*) Hübner ve ark. (2009), 42 SSR markör kullanarak genetik ve coğrafik uzaklık veri matris logaritmaları (log) arasında, popülasyonlar arası mesafe izolasyonun etkilerini göstererek, bir korelasyon ($r=0.3$, $P<0.0001$) bulunduğunu bildirmişlerdir. Oliveira ve ark (2012) tarafından incelenen tetraploid yerel buğday çeşitlerinden, İberya yarımadası’ndan 53 sert buğday aksesyolunda genetik ve coğrafik uzaklık arasında istatistiksel olarak önemli, fakat zayıf seviyede korelasyon ($r=0.211$, $p<0.001$) bulmuşlardır.

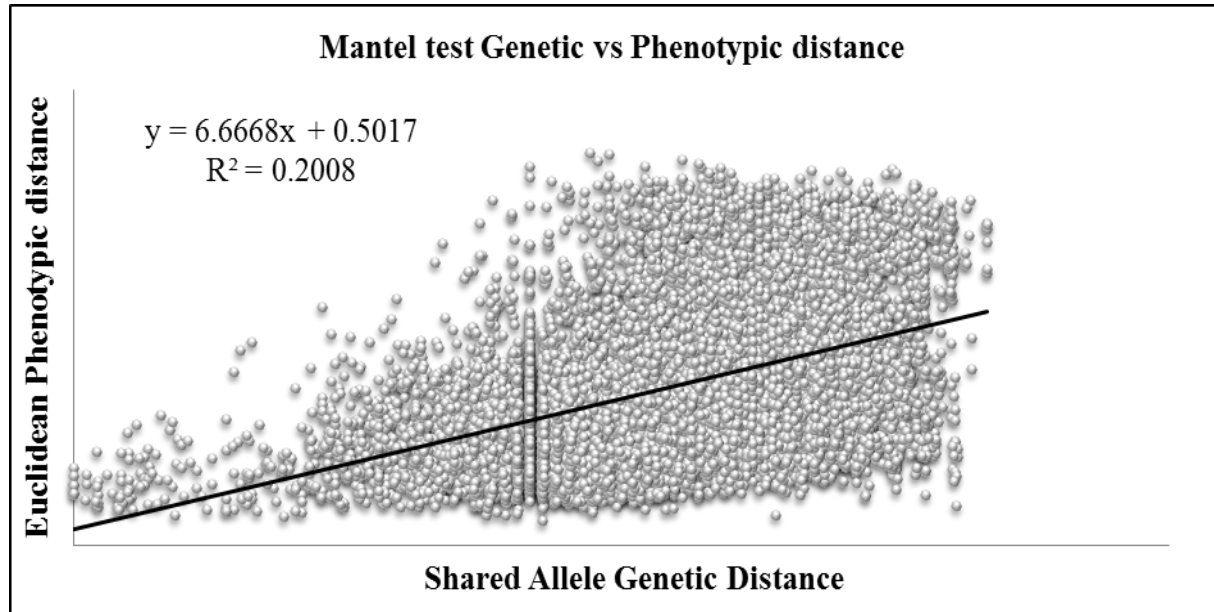
Yukarıdaki bilgiler göz önüne alındığında, esasen *B. distachyon*'un kendine dölleme özelliği yüzünden, Yunanistan'dan toplanan *B. distachyon* türlerinde coğrafik uzaklıkla genetik farklılaşma arasında, diğer türler için bildirilen değerlerden daha kuvvetli orta seviyede bir korelasyon ($R_{xy}=0.489$) bulunduğu görülmektedir.

4.8.2. Genotipleme ve fenotipik verilerin Mantel testi

Üç türün 188 bireyinde fenotipik karakteristiklerin Öklid uzaklığına göre allel paylaşım genetik uzaklığı kıyaslandığında, aralarında istatistiksel olarak önemli orta seviyede bir korelasyon ($R_{xy}=0.448$, $P=0.001$) görülmektedir (Çizelge 4.31). Bu incelenen bireylerde fenotipik varyasyonun %20'sinin genetik farklılıktan kaynakladığı anlamına gelmektedir. Aşağıdaki şekilde Mantel testi regresyonunun oluşturduğu ikili değerler sunulmuştur (Şekil 4.48).

Çizelge 4.31. Üç türün 188 bireyinin genetik ve fenotipik uzaklık matrisleri arası Mantel testi istatistiksel ölçümleri

Bireyler	Kareler Toplamı (x)	Kareler Toplamı (y)	Toplam Çarpım (xy)	Korelasyon Katsayısı (R_{xy})	P
188	387.477	85748.389	2583.222	0.448	0.001



Şekil 4.48. Üç türün 188 bireyinin allel paylaşım genetik ve Öklid fenotipik uzaklık matrisleri arası Mantel testi regresyonu

Beyene ve ark. (2005) korelasyonu 0.43 (SSR) ile 0.39 (AFLP) olan markörlere dayanarak ($p=0.001$), bu üç bağımsız veri setinin neredeyse benzer genetik çeşitlilik şeklini gösterdiğine işaret ederek, 62 yayla mısır aksesyonunu inceleyip, morfolojik ve genetik farklılık (dissimilarity) matrisleri arasında korelasyon bulunduğunu bildirmiştir. Buna karşın, Zhang ve ark. (2012), Çin’de susam ana koleksiyonunda fenotip ve moleküler markörler kullanarak, moleküler ve fenotipik seviyelerdeki önemli düzeyde tutarsız genetik çeşitliliğin durumunu (assessment) ortaya çıkarmışlardır. Fenotip ve moleküler markör bilgileri ($r=0.0043$, $t=0.1320$, $P=0.5525$) arasında yapılan bir Mantel testi, önemsiz seviyede korelasyon göstermiştir.

Bu çalışmada elde edilen fenotipik ve genetik uzaklık matrisleri genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) gibi başka yaklaşımlarla daha iyi incelemek için yeterince güçlüdür; nitekim çok sayıda biyoinformatik araçları *Brachypodium* araştırma camiasının hizmetinde olup, geniş bir markör çeşitliliği de oluşturulmuştur.

4.9. Genetik Verilerle Filogenetik Yaklaşımlar

4.9.1. Üç türün bireyleriyle filogeni

1000 bootstrap desteği sonrası allel paylaşım (D_{SA}) uzaklık matrisi yoluyla üç türün 192 bireyinin topolojisiyle oluşturulan komşu birleştirme (NJ) uyum ağacı Şekil 4.49’da sunulmuştur. Şekilde de görüldüğü üzere, ağaç %77.6’lık bootstrap desteğiyle iki ana kümeden (kırmızı klad ağacın ortasındadır) oluşmaktadır. Birinci küme *B. distachyon*’un tüm bireylerini, ikinci küme de tüm *B. hybridum* ve *B. stacei* bireylerini içermektedir.

İlk ana kümede, eşit olmayan üyeleriyle üç alt küme bulunmaktadır (Şekil 4.52). Birinci alt kümede tüm Kilk popülasyonun bireylerine ilaveten, Edes-2, Edes-5, Edes-7, Linos-4 ile Bd21, Bd21-3 Koz-3 ve HU1.6 bireyleri yer almaktadır. Bu gruplar aynı kümede yer almalarına rağmen, bir birinden son derece farklı iki gruba ayrılmaktadırlar. Yunanistan’dan olan bireyler aralarında %100’lük bootstrap desteğiyle gruplanırken, kontrol aksesyonları grubu % 86.6’lık bootstrap ile diğerlerinde ayrılarak gruplanmışlardır.

İkinci alt kümenin % 99.2’lik bootstrap desteğiyle, genetik karakterizasyonda *B. distachyon*’un geriye kalan bireylerinden ilk defa ayrılmış olan, Viti-8 ve Viti-6 olmak üzere yalnız iki üyesi bulunmaktadır. Bu yeni bulguyu açıklamak üzere, tekrar PCoA analizine

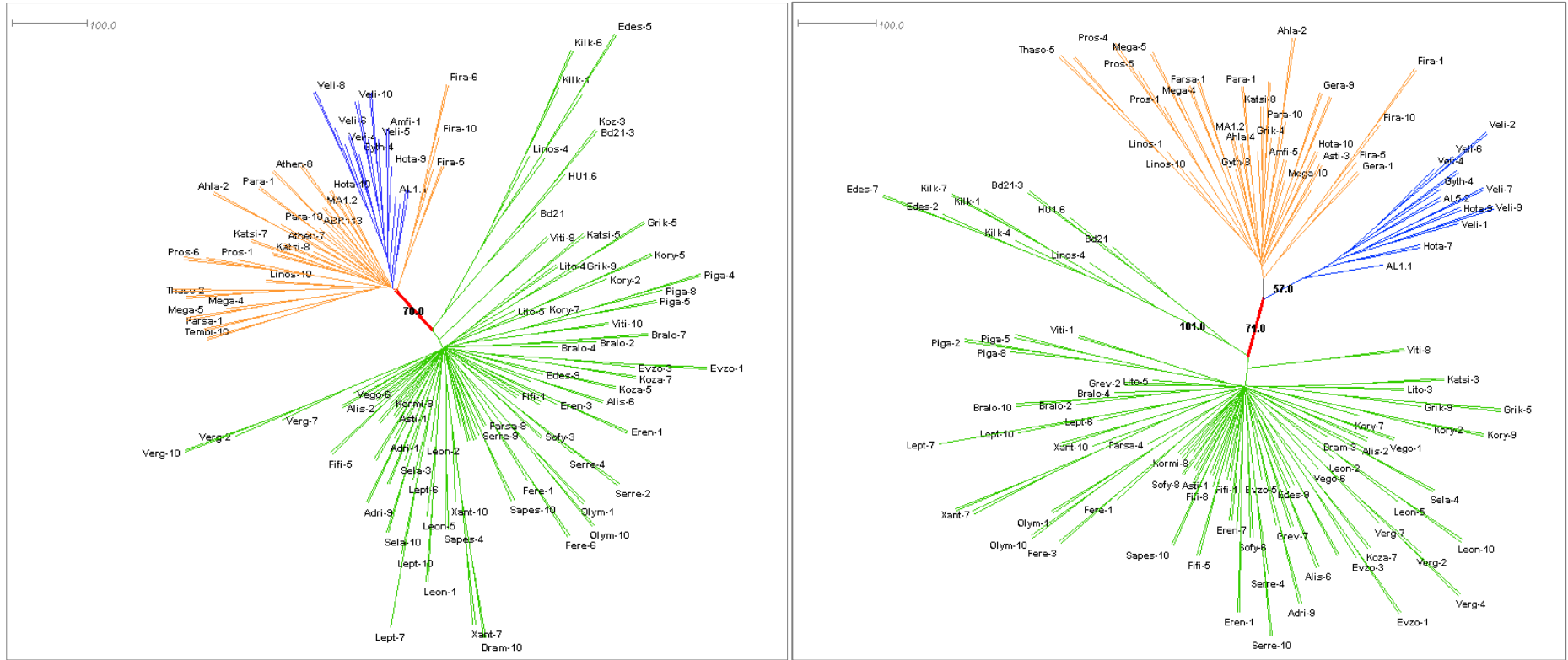
dönülüp özdeğer vektörlerinin bütün değerleri incelendiğinde, 11 ve 16 eksenlerinin bu bireylerin varyasyonlarını verdiği görülmüştür. Aslında PCoA'da bu iki eksen grafikleştirildiği zaman, Viti-6 ile Viti-8'in diğerlerin oldukça uzakta birlikte kümeleştikleri görülmektedir. Bu, iki farklı analizi değerlendirmek ve değişken yöntemleriyle sonuçların çapraz kontrolünün önemini gösteren iyi bir örnektir.

Son olarak, üçüncü alt küme de, yalnızca aydınlatıcı olmayan alt kladlarda yüksek bootstrap desteğiyle *B. distachyon*'un geriye kalan tüm bireylerini içermektedir.

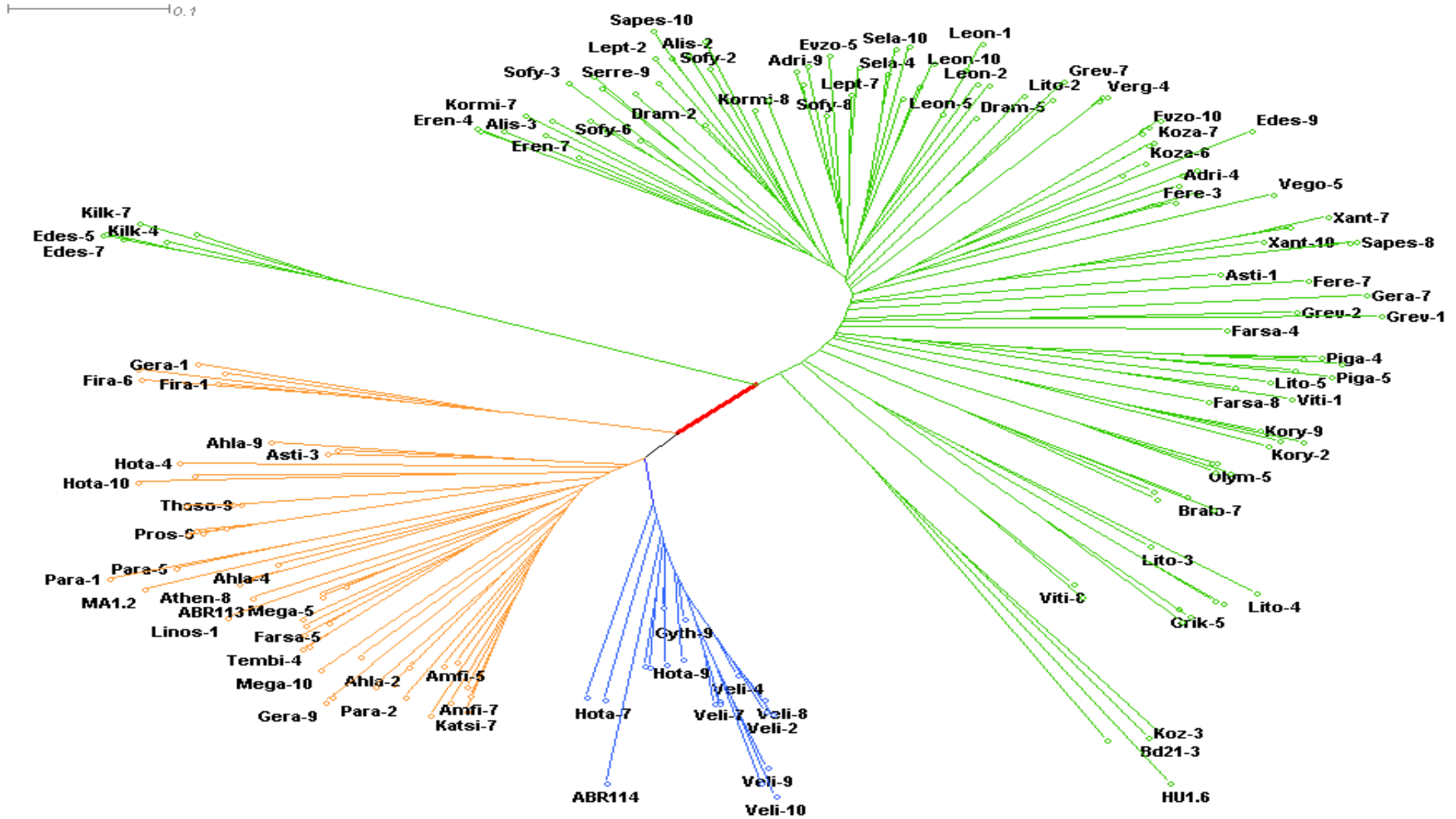
Ağacın ikinci ana kümesinde, *B. stacei* türü bireyleri %54.5'lik bootstrap desteğiyle, *B. hybridum* türünün bireylerinden ayrılarak kendi alt kümesini oluşturmuştur (Şekil 4.49). *B. hybridum* bireyleri içinde bootstrap değerleri: (a) Pros popülasyonu bireylerinin % 99.9'lük bootstrap desteğiyle birlikte kümelendikleri, (b) Fira popülasyonu bireylerinin %50.2'lik bootstrap desteğiyle birlikte kümelendikleri ve (c) Hota-4 ile Gera-1'in Fira bireylerinin yanında %50.1'lik bootstrap desteğiyle yer aldıkları bu üç durum dışında kayda değer değildir. %70'ten daha küçük olan bootstrap destek değerleri bile ağacın topolojisini açıklamak için yeterli olarak kabul edilmemektedir. Bu sonuçlar, daha önce genetik veriyle yapılan PCoA ve fenotipik veriyle yapılan PCA analizleriyle de doğrulanmıştır.

Buna ilaveten, Şekil 4.50'de sunulan ve aynı topolojiyi veren diğer iki NJ ağacı, 100'lük bootstrap desteği sonrası Nei's (D_A) genetik uzaklık ve Cavalli-Sforza ve Edward (D_C) yöntemleriyle oluşturulmuştur. Bu iki ağaç, *B. distachyon*'un diğer iki türden ayrılmasında neredeyse aynı şekilde alt küme oluşturarak, %70'lik bootstrap desteğiyle benzer şekilde oluşmuştur.

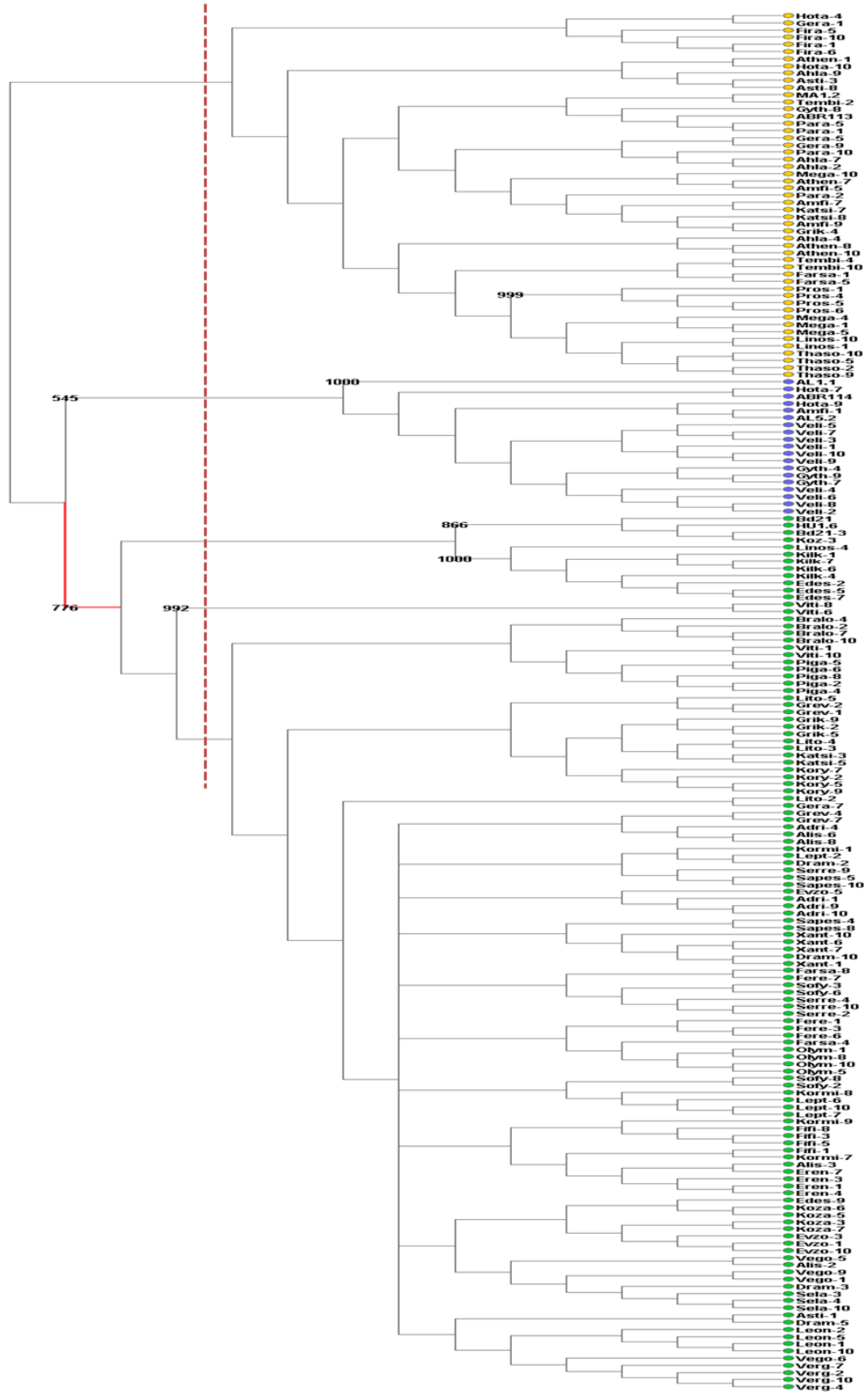
Nei (D_A) genetik uzaklık bazında Fitch-Margoliash yöntemiyle oluşturulan ağaç, Şekil 4.51'de sunulmuştur. Fitch-Margoliash yöntemiyle filogenetik ağaç oluşturulmasının nedeni NJ yöntemiyle elde edilen topolojinin çaprazlama kontrolüdür. Ağaçtan da anlaşılacağı üzere, aralarında bazı küçük farklılıklar bulunmasına rağmen, ana tipoloji NJ yöntemiyle oluşturulanlarla neredeyse aynıdır. Üzerinde bootstrapping uygulanmadığı için bu ağaç hakkında daha detaylı bilgi verilmeyecektir.



Şekil 4.50. Yüz bootstrap sonrası D_A uzaklık bazlı oluşturulan komşu birleştirme (NJ) radyal filogramları (Solda) ve 100 bootstrap desteğiyle D_C (sağda). Yeşil, turuncu ve kırmızı renkler sırasıyla *B. distachyon*, *B. hybridum* ve *B. stacei* bireylerini temsil etmektedir



Şekil 4.51. Nei 1983 (D_A) uzaklık matrisi bazında Fitch Margoliash yöntemiyle oluşturulan radyal filogram. Yeşil, turuncu ve kırmızı renkler sırasıyla *B. distachyon*, *B. hybridum* ve *B. stacei* bireylerini temsil etmektedir



Şekil 4.52. Bin bootstrap sonrası D_{SA} uzaklık matrisiyle üç türün 192 bireyinin topolojisiyle oluşturulan komşu birleştirme (NJ) uyum dikdörtgen Yeşil renk *B. distachyon*, turuncu renk *B. hybridum* ve mavi renk *B. stacei* bireylerini göstermektedir. Kırmızı kesikli çizgi ağacı beş alt kümesini tanımlamaktadır. Kladlar üzerindeki sayılar bootstrap destek değerlerini göstermektedir

4.9.2. *B. distachyon* türünde filogeni

Yüz bootstrap sonrası allel paylaşım uzaklık matrisi yoluyla 122 *B. distachyon* bireyinin topolojisiyle oluşturulan komşu bileştirme (NJ) uyum ağacı Şekil 4.53'de sunulmuştur. *B. distachyon* bireylerinin uyum kladogramında görüldüğü üzere, bireyler üç kümeye ayrılmıştır. İlki, %83'lük bootstrap desteğiyle geriye kalanlardan ayrılan Bd21, Bd21-3, Koz-3 ve HU1.6 bireylerini içermektedir. İkinci küme Yunanistan'dan toplanmış tüm bireylerden %100'lük bootstrap desteğiyle ayrılan 8 bireyi (Kilk-1, Kilk-4, Kilk-6, Kilk-7, Edes-2, Edes-5, Edes-7 and Linos-4) içerirken, üçüncüsü de geriye kalan diğer tüm bireyleri içermektedir.

Viti popülasyonu bireyleri önceki kümenin yanına beraber kümelenmiş olmakla birlikte, bootstrap desteği onların bir küme olarak tanımlanmalarını sağlayacak yeterlilikte değildir. Üç türün önceki NJ ağacında Viti-6 ile Viti-8 bireyleri birlikte kendi alt kümelerini oluşturmuş; ancak sadece *B. distachyon* bireylerinin kümelenmelerinde bu alt küme bootstrap ile desteklenmemiştir. Bu şaşırtıcı sonuç, NJ algoritma uygulama işlemi sırasında genetik uzaklığın yeniden hesaplamasıyla açıklanabilir.

Benzer bir çalışmada, Vogel ve ark. (2009), çoğu Türkiye'den toplanmış 187 *B. distachyon* bireyini inceleyerek, SSR markörlerini baz alarak bir uyum ağacı oluşturmuşlardır. Oluşturulan ağaç yüksek bootstrap desteğiyle açık bir şekilde iki ana grubu ortaya çıkarmıştır. Bd21 ve Bd21-3 hatlarının, diğer hatlara nazaran bir birleriyle çok yakından ilişkili oldukları tespit edilmiş; bizim çalışmamızdakine benzer şekilde belirgin bir farklılık göstermişlerdir.

Hammami ve ark. (2014), İspanya'dan toplanmış *B. distachyon*, *B. hybridum* ile *B. stacei* yabancı popülasyonları üzerine yaptıkları bir çalışmada SSR markörlerini baz alarak popülasyonların dendrogramını oluşturmuşlardır. Çalışma sonuçlarına göre; her türün popülasyonları birlikte gruplaşırken, *B. distachyon* türü içinde Bd21 diğerlerinden ayrılmıştır.

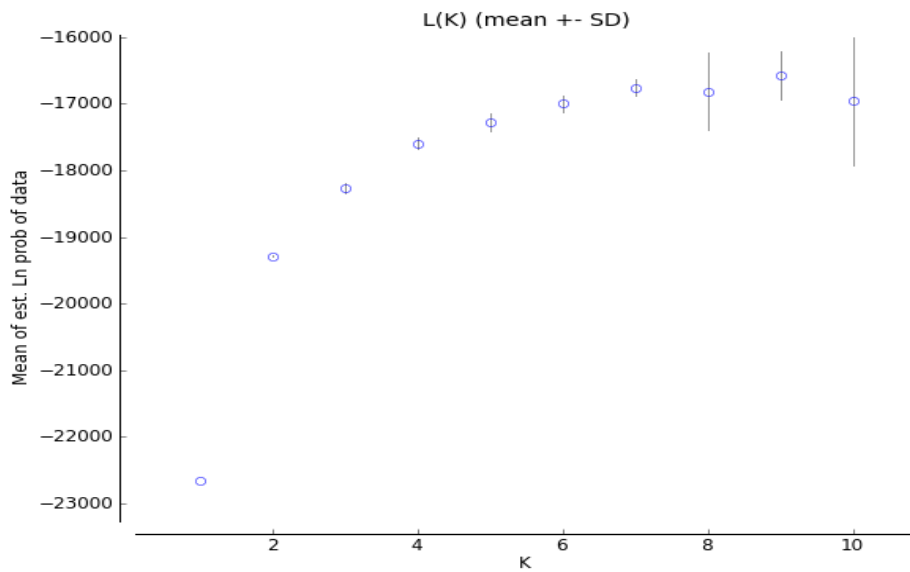
Yukarıdaki bilgiler ışığında, Bd21 kendilenmiş hattının Akdeniz bölgesinden toplanmış diğer yabancı bireylerin büyük çoğunluğundan tamamen ayrıştığı görülmektedir. Bu durum iki olası şekilde açıklanabilir. Birincisi, Bd21'in, diğer bireylerin büyük çoğunluğunun, bağlı olduğu Akdeniz bölgesinden (Yunanistan, Türkiye ve İspanya kökenli) farklı biyoklimatik özelliklere sahip İran-Turan bölgesine bağlı Irak'tan toplanmış olmasıdır. İkincisi ise, diğer çalışılan bireyler herhangi bir seleksiyona tabi tutulmadan doğrudan alandan

toplanırken, Bd21'in bazı fenotipik karakteristiklerinin seleksiyonuyla oluşturulan kendilenmiş bir hat olmasıdır.

4.10. Bayes Popülasyon Yapı Analizi

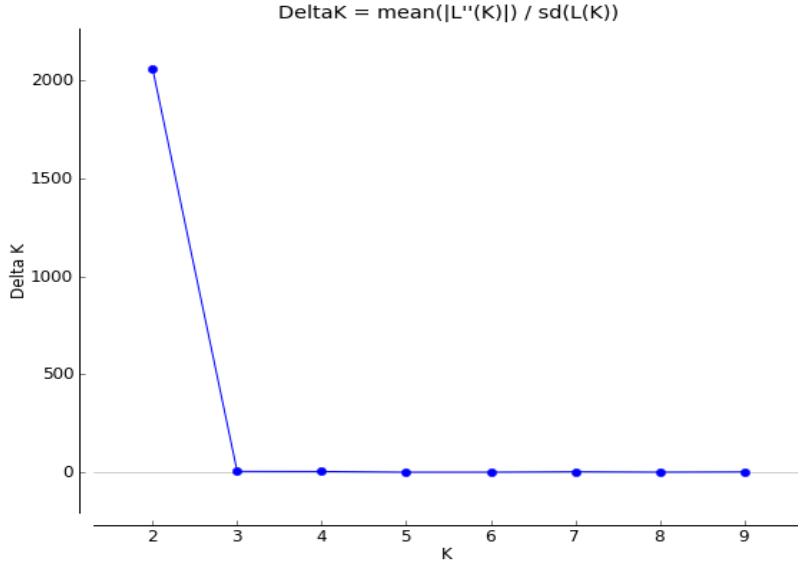
4.10.1. Tüm koleksiyonda genetik yapı

Üç türün birlikte popülasyon yapısı, STRUCTURE v.2.3.4 yazılımında Markov Chain Monte Carlo (MCMC) algoritmasının uygulandığı Bayes modeline dayalı kümelemeyle incelenmiştir (Pritchard et al. 2000). Modelleme varsayımları; popülasyonlar içinde Hardy-Weinberg eşitliği ile popülasyonlarda lokuslar arası tam bağ eşitliğidir. Popülasyonlarda tesadüfi eşleşme olmaması nedeniyle, varsayımların aşılma (violate) olasılığı göz önünde bulundurularak, STRUCTURE programıyla analizler gerçekleştirilmiştir. Ortalama log-olasılık eğrisi, ilerisinde ortalama log-olasılığın bir düzlüğe ulaştığı ve standart sapmanın yükselme tahminleriyle ilişkilendiği K=7 civarında maksimum bir değer almıştır (Şekil 4.54).



Şekil 4.54. Bir'den 10'a kadar her K değeri için 10 tekrar üzerinden ortalama log-olasılık . Düzleşme K=7 civarındadır.

Evanno ve ark. (2005) tarafından önerilen ΔK kriteri, Şekil 4.55'de görüldüğü üzere, iki grupta en yüksek değeri vermektedir. Bu yöntemin verilerde ilk yapısal seviyeye neden olduğu (Evanno ve ark. 2005, Emanuelli ve ark. 2013) bilinmekte olup, bu çalışmada da, filogenetik analizlerin ortaya koyduğu sonuçlarla uyumlu bir şekilde, *B. distachyon* bireylerinin *B. stacei* ve *B. hybridum*'dan ayrılmasını sağlamıştır.



Şekil 4.55. Evanno ve ark. (2005)'na göre K=2 değeriyle elde edilen en yüksek değerle 2'den 9 kümesine kadar olan Delta K değerleri

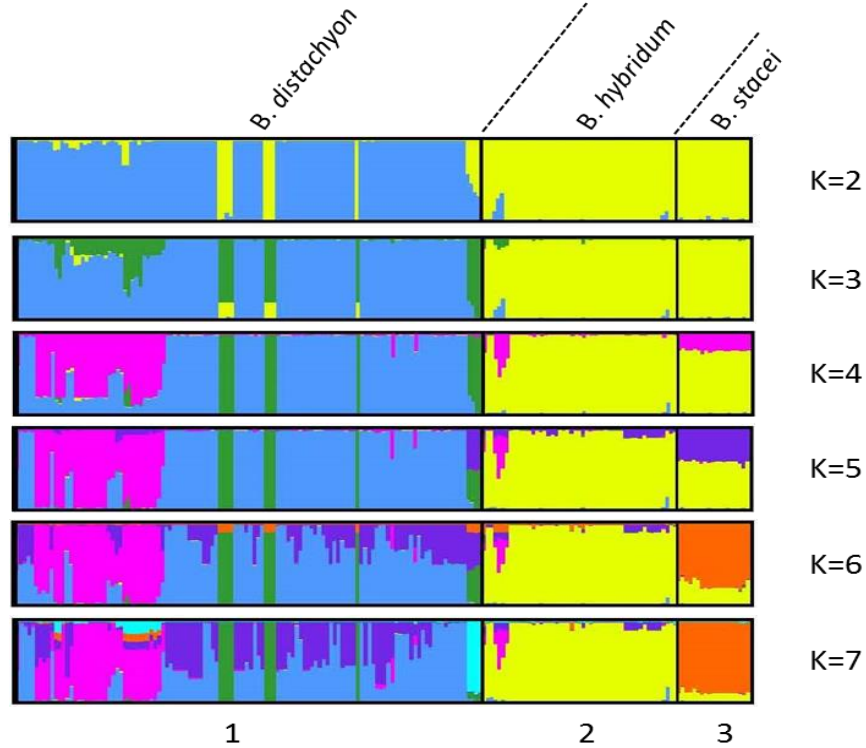
Çizelge 4.32'de 10 tekrar üzerinden ortalama log-olasılık değeri, standart sapma ve 1'den 10 kümesine kadar ΔK değeri verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, K=2'de en yüksek ΔK değeri oluşurken, K=7'de verilerin büyük ortalama log-olasılık değeri elde edilmiştir. K=6 ve K=7 için yapılan parametre dışı Wilcoxon testi istatistiksel olarak önemli seviyedeki büyük log-olasılık değerini K=7'de vermiştir; ancak bu rakam için yalnızca bireylerin %61'nin kümeleri $Q>0.75$ 'e sahipken (tahmin edilen üyelik katsayısı), K=2'de bireylerin %96'sı $Q>0.75$ 'e sahiptirler.

Çizelge 4.32. Bir ile 10 arasındaki her küme için ortalama log-olasılık değeri, standart sapma ve ΔK değeri. Evanno ve ark. (2005)'na göre en iyi K değeri tek yıldızlı ve Wilcoxon testine göre en iyi K değeri iki yıldızlı olandır

K	Tekrarlar	Ortalama LnP(K)	Std. Sapma LnP(K)	Delta K
1	10	-22658	0.12	—
2*	10	-19283	1.14	2059.66
3	10	-18262	76.95	4.57
4	10	-17593	90.07	3.93
5	10	-17279	129.97	0.25
6	10	-16996	128.11	0.38

K	Tekrarlar	Ortalama LnP(K)	Std. Sapma LnP(K)	Delta K
7**	10	-16762	123.39	2.30
8	10	-16813	574.06	0.51
9	10	-16573	368.57	1.70
10	10	-16959	959.73	—

SSR markörleri kullanılarak değişik yöntemlerle farklı K değerleri belirlendiğinden, *Brachypodium* spp. koleksiyonunun çıkarsamalı (inferred) popülasyon yapısının 2 ile 7 aralığında değişen K değeri Şekil 4.56'da gösterilmiştir. Üç türün bireyleri siyah çizgilerle ayrılmışlardır. Her birey, ikiden yediye kadar olan alt popülasyonlarda tahmin edilen üyelikleri oranında renkli sekmenlere bölünen tek bir dikey çizgiyle temsil edilmektedir.



Şekil 4.56. Koleksiyonun modele dayalı STRUCTURE programı kullanılarak oluşturulan çıkarsamalı popülasyon yapısı. Diyagram CLUMPP yazılımı kullanılarak K = 2'den K = 7'ye 10 tekrar üzerinden permüte edilen Q-matris uyumu baz alınarak DISTRUCT yazılımıyla oluşturulmuştur. Her birey, ikiden yediye kadar olan alt-popülasyonda tahmin edilen üyelikleri oranında renkli sekmenlere bölünen tek bir dikey çizgiyle

temsil edilmiştir. Y-ekseninde herhangi bir K kümesine atananların olasılığıdır. Siyah çizgi üç türün bireylerini ayırmaktadır.

K=2'de, *B. distachyon*'un, ikinci kümede bulunan Kilk-1, Kilk-4, Kilk-6, Kilk-7, Edes-2, Edes-5, Edes-7 ile Linos-4 bireyleri hariç, neredeyse tüm bireyleri ilk kümededir. İkinci kümede ise, *B. hybridum* ve *B. stacei* bireyleri bulunmaktadır. *B. distachyon* türünden Bd21, Bd21-3, Koz-3, HU1.6, Katsi-3 ve Katsi-5 ile *B. hybridum* türünden Fira-10 ve Fira-5 bireyleri iki kümeye bölünerek yüksek karışım (admixture) oranı göstermişlerdir.

K=7'de, *B. hybridum*, yüksek karışım oranına sahip Fira popülasyonları hariç olmak üzere, bir kümeden oluşmaktadır. Bu durumda *B. stacei* bireyleri önceki kümeden gelen küçük karışım oranlarıyla kendi kümelerini oluşturmuştur. *B. distachyon* türü: kontrol aksesyonları (Bd21, Bd21-3, Koz-3, HU1.6) için bir küme; Edes-2, Edes-5, Edes-7 ve Linos-4 bireyleriyle beraber Kilk popülasyonu için bir küme ve yüksek karışım oranlarıyla üç küme olmak üzere toplam 5 kümeden oluşmaktadır.

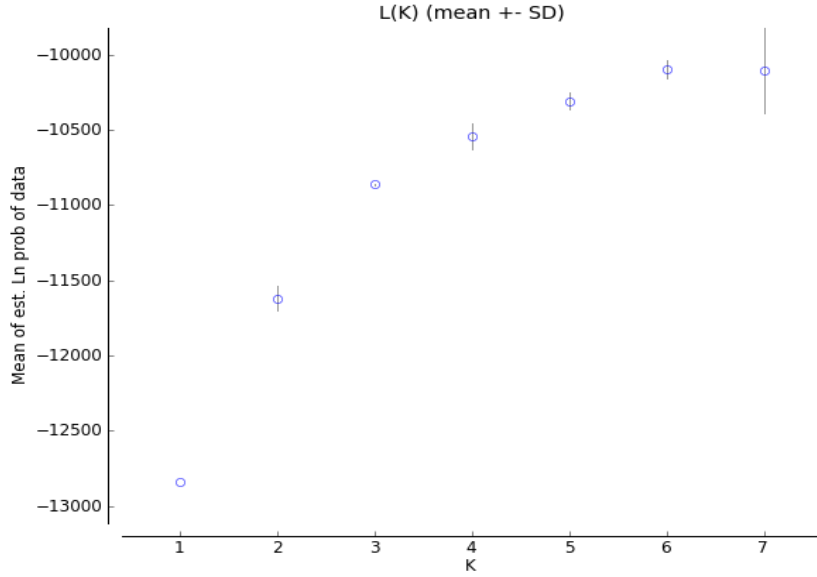
Ayrıca, Bakker ve ark. (2009), *B. distachyon*, *B. hybridum* ve *B. stacei* türlerinin 179 bireyinde STRUCTURE yazılımını kullanarak 12 microsatellit lokusu analiz ettikleri zaman, sonsal olasılığa göre K=7'de P değeri yüksek olmasına rağmen, iki coğrafik kümeyi gösteren $\Delta K=2$ 'yi bulmuşlardır.

Hemen hemen gerçekleştirilen tüm analizlerde, sadece iki küme kabul edildiğinde, Bayes modeline dayalı analizlerde onları *B. hybridum* ve *B. stacei* bireyleriyle beraber hatalı gruplanmaya zorlayan sekiz *B. distachyon* bireyinde güçlü bir ayrışma gözlenmiştir. Öte yandan, yüksek küme rakamlarında (4'ten 7'ye) bu hatalı gruplandırma ortadan kalmış, fakat karışık bireylerin yüzdesi artmıştır. Burada popülasyonla çok uyumlu olan küme sayılarının yansız seçimini sağlayan STRUCTURE programının neden olduğu popülasyon yapı analizinin temel problemiyle de karşılaşmıştır (Pritchard ve ark. 2000).

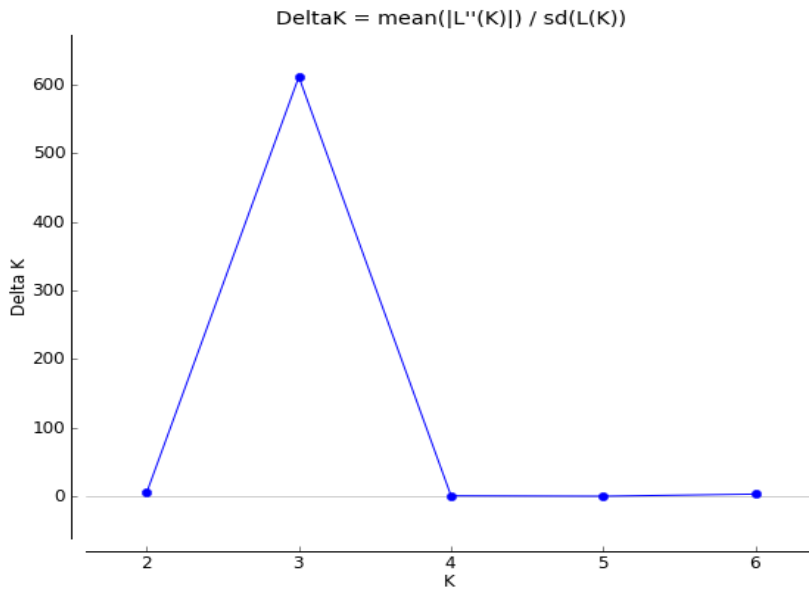
4.10.2. *B. distachyon*'da popülasyon yapısı

B. distachyon türü içindeki yapıyı ayrıntılı bir şekilde incelemek amacıyla 35 popülasyona karşılık gelen 122 *B. distachyon* bireyiyle (Bd21, Bd21-3 ve Koz-3 bir popülasyon olarak kabul edilmiştir) aynı analiz gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, ortalama log-olasılık eğrisi, ilerisinde ortalama log-olasılığının bir düzlüğe ulaştığı ve standart sapmanın

yükselme tahminleriyle ilişkilendiği $K=6$ civarında maksimum bir değer aldığını ortaya koymuştur (Şekil 4.57).



Şekil 4.57. Bir'den 7'ye kadar her K değeri için 10 tekrar üzerinden ortalama log-olasılık . Düzlük $K=6$ civarındadır.



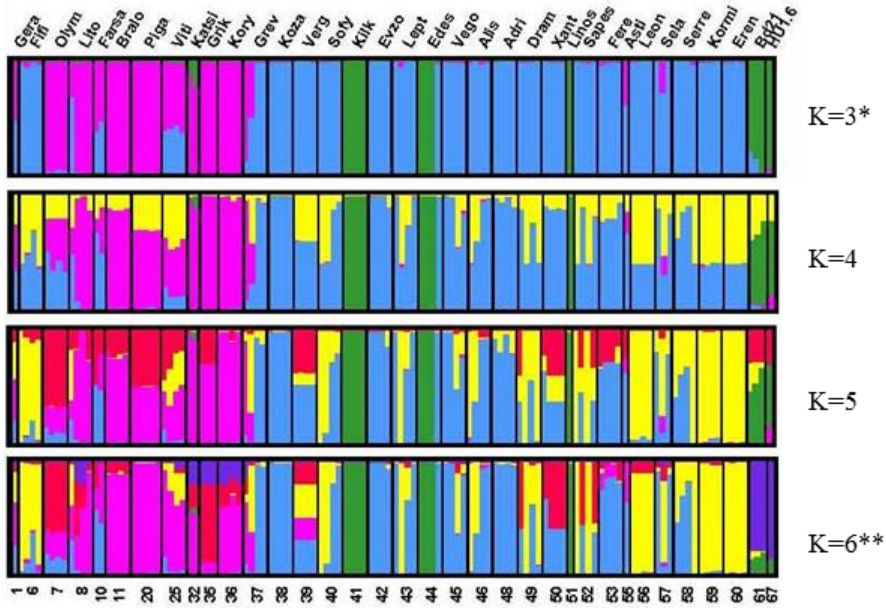
Şekil 4.58. Evanno ve ark. (2005)'na göre $K=3$ değeriyle elde edilen en yüksek değerle 2'den 6 kümesine kadar olan Delta K değerleri

Evanno ve ark. (2005) tarafından önerilen ΔK kriteri, Şekil 4.58’de görüldüğü üzere, üç grupta (K=3) en yüksek değeri vermektedir. Çizelge 4.33’de 10 tekrar üzerinden ortalama log-olasılık değeri, standart sapma ve 1’den 7 kümesine kadar ΔK değeri verilmiştir. Şekil 4.58’de görüldüğü üzere, K=3’de en yüksek ΔK değeri oluşurken, K=6’da verilerin büyük ortalama log-olasılık değeri elde edilmiştir. K=4, K=5 ve K=6 için yapılan parametre dışı Wilcoxon testi istatistiksel olarak önemli seviyedeki büyük log-olasılık değerini K=6’da vermiştir; ancak bu rakam için yalnızca bireylerin %64’ünün kümeleri $Q>0.75$ ’e sahipken (tahmin edilen üyelik katsayısı), K=3’te bireylerin %91’i $Q>0.75$ ’e sahiptirler.

Çizelge 4.33. Bir ile 7 arasındaki her küme için ortalama log-olasılık değeri, standart sapma ve ΔK değeri. Evanno ve ark. (2005)’na göre en iyi K değeri tek yıldızlı ve Wilcoxon testine göre en iyi K değeri iki yıldızlı olmaktadır

K	Tekrarlar	Ortalama LnP(K)	Std. Sapma LnP(K)	Delta K
1	10	-12838	0.08	NA
2	10	-11619	83.54	5.54
3*	10	-10863	0.72	611.05
4	10	-10545	84.10	1.23
5	10	-10330	96.69	0.64
6**	10	-10178	313.43	0.25
7	10	-10104	286.60	NA

Değişik yöntemlerle farklı K değerleri belirlendiğinden, *B. distachyon* türünün yeni koleksiyonunun çıkarsamalı popülasyon yapısının 3 ile 6 aralığında değişen K değeri Şekil 4.59’de gösterilmiştir. Üç türün bireyleri siyah çizgilerle ayrılmışlardır. Her birey, üçten altıya kadar olan alt popülasyonlarda tahmin edilen üyelikleri oranında renkli sekmenlere bölünen tek bir dikey çizgiyle temsil edilmiştir.



Şekil 4.59. Koleksiyonun modele dayalı STRUCTURE programı kullanılarak oluşturulan çıkarsamalı popülasyon yapısı. Diyagram CLUMPP yazılımı kullanılarak K= 3'den K= 6'ya 10 tekrar üzerinden permüte edilen Q-matris uyumu baz alınarak DISTRUCT yazılımıyla oluşturulmuştur. Her birey, üçten altıya kadar olan altpopülasyonda tahmin edilen üyelikleri oranında renkli sekmenlere bölünen tek bir dikey çizgiyle temsil edilmiştir. Y-ekseninde herhangi bir K kümesine atananların olasılığıdır. Siyah çizgi üç türün bireylerini ayırmaktadır.

Yukarıdaki şekilde de görüldüğü üzere (Şekil 4.59), K=3'de Kilk-1, Kilk-4, Kilk-6, Kilk-7, Edes-2, Edes-5, Edes-7, Lino-4, Bd21, Bd21-3, Koz-3, ve HU1.6 bireyleri yüksek bir üyelik katsayısıyla birlikte kümelenerek, kontrol aksesyonlarının Yunan bireylerinden ayrıldıkları K=6'ya kadar aynı şekli izlemişlerdir. Bu, Bayes modellemesi yoluyla elde edilen popülasyon yapısına ilişkin temel bulgu olup, PCoA ve filogeni analizleriyle daha önce elde edilen sonuçlarla da tamamen uyumludur.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, lokasyon başına 20 bitkiyle Yunanistan'ın 60 farklı lokasyonundan toplanmış ilk *Brachypodium* spp. koleksiyonu oluşturulmuştur. Koleksiyon, 27 *B. distachyon*, 23 *B. hybridum*, bir *B. stacei* ve 9 simpatrik popülasyondan meydana gelmektedir. Bu 9 simpatrik popülasyondan 6'sı *B. distachyon* ve *B. hybridum* bireylerinden, 3 popülasyonu da *B. hybridum* ve *B. stacei* bireylerinden oluşmaktadır. *B. hybridum*- *B. distachyon* ve *B. hybridum*-*B. stacei* bireylerinin simpatrik popülasyonları bulunurken, hiçbir *B. distachyon* ve *B. stacei* bireylerinin simpatrik popülasyonlarının bulunmaması oldukça dikkat çekicidir.

Kıyaslama için diğer koleksiyonlardan bazı bireylerle kontrol aksesyonları dahil edilerek, fenotipik karakterizasyon, sitogenetik analiz ve genetik karakterizasyondan oluşan üç farklı yaklaşımla incelenmiştir.

Fenotipik karakterizasyon 603 birey üzerinde 15 morfo-anatomik ve fizyolojik özelliklerinden elde edilen verilerin analiziyle gerçekleştirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler: *B. distachyon* bireylerinin genellikle daha fazla sap sayısı, salkımlı sap, başakcık, daha küçük tohumlara ve uzun başaklanma süresine; *B. stacei* bireylerinin ise, uzun ve geniş bayrak yapraklarıyla uzun boya, daha uzun salkıma ve daha kısa başaklanma süresine sahip olduklarını ortaya koymuştur. *B. hybridum* bireyleri, spesifik popülasyonlarının birinden veya diğerinden gelen bazı uç değerlerine rağmen, çoğunlukla bu iki türün değerleri arasında olmuştur.

Çok-değişkenli Varyans Analizi (MANOVA), istatistiksel olarak türler için hesaplanan bağımlı değişkenden kanonik olarak elde edilmiş % 76.4 varyansa işaret eden 0.764 etki değeriyle önemli seviyede gerçekleşmiştir. Etki değeri en yüksek salkımda kısmi $\eta^2 = 0,798$, en düşük boğumda kısmî $\eta^2 = 0,028$ olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada üç tür arasında ölçülen tüm fenotipik karakteristikler; toplam biyokütlede *B. distachyon* ve *B. hybridum* türleri ile sap sayısı, salkım sayısı ve tohum verimlerinde *B. hybridum* ve *B. stacei* türleri hariç olmak üzere, 0.05'lik önem seviyesinde ayrılmıştır.

Üç türün 603 bireyinden elde edilen fenotipik veriler, yapılan Temel Bileşenler Analizinde (PCA) aralarında küçük örtüşmeler olmasına rağmen, her türün bireylerini ayırmıştır. Toplam varyasyonun %67.48'i ilk iki bileşenle açıklanmıştır. Popülasyonlar seviyesinde PCA'nın ilk iki bileşeni toplam varyasyonun %71.4'ünü içermektedir. Kilk ve

Bd21-3 *B. distachyon* popülasyonları ile Pros, Fira ve Grik *B. hybridum* popülasyonlarında önemli ayrışma gözlenmiştir.

Fenotipik karakteristiklerle oluşturulan UPGMA kümelendi Yunanistan *B. stacei* bireylerini (Amfi-1 hariç), bütün diğer *B. stacei*, *B. distachyon* ve *B. hybridum* bireylerinden %100 bootstrap desteğiyle ayırmıştır.

Sadece *B. distachyon* türünün bireylerine ait fenotipik karakteristikler kullanılarak oluşturulan UPGMA kümelendi, üç ana küme ortaya çıkarmıştır. Kümelerden ilki sadece Bd21-3 bireyinden, ikincisi 31 bireyden ve üçüncüsü de geriye kalan diğer bireyden oluşmaktadır. İkinci kümede yer alan 31 bireyden 9'u genotiplemeyle analiz edilmiş olup bunlardan 8'i, iki analiz arasında güçlü bir ilişki göstererek genetik yapılarında kuvvetli bir ayrışma ortaya koymuştur.

Sadece *B. hybridum* türüne ait bireylerin fenotipik karakteristikleri esas alınarak elde edilen UPGMA kümelendi üç ana küme ortaya çıkarmıştır. Kümelerden ilki genetik karakterizasyona dahil edilmeyen Dafne-4 bireyinden, ikincisi Pros popülasyonunun tüm bireylerinden ve üçüncüsü geriye kalan diğer bireylerden oluşmaktadır. Pros popülasyonu genetik karakterizasyonda da ayırmıştır.

Yunanistan'dan toplanan 16 *B. stacei* bireyinden sadece Amfi-1, kümelendi fenotipik bakımdan ayrışarak, İspanya orijinli AL1.1 ile AL5.2 bireylerinin çok yakınında yer almıştır.

Sitogenik karakterizasyon bölümünde, oluşturulmuş olan yeni genetik kaynak koleksiyonun içerisinde yer alan tüm popülasyonların ortalama Çekirdek DNA içerikleri propidium iodide florasan boyası kullanılarak flow sitometri yöntemi ile belirlenmiştir. Bu analizlerden elde edilen sonuçlara göre koleksiyonu oluşturan 3 türün ortalama çekirdek DNA içerikleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. İlave olarak allotetraploid *B. hybridum* türünün çekirdek DNA içeriği, progenitörlerinin (*B. distachyon* ve *B. stacei*) çekirdek DNA içeriklerinin hemen hemen aritmetik toplamına eşit olduğu belirlenmiştir.

Ayrıca bu çalışmada ilk defa bir birine çok yakın çekirdek DNA içeriğine sahip olan *B. distachyon* ve *B. stacei* türlerinin flow sitometri ile kesin bir şekilde bir birinden ayrılabilmesi gösterilmiştir. *B. distachyon* türü içerisinde yer alan bireylerin çekirdek DNA miktarları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmasına rağmen, varyasyonun

flow sitometri metodunun % 4 civarında olan hassasiyet sınırları içerisinde yer almasından dolayı pek itibar edilmemesi gerekir. Diğer taraftan *B. distachyon* popülasyonlarının çekirdek DNA içerikleri ile toplandıkları lokasyonun rakımı arasında istatistiksel olarak önemli seviyede herhangi bir korelasyon bulunmadığı gözlenmiştir.

Koleksiyonun genetik karakterizasyonu 192 birey üzerinde 43 microsatellit lokusun polimorfizmi incelenerek gerçekleştirilmiştir. Kullanılan SSR markörleri *B. distachyon* ve *B. hybridum* türleri için başarılı, *B. stacei* türleri için sınırlı sonuçlar vermiştir. Bu durum, genomu yarı yarıya *B. distachyon* ve *B. stacei*'den gelen *B. hybridum*'un allopoliploidi yapısıyla uyumlu bir durumdur. Lokus üzerinden kendileşme katsayısı iki diploid tür için çok yüksek ve allotetraploid *B. hybridum* için orta derecededir. Heterozigot allotetraploid *B. hybridum* genomuna katkıda bulunan iki diploid anaç türün yüksek homozigot genomlara neden olan kleistogamik *B. distachyon* ve *B. stacei*'nin neredeyse sadece kendine döllenmiş üreme sistemi göz önüne alındığında, bunlar beklenen sonuçlardır.

Bu çalışmada, ALB004, ALB056, ALB100 ve ALB278 markörleri, basit agaroz jel elektroforezi ile *B. distachyon*, *B. hybridum* ve *B. stacei* türlerini bir birinden ayırt etmede yararlanılabilecek farklı ölçülerde fragmanlar üretmiştir.

Üç tür için yapılan Moleküler Varyans Analizi (AMOVA) sonuçları, aynı popülasyon bireylerinde büyük oranda varyasyon bulunduğunu göstermektedir. Fst değerlerine göre, *B. distachyon*, *B. hybridum* ile çok yakından ilişkili olup, onları sırasıyla *B. hybridum*-*B. stacei* ikilisiyle *B. distachyon*-*B. stacei* ikilisi izlemektedir. Nei genetik uzaklığı; *B. hybridum*-*B. stacei* ikilisinin bir birine daha yakın olduğunu ve onları *B. distachyon*-*B. hybridum* ikilisinin izlediğini, buna karşılık *B. distachyon*-*B. stacei* ikilisinden daha uzak oldukları sonucunu vermiştir.

Üç türün 192 bireyi ile gerçekleştirilen Temel Koordinatlar Analizi (PCoA), Nei (D_A) genetik uzaklık matrisiyle toplam varyasyonun %36.23'ünün ilk üç koordinatta açıklandığını göstermiştir. PCoA; bazı *B. hybridum* bireyleri grupların dışına dağılmış olmakla birlikte, iki ana kümesi *B. distachyon*, biri *B. hybridum* ve diğeri de *B. stacei* bireyleri için olmak üzere net bir şekilde dört küme tanımlamıştır. Sekiz *B. distachyon* bireyinden oluşan küçük bir grup (Kilk-1, Kilk-4, Kilk-6, Kilk-7, Edes-2, Edes-5, Edes-7 ve Linos-4) diğerlerinden ayrılmış görünmektedir. PCoA, grubun genetik yapısının kuvvetli olduğuna işaret ederek, benzer sonucu *B. distachyon* türü için de vermiştir.

B. hybridum türünde gerçekleştirilen PCoA'da; Pros, Thaso ve Linos popülasyonlarını içeren diğer küçük bir grup bulunmasına rağmen, Fira popülasyonu açık bir şekilde diğerlerinden ayrılmaktadır. Kuzey Yunanistan'dan toplanan bu üç popülasyon, izolasyonun uzaklıktan kaynaklanmış olabileceğinin düşündürmektedir.

Aslında, coğrafik ve genetik veriler arasındaki korelasyon incelendiğinde, *B. distachyon* analize dahil edildiği zaman kuvvetlenen ($R_{xy}=0.489$) istatistiksel olarak orta seviyede önemli pozitif bir korelasyonun ($R_{xy}=0.432$, $P=0.001$) bulunduğu görülmektedir.

Ayrıca koleksiyonun aynı yapısal deseni, fenotipik ve genetik verileri arasındaki ilişkinin incelenmesine neden olan değişken fenotipik ve genetik analizlerden kaynaklanmaktadır. Mantel testi genetik ve fenotipik uzaklık matrisleri arasında istatistiksel olarak önemli seviyede ($R_{xy}= 0.448$) korelasyon göstermiştir.

Genetik veriler kullanılarak gerçekleştirilen filogenetik analizlerden elde edilen sonuçlar, hem tüm koleksiyon hemde tür bazında daha önce elde edilen sonuçları destekler niteliktedir. Ayrıca filogenetik ağaç, *B. distachyon* bireyleri içinde Viti-6 ve Viti-8'i bireylerini kümeleyerek, diğerlerinden ayırıp başka bir olası farklılaşmayı da ortaya çıkarmıştır.

Üç türün birlikte popülasyon yapısı modele dayalı Bayes kümelemesiyle kısaca incelenmiştir. İlk aşamada *B. distachyon* türü, benzer özellikleri paylaşan diğer *B. hybridum* ve *B. stacei* türünden ayrılmıştır. Bunun yanı sıra, *B. distachyon* türü içinde, buradaki analizde kontrol aksesyonlarıyla pek çok ortak özellikleri var gibi görünen yukarıda belirtilen 8 bireyin farklılaşması, belirleyici olmuştur.

Bu çalışma kapsamında Yunanistanın farklı coğrafi bölgelerinden tohum toplamak suretiyle oluşturulmuş olan geniş doğal varyasyona sahip *Brachypodium* (*B. distachyon*, *B. hybridum* ve *B. stacei*) genetik kaynak koleksiyonu, *Brachypodium*' u araştırma programlarında model sistem olarak kullanan araştırmacılara büyük yarar sağlayacak niteliktedir. Bu nedenle koleksiyonun birer kopyası Türkiye ve Yunanistan' ın ulusal gen bankalarına hibe edilerek, koleksiyon bu alanda çalışan araştırmacıların hizmetine sunulacaktır.

B. distachyon üzerindeki çalışmalarımız bu tezin tamamlanmasından sonrada devam ettirilecek ve bu çalışma sırasında elde edilen fenotipik veriler ile genetik veriler kullanılarak genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) yapılacaktır. Buna ek olarak yine çalışma

kapsamında elde edilen verilerden yararlanılarak ileriki çalışmalarımız için bir ana (core) koleksiyon oluşturulacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Agarwal M, Shrivastava N, Padh H (2008). Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep*, 27: 617-631. doi 10.1007/s00299-008-0507-z.
- Andreakis N, Kooistra WHCF, Procaccini G (2009). High genetic diversity and connectivity in the polyploid invasive seaweed *Asparagopsis taxiformis* (Bonnemaisoniales) in the Mediterranean, explored with microsatellite alleles and multilocus genotypes. *Molecular Ecology*, 18: 212-226.
- Bai C, Alverson WS, Follansbee A, Waller DM (2012). New reports of nuclear DNA content for 407 vascular plant taxa from the United States. *Annals of Botany*, 110: 1623-1629. doi:10.1093/aob/mcs222.
- Bakker EG, Montgomery B, Nguyen T, Eide K, Chang J, Mockler TC, Liston A, Seabloom EW, Borer ET (2009). Strong population structure characterizes weediness gene evolution in the invasive grass species *Brachypodium distachyon*. *Molecular Ecology*, 18: 2588-2601. doi: 10.1111/j.1365 294X.2009.04225.x
- Barac G, Ognjanovq V, Obreht D, Ljubojevic M, Bosnjakovic D, Pejic I, Gasic K (2014). Genotypic and phenotypic diversity of cherry species collected in Serbia. *Plant Mol Biol Rep*, 32(1): 92-108. doi 10.1007/s11105-013-0601-4.
- Barrero JM, Jacobsen JV, Talbot MJ, White RG, Swain SM, Garvin DF, Gubler F (2011). Grain dormancy and light quality effects on germination in the model grass *Brachypodium distachyon*. *New Phytologist*, 193: 376-386. doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03938.x.
- Bennett MD, Bhandol P, Leitch IJ (2000). Nuclear DNA amounts in angiosperms and their modern uses: 807 new estimates. *Annals of Botany*, 86: 859–909.
- Bennett MD, Leitch IJ (1995a). Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Annals of Botany*, 76: 113-176.
- Bennett MD, Leitch IJ (1997). Nuclear DNA Amounts in Angiosperms: 583 New Estimates. *Annals of Botany*, 80 (2): 169-196.
- Bennett MD, Leitch IJ (2011) Nuclear DNA amounts in angiosperms: targets, trends and tomorrow. *Annals of Botany*, 107: 467-590.
- Bennett ST, Bennett MD (1992). Variation in nuclear DNA amount between wild and cultivated populations of *Millium effusum* (2n = 28). *Genome*, 35:1050-1053.
- Bevan MW, Garvin DF, Vogel JP (2010). *Brachypodium distachyon* genomics for sustainable food and fuel production. *Curr Opin Biotechnol*, 21(2): 211-217.
- Beyene Y, Botha AM, Myburg AA (2005). A comparative study of molecular and morphological methods of describing genetic relationships in traditional Ethiopian highland maize. *African Journal of Biotechnology*, 4(7): 586-595.

- Bragg JN, Wu J, Gordon SP, Guttman ME, Thilmony R, et al. (2012). Generation and characterization of the Western regional research center *Brachypodium* T-DNA insertional mutant collection. PLoS ONE, 7(9):e41916. doi:10.1371/journal.pone.0041916.
- Brkljacic J, Grotewold E, Scholl R, Mockler T, Garvin DF, Vain P, Brutnell T, Sibout R, Bevan M, Budak H, Caicedo A.L, Gao C, Gu Y, Hazen SP, Holt BF III, Hong SY, Jordan M, Manzaneda AJ, Mitchell-Olds T, Mochida K, Mur LAJ, Park CM, Sedbrook J, Watt M, Zheng SJ, and Vogel JP (2011). *Brachypodium* as a model for grasses: Today and the future. Plant Physiology, 157:3-13.
- Catalán P, Chalhoub B, Chochois Huan V, Garvin DF, Hasterok R, et al. (2014). Update on the genomics and basic biology of *Brachypodium*: International *Brachypodium* Initiative (IBI). Trends in Plant Science. 19(7): 414-418. doi:10.1016/j.tplants.2014.05.002.
- Catalán P, Kellogg EA, Olmstead RG (1997). Phylogeny of Poaceae subfamily Pooideae based on chloroplast ndhF gene sequencing. Molecular Phylogenetics and Evolution, 8: 1-18.
- Catalán P, Muller J, Hasterok R, Jenkins G, Mur LAJ, Langdon T, Betekhtin A, Siwinska D, Pimentel M, López-Alvarez D (2012). Evolution and taxonomic split of the model grass *Brachypodium distachyon* (L.) P. Beauv. Annals of Botany, 109(2): 385-405. doi:10.1093/aob/mcr294.
- Catalán P, Shi Y, Amstrong L, Draper J, Stace CA (1995). Molecular phylogeny of the grass genus *Brachypodium* P. Beauv. based on RFLP and RAPD analysis. Botanical Journal of the Linnean Society, 177: 263–280
- Cavalli-Sforza LL, Edwards AWF (1967) Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. Evolution, 21, 550-570.
- Cericola F, Portis E, Toppino L, Barchi L, Acciarri N, et al. (2013) The population structure and diversity of eggplant from Asia and the Mediterranean basin. PLoS ONE 8(9): e73702. doi:10.1371/journal.pone.0073702.
- Charrier O, Dupont P, Pornon A, Escaravage N (2014). Microsatellite marker analysis reveals the complex phylogeographic history of *Rhododendron ferrugineum* (Ericaceae) in the Pyrenees. PLoS ONE 9(3): e92976. doi:10.1371/journal.pone.0092976
- Chochois V, Vogel JP, Watt M (2012). Application of *Brachypodium* to the genetic improvement of wheat roots. Journal of Experimental Botany, 63(9): 3467-3474. doi:10.1093/jxb/ers044.
- Cohen, J. (1992). A power primer. Psychological Bulletin, 112: 155-159.
- Cramer E M & Bock R D (1966). Multivariate analysis. Review of Educational Research, 36: 604-617.
- Dell'Acqua M, Zuccolo A, Tuna M, Gianfranceschi L, Pè ME (2014). Targeting environmental adaptation in the monocot model *Brachypodium distachyon*: a multi-faceted approach. BMC Genomics, 15:801. doi:10.1186/1471-2164-15-801.

- Demircan T, Akkaya MS (2010). Virus induced gene silencing in *Brachypodium distachyon*, a model organism for cereals. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 100(1): 91-96.
- Doležel J, Bartoš J (2005). Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of Botany*, 95:99-110. doi:10.1093/aob/mci005.
- Doležel J, Bartoš J, Voglmayr H, Greilhuber J. 2003. Nuclear DNA content and genome size of trout and human. *Cytometry* 51: 127–128.
- Doležel J, Greilhuber J, Suda J (2007). Flow cytometry with plant cells, analysis of genes, chromosomes and genomes. Wiley-VCH, Weinheim. ISBN 978-3-527-31487-4.
- Doležel J, Sgorbati S, and Lucretti S (1992). Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. *Physiologia Plantarum*, 85: 625-631.
- Drader T, Kleinhofs A (2010). A synteny map and disease resistance gene comparison between barley and the model monocot *Brachypodium distachyon* Genome 53: 406-417. doi:10.1139/G10-014.
- Draper J, Mur LAJ, Jenkins G, Ghosh-Biswas GC, Bablak P, Hasterok R, and Routledge APM (2001). *Brachypodium distachyon*. A new model system for functional genomics in grasses. *Plant Physiology* 127(4): 1539-1555. doi:10.1104/pp.010196.
- Dufresne F, Stift M, Vergilino R, Mable BK (2014). Recent progress and challenges in population genetics of polyploid organisms: an overview of current state-of-the-art molecular and statistical tools. *Molecular Ecology*, 23:40-69. doi: 10.1111/mec.12581.
- Earl DA, von Holdt BM (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genet Resour*, 4: 359-361.
- Emanuelli F, Lorenzi S, Grzeskowiak L, Catalano V, Stefanini M, Troglio M, Myles S, Martinez-Zapater JM, Zyprian E, Moreira FM, Grandó MS (2013). Genetic diversity and population structure assessed by SSR and SNP markers in a large germplasm collection of grape. *BMC Plant Biology*, 13:39. doi:10.1186/1471-2229-13-39
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol*, 14: 2611-2620.
- Farooq S, Azam F (2002). Molecular markers in plant breeding-I: concepts and characterization. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 5 (10): 1135-1140.
- Farouk, S. Osmotic adjustment in wheat flag leaf in relation to flag leaf area and grain yield per plant (2011). *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7(2): 117-138.
- Febrer M, Goicoechea JL, Wright J, McKenzie N, Song X, Lin J, Collura K, Wissotski M, Yu Y, Ammiraju JSS, Wolny E, Idziak D, Betekhtin A, Kudrna D, Hasterok R, Wing RA, Bevan MW (2010). An integrated physical, genetic and cytogenetic map of *Brachypodium distachyon*, a model system for grass research. *PLoS ONE* 5(10): e 13461. doi:10.1371/journal.pone.0013461.

- Felsenstein J (1989). PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics* 5: 164-166.
- Filiz E, Koç I, Tombuloğlu H (2014). Genome-wide identification and analysis of growth regulating factor genes in *Brachypodium distachyon*: *in silico* approaches. *Turk J Biol* 38: 296-306. doi:10.3906/biy-1308-57.
- Filiz E, Ozdemir BS, Budak F, Vogel JP, Tuna M, and Budak H (2009a). Molecular, morphological, and cytological analysis of diverse *Brachypodium distachyon* inbred lines. *Genome*, 52(10): 876-890. doi:10.1139/g09-062
- Filiz E, Ozdemir BS, Tuna M and Budak H (2009b). Diploid *Brachypodium distachyon* of Turkey: Molecular and morphologic analysis. Molecular breeding of forage and turf. Ed: Yamada T. and Spangenberg G. Springer Science, 83-89. doi: 10.1007/978-0-387-79144-9-7.
- Foster, J.B. (1964). The evolution of mammals on islands. *Nature*, 202 (4929): 234–235. doi:10.1038/202234a0
- Garvin DF, Gu YQ, Hasterok R, Hazen SP, Jenkins G et al. (2008). Development of genetic and genomic research resources for *Brachypodium distachyon*, a new model system for grass crop research. *Crop Science*, 48(S1): S69-S84.
- Garvin DF, McKenzie N, Vogel JP, Mockler TC, Blankenheim ZJ, Wright J, Cheema JJS, Hou N, Hayden DM, Gu Y, Tobias C, Chang CH, Chu A, Trick M, Michael TP, Bevan MW, Snape JW (2010). An SSR- based genetic linkage map of the model grass *Brachypodium distachyon*. *Genome*, 53:1-13.
- Garvin DF, Stockinger EJ (2005). Development of a U.S. *Brachypodium distachyon* collection and the evaluation of microsynteny with cool- season grass crops. Plant and Animal Genome XIII Conference, San Diego.
- Ghasemi A, Zahedias S (2012). Normality Tests for Statistical Analysis: A Guide for Non-Statisticians. *Int J Endocrinol Metab*, 10(2):486-489. doi:10.5812/ ijem.3505.
- Giraldo P, Rodríguez-Quijano M, Vázquez JF, Carrillo JM, and Benavente E (2012). Validation of microsatellite markers for cytotype discrimination in the model grass *Brachypodium distachyon*. *Genome*, 55(7): 523-527.
- Gordon SP, Priest H, Des Marais DL, Schackwitz W, Figueroa M, Martin J, Bragg JN, Tyler L, Lee CR, Bryant D, Wang W, Messing J, Manzaneda AJ, Barry K, David F. Garvin DF, Budak H, Tuna M, Mitchell-Olds T, Pfender WF, Juenger TE, Mockler TC, Vogel JP (2014). Genome diversity in *Brachypodium distachyon*: deep sequencing of highly diverse inbred lines. *The Plant Journal*, 79:361–374. doi: 10.1111/tpj.12569.
- Greilhuber J (2005). Intraspecific variation in genome size in angiosperms: identifying its existence. *Annals of Botany*, 95: 91-98. doi:10.1093/aob/mci004.
- Guillon F, Bouchet B, Jamme FP, Quemener B, Barron C, Larre C, Dumas P, Saulnier L (2011). *Brachypodium distachyon* grain: characterization of endosperm cell walls. *Journal of Experimental Botany*, 62(3):1001-1015. doi:10.1093/jxb/erq332

- Guillon F, Larré C, Petipas F, Berger A, Moussawi J, Rogniaux H, Santoni A, Saulnier L, Jamme F, Miquel M, Lepiniec L, Dubreucq B (2012). A comprehensive overview of grain development in *Brachypodium distachyon* variety Bd21. *J Exp Bot.*, 63(2): 739–755.
- Gupta PK, Varshney RK, Sharma PC, Ramesh B (1999). Molecular markers and their applications in wheat breeding. *Plant Breeding*, 118: 369-390.
- Hammami R, Jouve N, Soler C, Frieiro E, González JM (2014). Genetic diversity of SSR and ISSR markers in wild populations of *Brachypodium distachyon* and its close relatives *B. stacei* and *B. hybridum* (Poaceae). *Plant Syst Evol*, doi:s00606-014-1021-0.
- Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1): 9pp.
- Harsant J, Pavlovic L, Chiu G, Sultmanis S, Sage TL (2013) .High temperature stress and its effect on pollen development and morphological components of harvest index in the C3 model grass *Brachypodium distachyon*. *Journal of Experimental Botany*, doi:10.1093/jxb/ert142.
- Hasterok R, Draper J, Jenkins G (2004). Laying the cytotoxic foundations of a new model grass, *Brachypodium distachyon* (L.) Beauv. *Chromosome Research*, 12: 397-403.
- Hawkes JG (1980). Crop genetic resources. Field collection manual for seed crops, root and tuber crops, tree fruit crops and related wild species. International Board for Plant Genetic Resources (I.B.P.G.R) and the European Association for Research on Plant Breeding (EUCARPIA).
- Hoshino AA, Bravo JP, Nobile PM, Morelli KA (2012). Microsatellites as tools for genetic diversity analysis. *Genetic Diversity in Microorganisms*, Caliskan M (Ed.). INTECH, Rijeka, Croatia. ISBN: 978-953-51-0064-5.
- Howell DC (2007). *Statistical methods for psychology*. Belmont, CA: Thompson Wadsworth.
- Huan Q, Mao Z, Zhang J, Xu Y, Chong K (2013). Transcriptome-wide Analysis of vernalization reveals conserved and species-specific mechanisms in *Brachypodium*. *Journal of Integrative Plant Biology*, 55 (8): 696–709.
- Huberty CJ & Petoskey MD (2000). Multivariate analysis of variance and covariance. Tinsley H and Brown S (Eds.). *Handbook of applied multivariate statistics and mathematical modeling*. New York: Academic Press.
- Hübner S, Höffken M, Oren E, Haseneyer G, Stein N, Graner A, Schmid K, Fridman E (2009). Strong correlation of wild barley (*Hordeum spontaneum*) population structure with temperature and precipitation variation. *Molecular Ecology*, 18: 1523-1536. doi: 10.1111/j.1365-294X.2009.04106.x.
- Huo N, Garvin DF, You MF, McMahon S, Luo MC, Gu YQ, Lazo GR, Vogel JP (2011). Comparison of a high-density genetic linkage map to genome features in the model grass *Brachypodium distachyon*. *Theoretical and Applied Genetics*, 123(3): 455-464. doi:10.1007/s00122-011-1598-4.

- Huo N, Lazo GR, Vogel JP, You FM, Ma Y, Hayden DM, Coleman-Derr D, Hill TA, Dvorak J, Anderson OD, Luo MC, Gu YQ (2008). The nuclear genome of *Brachypodium distachyon*: analysis of BAC end sequences. *Funct Integr Genomics*, 8(2):135-147.
- Huo N, Vogel JP, Lazo GR, You FM, Ma Y, McMahon S, Dvorak J, Anderson MCL, Gu YQ (2009). Structural characterization of *Brachypodium* genome and its syntenic relationship with rice and wheat. *Plant Mol Biol*, 70:47–61. doi: 10.1007/s11103-009-9456-3.
- Huson DH and Scornavacca C (2012). Dendroscope 3: An interactive tool for rooted phylogenetic trees and networks, *Systematic Biology*
- Idziak D, Betekhtin A, Wolny E (2011). Painting the chromosomes of *Brachypodium* current status and future prospects. *Chromosoma*, 120: 469–479.
- Idziak D, Hasterok R (2008) Cytogenetic evidence of nucleolar dominance in allotetraploid species of *Brachypodium*. *Genome*, 51:387–391. doi:10.1139/G08-017.
- İstatistik Terimleri Sözlüğü, T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Başkanlığı, Ankara, www.sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/Yayin/391
- Jakobsson M, and Rosenberg NA (2007). CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23: 1801-1806.
- Jaroszewicz AM, Kosina R, Stankiewicz PR (2011). RAPD, karyology and selected morphological variation in model grass, *Brachypodium distachyon*. *Weed research*, 52: 204-216.
- Jenkins G, Mur LAJ, Bablak P, Hasterok R and Draper J (2005). Prospects for functional genomics in a new model grass, ss. 305-325 in *Plant Functional Genomics*, edited by D. Leister. Haworth Press, Binghampton, NY.
- Jin L and Chakraborty R (1993). Estimation of Genetic Distance and Coefficient of Gene Diversity from Single-Probe Multilocus DNA Fingerprinting Data. *Mol. Biol. Evol.*, 11(1):120-127.
- Johnston JS, Bennett MD, Rayburn AL, Galbraith DW, James Price H (1999). Reference standards for determination of DNA content of plant nuclei. *American Journal of Botany*, 86(5): 609-613.
- İstatistik Terimleri Sözlüğü. DİE, Ankara. www.sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/yayin/391.
- Kalinowski ST (2010). The computer program STRUCTURE does not reliably identify the main genetic clusters within species: simulations and implications for human population structure. *Heredity*, 106(4):625-632. doi:10.1038/hdy.2010.95
- Kheiria H, Walker DJ, Correal E, Bouzid S (2008). Estimation of nuclear DNA content in populations of *Atriplex halimus* L. (Chenopodiaceae) by flow cytometry. *CARYOLOGIA*, 61(2): 160-163.

- Knezevic J (2009). Maize (*Zea mays* L.) landraces in eastern Serbia: Characterization and present cultivation. M.Sc. Thesis, CBM Swedish Biodiversity Centre, Upsala.
- Kumar S, Mohan A, Balyan HS, Gupta PK (2009). Orthology between genomes of *Brachypodium*, wheat and rice. BMC Research Notes, 2:93, doi:10.1186/1756-0500-2-93.
- Li C, Rudi H, Stockinger EJ, Cheng H, Cao M, Fox SE, Mockler TC (2012). Comparative analyses reveal potential uses of *Brachypodium distachyon* as a model for cold stress responses in temperate grasses BMC Plant Biology, 12:65. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/12/65>.
- Li C, Rudi H, Stockinger EJ, Cheng H, Cao M, Fox SE, Mockler TC, Westereng B, Fjellheim S, Rognli OA, Sandve SR (2012). Comparative analyses reveal potential uses of *Brachypodium distachyon* as a model for cold stress responses in temperate grasses. BMC Plant Biology, 12: 65. doi: 10.1186/1471-2229-12-65.
- Liu K, Muse SV (2005). PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics, 21(9): 2128-2129. doi:10.1093/bioinformatics/bti282.
- López-Alvarez D, López-Herranz ML, Betekhtin A, Catalán P (2012). A DNA Barcoding method to discriminate between the Model Plant *Brachypodium distachyon* and its close relatives *B. stacei* and *B. hybridum* (Poaceae). PLoS ONE 7(12): e51058. doi:10.1371/journal.pone.0051058.
- Luo N, Liu J, Yu X, Jiang Y (2011). Natural variation of drought response in *Brachypodium distachyon*. Physiologia Plantarum, 141: 19-29. doi:10.1111/j.1399-3054.2010.01413.x.
- Lv B, Nitcher R, Han X, Wang S, Ni F, et al. (2014). Characterization of *FLOWERING LOCUS T1* (FT1) gene in *Brachypodium* and wheat. PLoS ONE 9(4):e94171. doi:10.1371/journal.pone.0094171.
- Lv J, Qi J, Shi Q, Shen D, Zhang S, et al. (2012). Genetic diversity and population structure of cucumber (*Cucumis sativus* L.). PLoS ONE 7(10): e46919. doi:10.1371/journal.pone.0046919.
- Mantel N (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Res. 27, 209-220.
- Manzaneda AJ, Rey PJ, Bastida JM, Weiss-Lehman C, Raskin E and Mitchell-Olds T (2012). Environmental aridity is associated with cytotype segregation and polyploidy occurrence in *Brachypodium distachyon* (Poaceae). New Phytologist, 193: 797-805. doi:10.1111/j.1469-8137.2011.03988.x.
- Matos DA, Whitney IP, Harrington MJ, Hazen SP (2013). Cell walls and the developmental anatomy of the *Brachypodium distachyon* stem internode. PLoS ONE 8(11): e80640. doi:10.1371/journal.pone.0080640.
- Meyers LS, Gamst G, Guarino A (2006). Applied multivariate research: Design and interpretation. Thousand Oaks, CA: Sage Publishers.

- Mokhtarpour H, Teh CBS, Saleh G, Selamat AB, Asadi ME, Kamkar B (2010). Non-destructive estimation of maize leaf area, fresh weight, and dry weight using leaf length and leaf width. *Communications in Biometry and Crop Science*, 5(1): 19-26.
- Montilla-Bascón G, Sánchez-Martín J, Rispaíl N, Rubiales D, Mur L, et al. (2013). Genetic diversity and population structure among oat cultivars and landraces. *Plant Mol Biol Rep*, 31:1305–1314. doi 10.1007/s11105-013-0598-8.
- Muñoz-Amatriaín M, Cuesta-Marcos A, Endelman JB, Comadran J, Bonman JM, et al. (2014). The USDA barley core collection: genetic diversity, population structure, and potential for genome-wide association studies. *PLoS ONE* 9(4): e94688. doi:10.1371/journal.pone.0094688.
- Mur LAJ, Allainguillaume J, Catalán P, Hasterok R, Jenkins G, Lesniewska K, Thomas I, and Vogel J (2011). Exploiting the *Brachypodium* tool box in cereal and grass research. *New Phytologist*, 191(2): 334-347. doi:10.1111/j.1469-8137.2011.03748.x.
- Murray BG (2005). When does intraspecific C-value variation become taxonomically significant? *Annals of Botany*, 95(1):119-125.
- Narasimhamoorthy B, Saha MC, Swaller T, Bouton JH (2008). Genetic diversity in switchgrass collections assessed by EST-SSR markers. *Bioenerg. Res.*, 1:136–146. doi 10.1007/s12155-008-9011-0.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89, 583-590.
- Nei M (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.
- Nei M, Tajima F, Tateno Y (1983) Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution*, 19, 153-170.
- Nei, M (1972). Genetic distance between populations, *American Naturalist*, 106: 283-292.
- Nordborg M, Hu TT, Ishino Y, Jhaveri J, Toomajian C, et al. (2005). The pattern of polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Biol* 3(7): e196. doi:10.1371/journal.pbio.0030196.
- Ochatt SJ (2008). Flow Cytometry in plant breeding. *Cytometry part A*, 73(A): 581-598. doi: 10.1002/cyto.a.20562.
- Oliveira EJ, Pádua JG, Zucchi MI, Vencovsky R, Carneiro Vieira ML (2006). Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology*, 29(2): 294-307.
- Olivera PD, Anikster Y, Steffenson BJ (2010). Genetic diversity and population structure in *Aegilops sharonensis*. *Crop Sci*. 50:636-648. doi:10.2135/cropsci 2009.04.0192.
- Öney S (2013). Türkiye’de yayılış gösteren *Brachypodium distachyon* (L.) P. Beauv. (Poaceae) populasyonlarının moleküler ve morfolojik karakterizasyonu. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Süleyman Demirel Üniversitesi, İsparta/Turkey.

- Opanowicz M, Hands P, Betts D, Parker ML, Toole GA (2011). Endosperm development in *Brachypodium distachyon*. *J Exp Bot*, 62: 735-748.
- Opanowicz M, Vain P, Draper J, Parker D, Doonan JH (2008). *Brachypodium distachyon*: making hay with a wild grass. *Trends in Plant Science*, 13(4): 172-177. doi.org/10.1016/j.tplants.2008.01.007.
- Özdemir BS (2009). Application of biotechnological tools to model plant, *Brachypodium distachyon*. Doktora Tezi, Graduate School of Engineering and Natural Sciences, Sabanci University/Turkey.
- Ozdemir BS, Hernande P, Filiz E, Budak H (2008). *Brachypodium* Genomics. *Int J Plant Genomics*, 8:536104.
- Özkan H, Tuna M, Arumuganathan K (2003). Nonadditive changes in genome size during allopolyploidization in the wheat (*Aegilops-Triticum*) group. *Journal of Heredity*, 94 (3): 260-264. doi: 10.1093/jhred/esg053.
- Özkan H, Tuna M, Kilian B, Mori N, Ohta S (2010). Genome size variation in diploid and tetraploid wild wheats. *AoB PLANTS* 2010, plq015. doi:10.1093/aobpla/plq015.
- Park YJ, Lee JK, Kim NS (2009). Simple Sequence Repeat Polymorphisms (SSRPs) for Evaluation of Molecular Diversity and Germplasm Classification of Minor Crops. *Molecules*, 14: 4546-4569; doi:10.3390/molecules14114546.
- Peakall R, and Smouse PE (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, 28: 2537-2539.
- Peakall R, Smouse PE (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes*, 6: 288-295.
- Peraldi A, Beccari G, Steed A, Nicholson P (2011). *Brachypodium distachyon*: a new pathosystem to study *Fusarium* head blight and other *Fusarium* diseases of wheat. *BMC Plant Biology*, 11:100. doi:10.1186/1471-2229-11-100.
- Poiré R, Chochois V, Sirault XRR, Vogel JP, Watt M, Furbank RT (2014) Digital imaging approaches for phenotyping whole plant nitrogen and phosphorus response in *Brachypodium distachyon*. *J Integr Plant Biol*, 56: 781–796. doi: 10.1111/jipb.12198.
- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2: 225-238.
- Pritchard JK, Falush D (2007): Documentation for Structure Software: Version 2.3. Chicago, USA: University of Chicago.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945-959.
- Radosavljević I, Satovic Z, Jakse J, Javornik B, Greguraš D, Jug-Dujaković M, Liber Z (2012). Development of new microsatellite markers for *Salvia officinalis* L. and its

potential use in conservation-genetic studies of narrow endemic *Salvia brachyodon* Vandas. Int. J. Mol. Sci., 13:12082-12093. doi:10.3390/ijms130912082.

- Ramakrishnan AP, Meyer SE, Waters J, Stevens MR, Coleman CE, Fairbanks DJ (2004). Correlation between molecular markers and adaptively significant genetic variation in *Bromus tectorum* (Poaceae), an inbreeding annual grass. American Journal of Botany 91(6): 797–803.
- Razali NM, Wah YB (2011). Power comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling tests. Journal of Statistical Modeling and Analytics, 2(1): 21-33.
- Reeves G, Francis D, Davies MS, Rogers HJ, Hodkinson TR (1998). Genome size is negatively correlated with altitude in natural populations of *Dactylis glomerata*. Annals of Botany, 82: 99-105. doi:10.1006/anbo.1998.0751.
- Robertson IH (1981). Chromosome numbers in *Brachypodium* Beauv. (Gramineae). Genetica 56: 55-60.
- Rosenberg NA (2004). DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. Mol Ecol Notes, 4: 137-138.
- Rosenberg NA, Burke T, Elo K, Feldman MW, Freidlin PJ, Groenen MA et al. (2001). Empirical evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds. Genetics, 159: 699–713.
- Rosenberg NA, Pritchard JK, Weber JL, Cann HM, Kidd KK, Zhivotovsky LA et al. (2002). Genetic structure of human populations. Science, 298: 2381–2385. doi: 10.1126/science.1078311.
- Saitou N, Nei M (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol, 4: 406–425.
- Savaş Tuna G (2014). *Brachypodium distachyon* (L.) P. Beauv.'da morfolojik ve moleküler karakterizasyon. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, NKÜ, Tekirdağ/Turkey.
- Schmider E, Ziegler M, Danay E, Beyer L, and Bühner M (2010). Is it really robust? Reinvestigating the robustness of ANOVA Against violations of the normal distribution assumption. Methodology, 6(4):147–151, doi:10.1027/1614-2241/a000016.
- Schwartz CJ, Doyle MR, Manzaneda AJ, Rey PJ, Mitchell-Olds T, Amasino RM (2010) Natural Variation of Flowering Time and Vernalization Responsiveness in *Brachypodium distachyon*. Bioenerg. Res. 3: 38-46. doi 10.1007/s12155-009-9069-3.
- Shang Y, Ma L, Wang H, Feng W, Chen P, Cao X, Liu D, Wang X (2010). The evolutionary history of PDR in *Brachypodium distachyon* polyploids. Mol Biol Rep, 38: 2211-2217. doi: 10.1007/s11033-010-0350-5.
- Shangguan L, Han J, Kayesh E, Sun X, Zhang C, et al. (2013). Evaluation of genome sequencing quality in selected plant species using Expressed Sequence Tags. PLoS ONE 8(7): e69890. doi:10.1371/journal.pone.0069890.

- Sheidai M, Zanganeh S, Haji-Ramezanali R, Nouroozi M, Noormohammadi Z, Ghsemzadeh-Baraki S (2013). Genetic diversity and population structure in four *Cirsium* (Asteraceae) species. *Biologia/Section Botany*, 68(3): 384-397. doi: 10.2478/s11756-013-0162-x.
- Shi Y (1991). Molecular Studies of the evolutionary relationships of *Brachypodium* (Poaceae). PhD thesis, University of Leicester, Leicester.
- Shi Y, Draper J, Stace C (1993). Ribosomal DNA variation and its phylogenetic implication in the genus *Brachypodium* (Poaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 188: 125.
- Smouse PE, et al. (1986). Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. *Systematic Zoology* **35**, 627-632.
- Sokal R and Michener C (1958). A statistical method for evaluating systematic relationships. *University of Kansas Science Bulletin*, 38: 1409–1438.
- Sonah H, Deshmukh RK, Sharma A, Singh VP, Gupta DK, et al. (2011). Genome-wide distribution and organization of microsatellites in plants: An insight into marker development in *Brachypodium*. *PLoS ONE* 6(6):e21298. doi:10.1371/journal.pone.0021298.
- Suda J (2004). An employment of flow cytometry into plant biosystematics. PhD thesis, Charles University in Prague, Faculty of Science, Department of Botany, Prague.
- Tahernezhad Z, Zamani MJ, Solouki M, Zahravi M, Imamjomeh AA, Jafaraghaei M, Bihamta MR (2010). Genetic diversity of Iranian *Aegilops tauschii* Coss. using microsatellite molecular markers and morphological traits. *Mol Biol Rep*, 37:3413-3420. doi 10.1007/s11033-009-9931-6.
- Tiryaki I and Tuna M (2012). Determination of intraspecific nuclear DNA content variation in common vetch (*Vicia sativa* L.) lines and cultivars based on two distinct internal reference standards. *Turk J Agric*, 36: 645-653. doi:10.3906/tar-1201-47.
- The International *Brachypodium* Initiative (2010). Genome sequencing and analysis of the model grass *Brachypodium distachyon*. *Nature*, 463:763-768.
- Thole V, Peraldi A, Worland B, Nicholson P, Doonan JH, Vain P (2012). T-DNA mutagenesis in *Brachypodium distachyon*. *Journal of Experimental Botany*, 63(2):567-576. doi:10.1093/jxb/err333.
- Trafford K, Haleux P, Henderson M, Parker M, Shirley NJ, Tucker MR, Fincher GB, Burton RA (2013). Grain development in *Brachypodium* and other grasses: possible interactions between cell expansion, starch deposition, and cell-wall synthesis. *Journal of Experimental Botany*, 64(16): 5033-5047. doi:10.1093/jxb/ert292.
- Tuna M (2012). 1. Flow Sitometri ve Tarımsal Araştırmalarda Kullanımı Eğitim Programı.
- Tyler L, Fangel JU, Fagerström AD, Steinwand MA, Raab TK, Willats WGT, Vogel JP (2014). Selection and phenotypic characterization of a core collection of *Brachypodium distachyon* inbred lines. *BMC Plant Biology*, 14:25. doi:10.1186/1471-2229-14-25.

- Vain P (2011). *Brachypodium* as a model system for grass research. *Journal of Cereal Science*, 54: 1-7. doi:10.1016/j.jcs.2011.04.002.
- Vain P, Worland B, Thole V, McKenzie N, Alves SC, Opanowicz M, Fish LJ, Bevan MW, Snape JW (2008). *Agrobacterium*-mediated transformation of the temperate grass *Brachypodium distachyon* (genotype Bd21) for T-DNA insertional mutagenesis. *Plant Biotechnology Journal*, 6: 236-245.
- Variş S, ve Altay H (2002). Topraklı ve topraksız ortamlarda fide üretimi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi, Trakya Üniversitesi, 40 s, Tekirdağ, Turkey.
- Vogel J, Hill T (2008). High-efficiency *Agrobacterium*-mediated transformation of *Brachypodium distachyon* inbred line Bd21-3. *Plant Cell Rep*, 27: 471-478. doi 10.1007/s00299-007-0472-y.
- Vogel JP, Bragg JN (2009b). *Brachypodium distachyon*, a new model for the grasses. Volume:7, *Genetics and Genomics of the Triticeae*, Ed: Feuillet C, Muehlbauer GJ, N. York, 427-449. ISBN 978-0-387-77488-6
- Vogel JP, Garvin DF, Leong MO, Hayden MD (2006a). *Agrobacterium*-mediated transformation and inbred line development in the model grass *Brachypodium distachyon*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 84: 199-211. doi: 10.1007/s11240-005-9023-9
- Vogel JP, Gu YQ, Twigg P, Lazo GR, Laudencia-Chingcuanco D, Hayden DM, Donze TJ, Vivian LA, Stamova B, Coleman-Derr D (2006b). EST sequencing and phylogenetic analysis of the model grass *Brachypodium distachyon*. *Theor Appl Genet*, 113: 186-195. doi: 10.1007/s00122-006-0285-3
- Vogel JP, Tuna M, Budak H, Huo N, Gu YQ, and Steinwand MA (2009a). Development of SSR markers and analysis of diversity in Turkish populations of *Brachypodium distachyon*. *BMC Plant Biology*, 9:88. doi: 10.1186/1471-2229-9-88.
- Watt M, Schneebeli K, Dong P, Wilson IW (2009). The shoot and root growth of *Brachypodium* and its potential as a model for wheat and other cereal crops. *Functional Plant Biology*, 36: 960-969.
- Webster AJ, Purvis A (2002). Testing the accuracy of methods for reconstructing ancestral states of continuous characters. *Proceedings: Biological Sciences*, 269(1487): 143-149. doi 10.1098/rspb.2001.1873.
- Wiens JJ (1998). Testing phylogenetic methods with tree congruence: phylogenetic analysis of polymorphic morphological characters in phrynosomatid lizards. *Syst. Biol.* 47(3): 427-444.
- Wiens JJ (2004). The role of morphological data in phylogeny reconstruction. *Syst. Biol.* 53(4):653–661. doi:10.1080/10635150490472959.
- Wolny E, Hasterok R (2009). Comparative cytogenetic analysis of the genomes of the model grass *Brachypodium distachyon* and its close relatives. *Ann Bot*, 104(5): 873–881. PMID: PMC2749528

- Wolny E, Lesniewska K, Hasterok R, Langdon T (2011). Compact genomes and complex evolution in the genus *Brachypodium*. *Chromosoma*, 120(2): 199-212. doi: 10.1007/s00412-010-0303-8.
- Wright S (1965). The interpretation of sample structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19: 95-420.
- Zhang L, Jeon Y-J, Kang S-Y, Lee G-J (2012). Genetic diversity of natural and artificial populations of model grass *Brachypodium* species evaluated by AFLP markers. *Hort. Environ. Biotechnol.* 53(2): 143-150. doi: 10.1007/s13580-012-0104-5 .
- Zhang X, Han D, Zeng Q, Duan Y, Yuan F, et al. (2013). Fine mapping of wheat stripe rust resistance gene Yr26 based on colinearity of wheat with *Brachypodium distachyon* and rice. *PLoS ONE* 8(3): e57885. doi:10.1371/journal.pone.0057885.
- Zhang Y, Zhang X, Che Z, Wang L, Wei W, Li D (2012). Genetic diversity assessment of sesame core collection in China by phenotype and molecular markers and extraction of a mini-core collection. *BMC Genetics*, 13:102.
- Zhao H, Yu J, You FM, Luo, M, Peng J (2011). Transferability of microsatellite markers from *Brachypodium distachyon* to *Miscanthus sinensis*, a potential biomass crop. *Journal of Integrative Plant Biology*, 53 (3): 232–245.
- Zhao J, Solís-Montero L, Lou A, Vallejo-Marín M (2013). Population structure and genetic diversity of native and invasive populations of *Solanum rostratum* (Solanaceae). *PLoS ONE*, 8(11): e79807. doi:10.1371/journal.pone.0079807
- Zonneveld BJM, Leitch IJ, Bennett MD (2005). First nuclear DNA amounts in more than 300 angiosperms. *Annals of Botany*, 96: 229–244. doi:10.1093/aob/mci170.

Yazılımlar

- CLUMPP v.1.1.2: <http://rosenberglab.bioinformatics.med.umich.edu/clumpp.html>
- Dendroscope v.3.2.10: <http://www.dendroscope.org>
- DISTRUCT: <http://rosenberglab.bioinformatics.med.umich.edu/distruct.html>
- GenAlex: <http://biology.anu.edu.au/GenAIEx>
- GeneMarker®: <http://www.softgenetics.com/GeneMarker.html>
- IBM SPSS Statistics 20: <http://www-01.ibm.com/software/analytics/spss/>
- Past 3.02: <http://folk.uio.no/ohammer/past>
- PHYLIP v.3.695: <http://evolution.gs.washington.edu/phylip.html>
- PowerMarker v.3.25: <http://www.powermarker.net>
- Structure Harvester: <http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>
- STRUCTURE v.2.3.4: <http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure.html>

EKLER

EK 1. Bu çalışmada fenotipik karakterizasyonda kullanılan bireylerin (FK), çekirdek DNA içerikleri (ÇDI), genotipik karakterizasyonları (GK), türleri ve kod numaraları

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
ABR113	ABR113	Bh	no	no	yes
ABR114	ABR114	Bs	no	no	yes
Adri-1	48-1	Bd	yes	yes	yes
Adri-10	48-10	Bd	yes	yes	yes
Adri-2	48-2	Bd	yes	yes	no
Adri-3	48-3	Bd	yes	yes	no
Adri-4	48-4	Bd	yes	yes	yes
Adri-5	48-5	Bd	yes	yes	no
Adri-6	48-6	Bd	yes	yes	no
Adri-7	48-7	Bd	yes	yes	no
Adri-8	48-8	Bd	yes	yes	no
Adri-9	48-9	Bd	yes	yes	yes
Ahla-1	19-1	Bh	yes	yes	no
Ahla-10	19-10	Bh	yes	yes	no
Ahla-2	19-2	Bh	yes	yes	yes
Ahla-3	19-3	Bh	yes	yes	no
Ahla-4	19-4	Bh	yes	yes	yes
Ahla-5	19-5	Bh	yes	yes	no
Ahla-6	19-6	Bh	yes	yes	no
Ahla-7	19-7	Bh	yes	yes	yes
Ahla-8	19-8	Bh	yes	yes	no
Ahla-9	19-9	Bh	yes	yes	yes
Aigi-1	14-1	Bh	yes	no	no
Aigi-10	14-10	Bh	yes	no	no
Aigi-2	14-2	Bh	yes	no	no
Aigi-3	14-3	Bh	yes	no	no
Aigi-4	14-4	Bh	yes	no	no

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Aigi-5	14-5	Bh	yes	no	no
Aigi-6	14-6	Bh	yes	no	no
Aigi-7	14-7	Bh	yes	no	no
Aigi-8	14-8	Bh	yes	no	no
Aigi-9	14-9	Bh	yes	no	no
AL1.1	62	Bs	yes	yes	yes
AL5.2	63	Bs	yes	yes	yes
Alis-1	46-1	Bd	yes	yes	no
Alis-10	46-10	Bd	yes	yes	no
Alis-2	46-2	Bd	yes	yes	yes
Alis-3	46-3	Bd	yes	yes	yes
Alis-4	46-4	Bd	yes	yes	no
Alis-5	46-5	Bd	yes	yes	no
Alis-6	46-6	Bd	yes	yes	yes
Alis-7	46-7	Bd	yes	yes	no
Alis-8	46-8	Bd	yes	yes	yes
Alis-9	46-9	Bd	yes	yes	no
Amfi-1	30-1	Bs	yes	yes	yes
Amfi-10	30-10	Bh	yes	yes	no
Amfi-2	30-2	Bh	yes	yes	no
Amfi-3	30-3	Bh	yes	yes	no
Amfi-4	30-4	Bh	yes	yes	no
Amfi-5	30-5	Bh	yes	yes	yes
Amfi-6	30-6	Bh	yes	yes	no
Amfi-7	30-7	Bh	yes	yes	yes
Amfi-8	30-8	Bh	yes	yes	no
Amfi-9	30-9	Bh	yes	yes	yes
Argo-1	18-1	Bh	yes	no	no
Argo-10	18-10	Bh	yes	no	no
Argo-2	18-2	Bh	yes	no	no
Argo-3	18-3	Bh	yes	no	no
Argo-4	18-4	Bh	yes	no	no
Argo-5	18-5	Bh	yes	no	no
Argo-6	18-6	Bh	yes	no	no

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Argo-7	18-7	Bh	yes	no	no
Argo-8	18-8	Bh	yes	no	no
Argo-9	18-9	Bh	yes	no	no
Asti-1	55-1	Bd	yes	yes	yes
Asti-10	55-10	Bd	yes	yes	no
Asti-2	55-2	Bd	yes	yes	no
Asti-3	55-3	Bh	yes	yes	yes
Asti-4	55-4	Bd	yes	yes	no
Asti-5	55-5	Bd	yes	yes	no
Asti-6	55-6	Bh	yes	yes	no
Asti-7	55-7	Bd	yes	yes	no
Asti-8	55-8	Bh	yes	yes	yes
Asti-9	55-9	Bd	yes	yes	no
Athen-1	15-1	Bh	yes	yes	yes
Athen-10	15-10	Bh	yes	yes	yes
Athen-2	15-2	Bh	yes	yes	no
Athen-3	15-3	Bh	yes	yes	no
Athen-4	15-4	Bh	yes	yes	no
Athen-5	15-5	Bh	yes	yes	no
Athen-6	15-6	Bh	yes	yes	no
Athen-7	15-7	Bh	yes	yes	yes
Athen-8	15-8	Bh	yes	yes	yes
Athen-9	15-9	Bh	yes	yes	no
BA6.6	65	Bd	yes	yes	no
Bd21	Bd21	Bd	no	no	yes
Bd21-3	61	Bd	yes	yes	yes
Bralo-1	11-1	Bd	yes	yes	no
Bralo-10	11-10	Bd	yes	yes	yes
Bralo-2	11-2	Bd	yes	yes	yes
Bralo-3	11-3	Bd	yes	yes	no
Bralo-4	11-4	Bd	yes	yes	yes
Bralo-5	11-5	Bd	yes	yes	no
Bralo-6	11-6	Bd	yes	yes	no
Bralo-7	11-7	Bd	yes	yes	yes

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Bralo-8	11-8	Bd	yes	yes	no
Bralo-9	11-9	Bd	yes	yes	no
CC3.2	68	Bh	yes	no	no
Dafne-1	4-1	Bh	yes	no	no
Dafne-10	4-10	Bh	yes	no	no
Dafne-2	4-2	Bh	yes	no	no
Dafne-3	4-3	Bh	yes	no	no
Dafne-4	4-4	Bh	yes	no	no
Dafne-5	4-5	Bh	yes	no	no
Dafne-6	4-6	Bh	yes	no	no
Dafne-7	4-7	Bh	yes	no	no
Dafne-8	4-8	Bh	yes	no	no
Dafne-9	4-9	Bh	yes	no	no
Dram-1	49-1	Bd	yes	yes	no
Dram-10	49-10	Bd	yes	yes	yes
Dram-2	49-2	Bd	yes	yes	yes
Dram-3	49-3	Bd	yes	yes	yes
Dram-4	49-4	Bd	yes	yes	no
Dram-5	49-5	Bd	yes	yes	yes
Dram-6	49-6	Bd	yes	yes	no
Dram-7	49-7	Bd	yes	yes	no
Dram-8	49-8	Bd	yes	yes	no
Dram-9	49-9	Bd	yes	yes	no
Edes-1	44-1	Bd	yes	yes	no
Edes-10	44-10	Bd	yes	yes	no
Edes-2	44-2	Bd	yes	yes	yes
Edes-3	44-3	Bd	yes	yes	no
Edes-4	44-4	Bd	yes	yes	no
Edes-5	44-5	Bd	yes	yes	yes
Edes-6	44-6	Bd	yes	yes	no
Edes-7	44-7	Bd	yes	yes	yes
Edes-8	44-8	Bd	yes	yes	no
Edes-9	44-9	Bd	yes	yes	yes
Elia-1	27-1	Bh	yes	yes	no

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Elia-10	27-10	Bh	yes	yes	no
Elia-2	27-2	Bh	yes	yes	no
Elia-3	27-3	Bh	yes	yes	no
Elia-4	27-4	Bh	yes	yes	no
Elia-5	27-5	Bh	yes	yes	no
Elia-6	27-6	Bh	yes	yes	no
Elia-7	27-7	Bh	yes	yes	no
Elia-8	27-8	Bh	yes	yes	no
Elia-9	27-9	Bh	yes	yes	no
Eren-1	60-1	Bd	yes	yes	yes
Eren-10	60-10	Bd	yes	yes	no
Eren-2	60-2	Bd	yes	yes	no
Eren-3	60-3	Bd	yes	yes	yes
Eren-4	60-4	Bd	yes	yes	yes
Eren-5	60-5	Bd	yes	yes	no
Eren-6	60-6	Bd	yes	yes	no
Eren-7	60-7	Bd	yes	yes	yes
Eren-8	60-8	Bd	yes	yes	no
Eren-9	60-9	Bd	yes	yes	no
Evzo-1	42-1	Bd	yes	yes	yes
Evzo-10	42-10	Bd	yes	yes	yes
Evzo-2	42-2	Bd	yes	yes	no
Evzo-3	42-3	Bd	yes	yes	yes
Evzo-4	42-4	Bd	yes	yes	no
Evzo-5	42-5	Bd	yes	yes	yes
Evzo-6	42-6	Bd	yes	yes	no
Evzo-7	42-7	Bd	yes	yes	no
Evzo-8	42-8	Bd	yes	yes	no
Evzo-9	42-9	Bd	yes	yes	no
Farsa-1	10-1	Bh	yes	yes	yes
Farsa-2	10-2	Bd	yes	yes	no
Farsa-3	10-3	Bd	yes	yes	no
Farsa-4	10-4	Bd	yes	yes	yes
Farsa-5	10-5	Bh	yes	yes	yes

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Farsa-6	10-6	Bh	yes	yes	no
Farsa-7	10-7	Bd	yes	yes	no
Farsa-8	10-8	Bd	yes	yes	yes
Farsa-9	10-9	Bd	yes	yes	no
Fere-1	53-1	Bd	yes	yes	yes
Fere-10	53-10	Bd	yes	yes	no
Fere-2	53-2	Bd	yes	yes	no
Fere-3	53-3	Bd	yes	yes	yes
Fere-4	53-4	Bd	yes	yes	no
Fere-5	53-5	Bd	yes	yes	no
Fere-6	53-6	Bd	yes	yes	yes
Fere-7	53-7	Bd	yes	yes	yes
Fere-8	53-8	Bd	yes	yes	no
Fere-9	53-9	Bd	yes	yes	no
Fifi-1	6-1	Bd	yes	yes	yes
Fifi-10	6-10	Bd	yes	yes	no
Fifi-2	6-2	Bd	yes	yes	no
Fifi-3	6-3	Bd	yes	yes	yes
Fifi-4	6-4	Bd	yes	yes	no
Fifi-5	6-5	Bd	yes	yes	yes
Fifi-6	6-6	Bd	yes	yes	no
Fifi-7	6-7	Bd	yes	yes	no
Fifi-8	6-8	Bd	yes	yes	yes
Fifi-9	6-9	Bd	yes	yes	no
Fira-1	5-1	Bh	yes	yes	yes
Fira-10	5-10	Bh	yes	yes	yes
Fira-2	5-2	Bh	yes	yes	no
Fira-3	5-3	Bh	yes	yes	no
Fira-4	5-4	Bh	yes	yes	no
Fira-5	5-5	Bh	yes	yes	yes
Fira-6	5-6	Bh	yes	yes	yes
Fira-7	5-7	Bh	yes	yes	no
Fira-8	5-8	Bh	yes	yes	no
Fira-9	5-9	Bh	yes	yes	no

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Gera-1	1-1	Bh	yes	yes	yes
Gera-10	1-10	Bh	yes	yes	no
Gera-2	1-2	Bh	yes	yes	no
Gera-3	1-3	Bh	yes	yes	no
Gera-4	1-4	Bh	yes	yes	no
Gera-5	1-5	Bh	yes	yes	yes
Gera-6	1-6	Bh	yes	yes	no
Gera-7	1-7	Bd	yes	yes	yes
Gera-8	1-8	Bh	yes	yes	no
Gera-9	1-9	Bh	yes	yes	yes
GR3.4	64	Bd	yes	yes	no
Grev-1	37-1	Bd	yes	yes	yes
Grev-10	37-10	Bd	yes	yes	no
Grev-2	37-2	Bd	yes	yes	yes
Grev-3	37-3	Bd	yes	yes	no
Grev-4	37-4	Bd	yes	yes	yes
Grev-5	37-5	Bd	yes	yes	no
Grev-6	37-6	Bd	yes	yes	no
Grev-7	37-7	Bd	yes	yes	yes
Grev-8	37-8	Bd	yes	yes	no
Grev-9	37-9	Bd	yes	yes	no
Grik-1	35-1	Bd	yes	yes	no
Grik-10	35-10	Bd	yes	yes	no
Grik-2	35-2	Bd	yes	yes	yes
Grik-3	35-3	Bd	yes	yes	no
Grik-4	35-4	Bh	yes	yes	yes
Grik-5	35-5	Bd	yes	yes	yes
Grik-6	35-6	Bd	yes	yes	no
Grik-7	35-7	Bd	yes	yes	no
Grik-8	35-8	Bd	yes	yes	no
Grik-9	35-9	Bd	yes	yes	yes
Gyth-1	21-1	Bh	yes	yes	no
Gyth-10	21-10	Bh	yes	yes	no
Gyth-2	21-2	Bh	yes	yes	no

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Gyth-3	21-3	Bh	yes	yes	no
Gyth-4	21-4	Bs	yes	yes	yes
Gyth-5	21-5	Bh	yes	yes	no
Gyth-6	21-6	Bh	yes	yes	no
Gyth-7	21-7	Bs	yes	yes	yes
Gyth-8	21-8	Bh	yes	yes	yes
Gyth-9	21-9	Bs	yes	yes	yes
Hion-1	28-1	Bh	yes	no	no
Hion-10	28-10	Bh	yes	no	no
Hion-2	28-2	Bh	yes	no	no
Hion-3	28-3	Bh	yes	no	no
Hion-4	28-4	Bh	yes	no	no
Hion-5	28-5	Bh	yes	no	no
Hion-6	28-6	Bh	yes	no	no
Hion-7	28-7	Bh	yes	no	no
Hion-8	28-8	Bh	yes	no	no
Hion-9	28-9	Bh	yes	no	no
Hota-1	22-1	Bh	yes	yes	no
Hota-10	22-10	Bh	yes	yes	yes
Hota-2	22-2	Bh	yes	yes	no
Hota-3	22-3	Bh	yes	yes	no
Hota-4	22-4	Bh	yes	yes	yes
Hota-5	22-5	Bh	yes	yes	no
Hota-6	22-6	Bh	yes	yes	no
Hota-7	22-7	Bs	yes	yes	yes
Hota-8	22-8	Bh	yes	yes	no
Hota-9	22-9	Bs	yes	yes	yes
HU1.6	67	Bd	yes	yes	yes
Kana-1	33-1	Bh	yes	no	no
Kana-10	33-10	Bh	yes	no	no
Kana-2	33-2	Bh	yes	no	no
Kana-3	33-3	Bh	yes	no	no
Kana-4	33-4	Bh	yes	no	no
Kana-5	33-5	Bh	yes	no	no

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Kana-6	33-6	Bh	yes	no	no
Kana-7	33-7	Bh	yes	no	no
Kana-8	33-8	Bh	yes	no	no
Kana-9	33-9	Bh	yes	no	no
Karda-1	23-1	Bh	yes	no	no
Karda-10	23-10	Bh	yes	no	no
Karda-2	23-2	Bh	yes	no	no
Karda-3	23-3	Bh	yes	no	no
Karda-4	23-4	Bh	yes	no	no
Karda-5	23-5	Bh	yes	no	no
Karda-6	23-6	Bh	yes	no	no
Karda-7	23-7	Bh	yes	no	no
Karda-8	23-8	Bh	yes	no	no
Karda-9	23-9	Bh	yes	no	no
Katsi-1	32-1	Bh	yes	yes	no
Katsi-10	32-10	Bd	yes	yes	no
Katsi-2	32-2	Bh	yes	yes	no
Katsi-3	32-3	Bd	yes	yes	yes
Katsi-4	32-4	Bd	yes	yes	no
Katsi-5	32-5	Bd	yes	yes	yes
Katsi-6	32-6	Bh	yes	yes	no
Katsi-7	32-7	Bh	yes	yes	yes
Katsi-8	32-8	Bh	yes	yes	yes
Katsi-9	32-9	Bh	yes	yes	no
Kilk-1	41-1	Bd	yes	yes	yes
Kilk-10	41-10	Bd	yes	yes	no
Kilk-2	41-2	Bd	yes	yes	no
Kilk-3	41-3	Bd	yes	yes	no
Kilk-4	41-4	Bd	yes	yes	yes
Kilk-5	41-5	Bd	yes	yes	no
Kilk-6	41-6	Bd	yes	yes	yes
Kilk-7	41-7	Bd	yes	yes	yes
Kilk-8	41-8	Bd	yes	yes	no
Kilk-9	41-9	Bd	yes	yes	no

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Kormi-1	59-1	Bd	yes	yes	yes
Kormi-10	59-10	Bd	yes	yes	no
Kormi-2	59-2	Bd	yes	yes	no
Kormi-3	59-3	Bd	yes	yes	no
Kormi-4	59-4	Bd	yes	yes	no
Kormi-5	59-5	Bd	yes	yes	no
Kormi-6	59-6	Bd	yes	yes	no
Kormi-7	59-7	Bd	yes	yes	yes
Kormi-8	59-8	Bd	yes	yes	yes
Kormi-9	59-9	Bd	yes	yes	yes
Kory-1	36-1	Bd	yes	yes	no
Kory-10	36-10	Bd	yes	yes	no
Kory-2	36-2	Bd	yes	yes	yes
Kory-3	36-3	Bd	yes	yes	no
Kory-4	36-4	Bd	yes	yes	no
Kory-5	36-5	Bd	yes	yes	yes
Kory-6	36-6	Bd	yes	yes	no
Kory-7	36-7	Bd	yes	yes	yes
Kory-8	36-8	Bd	yes	yes	no
Kory-9	36-9	Bd	yes	yes	yes
Koz-3	Koz-3	Bd	no	no	yes
Koza-1	38-1	Bd	yes	yes	no
Koza-10	38-10	Bd	yes	yes	no
Koza-2	38-2	Bd	yes	yes	no
Koza-3	38-3	Bd	yes	yes	yes
Koza-4	38-4	Bd	yes	yes	no
Koza-5	38-5	Bd	yes	yes	yes
Koza-6	38-6	Bd	yes	yes	yes
Koza-7	38-7	Bd	yes	yes	yes
Koza-8	38-8	Bd	yes	yes	no
Koza-9	38-9	Bd	yes	yes	no
Lapa-1	2-1	Bh	yes	no	no
Lapa-10	2-10	Bh	yes	no	no
Lapa-2	2-2	Bh	yes	no	no

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Lapa-3	2-3	Bh	yes	no	no
Lapa-4	2-4	Bh	yes	no	no
Lapa-5	2-5	Bh	yes	no	no
Lapa-6	2-6	Bh	yes	no	no
Lapa-7	2-7	Bh	yes	no	no
Lapa-8	2-8	Bh	yes	no	no
Lapa-9	2-9	Bh	yes	no	no
Left-1	31-1	Bh	yes	no	no
Left-10	31-10	Bh	yes	no	no
Left-2	31-2	Bh	yes	no	no
Left-3	31-3	Bh	yes	no	no
Left-4	31-4	Bh	yes	no	no
Left-5	31-5	Bh	yes	no	no
Left-6	31-6	Bh	yes	no	no
Left-7	31-7	Bh	yes	no	no
Left-8	31-8	Bh	yes	no	no
Left-9	31-9	Bh	yes	no	no
Leon-1	56-1	Bd	yes	yes	yes
Leon-10	56-10	Bd	yes	yes	yes
Leon-2	56-2	Bd	yes	yes	yes
Leon-3	56-3	Bd	yes	yes	no
Leon-4	56-4	Bd	yes	yes	no
Leon-5	56-5	Bd	yes	yes	yes
Leon-6	56-6	Bd	yes	yes	no
Leon-7	56-7	Bd	yes	yes	no
Leon-8	56-8	Bd	yes	yes	no
Leon-9	56-9	Bd	yes	yes	no
Lept-1	43-1	Bd	yes	yes	no
Lept-10	43-10	Bd	yes	yes	yes
Lept-2	43-2	Bd	yes	yes	yes
Lept-3	43-3	Bd	yes	yes	no
Lept-4	43-4	Bd	yes	yes	no
Lept-5	43-5	Bd	yes	yes	no
Lept-6	43-6	Bd	yes	yes	yes

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Lept-7	43-7	Bd	yes	yes	yes
Lept-8	43-8	Bd	yes	yes	no
Lept-9	43-9	Bd	yes	yes	no
Linos-1	51-1	Bh	yes	yes	yes
Linos-10	51-10	Bh	yes	yes	yes
Linos-2	51-2	Bd	yes	yes	no
Linos-3	51-3	Bd	yes	yes	no
Linos-4	51-4	Bd	yes	yes	yes
Linos-5	51-5	Bd	yes	yes	no
Linos-6	51-6	Bh	yes	yes	no
Linos-7	51-7	Bd	yes	yes	no
Linos-8	51-8	Bd	yes	yes	no
Linos-9	51-9	Bh	yes	yes	no
Lito-1	8-1	Bd	yes	yes	no
Lito-10	8-10	Bd	yes	yes	no
Lito-2	8-2	Bd	yes	yes	yes
Lito-3	8-3	Bd	yes	yes	yes
Lito-4	8-4	Bd	yes	yes	yes
Lito-5	8-5	Bd	yes	yes	yes
Lito-6	8-6	Bd	yes	yes	no
Lito-7	8-7	Bd	yes	yes	no
Lito-8	8-8	Bd	yes	yes	no
Lito-9	8-9	Bd	yes	yes	no
Liva-1	13-1	Bh	yes	yes	no
Liva-10	13-10	Bh	yes	yes	no
Liva-2	13-2	Bh	yes	yes	no
Liva-3	13-3	Bh	yes	yes	no
Liva-4	13-4	Bh	yes	yes	no
Liva-5	13-5	Bh	yes	yes	no
Liva-6	13-6	Bh	yes	yes	no
Liva-7	13-7	Bh	yes	yes	no
Liva-8	13-8	Bh	yes	yes	no
MA1.2	69	Bh	yes	yes	yes
Mega-1	16-1	Bh	yes	no	yes

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Mega-10	16-10	Bh	yes	no	yes
Mega-2	16-2	Bh	yes	no	no
Mega-3	16-3	Bh	yes	no	no
Mega-4	16-4	Bh	yes	no	yes
Mega-5	16-5	Bh	yes	no	yes
Mega-6	16-6	Bh	yes	no	no
Mega-7	16-7	Bh	yes	no	no
Mega-8	16-8	Bh	yes	no	no
Mega-9	16-9	Bh	yes	no	no
Olym-1	7-1	Bd	yes	yes	yes
Olym-10	7-10	Bd	yes	yes	yes
Olym-2	7-2	Bd	yes	yes	no
Olym-3	7-3	Bd	yes	yes	no
Olym-4	7-4	Bd	yes	yes	no
Olym-5	7-5	Bd	yes	yes	yes
Olym-6	7-6	Bd	yes	yes	no
Olym-7	7-7	Bd	yes	yes	no
Olym-8	7-8	Bd	yes	yes	yes
Olym-9	7-9	Bd	yes	yes	no
Para-1	24-1	Bh	yes	yes	yes
Para-10	24-10	Bh	yes	yes	yes
Para-2	24-2	Bh	yes	yes	yes
Para-3	24-3	Bh	yes	yes	no
Para-4	24-4	Bh	yes	yes	no
Para-5	24-5	Bh	yes	yes	yes
Para-6	24-6	Bh	yes	yes	no
Para-7	24-7	Bh	yes	yes	no
Para-8	24-8	Bh	yes	yes	no
Para-9	24-9	Bh	yes	yes	no
Pela-1	3-1	Bh	yes	yes	no
Pela-10	3-10	Bh	yes	yes	no
Pela-2	3-2	Bh	yes	yes	no
Pela-3	3-3	Bh	yes	yes	no
Pela-4	3-4	Bh	yes	yes	no

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Pela-5	3-5	Bh	yes	yes	no
Pela-6	3-6	Bh	yes	yes	no
Pela-7	3-7	Bh	yes	yes	no
Pela-8	3-8	Bh	yes	yes	no
Pela-9	3-9	Bh	yes	yes	no
Peri-1	29-1	Bh	yes	no	no
Peri-10	29-10	Bh	yes	no	no
Peri-2	29-2	Bh	yes	no	no
Peri-3	29-3	Bh	yes	no	no
Peri-4	29-4	Bh	yes	no	no
Peri-5	29-5	Bh	yes	no	no
Peri-6	29-6	Bh	yes	no	no
Peri-7	29-7	Bh	yes	no	no
Peri-8	29-8	Bh	yes	no	no
Peri-9	29-9	Bh	yes	no	no
Piga-1	20-1	Bd	yes	yes	no
Piga-10	20-10	Bd	yes	yes	no
Piga-2	20-2	Bd	yes	yes	yes
Piga-3	20-3	Bd	yes	yes	no
Piga-4	20-4	Bd	yes	yes	yes
Piga-5	20-5	Bd	yes	yes	yes
Piga-6	20-6	Bd	yes	yes	yes
Piga-7	20-7	Bd	yes	yes	no
Piga-8	20-8	Bd	yes	yes	yes
Piga-9	20-9	Bd	yes	yes	no
Pros-1	47-1	Bh	yes	yes	yes
Pros-10	47-10	Bh	yes	yes	no
Pros-2	47-2	Bh	yes	yes	no
Pros-3	47-3	Bh	yes	yes	no
Pros-4	47-4	Bh	yes	yes	yes
Pros-5	47-5	Bh	yes	yes	yes
Pros-6	47-6	Bh	yes	yes	yes
Pros-7	47-7	Bh	yes	yes	no
Pros-8	47-8	Bh	yes	yes	no

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Pros-9	47-9	Bh	yes	yes	no
Sapes-1	52-1	Bd	yes	yes	no
Sapes-10	52-10	Bd	yes	yes	yes
Sapes-2	52-2	Bd	yes	yes	no
Sapes-3	52-3	Bd	yes	yes	no
Sapes-4	52-4	Bd	yes	yes	yes
Sapes-5	52-5	Bd	yes	yes	yes
Sapes-6	52-6	Bd	yes	yes	no
Sapes-7	52-7	Bd	yes	yes	no
Sapes-8	52-8	Bd	yes	yes	yes
Sapes-9	52-9	Bd	yes	yes	no
Sela-1	57-1	Bd	yes	yes	no
Sela-10	57-10	Bd	yes	yes	yes
Sela-2	57-2	Bd	yes	yes	no
Sela-3	57-3	Bd	yes	yes	yes
Sela-4	57-4	Bd	yes	yes	yes
Sela-5	57-5	Bd	yes	yes	no
Sela-6	57-6	Bd	yes	yes	no
Sela-7	57-7	Bd	yes	yes	no
Sela-8	57-8	Bd	yes	yes	no
Sela-9	57-9	Bd	yes	yes	no
Sere-1	58-1	Bd	yes	yes	no
Sere-10	58-10	Bd	yes	yes	yes
Sere-2	58-2	Bd	yes	yes	yes
Sere-3	58-3	Bd	yes	yes	no
Sere-4	58-4	Bd	yes	yes	yes
Sere-5	58-5	Bd	yes	yes	no
Sere-6	58-6	Bd	yes	yes	no
Sere-7	58-7	Bd	yes	yes	no
Sere-8	58-8	Bd	yes	yes	no
Sere-9	58-9	Bd	yes	yes	yes
Sofy-1	40-1	Bd	yes	yes	no
Sofy-10	40-10	Bd	yes	yes	no
Sofy-2	40-2	Bd	yes	yes	yes

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Sofy-3	40-3	Bd	yes	yes	yes
Sofy-4	40-4	Bd	yes	yes	no
Sofy-5	40-5	Bd	yes	yes	no
Sofy-6	40-6	Bd	yes	yes	yes
Sofy-7	40-7	Bd	yes	yes	no
Sofy-8	40-8	Bd	yes	yes	yes
Sofy-9	40-9	Bd	yes	yes	no
Solo-1	17-1	Bh	yes	no	no
Solo-10	17-10	Bh	yes	no	no
Solo-2	17-2	Bh	yes	no	no
Solo-3	17-3	Bh	yes	no	no
Solo-4	17-4	Bh	yes	no	no
Solo-5	17-5	Bh	yes	no	no
Solo-7	17-7	Bh	yes	no	no
Solo-8	17-8	Bh	yes	no	no
Solo-9	17-9	Bh	yes	no	no
Stav-1	26-1	Bh	yes	no	no
Stav-10	26-10	Bh	yes	no	no
Stav-2	26-2	Bh	yes	no	no
Stav-3	26-3	Bh	yes	no	no
Stav-4	26-4	Bh	yes	no	no
Stav-5	26-5	Bh	yes	no	no
Stav-6	26-6	Bh	yes	no	no
Stav-7	26-7	Bh	yes	no	no
Stav-8	26-8	Bh	yes	no	no
Stav-9	26-9	Bh	yes	no	no
Tembi-1	9-1	Bh	yes	yes	no
Tembi-10	9-10	Bh	yes	yes	yes
Tembi-2	9-2	Bh	yes	yes	yes
Tembi-3	9-3	Bh	yes	yes	no
Tembi-4	9-4	Bh	yes	yes	yes
Tembi-5	9-5	Bh	yes	yes	no
Tembi-6	9-6	Bh	yes	yes	no
Tembi-7	9-7	Bh	yes	yes	no

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Tembi-8	9-8	Bh	yes	yes	no
Tembi-9	9-9	Bh	yes	yes	no
Thaso-1	54-1	Bh	yes	yes	no
Thaso-10	54-10	Bh	yes	yes	yes
Thaso-2	54-2	Bh	yes	yes	yes
Thaso-3	54-3	Bh	no	yes	no
Thaso-4	54-4	Bh	yes	yes	no
Thaso-5	54-5	Bh	yes	yes	yes
Thaso-7	54-7	Bh	yes	yes	no
Thaso-9	54-9	Bh	yes	yes	yes
Titho-1	12-1	Bh	yes	yes	no
Titho-10	12-10	Bh	yes	yes	no
Titho-2	12-2	Bh	yes	yes	no
Titho-3	12-3	Bh	yes	yes	no
Titho-4	12-4	Bh	yes	yes	no
Titho-5	12-5	Bh	yes	yes	no
Titho-6	12-6	Bh	yes	yes	no
Titho-7	12-7	Bh	yes	yes	no
Titho-8	12-8	Bh	yes	yes	no
Titho-9	12-9	Bh	yes	yes	no
Vego-1	45-1	Bd	yes	yes	yes
Vego-10	45-10	Bd	yes	yes	no
Vego-2	45-2	Bd	yes	yes	no
Vego-3	45-3	Bd	yes	yes	no
Vego-4	45-4	Bd	yes	yes	no
Vego-5	45-5	Bd	yes	yes	yes
Vego-6	45-6	Bd	yes	yes	yes
Vego-7	45-7	Bd	yes	yes	no
Vego-8	45-8	Bd	yes	yes	no
Vego-9	45-9	Bd	yes	yes	yes
Veli-1	34-1	Bs	yes	yes	yes
Veli-10	34-10	Bs	yes	yes	yes
Veli-2	34-2	Bs	yes	yes	yes
Veli-3	34-3	Bs	yes	yes	yes

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Veli-4	34-4	Bs	yes	yes	yes
Veli-5	34-5	Bs	yes	yes	yes
Veli-6	34-6	Bs	yes	yes	yes
Veli-7	34-7	Bs	yes	yes	yes
Veli-8	34-8	Bs	yes	yes	yes
Veli-9	34-9	Bs	yes	yes	yes
Verg-1	39-1	Bd	yes	yes	no
Verg-10	39-10	Bd	yes	yes	yes
Verg-2	39-2	Bd	yes	yes	yes
Verg-3	39-3	Bd	yes	yes	no
Verg-4	39-4	Bd	yes	yes	yes
Verg-5	39-5	Bd	yes	yes	no
Verg-6	39-6	Bd	yes	yes	no
Verg-7	39-7	Bd	yes	yes	yes
Verg-8	39-8	Bd	yes	yes	no
Verg-9	39-9	Bd	yes	yes	no
Viti-1	25-1	Bd	yes	yes	yes
Viti-10	25-10	Bd	yes	yes	yes
Viti-2	25-2	Bd	yes	yes	no
Viti-3	25-3	Bd	yes	yes	no
Viti-4	25-4	Bd	yes	yes	no
Viti-5	25-5	Bd	yes	yes	no
Viti-6	25-6	Bd	yes	yes	yes
Viti-7	25-7	Bd	yes	yes	no
Viti-8	25-8	Bd	yes	yes	yes
Viti-9	25-9	Bd	yes	yes	no
Xant-1	50-1	Bd	yes	yes	yes
Xant-10	50-10	Bd	yes	yes	yes
Xant-2	50-2	Bd	yes	yes	no
Xant-3	50-3	Bd	yes	yes	no
Xant-4	50-4	Bd	yes	yes	no
Xant-5	50-5	Bd	yes	yes	no
Xant-6	50-6	Bd	yes	yes	yes
Xant-7	50-7	Bd	yes	yes	yes

Adı	Kodu	Türü	FK	ÇDI	GK
Xant-8	50-8	Bd	yes	yes	no
Xant-9	50-9	Bd	yes	yes	no
Z2.2	66	Bh	yes	yes	no

EK 2. Popülasyonların kod numarası, adı ve koleksiyon bölgelerine ilişkin bilgiler

Kod Num.	Popülasyon adı	Koleksiyon Tarihi	Eyalet	Bölge	Enlem (N)	Boylam (E)	Rakım (M)
1	Gera	28-Jun-12	RETHYMNIS	Gerani/Crete Island	35.21.584	024.23.352	3
2	Lapa	28-Jun-12	RETHYMNIS	Lappa/Crete Island	35.16.186	024.19.694	413
3	Pela	29-Jun-12	IRAKLEIOU	Agia Pelagia/ Crete Island	35.23.730	025.01.113	148
4	Dafne	29-Jun-12	IRAKLEIOU	Dafnes/ Crete Island	35.13.839	025.03.874	167
5	Fira	01-Jul-12	KIKLADON	Santorini Island/kamari	36.22.483	025.28.646	55
6	Fifi	03-Jul-12	SERRON	Elaionas/Serres	41.08.418	023.35.180	468
7	Olym	13-Jul-12	PIERIAS	Olympos	40.06.338	022.28.743	713
8	Lito	13-Jul-12	PIERIAS	Vrondou/Litohoro	40.12.846	022.24.588	113
9	Tembi	14-Jul-12	LARISSAS	Tempi	39.52.845	022.35.212	57
10	Farsa	14-Jul-12	LARISAS	Farsala	39.17.212	022.24.960	286
11	Bralo	15-Jul-12	FTHIOTIDAS	Mpralos/Eleutherohori	38.45.809	022.26.795	644
12	Titho	15-Jul-12	VIOTIAS	Tithorea	38.34.878	022.44.340	177
13	Liva	15-Jul-12	VIOTIAS	Livadia	38.25.814	022.52.506	170
14	Aigi	16-Jul-12	ATTIKIS	Aigina Is./Agios Nektarios	37.44.807	023.29.125	176
15	Athen	16-Jul-12	ATTIKIS	Athens/Aigaleo Mountain	37.59.744	023.39.083	167
16	Mega	18-Jul-12	ATTIKIS	Megara	37.59.888	023.21.263	41
17	Solo	18-Jul-12	KORINTHIAS	Solomos	37.49.804	022.53.280	214
18	Argo	18-Jul-12	ARGOLIDAS	Argos	37.38.806	022.43.661	43
19	Ahla	18-Jul-12	ARGOLIDAS	Ahladokampos	37.30.947	022.36.383	669
20	Piga	18-Jul-12	ARKADIAS	Pigadakia	37.16.497	022.25.967	878
21	Gyth	19-Jul-12	LAKONIAS	Mavrovouni/Gytheio	36.44.219	022.34.255	45
22	Hota	19-Jul-12	LAKONIAS	Hotasia	36.43.617	022.21.123	335

Kod Num.	Popülasyon adı	Koleksiyon Tarihi	Eyalet	Bölge	Enlem (N)	Boylam (E)	Rakım (M)
23	Karda	19-Jul-12	MESSINIAS	Kardamyli	36.55.225	022.12.715	420
24	Para	19-Jul-12	ARKADIAS	Paradeisia	37.16.408	022.01.386	270
25	Viti	20-Jul-12	ARKADIAS	Vitina	37.39.512	022.11.086	1.000
26	Stav	20-Jul-12	ARKADIA	Stavrodromi	37.41.901	021.56.035	552
27	Elia	20-Jul-12	ELIAS	Ancient Olympia	37.38.496	021.37.517	46
28	Hion	21-Jul-12	AHAIAS	Hiona	38.01.315	021.42.261	260
29	Peri	21-Jul-12	AITOLOAKARNANIAS	Perithori	38.22.672	021.37.301	47
30	Amfi	21-Jul-12	AITOLOAKARNANIAS	Amfilohia	38.52.167	021.09.653	0
31	Lefk	22-Jul-12	LEFKADAS	Agioi Pateres	38.45.374	020.42.022	297
32	Katsi	22-Jul-12	LEFKADAS	Porto Katsiki	38.36.175	020.33.026	27
33	Kana	23-Jul-12	PREVEZAS	Kanali	39.05.445	020.39.735	16
34	Veli	23-Jul-12	PREVEZAS	Parga	39.16.993	020.23.910	70
35	Grik	23-Jul-12	THESPROTIAS	Grika	39.28.329	020.26.474	227
36	Kory	24-Jul-12	TRIKALON	Korydallos	39.47.930	021.21.778	685
37	Grev	25-Jul-12	GREVENON	Anoiksi	39.57.008	021.33.604	700
38	Koza	25-Jul-12	KOZANIS	Kozani	40.17.258	021.44.929	735
39	Verg	25-Jul-12	IMATHIAS	Vergina	40.29.658	022.18.171	70
40	Sofy	11-Aug-12	SERRON	Ahladohori	41.18.501	023.31.385	460
41	Kilk	12-Aug-12	KILKIS	Kilkis	41.00.593	022.50.289	280
42	Evzo	12-Aug-12	KILKIS	Evzonoï	41.01.779	022.36.388	75
43	Lept	12-Aug-12	PELLAS	Leptokarya	40.52.363	022.28.113	179
44	Edes	13-Aug-12	PELLAS	Edessa	40.48.933	022.03.281	370
45	Vego	13-Aug-12	FLORINAS	Vegora	40.39.406	021.42.292	586

Kod Num.	Popülasyon adı	Koleksiyon Tarihi	Eyalet	Bölge	Enlem (N)	Boylam (E)	Rakım (M)
46	Alis	14-Aug-12	SERRON	Alistrati	41.02.779	023.57.120	232
47	Pros	14-Aug-12	DRAMAS	Prosotsani	41.12.632	023.57.647	259
48	Adri	16-Aug-12	DRAMAS	Adriani	41.09.236	024.17.238	230
49	Dram	16-Aug-12	DRAMAS	Stavroupoli	41.12.653	024.43.541	306
50	Xant	16-Aug-12	XANTHIS	Xanthi	41.07.872	024.50.884	262
51	Linos	16-Aug-12	RODOPI	Linos	41.08.007	025.15.337	88
52	Sapes	16-Aug-12	EVROU	Sapes	40.59.930	025.39.802	89
53	Fere	16-Aug-12	EVROU	Ardani/Ferres	40.56.470	026.12.954	47
54	Thaso	17-Aug-12	KAVALAS	Thassos/ Thasos Island	40.45.803	024.42.954	61
55	Asti	17-Aug-12	KAVALAS	Astris/ Thasos Island	40.35.016	024.38.940	24
56	Leon	18-Aug-12	SERRON	Amfipoli	40.48.114	023.50.399	49
57	Sela	18-Aug-12	THESSALONIKIS	Titan	40.43.059	022.57.495	210
58	Serre	20-Aug-12	SERRON	Ano Vronidou	41.12.133	023.38.303	930
59	Kormi	29-Aug-12	SERRON	Kormista	40.59.504	024.04.582	129
60	Eren	03-Sep-12	SERRON	Em. Pappas	41.05.218	023.42.992	308

EK 3. Diğer koleksiyonlardan bu alımda kullanılan birey ve aksesyonların toplandıkları lokasyonlara ilişkin bilgiler

Kod	Aksesyon	Tür	Adet	Eyalet	Bölge	Enlem (N)	Boylam (W)	Rakım
61	Bd21-3	<i>B. distachyon</i>	12	Iraq	Iraq	-	-	-
62	AL1.1	<i>B. stacei</i>	2	Almería	Cala Chica	36° 43' 57"	2° 07' 59"	60
63	AL5.2	<i>B. stacei</i>	2	Almería	San Jose	36° 46' 00"	2° 06' 23"	10
64	GR3.4	<i>B. distachyon</i>	3	Granada	Iznalloz	37° 24' 02"	3° 28' 35"	925
65	BA6.6	<i>B. distachyon</i>	3	Badajoz	Fregenal de la Sierra	38° 10' 10"	6° 39' 43"	608
66	Z2.2	<i>B. hybridum</i>	3	Zaragoza	Puerto Cavero	41° 23' 32"	1° 33' 55"	771
67	HU1.6	<i>B. distachyon</i>	3	Huesca	Almunia de San Juan	41° 56' 25"	0° 15' 55" (E)	427
68	CC3.2	<i>B. hybridum</i>	3	Cáceres	Almaraz	39° 48' 16"	5° 41' 11"	277
69	MA1.2	<i>B. hybridum</i>	3	Madrid	Patones	40° 53' 17"	3° 26' 59"	837

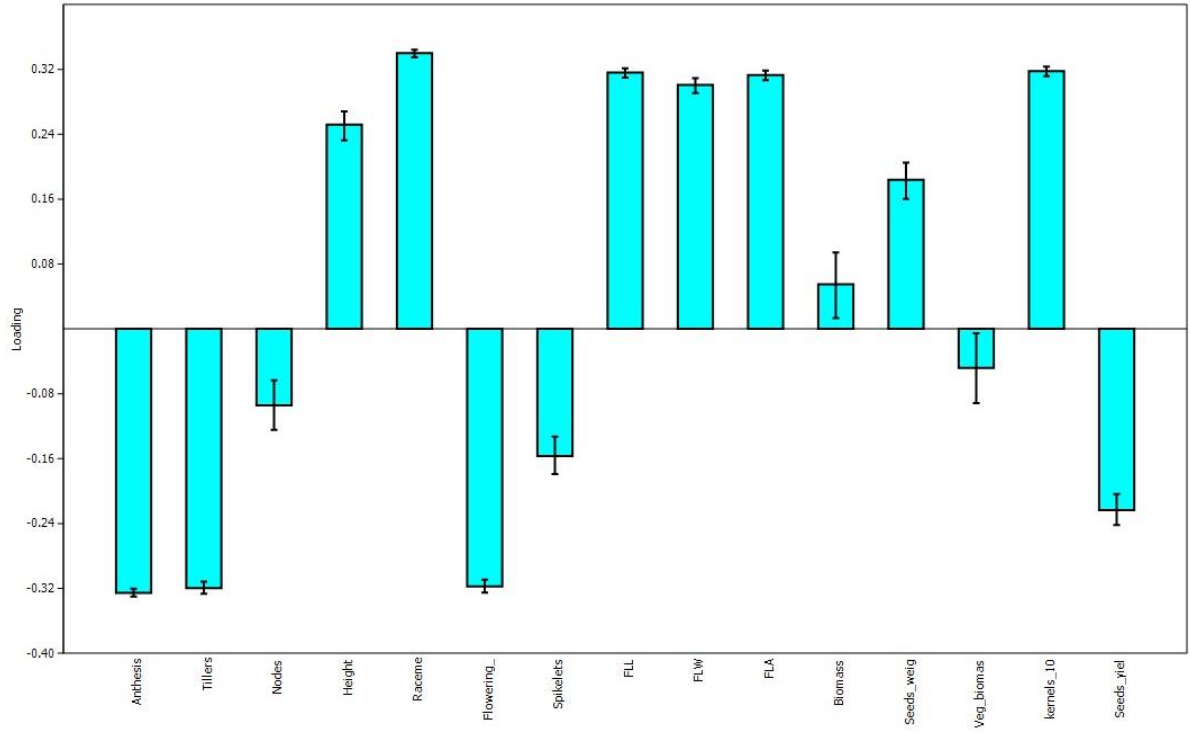
EK 4. Tüm bitkilerin fenotipik karakteriyle yapılan PCA'dan yüklemeler (loadings)

	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4	PC 5	PC 6	PC 7	PC 8	PC 9	PC 10	PC 11	PC 12	PC 13	PC 14	PC 15
Başaklanma	-0.325	0.090	0.115	0.008	0.158	0.024	0.243	-0.268	0.045	0.792	0.216	0.197	0.020	-0.042	-0.006
Saplar	-0.320	0.096	0.207	-0.259	-0.013	0.180	0.036	0.449	0.121	-0.017	0.124	-0.073	0.033	0.711	0.015
Boğumlar	-0.094	0.199	0.126	0.819	-0.051	0.266	0.374	0.166	0.061	-0.122	-0.056	-0.045	-0.006	-0.008	-0.001
Boy	0.252	0.157	0.241	-0.020	-0.194	-0.697	0.341	0.340	-0.242	0.158	-0.102	0.016	0.056	0.017	-0.002
Salkım	0.340	0.039	0.018	0.034	0.065	-0.153	0.098	-0.011	0.466	-0.152	0.773	0.025	-0.072	-0.015	-0.003
Salkımlı sap	-0.318	0.096	0.200	-0.270	-0.013	0.158	0.021	0.490	0.087	-0.078	0.099	-0.008	0.017	-0.698	-0.019
Başakçıklar	-0.157	0.205	-0.240	0.241	0.698	-0.347	-0.371	0.260	0.028	0.034	-0.031	-0.036	0.002	0.013	0.004
BYB	0.316	0.147	0.089	-0.175	0.275	0.136	0.204	-0.046	0.449	0.024	-0.373	0.003	0.600	-0.016	-0.003
BYE	0.301	0.141	0.043	-0.087	0.323	0.343	0.107	0.041	-0.691	-0.032	0.325	-0.060	0.237	0.002	0.001
BYA	0.313	0.173	0.100	-0.190	0.298	0.196	0.210	0.044	0.085	0.061	-0.263	0.028	-0.756	0.008	0.002
Biyokütle	0.055	0.586	0.004	-0.017	-0.237	0.042	-0.269	-0.108	0.014	0.056	0.010	-0.068	-0.004	0.011	-0.709
Tohum ağırl.	0.184	0.253	-0.607	-0.023	-0.300	0.153	-0.023	0.251	0.068	0.352	0.023	-0.312	0.006	-0.032	0.359
Veg.biyoküt.	-0.048	0.533	0.380	-0.007	-0.101	-0.044	-0.297	-0.279	-0.019	-0.133	0.003	0.081	-0.005	-0.010	0.012
BTA	0.318	-0.132	0.075	0.162	-0.132	0.187	-0.382	0.336	0.016	0.218	-0.026	0.698	0.035	0.032	0.015

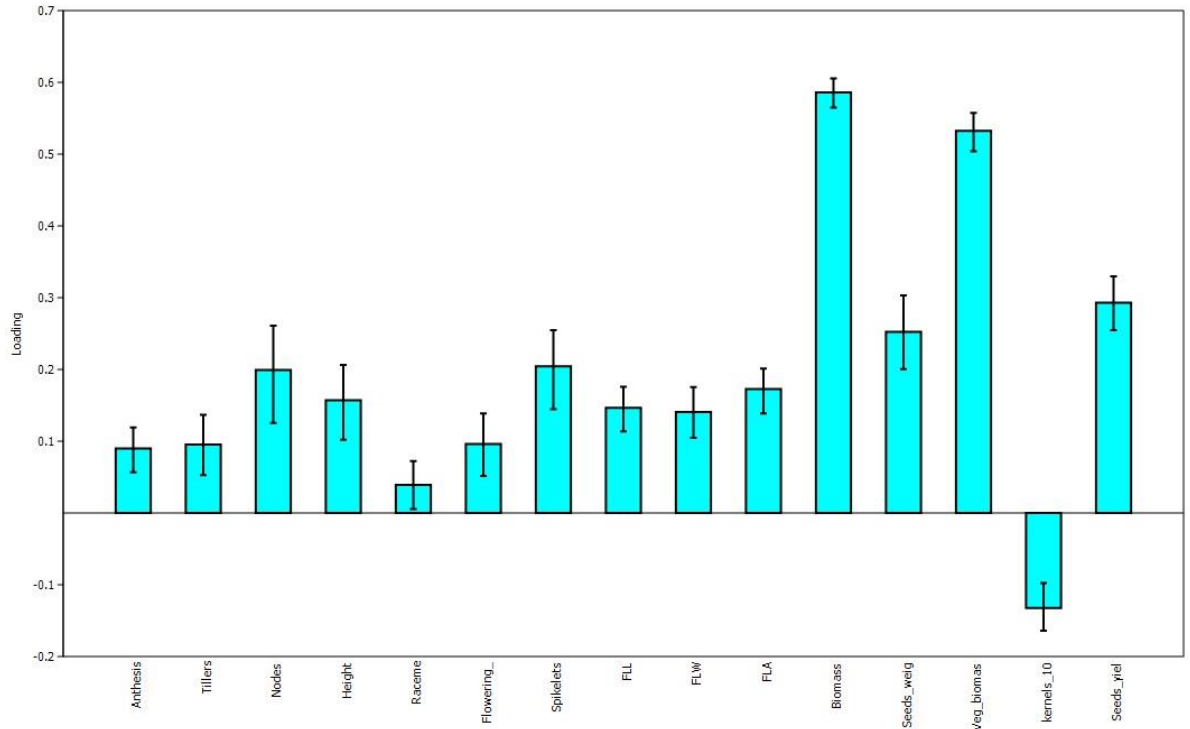
EK 5. 15 PC (Temel Bileşenler) için popülasyonların fenotipik karekteriyle yapılan PCA'dan yüklemeler (loadings)

YÜKLEMELER	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4	PC 5	PC 6	PC 7	PC 8	PC 9	PC 10	PC 11	PC 12	PC 13	PC 14	PC 15
Başaklanma	-0.297	0.131	0.015	0.006	0.197	0.386	0.223	-0.349	0.657	-0.164	0.148	0.224	0.031	-0.052	0.003
Saplar	-0.303	0.153	-0.264	0.117	-0.046	-0.105	0.387	0.308	0.034	0.133	0.083	-0.063	0.088	0.711	-0.028
Boğumlar	-0.119	0.217	0.347	-0.780	0.059	0.182	0.310	0.097	-0.253	0.017	-0.053	-0.025	-0.011	-0.006	0.000
Boy	0.270	0.071	-0.140	0.127	-0.043	0.774	-0.115	0.488	-0.051	-0.122	-0.103	0.023	0.072	0.019	-0.001
Salkım	0.325	-0.028	0.113	0.033	0.156	0.132	0.084	-0.012	0.039	0.705	0.566	0.011	-0.105	-0.016	-0.002
Salkımlı saplar	-0.299	0.150	-0.284	0.130	-0.047	-0.125	0.359	0.379	-0.016	0.134	0.034	-0.012	-0.031	-0.692	0.028
Başakçıklar	-0.214	0.121	0.347	0.090	0.651	-0.165	-0.367	0.417	0.174	0.071	-0.117	-0.036	0.031	0.020	0.002
BYB	0.314	0.115	-0.044	0.127	0.294	-0.031	0.320	-0.225	-0.070	0.210	-0.443	0.030	0.618	-0.048	-0.001
BYE	0.312	0.154	0.011	0.046	0.244	-0.177	0.181	0.078	-0.107	-0.592	0.558	-0.172	0.208	-0.037	-0.002
BYA	0.308	0.171	-0.068	0.141	0.308	-0.046	0.316	-0.068	-0.054	-0.104	-0.288	0.087	-0.735	0.071	0.004
Biyokütle	0.125	0.591	-0.028	-0.033	-0.213	-0.095	-0.198	-0.038	0.151	0.066	-0.022	-0.066	-0.006	-0.032	-0.711
Tohum ağırlığı	0.173	0.203	0.576	0.237	-0.441	-0.082	0.186	0.134	0.316	-0.005	-0.112	-0.241	-0.006	-0.003	0.341
Veg. biyokütle	0.050	0.572	-0.351	-0.169	-0.004	-0.063	-0.332	-0.121	-0.005	0.081	0.044	0.056	0.008	0.028	0.614
Tohum verimi	-0.242	0.264	0.335	0.392	-0.074	0.088	0.000	-0.120	-0.495	-0.033	0.132	0.559	0.037	0.021	-0.003
BTA	0.318	-0.132	0.075	0.162	-0.132	0.187	-0.382	0.336	0.016	0.218	-0.026	0.698	0.035	0.032	0.012

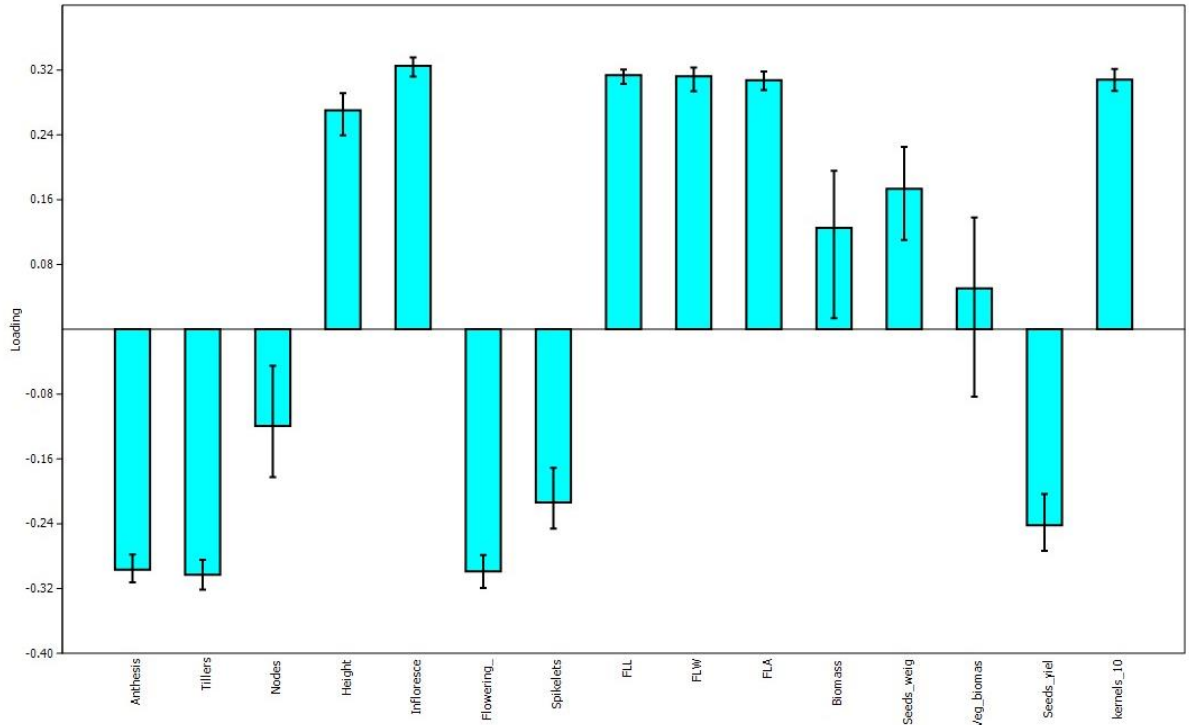
EK 6. Bireylerde fenotipik verilerle yapılan PCA'dan PC1 yüklemeleri (loadings)



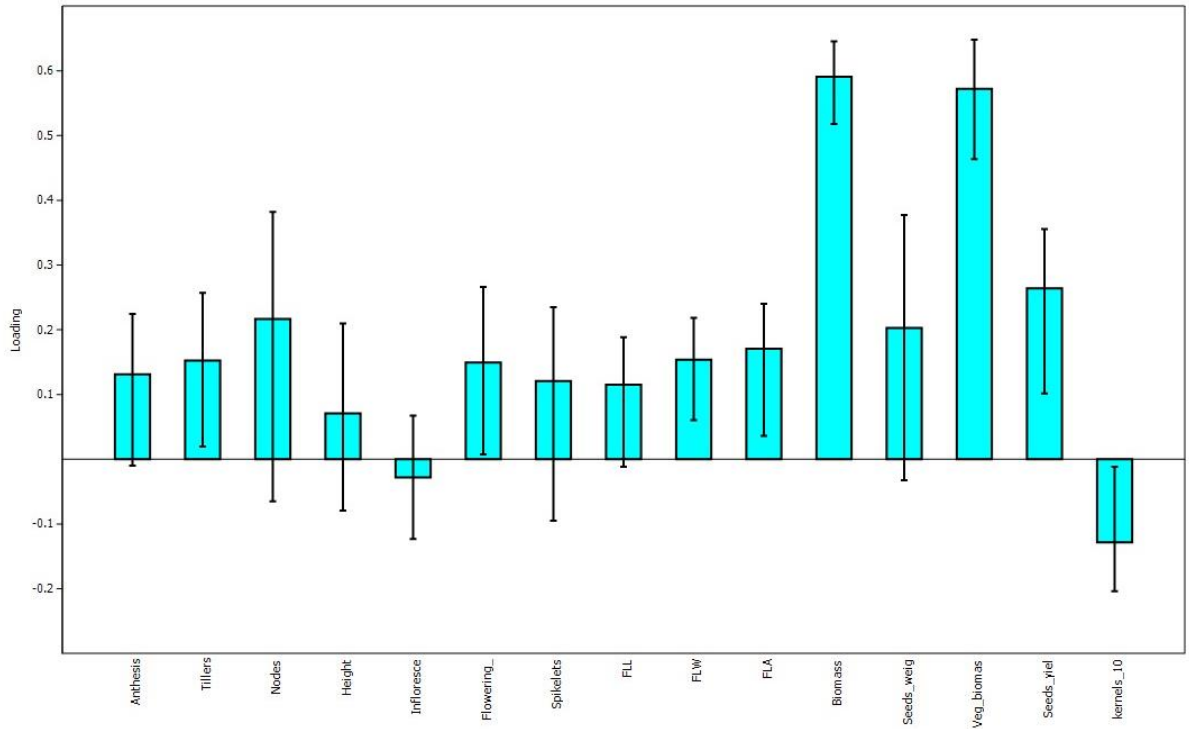
EK 7. Bireylerde fenotipik verilerle yapılan PCA'dan PC2 yüklemeleri



EK 8. Popülasyonlara fenotipik verilerle yapılan PCA'dan PC1 yüklemeleri



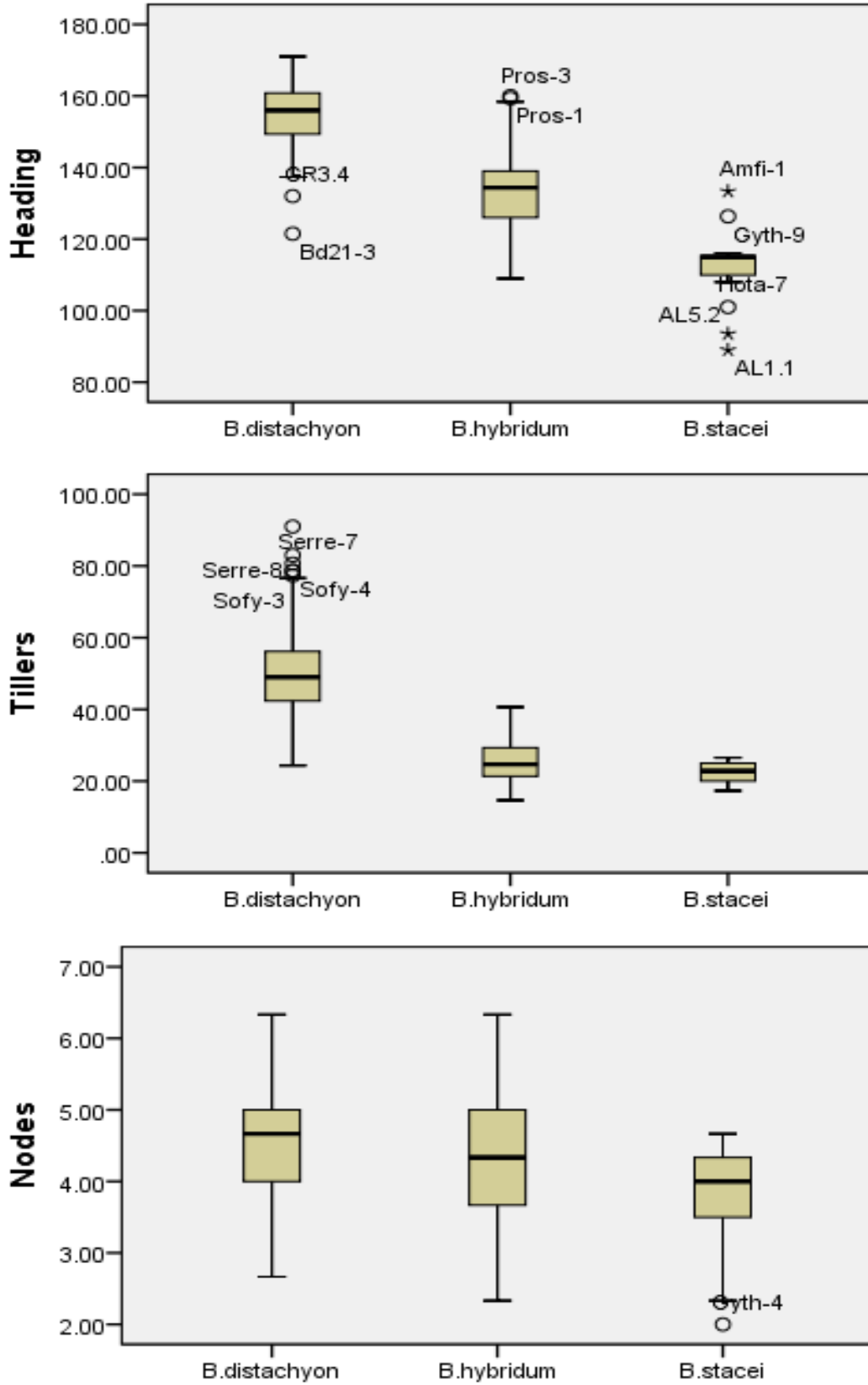
EK 9. Popülasyonlara fenotipik verilerle yapılan PCA'dan PC2 yüklemeleri



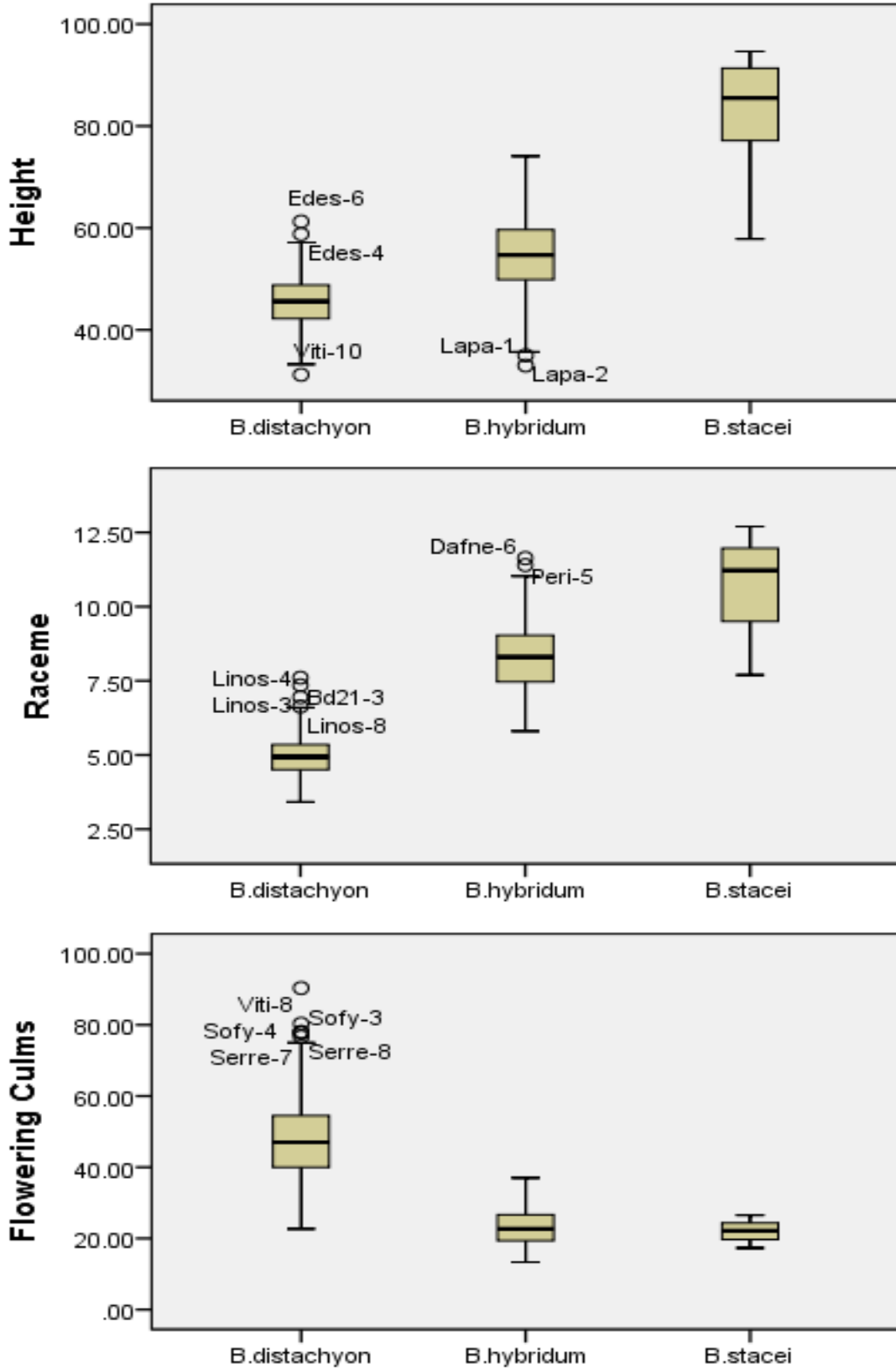
EK 10. Ayrıştırma (diskriminant) analizinden yüklemeler

YÜKLEMELER	EKSEN 1	EKSEN 2
Başaklanma	0.28803	0,05457
Saplar	0,28668	-0,13765
Boğumlar	0,05203	0,08461
Boy	-0,24045	-0,34426
Salkımlar	-0,32279	-0,00888
Salkımlı saplar	0,28870	-0,16034
Başakçıklar	0,18148	-0,00433
BYA	-0,26120	-0,30283
Biyokütle	-0,05544	-0,27462
Tohum ağırlığı	-0,15588	0,01802
Vegetatif biyokütle	0,03006	-0,33330
BTA	-0,29359	0,03811

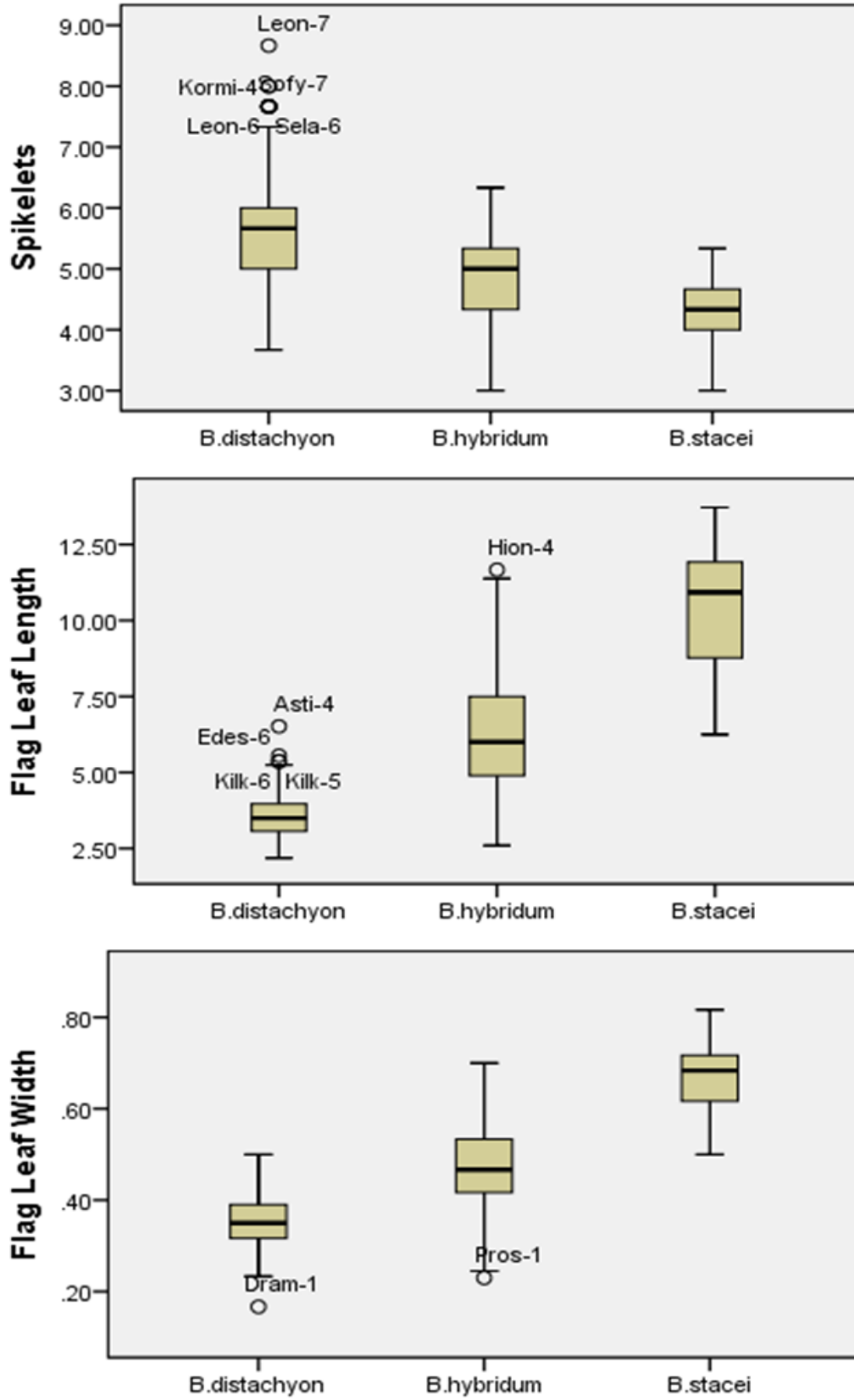
EK 11. Fenotipik karakteristiklerle oluşturulan kutu diyagramları, başaklanma (gün), sap sayıları (adet) ve boğumlar (adet)



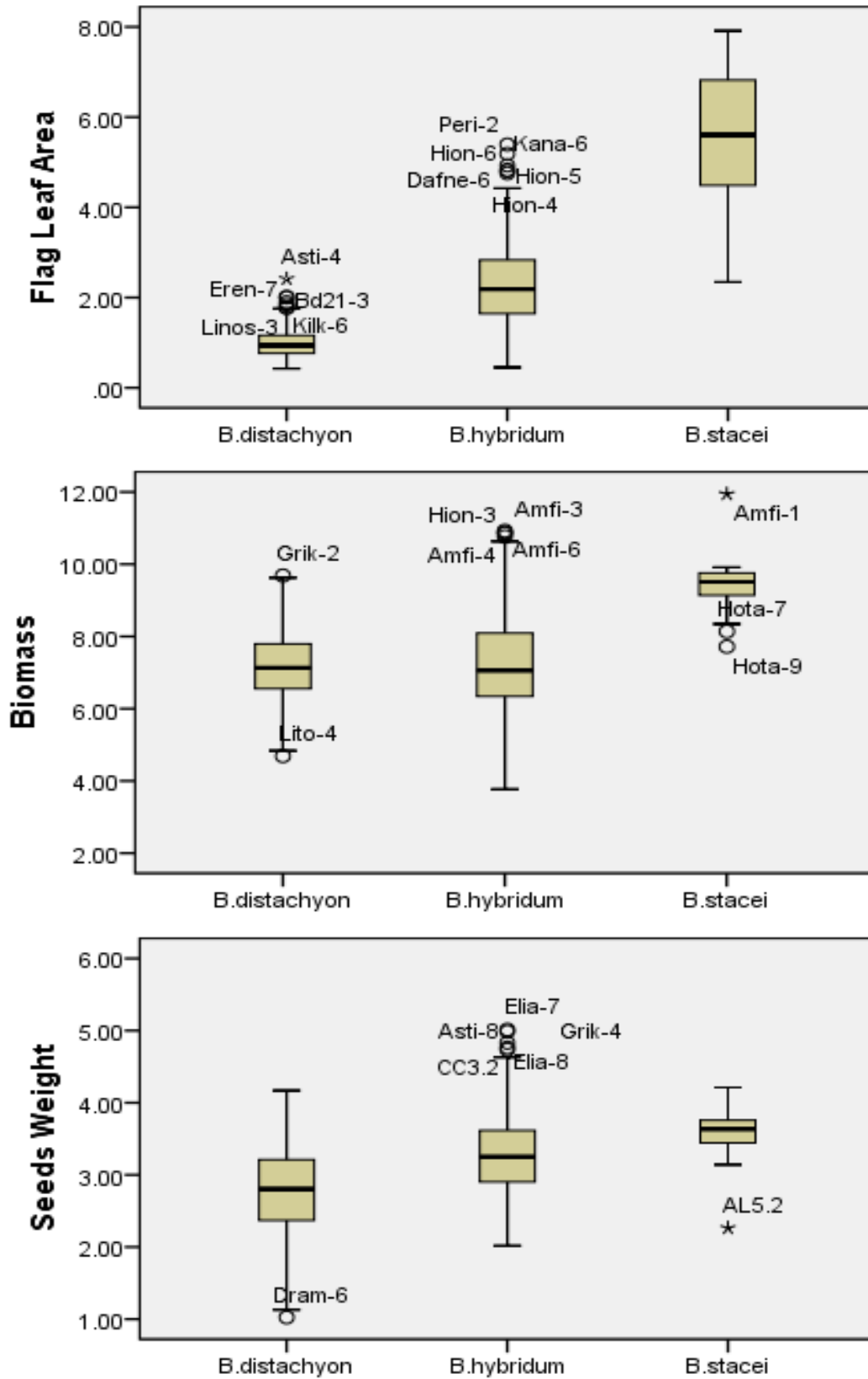
EK 12. Fenotipik karakteristiklerle oluşturulan kutu diyagramları, üç türde bitki boyları (cm) salkım uzunluğu (cm) ve salkımlı sap sayıları (adet)



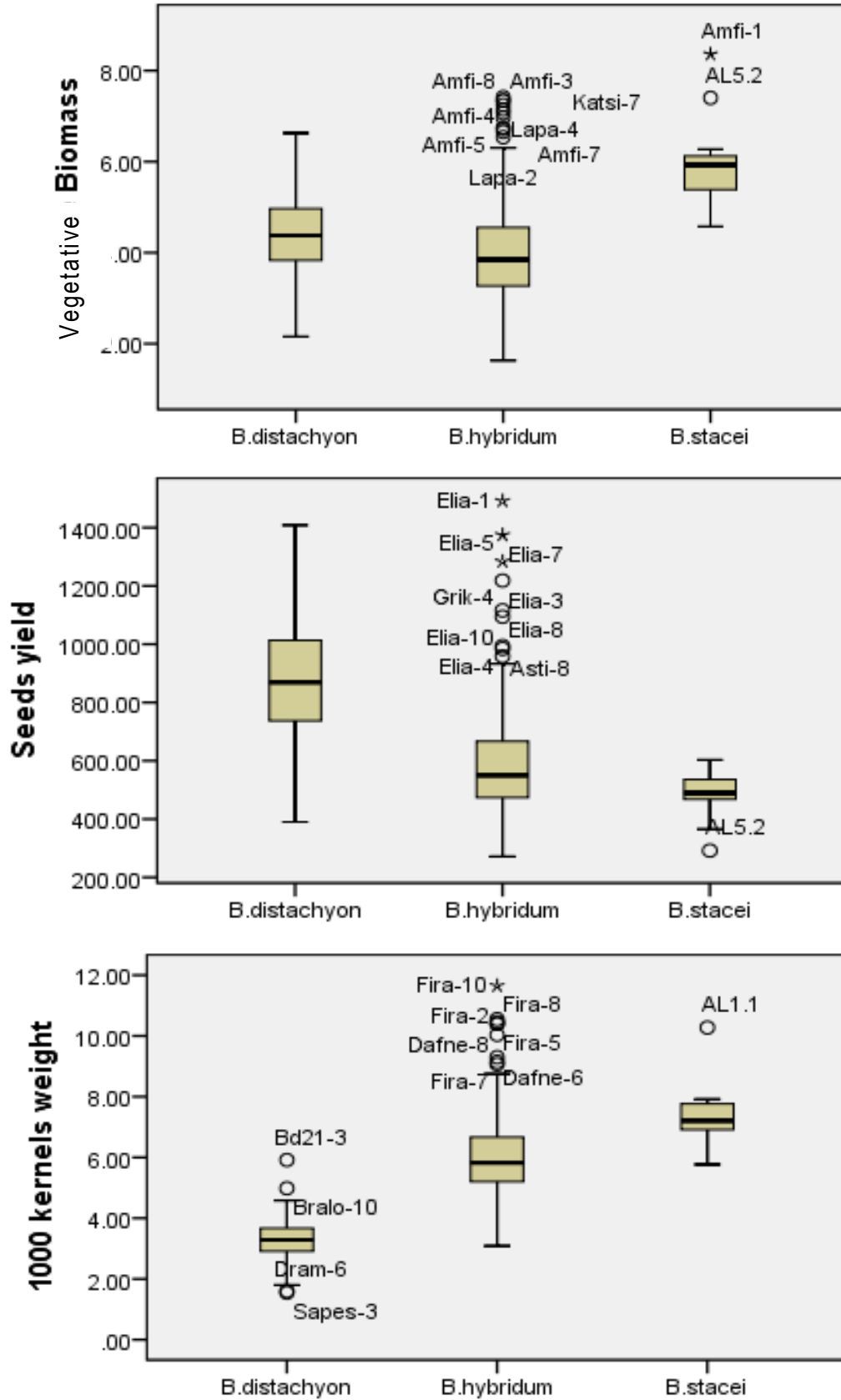
EK 13. Fenotipik karakteristیکlerle oluşturulan kutu diyagramları, üç türde başakçık (adet), bayrak yaprak boyu (cm) ve bayrak yaprak eni (cm)



EK 14. Fenotipik karakteristiklerle oluşturulan kutu diyagramları, üç türde bayrak yaprak alanı (cm²), bitkinin toplam biyokütlesi (gr) ve toplam tohum ağırlıkları (gr)

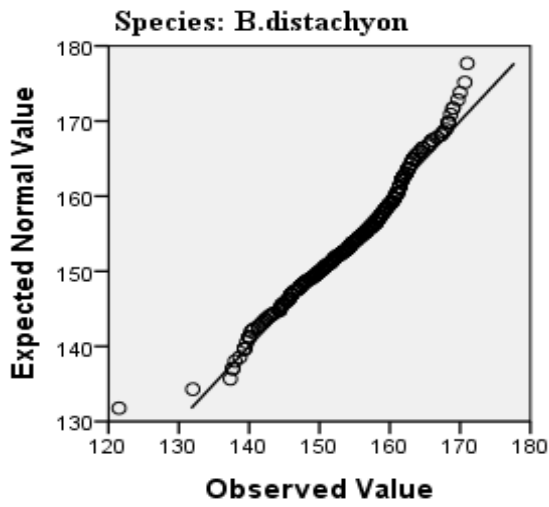


EK 15. Fenotipik karakteristiklerle oluşturulan kutu diyagramları: üç türde vegetative biyokütle (gr), bitkilerin tohum verimi (adet) ve bin tane tohum ağırlıkları (gr)

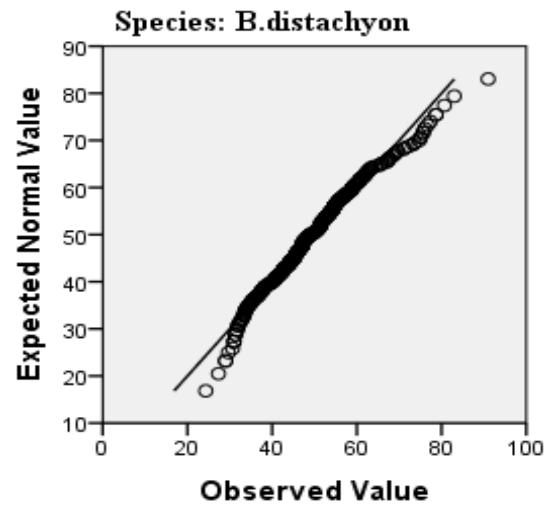


EK 16. Her türün 15 fenotipik karakteristiği için normal Q-Q eğrileri

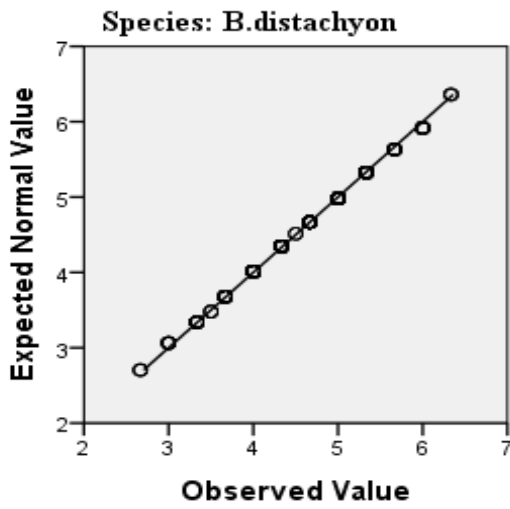
Normal Q-Q Plot of Heading



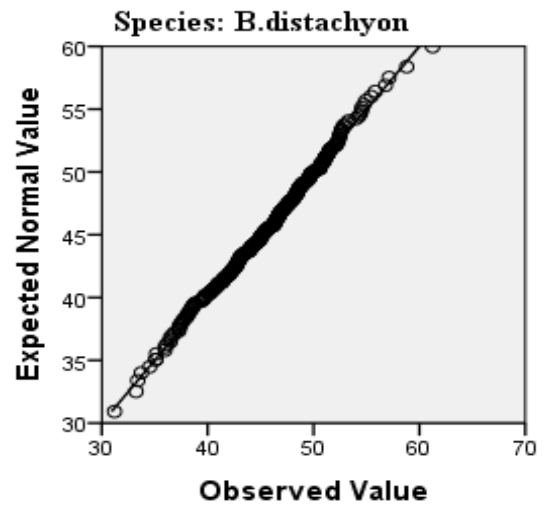
Normal Q-Q Plot of Tillers



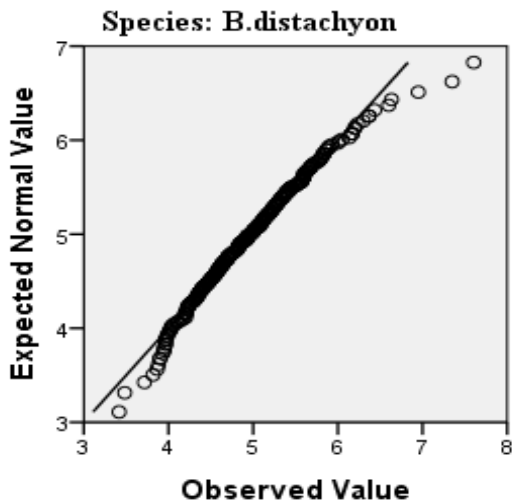
Normal Q-Q Plot of Nodes



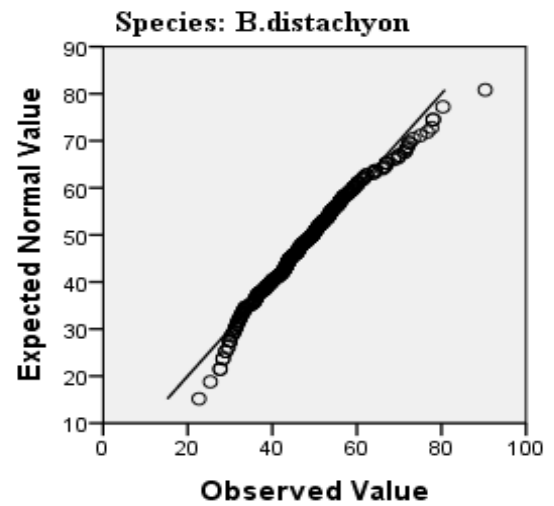
Normal Q-Q Plot of Height



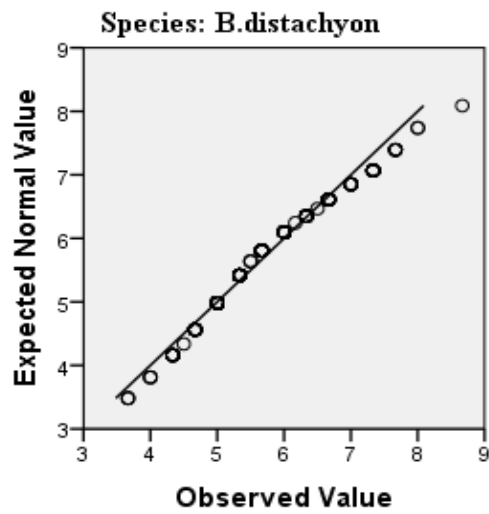
Normal Q-Q Plot of Raceme



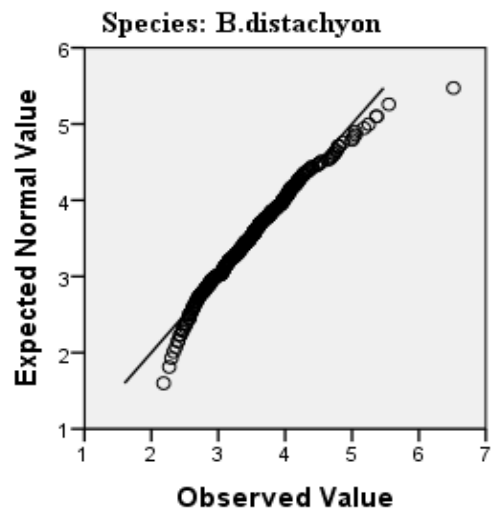
Normal Q-Q Plot of Flowering Culms



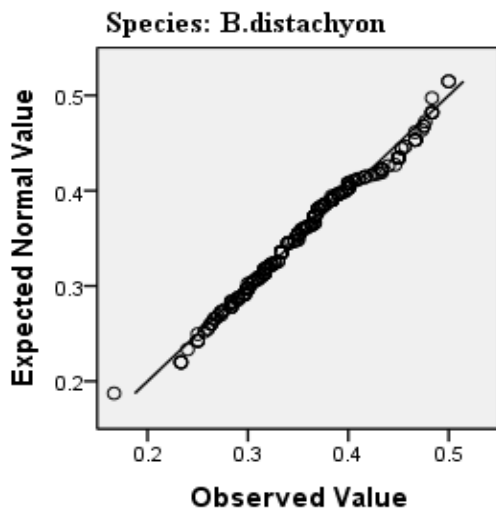
Normal Q-Q Plot of Spikelets



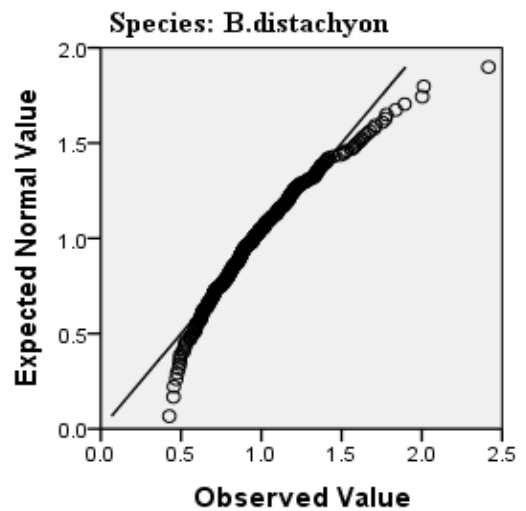
Normal Q-Q Plot of Flag Leaf Length



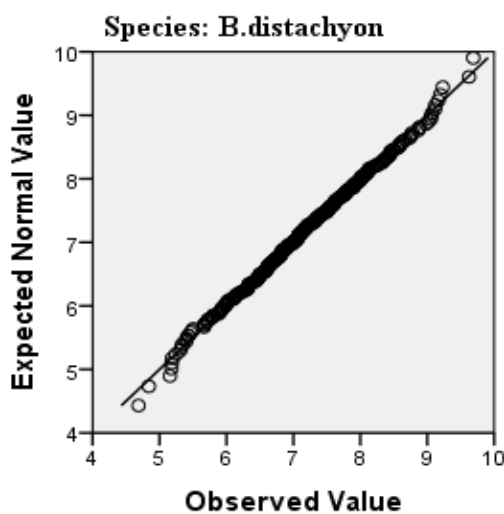
Normal Q-Q Plot of Flag Leaf Width



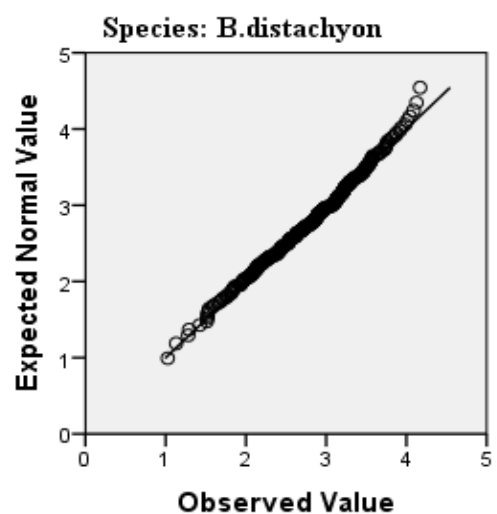
Normal Q-Q Plot of Flag Leaf Area



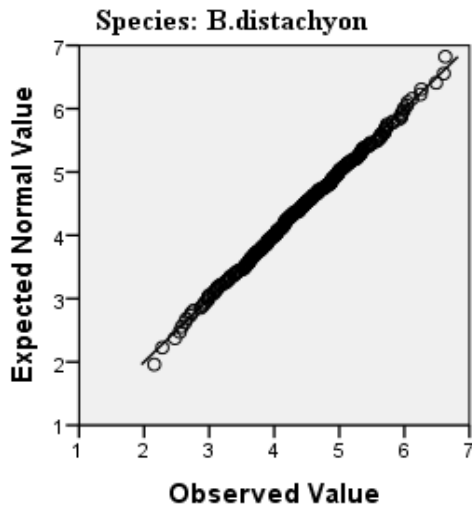
Normal Q-Q Plot of Biomass



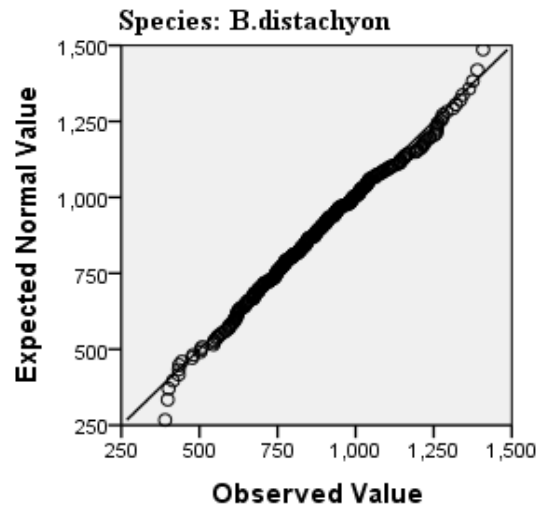
Normal Q-Q Plot of Seeds Weight



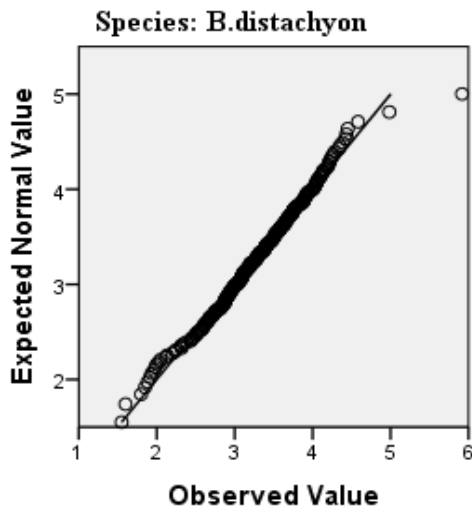
Normal Q-Q Plot of Vegetable Biomass



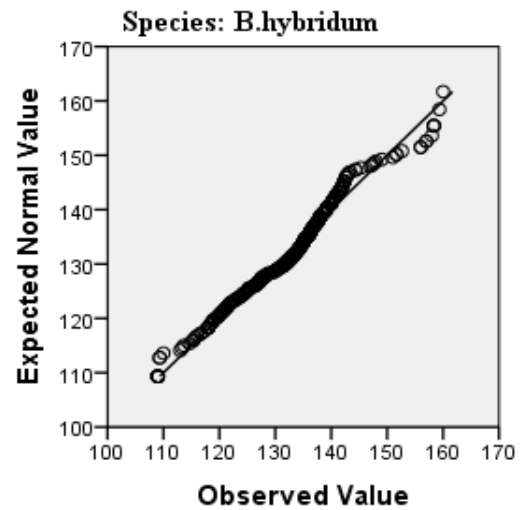
Normal Q-Q Plot of Seeds yield



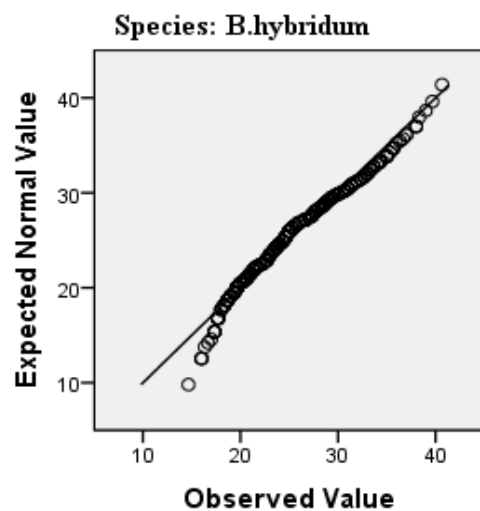
Normal Q-Q Plot of 1000 kernels weight



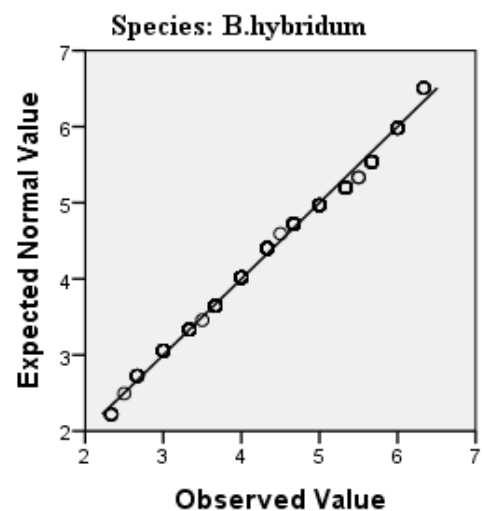
Normal Q-Q Plot of Heading



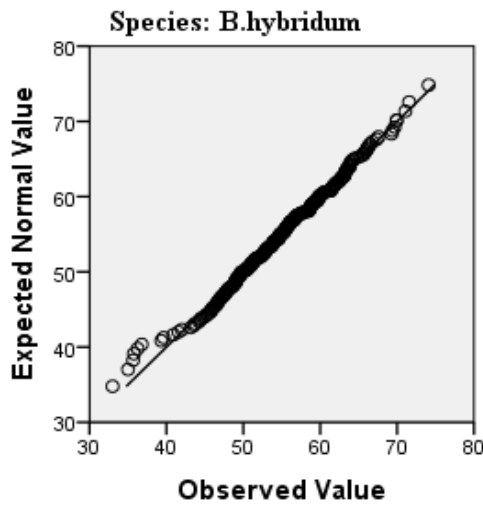
Normal Q-Q Plot of Tillers



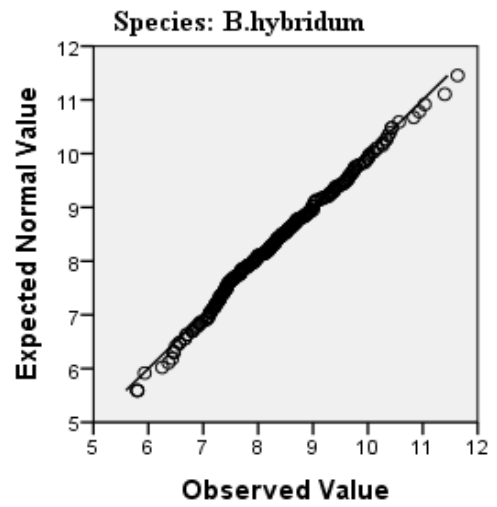
Normal Q-Q Plot of Nodes



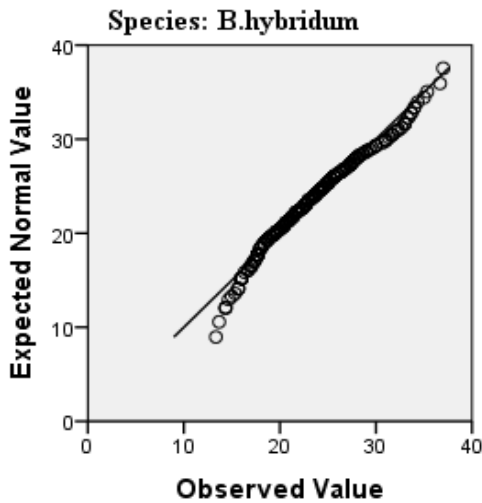
Normal Q-Q Plot of Height



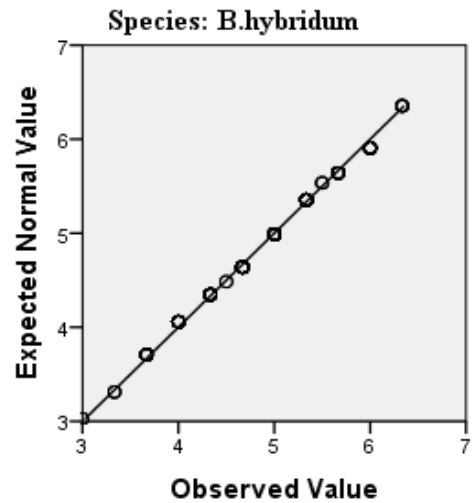
Normal Q-Q Plot of Raceme



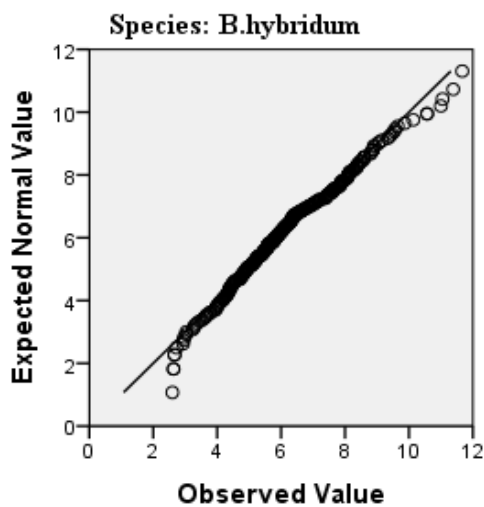
Normal Q-Q Plot of Flowering Culms



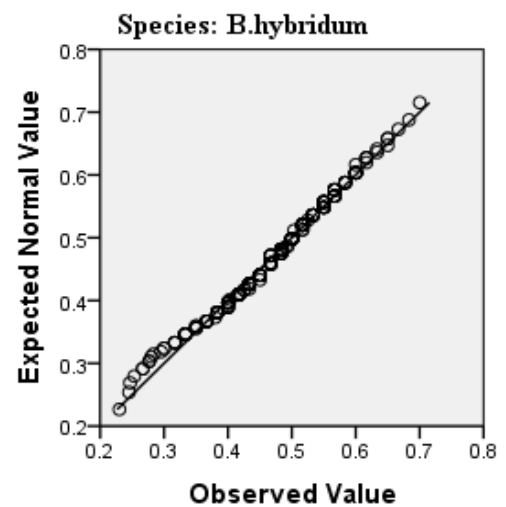
Normal Q-Q Plot of Spikelets



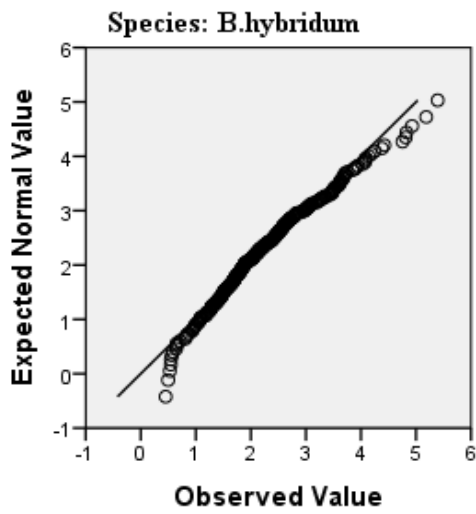
Normal Q-Q Plot of Flag Leaf Length



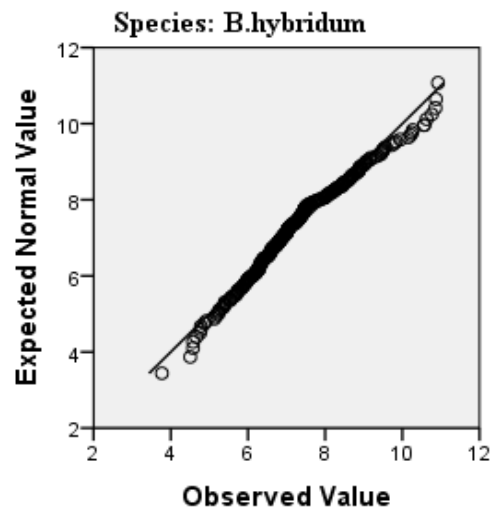
Normal Q-Q Plot of Flag Leaf Width



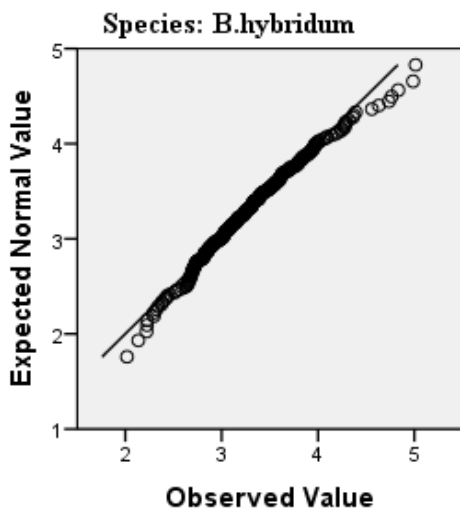
Normal Q-Q Plot of Flag Leaf Area



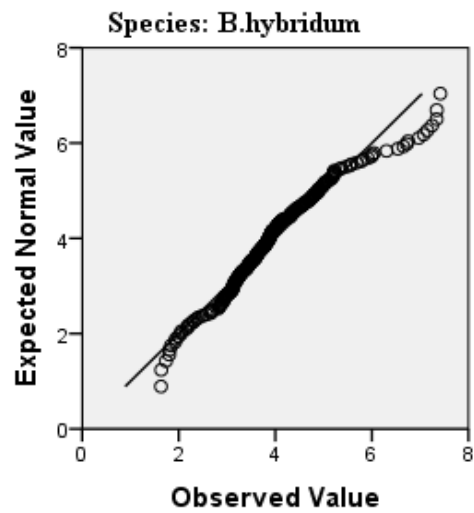
Normal Q-Q Plot of Biomass



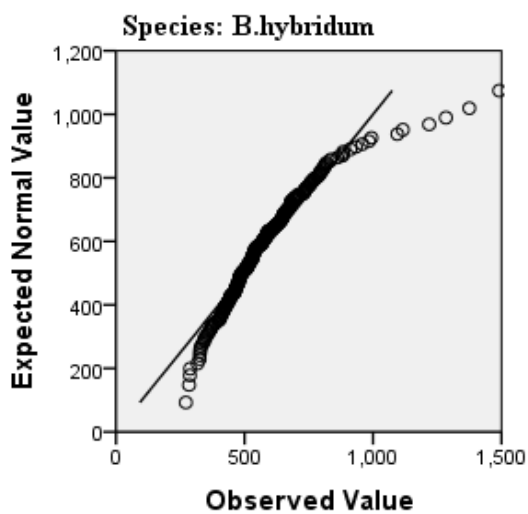
Normal Q-Q Plot of Seeds Weight



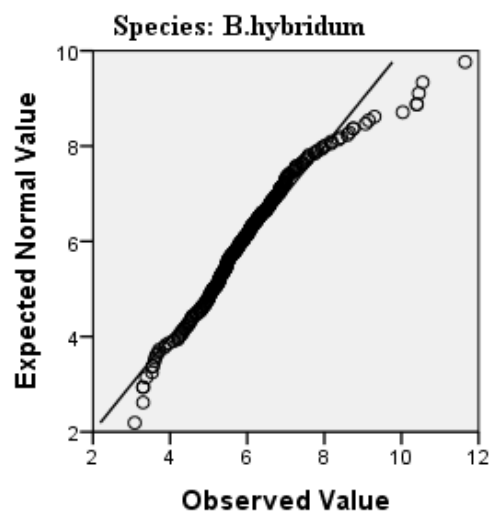
Normal Q-Q Plot of Vegetable Biomass



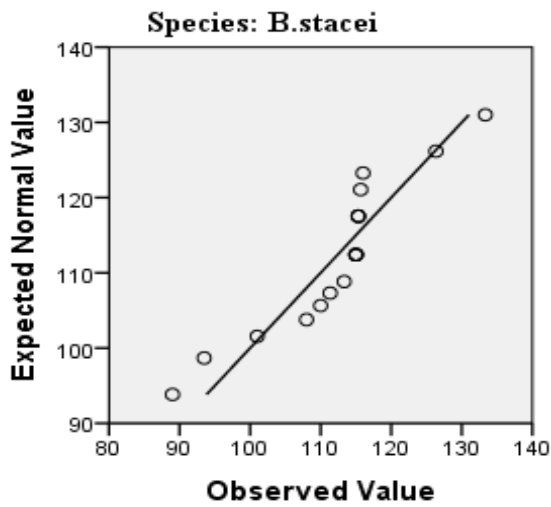
Normal Q-Q Plot of Seeds yield



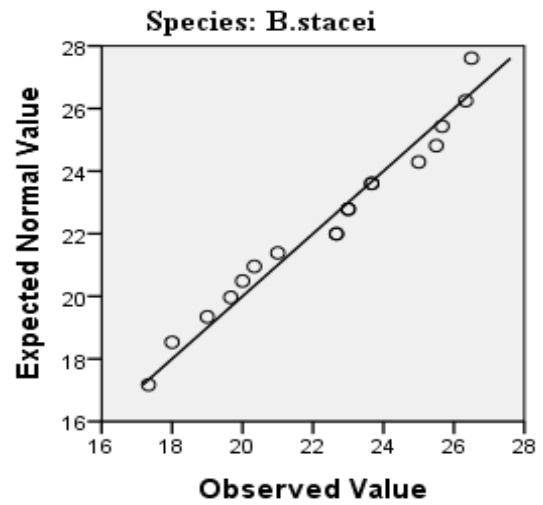
Normal Q-Q Plot of 1000 kernels weight



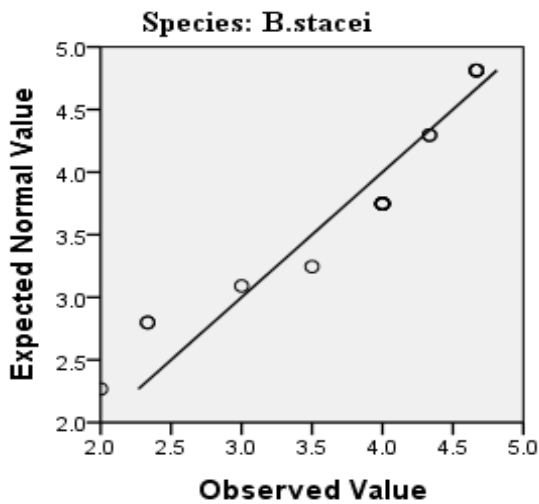
Normal Q-Q Plot of Heading



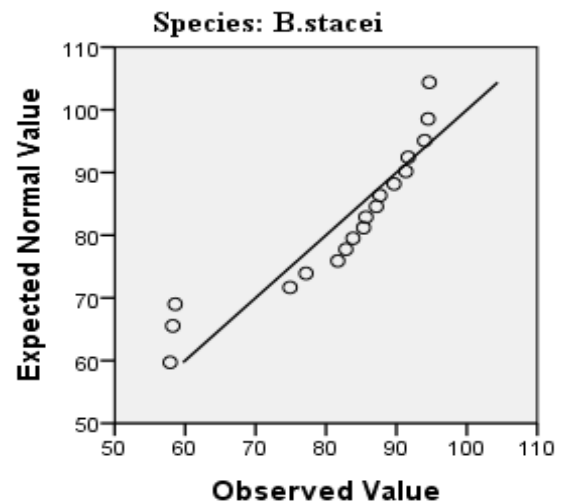
Normal Q-Q Plot of Tillers



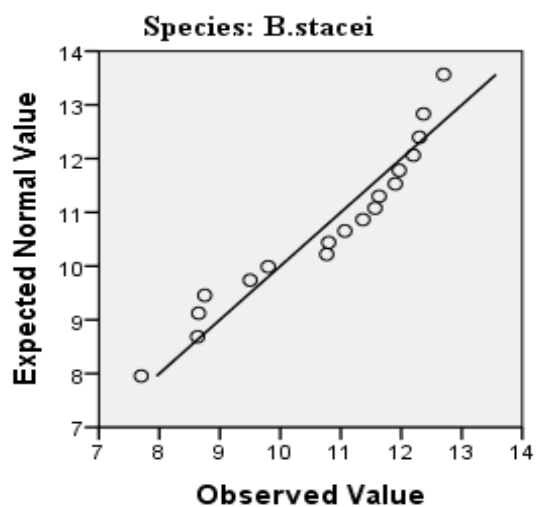
Normal Q-Q Plot of Nodes



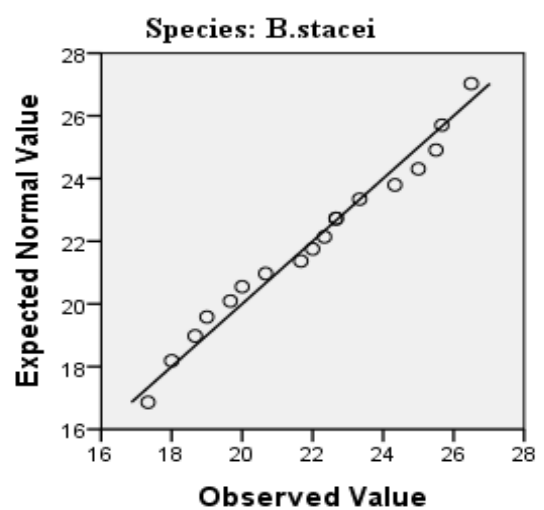
Normal Q-Q Plot of Height



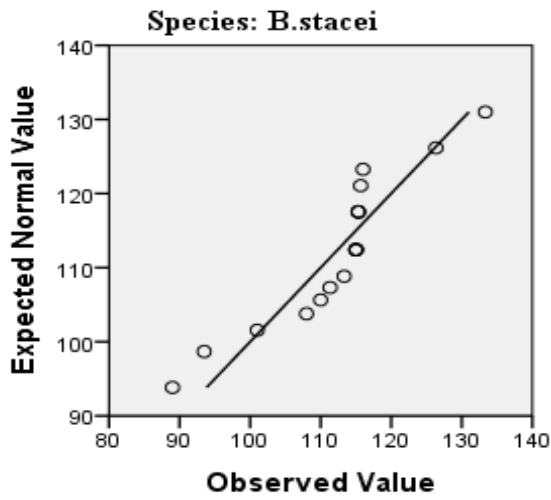
Normal Q-Q Plot of Raceme



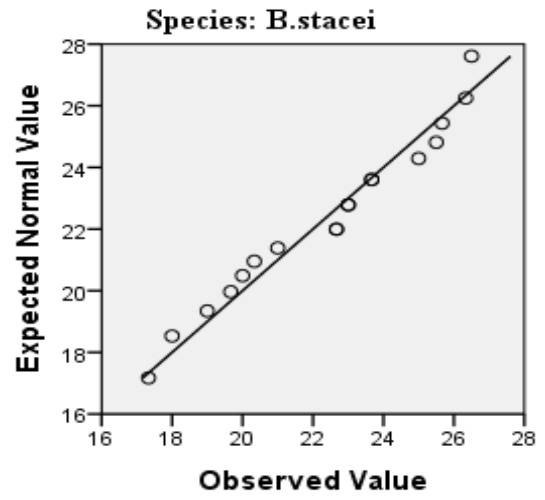
Normal Q-Q Plot of Flowering Culms



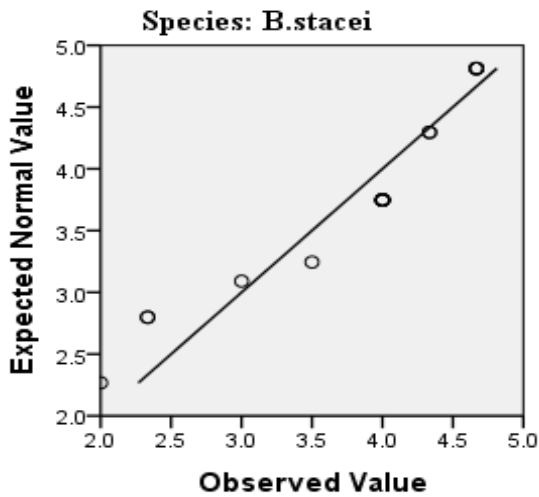
Normal Q-Q Plot of Heading



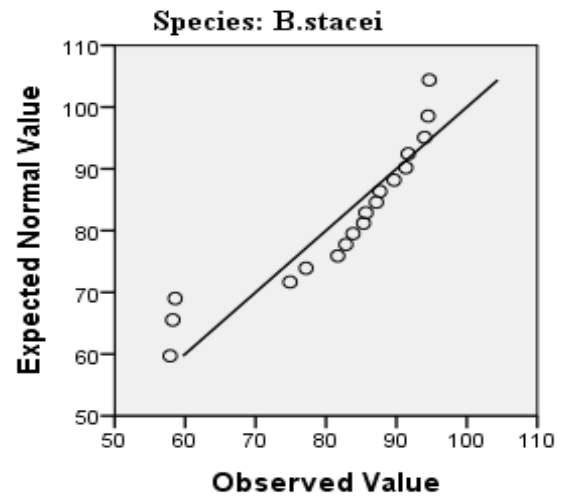
Normal Q-Q Plot of Tillers



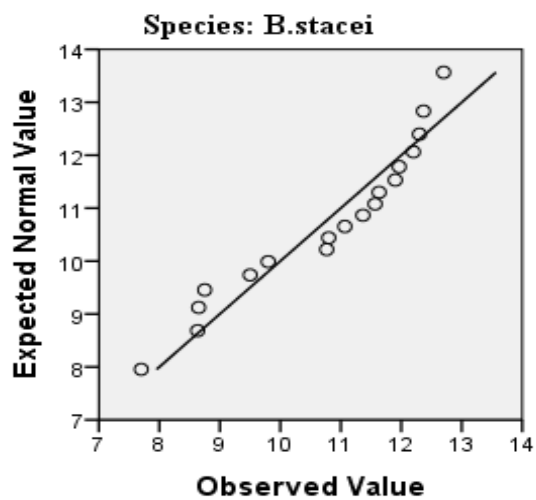
Normal Q-Q Plot of Nodes



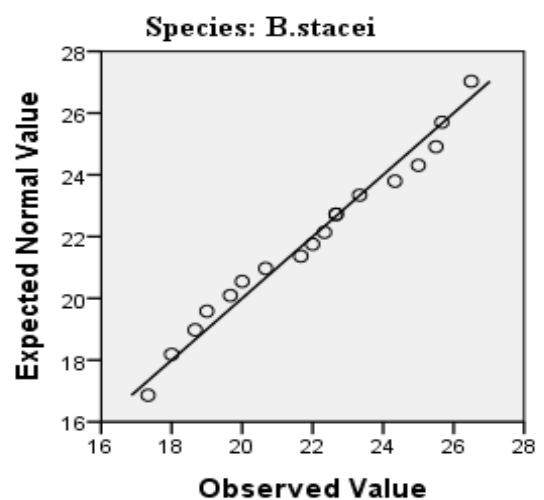
Normal Q-Q Plot of Height



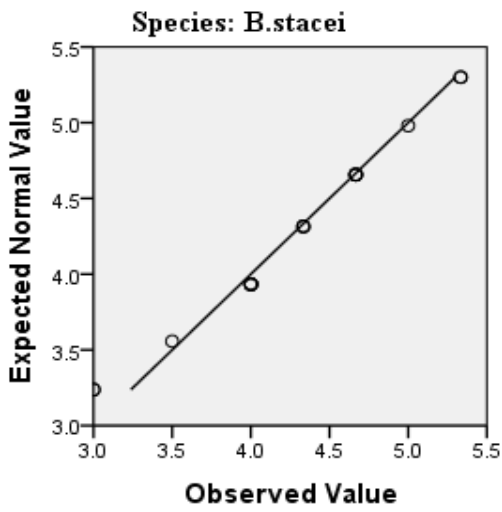
Normal Q-Q Plot of Raceme



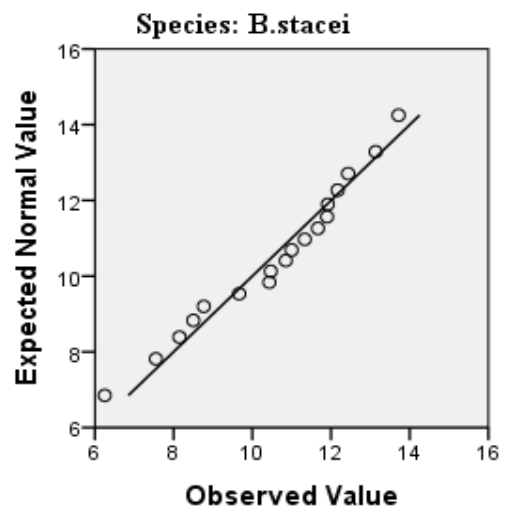
Normal Q-Q Plot of Flowering Culms



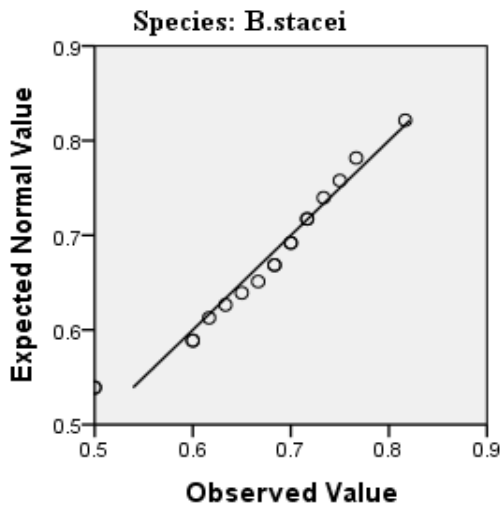
Normal Q-Q Plot of Spikelets



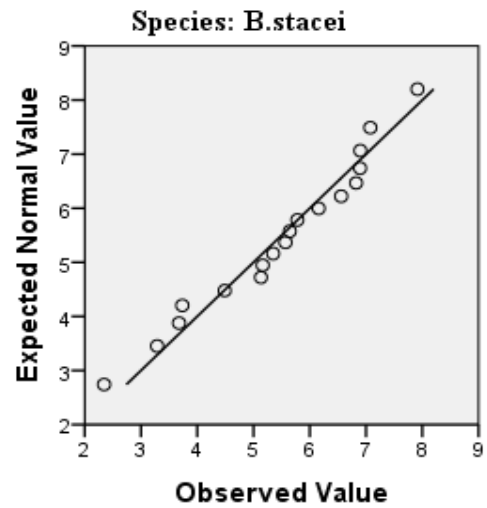
Normal Q-Q Plot of Flag Leaf Length



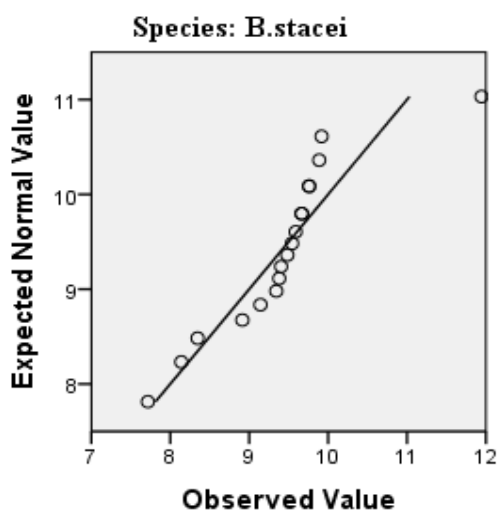
Normal Q-Q Plot of Flag Leaf Width



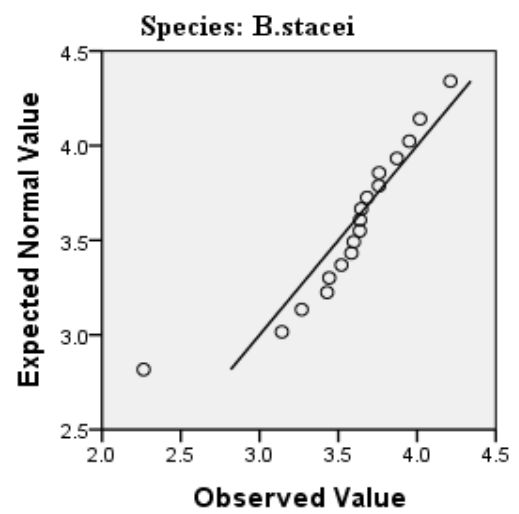
Normal Q-Q Plot of Flag Leaf Area



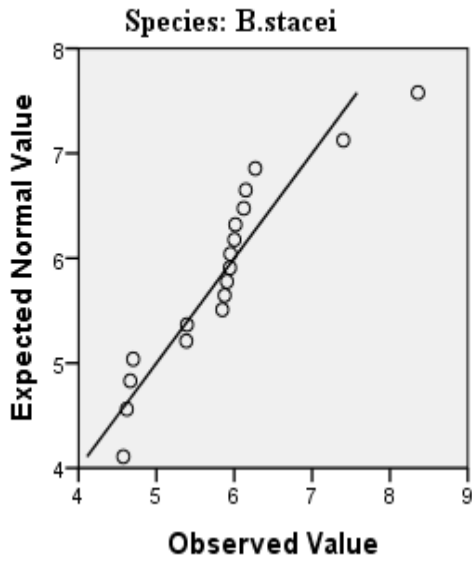
Normal Q-Q Plot of Biomass



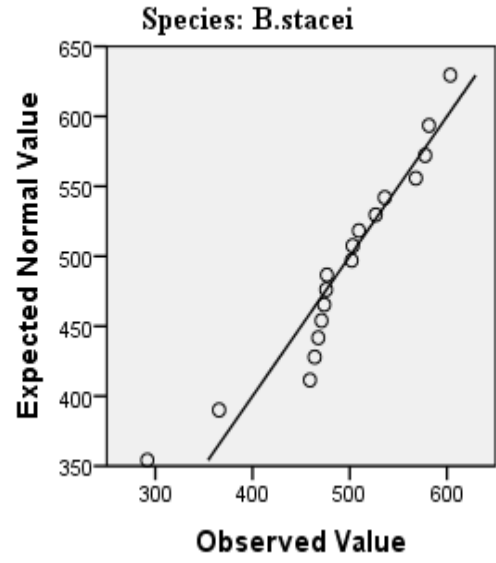
Normal Q-Q Plot of Seeds Weight



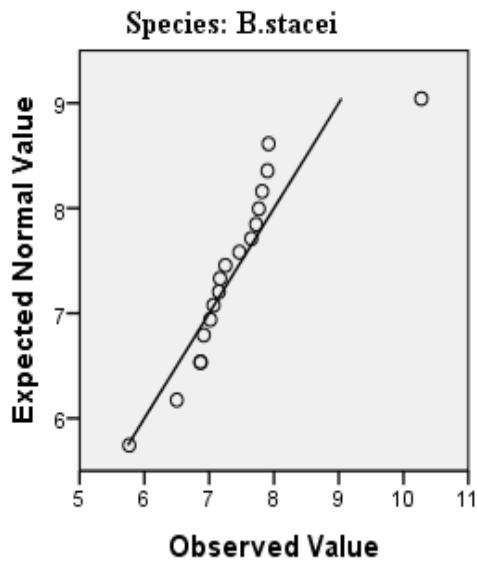
Normal Q-Q Plot of Vegetable Biomass



Normal Q-Q Plot of Seeds yield



Normal Q-Q Plot of 1000 kernels weight



EK 17. *B. distachyon* bireylerinin 15 fenotipik karakteristiği için uç değerler

Fenotipik Karakteristikler		Bireyler	Değerler	
Başaklanma	En yüksek	1	Dram 6	171.00
		2	Grik 5	170.67
		3	Sofy 1	170.00
		4	Sofy 5	169.67
		5	Viti 8	169.00
	En düşük	1	Bd21-3	121.50
		2	GR3.4	132.00
		3	Kilk 5	137.33
		4	Kilk 7	137.67
		5	Farsa 8	137.67
Saplar	En yüksek	1	Sofy 5	91.00
		2	Viti 8	83.00
		3	Serre 7	80.67
		4	Sofy 4	78.67
		5	Serre 8	78.67
	En düşük	1	Lito 1	24.33
		2	Kilk 2	27.33
		3	Farsa 9	29.00
		4	Farsa 2	29.00
		5	Kilk 7	29.67
Boğumlar	En yüksek	1	Viti 2	6.33
		2	Sela 5	6.33
		3	Eren 3	6.33
		4	Lito 2	6.00
		5	Katsi 4	6.00 ^b
	En düşük	1	Kilk 7	2.67
		2	Kilk 5	2.67
		3	Kilk 4	2.67
		4	Edes 8	3.00
		5	Kilk 8	3.00 ^c
Boy	En yüksek	1	Edes 6	61.25
		2	Edes 4	58.80
		3	Edes 7	57.13
		4	Viti 7	56.80
		5	Farsa 2	55.83
	En düşük	1	Viti 10	31.20
		2	Viti 1	33.23
		3	Bralo 10	33.40
		4	Leon 9	33.73
		5	Grik 5	34.53
Salkım	En yüksek	1	Bd21-3	7.60

Fenotipik Karakteristikler		Bireyler	Değerler	
		2	Linos 3	7.35
		3	Linos 4	6.95
		4	Linos 8	6.63
		5	Edes 6	6.60
	En düşük	1	Viti 2	3.42
		2	Lito 4	3.48
		3	Bralo 3	3.72
		4	Bralo 10	3.82
		5	Grev 2	3.87
	Salkımlı saplar	En yüksek	1	Sofy 5
2			Viti 8	80.33
3			Sofy 4	78.00
4			Serre 7	78.00
5			Serre 8	77.67
En düşük		1	Lito 1	22.67
		2	Kilk 2	25.33
		3	Asti 10	27.67
		4	Kilk 7	27.67
		5	Farsa 9	28.33 ^d
Başakçıklar	En yüksek	1	Leon 7	8.67
		2	Sela 5	8.00
		3	Eren 4	8.00
		4	Katsi 5	7.67
		5	Kory 5	7.67 ^e
	En düşük	1	Fere 3	3.67
		2	Vego 8	3.67
		3	Bralo 3	3.67
		4	Serre 2	4.00
		5	Fere 1	4.00 ^f
BYB	En yüksek	1	Asti 4	6.52
		2	Edes 6	5.55
		3	Kilk 5	5.37
		4	Kilk 6	5.37
		5	Asti 5	5.25
	En düşük	1	Leon 3	2.18
		2	Piga 10	2.27
		3	Piga 1	2.30
		4	Kory 10	2.33
		5	Grev 2	2.37
BYE	En yüksek	1	Koza 6	0.50
		2	Kilk 5	0.50
		3	Edes 2	0.48

Fenotipik Karakteristikler		Bireyler	Değerler	
		4	Grik 1	0.48
		5	Asti 4	0.48 ^g
	En düşük	1	Dram 1	0.17
		2	Dram 9	0.23
		3	Dram 7	0.23
		4	Dram 5	0.23
		5	Farsa 8	0.23
BYA	En yüksek	1	Asti 4	2.42
		2	Kilk 5	2.01
		3	Edes 6	2.00
		4	Bd21-3	1.89
		5	Kilk 6	1.84
	En düşük	1	Leon 3	0.43
		2	Dram 1	0.45
		3	Dram 5	0.46
		4	Piga 4	0.47
		5	Kory 8	0.48
Biyokütle	En yüksek	1	Grik 2	9.69
		2	Sela 5	9.62
		3	Grik 3	9.23
		4	Grik 10	9.19
		5	Fere 4	9.16
	En düşük	1	Lito 4	4.69
		2	Kilk 9	4.84
		3	Farsa 3	5.16
		4	Lito 3	5.18
		5	Farsa 9	5.18
Tohum ağırlığı	En yüksek	1	Eren 8	4.17
		2	Asti 10	4.13
		3	Adri 10	4.09
		4	Eren 7	4.04
		5	Kormi 7	4.01
	En düşük	1	Dram 6	1.03
		2	Viti 6	1.13
		3	Viti 5	1.28
		4	Viti 8	1.29
		5	Serre 2	1.42
Vegetatif biyokütle	En yüksek	1	Kormi 6	6.63
		2	Grik 3	6.61
		3	Grik 8	6.49
		4	Kormi 8	6.26
		5	Sela 6	6.25
	En düşük	1	Leon 10	2.16

Fenotipik Karakteristikler		Bireyler	Değerler
		2	Farsa 9 2.28
		3	Farsa 3 2.47
		4	Farsa 4 2.55
		5	Kilk 1 2.58
Tohum verimi	En yüksek	1	Leon 7 1408.12
		2	Eren 8 1389.75
		3	Sela 5 1375.29
		4	Eren 9 1363.30
		5	Xant 2 1342.46
	En düşük	1	Bralo 10 390.09
		2	Bralo 7 398.55
		3	Bralo 3 401.24
		4	Lito 4 415.25
		5	Viti 8 433.10
BTA	En yüksek	1	Bd21-3 5.92
		2	Bralo 10 4.98
		3	Bralo 4 4.58
		4	Bralo 3 4.45
		5	Linos 5 4.43
	En düşük	1	Dram 6 1.55
		2	Sapes 3 1.60
		3	Dram 8 1.80
		4	Sapes 2 1.85
		5	Xant 8 1.88

- a. Üst uç değerler çizelgesinde örneklerin sadece kısmi listesi 169.00 değeriyle gösterilmiştir.
b. Üst uç değerler çizelgesinde örneklerin sadece kısmi listesi 6.00 değeriyle gösterilmiştir.
c. Alt uç değerler çizelgesinde örneklerin sadece kısmi listesi 3.00 değeriyle gösterilmiştir.
d. Alt uç değerler çizelgesinde örneklerin sadece kısmi listesi 28.33 değeriyle gösterilmiştir.
e. Üst uç değerler çizelgesinde örneklerin sadece kısmi listesi 7.67 değeriyle gösterilmiştir.
f. Alt uç değerler çizelgesinde örneklerin sadece kısmi listesi 4.00 değeriyle gösterilmiştir.
g. Üst uç değerler çizelgesinde örneklerin sadece kısmi listesi 48 değeriyle gösterilmiştir.

EK 18. *B. distachyon*'da 15 fenotipik karakteristlik arasındaki korelasyonlar

	Başakl.	Saplar	Boğum	Boy	Salkım	Salk.sap	Başakçık	BYB	BYE	BYA	Biyoküt.	Toh.Agr.	Veg.b.kt	Toh.ver.	BTA
Başaklanma	1	0.563**	.298**	.010	-.348**	.553**	.056	-.206**	-.184**	-.261**	.193**	-.462**	.552**	-.041	-.515**
Ö.S. (p)		.000	0.000	.430	.000	.000	.162	.000	.001	.000	.000	.000	.000	.238	.000
Saplar	0.563* *	1	0.083	-.104*	-.454**	.992**	-.184**	-.293**	-.272**	-.332**	.227**	-.377**	.531**	-.101*	-.336**
Ö.S. (p)	0.000		0.074	0.035	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.039	0.000
Boğumlar	0.298* *	.083	1	-.065	-.197**	.068	.371**	-.176**	-.056	-.143**	.422**	.076	.414**	.177**	-.140**
Ö.S. (p)	0.000	.074		.128	.000	.117	.000	.001	.162	.006	.000	.091	.000	.001	.007
Boy	0.010	-.104*	-.065	1	.411**	-.095*	.047	.288**	-.100*	.109*	.223**	-0.063	0.304**	0.059	-.192**
Ö.S. (p)	0.430	.035	.128		.000	.048	.207	.000	.039	.028	0.000	0.134	0.000	.151	.000
Salkımlar	- 0.348**	-.454**	-.197**	.411**	1	-.451**	.126*	.621**	.315**	.553**	.028	.176**	-.093	.187**	-.049
Ö.S. (p)	0.000	.000	.000	.000		.000	.014	.000	.000	.000	.315	.001	.052	.000	.197
Salkımlı saplar	0.553**	.992**	.068	-.095*	-.451**	1	-.188**	-.289**	-.274**	-.333**	.243**	-.356**	.533**	-.076	-.343**
Ö.S. (p)	0.000	.000	.117	.048	.000		.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.093	.000
Başakçıklar	0.056	-.184**	.371**	.047	.126*	-.188**	1	.081	.204**	.150**	.375**	.202**	.264**	.303**	-.153**
Ö.S. (p)	0.162	.001	.000	.207	.014	.000		.077	.000	.004	.000	.000	.000	.000	.004
BYB	- 0.206**	-.293**	-.176**	.288**	.621**	-.289**	.081	1	.587**	.907**	-.042	.009	-.050	.038	-.056
Ö.S. (p)	0.000	.000	.001	.000	.000	.000	.077		.000	.000	.233	.436	.190	.251	.164
BYE	- 0.184**	-.272**	-.056	-.100*	.315**	-.274**	.204**	.587**	1	.854**	-.002	.142**	-.110*	.053	.105*

Ö.S. (p)	0.001	.000	.162	.039	.000	.000	.000	.000		.000	.487	.006	.027	.179	.033
FLA	- 0.261**	-.332**	-.143**	.109*	.553**	-.333**	.150**	.907**	.854**	1	-.029	.101*	-.105*	.044	.054
Ö.S. (p)	0.000	0.000	0.006	0.028	0.000	0.000	0.004	0.000	0.000		0.308	0.039	0.034	0.219	0.175
Biyokütle	0.193* *	.227**	.422**	.223**	.028	.243**	.375**	-.042	-.002	-.029	1	.476**	.779**	.595**	-.262**
Ö.S. (p)	.000	.000	.000	.000	.315	.000	.000	.233	.487	.308		.000	.000	.000	.000
Tohum ağırl.	-.462**	-.377**	.076	-.063	.176**	-.356**	.202**	.009	.142**	.101*	.476**	1	-.174**	.667**	.233**
Ö.S. (p)	.000	.000	.091	.134	.001	.000	.000	.436	.006	.039	.000		.001	.000	.000
Veg. biyoküt.	.552**	.531**	.414**	.304**	-.093	.533**	.264**	-.050	-.110*	-.105*	.779**	-.174**	1	.187**	-.468**
Ö.S. (p)	.000	.000	.000	.000	.052	.000	.000	.190	.027	.034	.000	.001		.000	.000
Tohum ver.	-.041	-.101*	.177**	.059	.187**	-.076	.303**	.038	.053	.044	.595**	.667**	.187**	1	-.515**
Ö.S. (p)	.238	.039	.001	.151	.000	.093	.000	.251	.179	.219	.000	.000	.000		.000
BTA	-.515**	-.336**	-.140**	-.192**	-.049	-.343**	-.153**	-.056	.105*	.054	-.262**	.233**	-.468**	-.515**	1
Ö.S. (p)	.000	.000	.007	.000	.197	.000	.004	.164	.033	.175	.000	.000	.000	.000	

** . Korelasyon 0.01 seviyesinde (tek yönlü) önemlidir.

* . Korelasyon 0.05 seviyesinde (tek yönlü) önemlidir.

EK 19. *B. hybridum*'da 15 fenotipik karakteristlik arasındaki korelasyonlar

	Başaklanma	Saplar	Boğum	Boy	Salkım	Salk.sa	Başakçık	BYB	BYE	BYA	Biyoküt.	Toh.ağr	Veg.bkt	Toh.ver	BTA
Başaklanma	1	.555**	.337**	-.109*	-.392**	.442**	.072	-.210**	-.293**	-.205**	.141**	-.162**	.257**	.350**	-.630**
Ö.S. (p)		.000	.000	.035	.000	.000	.117	.000	.000	.000	.009	.003	.000	.000	.000
Saplar	.555**	1	.039	-.143**	-.487**	.945**	-.303**	-.296**	-.420**	-.330**	.115*	.099	.096	.523**	-.571**
Ö.S. (p)	.000		.257	.008	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.028	.050	.055	.000	.000
Boğumlar	.337**	.039	1	.092	-.153**	-.001	.091	-.245**	-.090	-.225**	.200**	-.102*	.300**	-.019	-.067
Ö.S. (p)	.000	.257		.062	.005	.494	.065	.000	.067	.000	.000	.045	.000	.377	.134
Boy	-.109*	-.143**	.092	1	.208**	-.099*	.000	-.007	.004	-.016	.223**	.091	.233**	-.043	.015
Ö.S. (p)	.035	.008	.062		.000	.049	.499	.454	.477	.396	.000	.064	.000	.235	.400
Salkımlar	-.392**	-.487**	-.153**	.208**	1	-.461**	.486**	.589**	.491**	.577**	.100*	.155**	.045	-.105*	.223**
Ö.S. (p)	.000	.000	.005	.000		.000	.000	.000	.000	.000	.048	.005	.227	.041	.000
Salkımlı sap	.442**	.945**	-.001	-.099*	-.461**	1	-.299**	-.329**	-.430**	-.364**	.077	.101*	.048	.505**	-.526**
Ö.S. (p)	.000	.000	.494	.049	.000		.000	.000	.000	.000	.099	.047	.212	.000	.000
Başakçıklar	.072	-.303**	.091	.000	.486**	-.299**	1	.332**	.251**	.327**	.125*	.041	.134*	.070	-.076
Ö.S. (p)	.117	.000	.065	.499	.000	.000		.000	.000	.000	.019	.248	.013	.122	.103
BYB	-.210**	-.296**	-.245**	-.007	.589**	-.329**	.332**	1	.696**	.955**	.270**	.250**	.208**	.041	.129*
Ö.S. (p)	.000	.000	.000	.454	.000	.000	.000		.000	.000	.000	.000	.000	.248	.016
BYE	-.293**	-.420**	-.090	.004	.491**	-.430**	.251**	.696**	1	.851**	.250**	.241**	.189**	-.067	.294**
Ö.S. (p)	.000	.000	.067	.477	.000	.000	.000	.000		.000	.000	.000	.001	.132	.000
FLA	-.205**	-.330**	-.225**	-.016	.577**	-.364**	.327**	.955**	.851**	1	.278**	.270**	.210**	.035	.167**

Ö.S. (p)	.000	.000	.000	.396	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.000	.280	.003
Biyokütle	.141**	.115*	.200**	.223**	.100*	.077	.125*	.270**	.250**	.278**	1	.640**	.924**	.498**	-.232**
Ö.S. (p)	.009	.028	.000	.000	.048	.099	.019	.000	.000	.000		.000	.000	.000	.000
Tohum ağırl.	-.162**	.099	-.102*	.091	.155**	.101*	.041	.250**	.241**	.270**	.640**	1	.297**	.649**	-.057
Ö.S. (p)	.003	.050	.045	.064	.005	.047	.248	.000	.000	.000	.000		.000	.000	.170
Veg. biyoküt.	.257**	.096	.300**	.233**	.045	.048	.134*	.208**	.189**	.210**	.924**	.297**	1	.295**	-.259**
Ö.S. (p)	.000	.055	.000	.000	.227	.212	.013	.000	.001	.000	.000	.000		.000	.000
Tohum ver.	.350**	.523**	-.019	-.043	-.105*	.505**	.070	.041	-.067	.035	.498**	.649**	.295**	1	-.730**
Ö.S. (p)	.000	.000	.377	.235	.041	.000	.122	.248	.132	.280	.000	.000	.000		.000
BTA	-.630**	-.571**	-.067	.015	.223**	-.526**	-.076	.129*	.294**	.167**	-.232**	-.057	-.259**	-.730**	1
Ö.S. (p)	.000	.000	.134	.400	.000	.000	.103	.016	.000	.003	.000	.170	.000	.000	

** . Korelasyon 0.01 seviyesinde (tek yönlü) önemlidir.

* . Korelasyon 0.05 seviyesinde (tek yönlü) önemlidir.

EK 20. *B. stacei*'de 15 fenotipik karakteristlik arasındaki korelasyonlar

	Başakl.	Sap.	Boğm.	Boy	Salk.	Salk.sa	Başakçık	BYB	BYE	BYA	Biyokt.	Toh.Agr	Veg.Bkt	Toh.ve	BTA
Başaklanma	1	-.289	.165	.385	.588**	-.421*	.556**	.573* *	.431*	.521*	.404*	.248	.266	.527*	-.530*
Ö.S. (p)		.123	.257	.057	.005	.041	.008	.006	.037	.013	.048	.161	.143	.012	.012
Saplar	-.289	1	.534*	-.223	-.179	.975**	-.265	.009	.033	.022	.369	.025	.332	-.336	.549**
Ö.S. (p)	.123		.011	.187	.238	.000	.144	.486	.449	.466	.066	.460	.089	.087	.009
Boğumlar	.165	.534*	1	.068	.127	.498*	-.012	.394	.019	.240	.251	-.033	.247	-.194	.216
Ö.S. (p)	.257	.011		.395	.308	.018	.481	.053	.470	.169	.158	.448	.161	.220	.195
Boy	.385	-.223	.068	1	.741**	-.268	.517*	.490*	.269	.408*	-.219	.371	-.367	.468*	-.334
Ö.S. (p)	.057	.187	.395		.000	.142	.014	.020	.140	.046	.191	.065	.067	.025	.088
Salkımlar	.588**	-.179	.127	.741* *	1	-.271	.720**	.718* *	.701* *	.723* *	.143	.379	-.034	.357	-.154
Ö.S. (p)	.005	.238	.308	.000		.139	.000	.000	.001	.000	.286	.060	.447	.073	.270
Salkımlı sap	-.421*	.975**	.498*	-.268	-.271	1	-.309	-.026	-.010	-.016	.319	.020	.287	-.402*	.631**
Ö.S. (p)	.041	.000	.018	.142	.139		.106	.459	.484	.474	.098	.468	.124	.049	.003
Başakçıklar	.556**	-.265	-.012	.517*	.720**	-.309	1	.639* *	.644* *	.644* *	.087	.534*	-.154	.636**	-.347
Ö.S. (p)	.008	.144	.481	.014	.000	.106		.002	.002	.002	.365	.011	.271	.002	.079
BYB	.573**	.009	.394	.490*	.718**	-.026	.639**	1	.783* *	.963* *	.202	.495*	-.030	.412*	-.117
Ö.S. (p)	.006	.486	.053	.020	.000	.459	.002		.000	.000	.210	.018	.453	.044	.322
BYE	.431*	.033	.019	.269	.701**	-.010	.644**	.783* *	1	.905* *	.366	.667**	.047	.400	.142
Ö.S. (p)	.037	.449	.470	.140	.001	.484	.002	.000		.000	.068	.001	.427	.050	.286
FLA	.521*	.022	.240	.408*	.723**	-.016	.644**	.963* *	.905* *	1	.248	.576**	-.023	.427*	-.033
Ö.S. (p)	.013	.466	.169	.046	.000	.474	.002	.000	.000		.160	.006	.465	.039	.448

Biyokütle	.404*	.369	.251	-.219	.143	.319	.087	.202	.366	.248	1	.066	.899**	-.186	.337
Ö.S. (p)	.048	.066	.158	.191	.286	.098	.365	.210	.068	.160		.398	.000	.230	.086
Tohum ağırl.	.248	.025	-.033	.371	.379	.020	.534*	.495*	.667* *	.576* *	.066	1	-.378	.723**	.087
Ö.S. (p)	.161	.460	.448	.065	.060	.468	.011	.018	.001	.006	.398		.061	.000	.365
Veg. biyoküt.	.266	.332	.247	-.367	-.034	.287	-.154	-.030	.047	-.023	.899**	-.378	1	-.490*	.275
Ö.S. (p)	.143	.089	.161	.067	.447	.124	.271	.453	.427	.465	.000	.061		.020	.135
Tohum ver.	.527*	-.336	-.194	.468*	.357	-.402*	.636**	.412*	.400	.427*	-.186	.723**	-.490*	1	-.617**
Ö.S. (p)	.012	.087	.220	.025	.073	.049	.002	.044	.050	.039	.230	.000	.020		.003
BTA	-.530*	.549**	.216	-.334	-.154	.631**	-.347	-.117	.142	-.033	.337	.087	.275	-.617**	1
Ö.S. (p)	.012	.009	.195	.088	.270	.003	.079	.322	.286	.448	.086	.365	.135	.003	

** . Korelasyon 0.01 seviyesinde (tek yönlü) önemlidir.

* . Korelasyon 0.05 seviyesinde (tek yönlü) önemlidir.

EK 21. Allel frekanslarıyla türler ve lokuslarda gözlem sayıları

Lokuslar	Allel/N	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>
ALB001	N	119	49	14
	182	0.118	0.633	0.107
	183	0.521	0.061	0.000
	184	0.134	0.143	0.071
	186	0.193	0.163	0.107
	188	0.008	0.000	0.000
	198	0.000	0.000	0.714
	210	0.025	0.000	0.000
ALB004	N	93	44	11
	223	0.000	0.000	0.636
	235	0.000	0.000	0.364
	241	0.011	0.114	0.000
	246	0.000	0.023	0.000
	247	0.022	0.091	0.000
	249	0.011	0.000	0.000
	251	0.000	0.432	0.000
	253	0.011	0.000	0.000
	254	0.258	0.068	0.000
	256	0.108	0.000	0.000
	258	0.129	0.045	0.000
	260	0.065	0.136	0.000
	262	0.237	0.068	0.000
	264	0.129	0.000	0.000
	266	0.022	0.000	0.000
	268	0.000	0.023	0.000
ALB006	N	106	48	19
	316	0.000	0.021	0.000
	318	0.009	0.000	0.000
	320	0.009	0.000	0.000
	346	0.000	0.292	0.158
	347	0.000	0.208	0.053
	348	0.000	0.000	0.316
	349	0.000	0.000	0.474
	365	0.028	0.000	0.000
	366	0.274	0.000	0.000

Lokuslar	Allel/N	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>
	367	0.179	0.000	0.000
	368	0.019	0.000	0.000
	372	0.019	0.000	0.000
	377	0.000	0.010	0.000
	378	0.038	0.094	0.000
	379	0.198	0.094	0.000
	380	0.094	0.021	0.000
	381	0.038	0.010	0.000
	382	0.066	0.000	0.000
	384	0.009	0.000	0.000
	387	0.009	0.000	0.000
	389	0.009	0.177	0.000
	390	0.000	0.031	0.000
	391	0.000	0.031	0.000
	397	0.000	0.010	0.000
ALB008	N	109	45	19
	99	0.000	0.056	0.000
	102	0.005	0.456	0.895
	103	0.000	0.000	0.105
	116	0.028	0.089	0.000
	117	0.009	0.000	0.000
	119	0.028	0.067	0.000
	120	0.000	0.011	0.000
	122	0.009	0.000	0.000
	123	0.619	0.022	0.000
	125	0.128	0.111	0.000
	126	0.128	0.144	0.000
	129	0.028	0.011	0.000
	132	0.009	0.033	0.000
	135	0.009	0.000	0.000
ALB013	N	90	37	1
	235	0.011	0.000	0.000
	236	0.356	0.676	1.000
	237	0.144	0.027	0.000
	238	0.344	0.216	0.000
	239	0.089	0.081	0.000

Lokuslar	Allel/N	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>
	242	0.011	0.000	0.000
	243	0.033	0.000	0.000
	244	0.011	0.000	0.000
ALB022	N	99	41	3
	283	0.000	0.024	0.000
	287	0.000	0.220	0.333
	290	0.000	0.024	0.000
	291	0.010	0.000	0.000
	295	0.101	0.366	0.333
	296	0.091	0.000	0.333
	297	0.020	0.098	0.000
	298	0.051	0.000	0.000
	299	0.051	0.073	0.000
	300	0.000	0.024	0.000
	302	0.020	0.000	0.000
	303	0.030	0.000	0.000
	304	0.051	0.024	0.000
	305	0.020	0.000	0.000
	306	0.091	0.000	0.000
	369	0.000	0.024	0.000
	372	0.111	0.049	0.000
	374	0.091	0.000	0.000
	376	0.192	0.073	0.000
	378	0.051	0.000	0.000
	380	0.020	0.000	0.000
ALB030	N	119	46	3
	151	0.588	0.674	0.333
	152	0.395	0.326	0.667
	154	0.017	0.000	0.000
ALB034	N	121	49	9
	217	0.017	0.000	0.000
	220	0.752	0.000	0.778
	222	0.000	0.000	0.222
	223	0.033	0.612	0.000
	226	0.182	0.327	0.000
	229	0.017	0.000	0.000

Lokuslar	Allel/N	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>
	232	0.000	0.061	0.000
ALB040	N	95	40	9
	164	0.011	0.000	0.000
	171	0.032	0.000	0.111
	177	0.000	0.150	0.111
	180	0.589	0.075	0.667
	181	0.074	0.000	0.000
	183	0.084	0.000	0.000
	186	0.011	0.125	0.000
	187	0.021	0.000	0.000
	189	0.179	0.625	0.111
	195	0.000	0.025	0.000
ALB047	N	107	50	17
	201	0.009	0.000	0.000
	209	0.047	0.000	0.235
	213	0.168	0.020	0.147
	217	0.084	0.030	0.000
	221	0.542	0.910	0.618
	225	0.009	0.040	0.000
	234	0.131	0.000	0.000
	238	0.009	0.000	0.000
ALB056	N	58	42	15
	237	0.000	0.571	0.400
	238	0.000	0.095	0.333
	239	0.000	0.262	0.267
	240	0.000	0.071	0.000
	247	0.052	0.000	0.000
	249	0.741	0.000	0.000
	250	0.017	0.000	0.000
	251	0.052	0.000	0.000
	252	0.086	0.000	0.000
	253	0.052	0.000	0.000
ALB086	N	120	50	15
	154	0.013	0.000	0.000
	189	0.371	0.000	0.067
	191	0.125	0.140	0.067

Lokuslar	Allel/N	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>
	192	0.450	0.820	0.800
	193	0.017	0.040	0.067
	198	0.025	0.000	0.000
ALB087	N	93	32	0
	195	0.430	0.984	0.000
	196	0.011	0.000	0.000
	201	0.538	0.016	0.000
	204	0.011	0.000	0.000
	205	0.011	0.000	0.000
ALB100	N	120	51	19
	243	0.000	0.480	1.000
	247	0.000	0.049	0.000
	250	0.067	0.000	0.000
	253	0.042	0.000	0.000
	255	0.025	0.000	0.000
	258	0.200	0.147	0.000
	261	0.092	0.000	0.000
	264	0.108	0.000	0.000
	267	0.133	0.000	0.000
	270	0.317	0.000	0.000
	279	0.017	0.314	0.000
	284	0.000	0.010	0.000
ALB131	N	106	48	0
	290	0.236	0.104	0.000
	292	0.057	0.729	0.000
	293	0.009	0.083	0.000
	295	0.651	0.000	0.000
	298	0.047	0.083	0.000
ALB139	N	110	47	17
	298	0.000	0.043	0.676
	311	0.000	0.043	0.000
	314	0.105	0.021	0.000
	317	0.009	0.000	0.000
	320	0.082	0.000	0.000
	323	0.555	0.468	0.324
	326	0.145	0.128	0.000

Lokuslar	Allel/N	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>
	329	0.059	0.085	0.000
	332	0.027	0.000	0.000
	341	0.018	0.149	0.000
	344	0.000	0.021	0.000
	347	0.000	0.021	0.000
	348	0.000	0.021	0.000
ALB155	N	114	50	12
	167	0.053	0.160	0.000
	169	0.649	0.440	0.917
	171	0.053	0.400	0.083
	173	0.096	0.000	0.000
	175	0.009	0.000	0.000
	177	0.026	0.000	0.000
	179	0.105	0.000	0.000
	181	0.009	0.000	0.000
ALB158	N	120	51	17
	237	0.263	0.373	0.471
	240	0.121	0.216	0.294
	244	0.025	0.000	0.000
	247	0.025	0.157	0.000
	256	0.025	0.196	0.059
	259	0.092	0.020	0.000
	262	0.092	0.000	0.000
	265	0.050	0.000	0.000
	268	0.233	0.039	0.176
	271	0.058	0.000	0.000
	274	0.017	0.000	0.000
ALB160	N	119	47	18
	232	0.000	0.053	0.111
	240	0.059	0.053	0.000
	241	0.025	0.032	0.000
	242	0.227	0.011	0.111
	243	0.034	0.011	0.056
	244	0.050	0.000	0.278
	245	0.000	0.000	0.278
	246	0.097	0.234	0.111

Lokuslar	Allel/N	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>
	247	0.004	0.128	0.056
	248	0.059	0.011	0.000
	249	0.008	0.011	0.000
	250	0.084	0.011	0.000
	251	0.050	0.011	0.000
	252	0.193	0.128	0.000
	253	0.076	0.064	0.000
	254	0.025	0.096	0.000
	255	0.000	0.032	0.000
	257	0.008	0.085	0.000
	258	0.000	0.011	0.000
	259	0.000	0.011	0.000
	260	0.000	0.011	0.000
ALB165	N	122	49	12
	140	0.000	0.020	0.000
	147	0.000	0.429	1.000
	160	0.041	0.000	0.000
	163	0.025	0.000	0.000
	166	0.016	0.000	0.000
	169	0.098	0.010	0.000
	172	0.049	0.000	0.000
	174	0.008	0.000	0.000
	175	0.598	0.490	0.000
	178	0.000	0.010	0.000
	182	0.000	0.031	0.000
	184	0.025	0.010	0.000
	187	0.066	0.000	0.000
	190	0.049	0.000	0.000
	193	0.025	0.000	0.000
ALB175	N	116	50	18
	245	0.009	0.000	0.056
	247	0.022	0.850	0.417
	248	0.034	0.080	0.056
	249	0.284	0.020	0.056
	251	0.009	0.000	0.000
	258	0.009	0.000	0.000

Lokuslar	Allel/N	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>
	259	0.052	0.000	0.000
	260	0.496	0.050	0.194
	261	0.078	0.000	0.222
	267	0.009	0.000	0.000
ALB179	N	104	50	10
	208	0.010	0.090	0.000
	210	0.000	0.050	0.000
	212	0.135	0.180	0.000
	213	0.038	0.020	0.000
	214	0.313	0.430	0.700
	215	0.048	0.120	0.100
	216	0.077	0.020	0.000
	217	0.038	0.000	0.000
	218	0.212	0.000	0.100
	219	0.067	0.000	0.100
	220	0.010	0.000	0.000
	229	0.019	0.000	0.000
	234	0.000	0.080	0.000
	236	0.000	0.010	0.000
	265	0.034	0.000	0.000
ALB181	N	120	49	13
	235	0.000	0.000	0.077
	237	0.067	0.061	0.000
	238	0.050	0.184	0.308
	239	0.083	0.041	0.154
	240	0.146	0.061	0.192
	241	0.042	0.041	0.077
	242	0.017	0.041	0.000
	243	0.167	0.000	0.000
	244	0.392	0.061	0.115
	246	0.033	0.000	0.000
	247	0.000	0.082	0.000
	248	0.004	0.367	0.077
	249	0.000	0.061	0.000
ALB183-1	N	122	50	19
	186	0.090	0.410	0.000

Lokuslar	Allel/N	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>
	188	0.000	0.000	0.053
	190	0.000	0.500	0.947
	195	0.557	0.090	0.000
	199	0.328	0.000	0.000
	202	0.025	0.000	0.000
ALB183-2	N	119	50	0
	252	0.647	0.620	0.000
	253	0.353	0.380	0.000
ALB223	N	109	46	15
	259	0.046	0.000	0.000
	261	0.495	0.283	0.533
	262	0.376	0.185	0.433
	264	0.018	0.000	0.000
	265	0.046	0.065	0.000
	268	0.000	0.446	0.033
	271	0.018	0.022	0.000
ALB230	N	119	48	4
	243	0.000	0.104	0.000
	244	0.017	0.021	0.000
	259	0.176	0.000	0.000
	260	0.084	0.000	0.000
	261	0.008	0.000	0.500
	262	0.034	0.000	0.000
	263	0.076	0.188	0.250
	264	0.050	0.146	0.125
	265	0.008	0.000	0.000
	267	0.059	0.000	0.000
	268	0.025	0.021	0.000
	269	0.017	0.000	0.000
	270	0.008	0.000	0.000
	271	0.084	0.000	0.000
	272	0.025	0.000	0.000
	273	0.008	0.000	0.000
	274	0.034	0.000	0.000
	275	0.067	0.167	0.000
	276	0.034	0.146	0.000

Lokuslar	Allel/N	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>
	277	0.025	0.208	0.125
	278	0.034	0.000	0.000
	279	0.050	0.000	0.000
	280	0.042	0.000	0.000
	282	0.008	0.000	0.000
	283	0.017	0.000	0.000
	285	0.008	0.000	0.000
ALB257	N	122	23	15
	223	0.000	0.109	0.000
	239	0.000	0.022	0.000
	247	0.008	0.000	0.000
	250	0.025	0.000	0.033
	252	0.066	0.109	0.100
	256	0.008	0.022	0.000
	260	0.164	0.087	0.000
	264	0.057	0.000	0.000
	268	0.656	0.370	0.833
	272	0.016	0.000	0.000
	280	0.000	0.283	0.000
	296	0.000	0.000	0.033
ALB273	N	121	50	16
	193	0.050	0.050	0.000
	195	0.074	0.120	0.000
	197	0.785	0.630	0.938
	199	0.091	0.200	0.063
ALB278	N	121	48	19
	146	0.000	0.302	0.263
	147	0.000	0.198	0.737
	178	0.008	0.000	0.000
	193	0.281	0.198	0.000
	194	0.083	0.010	0.000
	197	0.471	0.156	0.000
	198	0.141	0.135	0.000
	200	0.017	0.000	0.000
ALB311	N	119	50	18
	246	0.286	0.470	0.000

Lokuslar	Allel/N	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>
	247	0.697	0.020	0.000
	249	0.017	0.010	0.000
	253	0.000	0.500	1.000
ALB348	N	102	44	14
	168	0.020	0.000	0.000
	170	0.020	0.455	0.000
	172	0.118	0.000	0.000
	176	0.225	0.011	0.000
	178	0.098	0.000	0.000
	181	0.382	0.091	0.000
	183	0.020	0.000	0.000
	185	0.039	0.034	0.000
	187	0.000	0.000	0.786
	189	0.010	0.000	0.000
	191	0.000	0.409	0.143
	192	0.029	0.000	0.000
	193	0.029	0.000	0.071
	199	0.010	0.000	0.000
ALB349	N	122	49	19
	160	0.008	0.449	0.947
	161	0.000	0.010	0.053
	164	0.455	0.082	0.000
	165	0.016	0.020	0.000
	166	0.033	0.000	0.000
	172	0.025	0.010	0.000
	173	0.008	0.000	0.000
	174	0.008	0.000	0.000
	177	0.008	0.000	0.000
	181	0.070	0.020	0.000
	182	0.041	0.112	0.000
	183	0.102	0.204	0.000
	184	0.107	0.010	0.000
	185	0.074	0.031	0.000
	187	0.033	0.000	0.000
	189	0.012	0.051	0.000
ALB355	N	72	27	0

Lokuslar	Allel/N	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>
	202	0.014	0.037	0.000
	206	0.111	0.185	0.000
	209	0.333	0.593	0.000
	212	0.042	0.000	0.000
	215	0.056	0.185	0.000
	218	0.139	0.000	0.000
	221	0.292	0.000	0.000
	224	0.014	0.000	0.000
ALB372	N	121	49	16
	177	0.760	0.367	0.875
	179	0.066	0.347	0.063
	182	0.000	0.020	0.000
	185	0.124	0.245	0.063
	189	0.008	0.000	0.000
	193	0.000	0.020	0.000
	197	0.008	0.000	0.000
	202	0.033	0.000	0.000
ALB374	N	122	50	11
	220	0.016	0.000	0.000
	223	0.738	0.000	0.773
	226	0.033	0.620	0.000
	227	0.000	0.000	0.045
	230	0.189	0.320	0.182
	233	0.025	0.000	0.000
	236	0.000	0.060	0.000
ALB376	N	121	46	12
	235	0.157	0.304	0.500
	237	0.240	0.087	0.167
	239	0.025	0.043	0.000
	241	0.537	0.043	0.250
	243	0.033	0.000	0.083
	245	0.000	0.500	0.000
	246	0.008	0.022	0.000
ALB445	N	122	50	4
	206	0.008	0.020	0.000
	213	0.008	0.000	0.000

Lokuslar	Allel/N	<i>B. distachyon</i>	<i>B. hybridum</i>	<i>B. stacei</i>
	222	0.959	0.400	1.000
	226	0.025	0.580	0.000
ALB454	N	97	15	8
	200	0.021	0.233	0.000
	201	0.000	0.067	0.000
	203	0.278	0.000	0.000
	204	0.000	0.467	1.000
	206	0.186	0.000	0.000
	209	0.227	0.033	0.000
	212	0.010	0.000	0.000
	215	0.278	0.200	0.000
ALB461	N	122	50	19
	270	0.811	0.720	0.526
	271	0.180	0.280	0.474
	274	0.008	0.000	0.000
ALB467	N	114	48	19
	197	0.004	0.500	0.974
	202	0.096	0.167	0.000
	204	0.820	0.333	0.000
	206	0.079	0.000	0.026
ALB486	N	115	51	18
	208	0.013	0.892	1.000
	225	0.196	0.010	0.000
	226	0.070	0.000	0.000
	227	0.417	0.020	0.000
	228	0.304	0.078	0.000
ALB514	N	112	51	17
	170	0.009	0.000	0.000
	207	0.067	0.000	0.000
	210	0.004	0.000	0.000
	212	0.009	0.000	0.000
	214	0.830	0.578	0.765
	215	0.018	0.216	0.059
	216	0.045	0.206	0.176
	220	0.009	0.000	0.000
	225	0.009	0.000	0.000

EK 22. 31 *B. distachyon* popülasyonunda 999 permütasyon bazlı ikili Fst değerleri (aşağı köşegen) ve olasılık (üst köşegen). Gri renkle işaretlenenler önemli seviyede olmayan değerlerdir

	Fifi	Olym	Lito	Farsa	Bralo	Piga	Viti	Katsi	Grik	Kory	Grev	Koza	Verg	Sofy	Kilk	Evzo	Lept	Edes	Vego	Alis	Adri	Dram	Xant	Sapes	Fere	Leon	Sela	Serre	Kormi	Eren	Bd21	
Fifi	0.000	0.001	0.012	0.034	0.001	0.001	0.006	0.002	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.110	0.001	0.001	0.006	0.002	0.002	0.013	0.001	0.007	0.002	0.003	0.001	0.002	0.004	0.007	0.042	0.004	0.001	
Olym	0.463	0.000	0.001	0.003	0.002	0.001	0.001	0.003	0.001	0.002	0.002	0.001	0.001	0.002	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.006
Lito	0.191	0.318	0.000	0.356	0.006	0.002	0.013	0.011	0.005	0.005	0.032	0.002	0.001	0.011	0.002	0.001	0.015	0.001	0.003	0.010	0.002	0.004	0.002	0.009	0.001	0.001	0.005	0.002	0.011	0.003	0.005	
Farsa	0.189	0.401	0.048	0.000	0.016	0.001	0.052	0.031	0.005	0.006	0.012	0.010	0.003	0.156	0.003	0.003	0.089	0.036	0.021	0.164	0.005	0.008	0.002	0.012	0.039	0.002	0.004	0.003	0.021	0.007	0.057	
Bralo	0.338	0.497	0.191	0.250	0.000	0.001	0.001	0.005	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.002	0.002	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	
Piga	0.301	0.524	0.269	0.327	0.384	0.000	0.001	0.003	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.006	
Viti	0.200	0.499	0.166	0.174	0.297	0.299	0.000	0.002	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.011	0.001	0.004	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.007	
Katsi	0.537	0.681	0.278	0.481	0.524	0.558	0.425	0.000	0.006	0.001	0.003	0.001	0.003	0.002	0.002	0.002	0.001	0.003	0.003	0.003	0.003	0.001	0.002	0.005	0.002	0.004	0.006	0.006	0.002	0.002	0.032	
Grik	0.554	0.620	0.335	0.532	0.491	0.568	0.489	0.674	0.000	0.002	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.002	0.002	0.001	0.002	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	0.004	0.001	0.004	
Kory	0.383	0.580	0.195	0.391	0.438	0.446	0.372	0.564	0.534	0.000	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	
Grev	0.240	0.457	0.132	0.233	0.279	0.330	0.256	0.460	0.428	0.292	0.000	0.001	0.001	0.004	0.002	0.001	0.008	0.003	0.005	0.017	0.002	0.010	0.001	0.016	0.002	0.001	0.003	0.002	0.039	0.001	0.004	
Koza	0.358	0.542	0.306	0.309	0.466	0.477	0.420	0.640	0.631	0.481	0.299	0.000	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.002	0.004	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.003	
Verg	0.542	0.710	0.462	0.639	0.640	0.608	0.561	0.832	0.786	0.653	0.522	0.653	0.000	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.003	
Sofy	0.088	0.405	0.156	0.113	0.326	0.339	0.224	0.481	0.518	0.348	0.187	0.322	0.479	0.000	0.001	0.001	0.024	0.002	0.005	0.045	0.004	0.015	0.001	0.007	0.003	0.001	0.004	0.013	0.108	0.004	0.002	
Kilk	0.637	0.713	0.513	0.645	0.675	0.661	0.576	0.738	0.753	0.688	0.588	0.689	0.826	0.604	0.000	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.003	
Evzo	0.437	0.626	0.354	0.395	0.536	0.538	0.446	0.682	0.682	0.549	0.351	0.364	0.687	0.345	0.693	0.000	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.004	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.004	
Lept	0.256	0.503	0.183	0.177	0.396	0.417	0.311	0.516	0.551	0.391	0.260	0.324	0.517	0.167	0.628	0.368	0.000	0.001	0.008	0.025	0.006	0.008	0.001	0.013	0.001	0.001	0.001	0.005	0.029	0.001	0.003	
Edes	0.444	0.532	0.342	0.352	0.506	0.480	0.378	0.480	0.553	0.499	0.397	0.459	0.637	0.399	0.315	0.511	0.424	0.000	0.004	0.001	0.002	0.001	0.001	0.006	0.003	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.007	
Vego	0.282	0.489	0.229	0.194	0.345	0.433	0.287	0.517	0.505	0.386	0.179	0.247	0.487	0.220	0.617	0.342	0.198	0.392	0.000	0.005	0.002	0.003	0.001	0.003	0.001	0.001	0.006	0.001	0.006	0.001	0.008	
Alis	0.187	0.458	0.178	0.131	0.336	0.366	0.251	0.494	0.514	0.387	0.183	0.304	0.507	0.130	0.601	0.369	0.202	0.389	0.200	0.000	0.005	0.008	0.002	0.015	0.002	0.001	0.003	0.001	0.033	0.004	0.007	
Adri	0.278	0.537	0.285	0.309	0.466	0.460	0.364	0.626	0.641	0.489	0.252	0.358	0.588	0.203	0.655	0.354	0.232	0.448	0.244	0.236	0.000	0.002	0.001	0.004	0.001	0.001	0.001	0.001	0.004	0.001	0.002	
Dram	0.199	0.489	0.203	0.250	0.359	0.394	0.240	0.527	0.530	0.411	0.172	0.388	0.554	0.144	0.623	0.388	0.247	0.421	0.255	0.215	0.257	0.000	0.009	0.107	0.003	0.001	0.002	0.003	0.044	0.002	0.006	
Xant	0.477	0.626	0.415	0.534	0.579	0.561	0.478	0.718	0.692	0.629	0.442	0.588	0.749	0.447	0.737	0.608	0.488	0.533	0.493	0.484	0.517	0.256	0.000	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.004	
Sapes	0.256	0.468	0.205	0.245	0.348	0.387	0.247	0.414	0.419	0.392	0.194	0.368	0.503	0.212	0.547	0.370	0.223	0.343	0.234	0.209	0.258	0.093	0.280	0.000	0.002	0.001	0.003	0.001	0.029	0.004	0.010	
Fere	0.299	0.442	0.235	0.228	0.393	0.374	0.331	0.558	0.577	0.482	0.279	0.344	0.594	0.301	0.615	0.428	0.300	0.435	0.343	0.295	0.368	0.318	0.463	0.329	0.000	0.001	0.001	0.004	0.002	0.001	0.004	
Leon	0.420	0.633	0.347	0.461	0.529	0.538	0.455	0.670	0.643	0.524	0.341	0.522	0.671	0.366	0.703	0.529	0.358	0.521	0.380	0.396	0.416	0.293	0.597	0.298	0.430	0.000	0.001	0.001	0.003	0.001	0.003	
Sela	0.375	0.567	0.291	0.417	0.470	0.516	0.382	0.661	0.620	0.504	0.293	0.468	0.662	0.294	0.709	0.486	0.365	0.509	0.257	0.376	0.358	0.328	0.630	0.303	0.447	0.446	0.000	0.002	0.006	0.002	0.007	
Serre	0.301	0.584	0.358	0.393	0.484	0.500	0.411	0.662	0.662	0.529	0.325	0.436	0.655	0.198	0.717	0.509	0.310	0.522	0.299	0.325	0.367	0.288	0.544	0.319	0.429	0.477	0.422	0.000	0.003	0.001	0.001	
Kormi	0.111	0.468	0.169	0.189	0.375	0.364	0.249	0.478	0.488	0.312	0.123	0.332	0.487	0.069	0.617	0.374	0.159	0.413	0.188	0.134	0.235	0.106	0.431	0.161	0.300	0.253	0.247	0.247	0.000	0.007	0.004	
Eren	0.250	0.573	0.313	0.376	0.437	0.437	0.334	0.596	0.599	0.503	0.275	0.409	0.652	0.233	0.687	0.491	0.348	0.500	0.320	0.268	0.363	0.280	0.549	0.264	0.407	0.461	0.412	0.361	0.190	0.000	0.002	
Bd21	0.404	0.629	0.293	0.358	0.470	0.519	0.296	0.524	0.609	0.502	0.314	0.534	0.725	0.360	0.641	0.548	0.417	0.417	0.381	0.380	0.488	0.411	0.622	0.314	0.491	0.560	0.482	0.502	0.349	0.439	0.000	

EK 23. 15 *B. hybridum* popülasyonunda 999 permütasyon bazlı ikili Fst değerleri (aşağı köşegen) ve olasılık (üst köşegen). Gri renkle işaretlenenler önemli seviyede olmayan değerlerdir

	Gera	Fira	Tempi	Farsa	Athen	Mega	Ahla	Hota	Para	Amfi	Katsi	Pros	Linso	Thaso	Asti
Gera	0.000	0.005	0.002	0.011	0.159	0.003	0.034	0.253	0.007	0.005	0.024	0.001	0.012	0.001	0.036
Fira	0.284	0.000	0.001	0.002	0.002	0.002	0.001	0.003	0.001	0.002	0.005	0.001	0.005	0.001	0.006
Tempi	0.302	0.447	0.000	0.009	0.008	0.003	0.003	0.003	0.002	0.001	0.004	0.002	0.003	0.001	0.007
Farsa	0.287	0.456	0.286	0.000	0.054	0.006	0.020	0.031	0.002	0.005	0.025	0.001	0.025	0.003	0.029
Athen	0.063	0.224	0.205	0.160	0.000	0.019	0.141	0.249	0.059	0.027	0.077	0.001	0.011	0.001	0.089
Mega	0.288	0.416	0.253	0.274	0.153	0.000	0.007	0.003	0.001	0.001	0.005	0.001	0.004	0.001	0.005
Ahla	0.139	0.306	0.227	0.188	0.058	0.151	0.000	0.154	0.188	0.007	0.058	0.001	0.009	0.001	0.162
Hota	0.093	0.262	0.337	0.329	0.065	0.279	0.100	0.000	0.019	0.005	0.028	0.002	0.030	0.001	0.046
Para	0.169	0.327	0.222	0.256	0.093	0.222	0.047	0.169	0.000	0.003	0.069	0.001	0.009	0.001	0.005
Amfi	0.255	0.413	0.371	0.391	0.180	0.327	0.167	0.324	0.215	0.000	0.012	0.002	0.007	0.002	0.006
Katsi	0.227	0.441	0.379	0.502	0.140	0.312	0.155	0.314	0.134	0.231	0.000	0.004	0.018	0.003	0.029
Pros	0.445	0.513	0.559	0.614	0.340	0.407	0.431	0.524	0.427	0.560	0.518	0.000	0.001	0.001	0.003
Linso	0.288	0.448	0.390	0.447	0.210	0.321	0.220	0.328	0.289	0.401	0.458	0.540	0.000	0.003	0.051
Thaso	0.438	0.510	0.552	0.562	0.329	0.405	0.345	0.517	0.409	0.502	0.568	0.571	0.467	0.000	0.002
Asti	0.186	0.330	0.393	0.358	0.109	0.310	0.092	0.157	0.175	0.274	0.282	0.511	0.213	0.419	0.000

EK 25. 19 *B. hybridum* popülasyonunda Nei yansız genetik uzaklık ikili popülasyon matrisi

Gera	Fira	Tempi	Farsa	Athen	Mega	Ahla	Gyth	Hota	Para	Amfi	Katsi	Grik	Pros	Linus	Thaso	Asti	ABR113	MA1.2		
0.000																				Gera
0.645	0.000																			Fira
0.475	0.907	0.000																		Tempi
0.556	1.070	0.235	0.000																	Farsa
0.252	0.618	0.374	0.435	0.000																Athen
0.543	0.925	0.269	0.348	0.274	0.000															Mega
0.295	0.921	0.336	0.373	0.222	0.313	0.000														Ahla
0.542	0.955	0.445	0.662	0.531	0.521	0.462	0.000													Gyth
0.389	0.643	0.515	0.588	0.350	0.561	0.323	0.678	0.000												Hota
0.472	1.031	0.389	0.599	0.398	0.437	0.230	0.316	0.519	0.000											Para
0.488	0.931	0.430	0.594	0.482	0.516	0.354	0.606	0.729	0.448	0.000										Amfi
0.499	0.973	0.435	0.683	0.349	0.449	0.271	0.408	0.635	0.259	0.261	0.000									Katsi
0.600	1.197	0.541	0.835	0.553	0.592	0.331	0.594	0.646	0.319	0.460	0.399	0.000								Grik
0.702	0.847	0.701	0.779	0.458	0.421	0.699	0.818	0.825	0.687	0.841	0.573	1.018	0.000							Pros
0.740	1.155	0.513	0.605	0.571	0.467	0.529	0.839	0.813	0.821	0.841	0.798	0.852	0.703	0.000						Linus
0.683	0.866	0.664	0.639	0.480	0.477	0.497	0.831	0.810	0.674	0.734	0.714	0.800	0.561	0.544	0.000					Thaso
0.529	0.807	0.713	0.716	0.370	0.611	0.368	0.823	0.542	0.518	0.680	0.622	0.790	0.812	0.629	0.537	0.000				Asti
0.617	0.869	0.488	0.619	0.460	0.503	0.441	0.503	0.567	0.447	0.666	0.711	0.772	0.786	0.636	0.662	0.450	0.000			ABR113
0.569	1.136	0.480	0.753	0.567	0.619	0.419	0.645	0.721	0.403	0.694	0.623	0.601	1.179	1.044	1.002	0.888	0.741	0.000		MA1.2

EK 26. *B. stacei*'de Nei genetik uzaklık ikili popülasyon matrisi

Gyth	Hota	Amfi	Veli	ABR114	AL1.1	AL5.2	
0.000							Gyth
0.688	0.000						Hota
0.477	0.602	0.000					Amfi
0.399	0.536	0.556	0.000				Veli
1.161	0.695	1.002	0.864	0.000			ABR114
0.864	0.633	0.693	0.848	1.146	0.000		AL1.1
0.543	0.618	0.424	0.409	1.108	0.731	0.000	AL5.2

ÖZGEÇMİŞ

Yunanistan'ın Serres (Serez) kentinde doğan Parthena CHARALAMPIDOU AYDIN; ilk, orta ve lise eğitimini aynı kentte tamamladıktan sonra, Atina Ziraat Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü'nde lisans eğitimine devam etti. 1997 yılında, buradaki eğitimini tamamlayarak, aynı bölümde Yüksek Lisansa başladı. 2001 yılında Yüksek Lisansını tamamladıktan sonra, bir süre Yunanistan Tarım Bakanlığı'na bağlı Çiftçi Sigorta Kurumu'nda ziraat mühendisi olarak çalıştı. 2002 yılında Serres Valiliği Tütün ve Pamuk İşletmeleri Müdürlüğü'ne ziraat mühendisi olarak atandı. 2008 yılından itibaren de Serres Valiliği Tarım İl Müdürlüğü'nde ziraat mühendisi olarak çalışmaktadır. Evli ve iki çocuk annesidir.