

<b>Proje Başlığı</b>	Anadolu'da At Arkeogenomiği ve Popülasyon Demografileri
<b>Öğretim Üyesi Unvan Ad Soyadı</b>	Dr. Öğr. Üyesi Elif GENÇ
<b>Proje No ve Destek Veren Kurum</b>	117Z991 / TÜBİTAK 1001
<b>Proje'deki Görev</b>	Araştırmacı
<b>Proje Süresi (Ay) ve Başlama/Bitiş Tarihi</b>	36 Ay / 06.02.2018
<b>Proje Bütçesi</b>	359.991,07
<b>Proje Özeti</b>	<p><b>Proje Özeti</b></p> <p>Neolitik dönemde hayvan ve bitkilerin evcilleştirilmesi insan toplumlarının günlük yaşantısını çarpıcı ölçüde değiştirmiş, modern dünyanın günümüzde bildiğimiz haliyle inşa edilmesine olanak sağlamıştır. Bitkilerin evcilleştirilmesi avcı toplayıcı toplum anlayışından yerleşik düzene kalıcı olarak geçilmesine yardım etmiş ve ilk şehirlerin kurulmasını sağlamıştır. Hayvan evcilleştirmesi ise gıda ihtiyaçlarının karşılanmasının yanı sıra bu hayvanlardan elde edilen kemik, deri ve yün gibi materyaller ile insan hayatını kolaylaştırmıştır. Atlar ise diğer çiftlik hayvanlarının evcilleştirilmesinden farklı olarak, evcilleştirmenin ilk evrelerinde gıda kaynağı olarak kullanılmalarının ardından, bir taşıma aracı olarak kullanılmış, özellikle koşum takımlarının keşfi ile insanların kısa sürede uzun mesafeleri kat edebilmelerine imkan vermişlerdir. Bunun sonucu olarak insan göçleri hız ve devamlılık kazanarak yeni yerleşimlerin kurulmasını ve kültürlerin yayılımını hızlandırmıştır. Göçlerin ve ticaretin yanı sıra atlar savaşlarda da kilit rol oynamış, evcilleştirmelerinden kısa süre sonra savaş enstrümanı olarak kullanılmaya başlanmışlardır. Anadolu'nun antik atları ile ilgili bilgiler oldukça kısıtlıdır ve neredeyse tamamen zooarkeolojik buluntulara dayanmaktadır. Bu bilgileri test edecek, destek olacak ve yeni bilgilerin edinilmesinde kullanılacak en iyi yöntemlerden birisi arkeogenomik yaklaşımdır. Arkeogenomik yöntemler antik örneklerden DNA izole edilmesine ve elde edilen bu DNA parçalarının dizilenecek hesaplamalı biyoloji ve popülasyon genetiğine dayanan tekniklerle analiz edilmesini içermektedir. Önerilen proje arkeogenomik yöntemlerle Anadolu'nun farklı antik yerleşim yerlerinden elde edilecek geniş bir zaman dilimini temsil eden at örneklerinin incelenmesini, Anadolu'da at evcilleştirmesine dair izlerin aranmasını, bu antik yerleşim yerlerinde yetiştirilmiş atların kendi içlerinde ve birbirleriyle olan genetik yakınlığının belirlenmesini, Anadolu'nun genel at popülasyon demografisinin aydınlatılmasını ve atlar üzerinde pozitif yönde seçilmiş özelliklerin tespit edilerek antik insan toplumlarının ihtiyaçlarının saptanmasını amaçlamaktadır. Antik at DNA'sı üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda hız kazanarak en az insan antik DNA'sı çalışmaları kadar önemli bir araştırma sahası haline gelmiştir. Bu alandaki çalışmalar ilk olarak mitokondriyal DNA profillerinin çıkarılması ile başlamış, daha sonra spesifik gen bölümlerine odaklanılmasıyla devam etmiştir. Günümüz itibarıyla at mitokondriyal DNA'sı, dolayısıyla ana soyunun hareketliliği derinlemesine çalışılmıştır. Buna karşın antik at tüm genomu çalışmaları henüz emekleme aşamasındadır ve halen katkıya açık durumdadır. Önerilen projenin tüm genom dizileme hedefi hem at evcilleştirmesi hem de evcilleştirilmiş atların yayılımı açısından ihtiyaç duyulan katkıyı sağlayacaktır. Anadolu'dan antik at DNA verisinin yok denecek kadar az olması bu çalışmanın birincil önemini ortaya koymaktadır. Önerilen projenin desteklenmesi, antik at DNA'sı çalışmalarında büyük bir boşluk olan Anadolu coğrafyasının çalışılmasına imkan verecektir. Bu çalışma at evcilleştirmesine dair kritik soruların cevaplanmasını sağlayacak, dünya genelinde bu evcilleştirmenin nasıl gerçekleştiğine dair bilgi birikiminin zenginleşmesine önayak olacaktır. Projenin bir diğer hedefi olan Osmanlı dönemi atlarının incelenmesi de bu dönem atlar hakkında yapılmış ilk arkeogenomik araştırma olarak literatüre kazandırılacaktır. Anadolu'nun önemli bir coğrafya olması, bu coğrafyada gerçekleşen hayvan evcilleştirme ve yetiştirme uygulamaları hakkında birçok sorunun akla gelmesine sebep olmuştur. Bu sorulara arkeogenomik cevaplar sunabilmek için en akla yatkın yöntem antik at örneklerinin tüm genom analizlerinin gerçekleştirilmesidir. Bu analiz için şu basamaklar takip edilecektir:</p>

(1) Kazı yerlerinden elde edilecek at kemik ve diş örneklerinden DNA izolasyonunun gerçekleştirilmesi ve Illumina HiSeq platformunda ön dizilemenin gerçekleştirilmesi; (2) Ön dizi verilerinin referans at genomuna hizalanması, at DNA'sı oranlarının ve antik DNA'ya özgü hasar bilgisi ile kontaminasyon oranlarının belirlenmesi; (3) Yüksek oranda antik at DNA'sı içeren örneklerde 20.000 TNP bölgesinin bu TNPlere özel hazırlanan problemler ile yakalanması ve bu TNP bölgelerinin derin dizileme işlemine tabi tutulması; (4) Derin dizileme verilerinin referans at genomuna hizalanarak seçilen tekil nükleotit polimorfizmlerine (TNP) göre bireylerin genotiplerinin belirlenmesi; (5) Belirlenen genotip verisi ile Fst, f3 ve f4 gibi popülasyon genetiği istatistikleri hesaplanarak antik yerleşim içi ve yerleşim yerleri arasında genetik yakınlık ve süreklilik analizlerinin gerçekleştirilmesi; (6) Genotip verisinin ata ait yayımlanmış fenotip-genotip haritaları ile birleştirilmesiyle geçmiş at fenotiplerinin belirlenmesi, at evcilleştirmesi ve ıslahı esnasında pozitif seçime uğramış fenotiplerin tespiti; (7) Elde edilen verilerin kendi içinde ve literatür verileri ile kıyaslanarak at evcilleştirmesi, Anadolu'da evcilleştirme uygulamaları ve seçilime dair çıkarımların yapılması. Grubumuzun daha önceki alışmaları Neolitik gibi oldukça eski dönemlerde yaşamış insan, koyun ve keçi kemik ve diş örneklerinden DNA izole edilebildiğini ortaya koymaktadır. Önerilen projenin desteklenmesi at arkeogenomiğinde Anadolu'nun yerini ortaya koyulmasını sağlamış olacak, insan-hayvan etkileşiminin genomik düzeyde incelenmesine imkan sağlayacak ve zooarkeolojik verilerin desteklenmesi için eşsiz bir kaynak yaratacaktır.

**Anahtar Kelimeler: antik DNA, at evcilleştirmesi, tüm genom dizileme, popülasyon genetiği, tekil nükleotit polimorfizmi, genomiks, Neolitik dönem, Kalkolitik dönem, Tun Çağı, Demir Çağı, Orta Çağ, Osmanlı dönemi, fenotip belirleme**

**Project Title: Horse Archaeogenomics and Population Demographics in Anatolia**

#### **Project Summary**

Animal and plant domestication in Neolithic drastically changed daily life of humankind and led to build modern world as we experience today. Plant domestication ended up the transition from hunter gatherer society to sedentary lifestyle and construction of first cities. Animal domestication facilitate human life with materials derived from these animals such as bone, leather and wool as well as usage as a food source. Horses, apart from domesticated farm animals, used as a food source for a brief period; mainly used as a mean of transportation, particularly invention of harnessing enabled people travel long distances in short time. As a consequence, human movement gained speed and continuity, accelerated building new colonies and spreading cultures. Beside of migration and trade, horses played key roles in warfare; in fact, used as a war instrument shortly after their domestication. Knowledge about ancient Anatolian horses are rather limited and almost single handedly gained through zooarchaeological findings. One of the best methods to test and support these findings and enrich this knowledge is archaeogenomic approach. Archaeogenomic methods consist of isolation of DNA from ancient samples, sequencing obtained DNA and analyze through computational biological and population genetics based techniques. Proposed project intends to examining horses representing a wide time period from different ancient settlements of Anatolia, determining genetic relationship of these horses intra- and inter-settlement, shed light on general horse demography of Anatolia and identify positively selected traits to deduce ancient human needs. Ancient horse DNA studies have gained speed in recent years and become as important field as human ancient DNA studies. Studies in this field have started as mitochondrial profiling and continued focusing on particular genes. As of today, horse mitochondrial DNA, thus matrilineal movement, is well studied. However, horse whole ancient genome studies still in its infancy and open to any contribution. Whole genome sequencing aim of proposed project will contribute much needed

information about both horse domestication and spread of domesticated horses. Near absence of ancient horse DNA data from Anatolia puts forth the primary importance of this project. Endorsement of proposed project will enable studying Anatolia, a major gap in ancient horse DNA. This project will provide answers to critical questions about horse domestication and enhance knowledge about how this event has occurred in general. Examining Ottoman period horses, another aim of this study, will be the first archaeogenomic study about horses of this period. Importance of Anatolia raised questions about animal domestication and breeding applications on this land. In order to present archaeogenomic answers to these questions, most reasonable method is analyse whole genome of ancient horse samples. This analysis will follow these steps: (1) Isolation of DNA from obtained samples and preliminary sequencing on Illumina HiSeq platform; (2) Mapping preliminary sequencing data to horse reference genome, determining authentic horse DNA proportion and contamination proportion based on damage information of ancient DNA; (3) Capturing 20000 SNP site with probes specific to this region on samples have high authentic horse ancient DNA and deep sequencing of these SNP regions; (4) Mapping deep sequencing data to horse reference genome and genotyping according to SNP's; (5) Calculating Fst, f3 and f4 statistics using genotype data to infer genetic affinity intra and inter settlement and continuity analysis; (6) Phenotyping using genotype data, determination of positively selected phenotypes during horse domestication and breeding; (7) Deducing horse domestication, domestication practices in Anatolia and selection by comparing results among them and literature. Previous works of our group present evidence of DNA isolation from bone and teeth samples as old as Neolithic period. Endorsing proposed project will provide evidence for importance of Anatolia in horse domestication, enable studying human - animal interaction on genomic level and ensure a unique source for supporting zooarchaeological findings.

**Keywords: ancient DNA, horse domestication, whole genome sequencing, population genetics, single nucleotide polymorphism, genomics, Neolithic, Chalcolithic, Bronze Age, Iron Age, Middle Age, Ottoman period, phenotyping**

**Amaç:**

Anadolu, coğrafi pozisyonu ve bünyesinde barındırdığı antik yerleşimler sebebiyle, tarihin her dönemi açısından önemli bir bölgedir. Anadolu'da yapılan kazı çalışmaları her geçen sene daha önemli buluntuları gün ışığına çıkarmaktadır. Bu durum gittikçe artan sayıda arkeolojik soruyu beraberinde getirmektedir. Bunlardan birisi de Anadolu'da at evcilleştirmesi ve evcilleştirilmiş atların yayılımıdır. At, evcilleştirildiği tarihten bu yana insan toplumları için son derece önemli bir tür olagelmıştır. At, insan yaşamının tarım, inşaat, ticaret gibi gündelik olayları ve savaş, göç gibi daha büyük önem arz eden durumlarında insanların işlerini kolaylaştırmış, insanların daha büyük yükleri hareket ettirebilmelerine ve daha uzun mesafeleri daha kısa sürede kat edebilmelerine imkan sağlamıştır. Anadolu ise barındırdığı birçok at kalıntısı ile, at evcilleştirmesinin incelenebileceği en önemli coğrafyaların başında gelmektedir. Bu çalışmanın amacı antik Anadolu atlarından elde edilecek tüm genom dizilerinin analizi yoluyla demografik yapısını araştırmaktır. Böyle bir çalışma ancak at arkeogenomisinin coğrafi ve zamansal anlamda geniş bir yelpazede incelenmesi ile başarılı olabilecektir. Bu çalışmanın hedeflerinin başarılı bir şekilde yerine getirilmesiyle Neolitik dönemden Osmanlı dönemine, Orta Anadolu'dan Güneydoğu Anadolu'ya uzanan geniş bir coğrafyada at popülasyon demografi profilleri, yani göç, karışma ve popülasyon büyümesi ve daralması gibi süreçleri ortaya koyulmuş, evcilleştirme pratikleri incelenmiş ve evcilleştirilen atlarda seçilen özellikler belirlenmiş olacak ve literatürde önemli bir boşluk giderilecektir. Hedefler: Hedef 1: Anadolu'da yürütülmüş, Neolitik Dönem'den (MÖ 7000-4000) Osmanlı dönemine (12.-20 yüzyıl) ve Kuzeybatı Anadolu'dan (Yenikapı Batıkları) Güneydoğu Anadolu'ya (Türbe Höyük) 15 farklı arkeolojik kazıdan elde edilmiş antik at kemik ve diş

örneklerinden korunmuşluk durumu yüksek 80 bireye ait malzemenen popülasyon genetiği araştırmalarında kullanılabilir kalitede antik DNA elde etmek. Gerekçe: Arkeogenomik veriler ışığında Anadolu'daki antik atlar için oluşturulacak popülasyon demografi profilleri için istatistiksel olarak anlamlı sayıda ve kalitede örnekler elde edilmesi gerekmektedir. Beklenti: Görece genç örneklerden (Kınık Höyük ve Müslümantepe'den gelecek örnekler gibi) yüksek kalitede antik DNA elde etmek mümkündür. Bunun haricinde her geçen gün gelişen DNA izolasyon yöntemleri ile en eskisi günümüzden yaklaşık 9500 yıl öncesine tarihlenen örneklerimizden de DNA elde edebileceğimizi ön görüyoruz. Hedef 2: Hedef 1'de izole edilen antik DNA örneklerini kullanarak dizileme kütüphanesi hazırlamak ve ön dizileme yapmak (2 Illumina şeridi), bu 80 birey arasından Neolitik, Tunç, Demir ve Bizans-Osmanlı dönemlerine ait toplam 12 bireyi seçmek ve bunlardan demografik analiz için tüm genom verisi üretmek (3 Illumina şeridi), aynı dönemlere ait 32 bireyden yakalama kullanarak genotip ve fenotip verisi üretmek (3 Illumina şeridi) ve bunlarla evrimsel analiz yürütmektir. Gerekçe: Önerilen projenin temel amacı popülasyon demografi profillerini araştırmaktır. Bu sayede birçok hayvan türünün evcilleştirmesine sahne olmuş Anadolu'da at evcilleştirmesine dair arkeogenomik kanıtlar araştırılacaktır. Ayrıca at evcilleştirme pratiklerinin coğrafi ve zamansal yayılımı, farklı popülasyonlar arasındaki ilişkiler ve popülasyonlar arasındaki zamansal genetik süreklilik incelenecektir. Beklenti: At arkeogenomiği konusunda Anadolu coğrafyası henüz hemen hemen hiç incelenmemiştir. Anadolu'nun bir at evcilleştirme merkezlerinden biri olduğuna dair hipotez sınanacaktır. Ayrıca Neolitik dönemden Ortaçağ'a kadar Anadolu atlarının popülasyon sürekliliği ve demografik değişimleri incelenerek insan göçleri için kanıtlar sunulacaktır. Hedef 3: Hedef 2'de elde edilen tüm genom verisi gen bazında incelenerek antik insanların yetiştirdikleri atlarda hangi özellikleri seçtiği araştırılacak ve böylelikle antik insanların ihtiyaçları aydınlatılacaktır. Gerekçe: İnsanlar yetiştirdikleri hayvanlarda ihtiyaç duydukları özellikleri seçme eğilimindedirler (örneğin daha çok süt veren büyükbaş hayvanların ya da daha fazla yün üreten koyunların seçilerek yetiştirilmesi gibi). Bu özelliklerin arkeogenomik veriler ışığında incelenmesi geçmişte Anadolu'da yaşayan insanların günlük yaşam ihtiyaçlarını ve estetik anlayışlarını ortaya koyacaktır. Beklenti: Anadolu gibi hayvan yetiştirme pratiği açısından zengin bir coğrafyada, literatürde rapor edilen özelliklere ek, daha geniş bir yelpazede seçim modelleri gözlemlemeyi hedefliyoruz. Böylelikle elde edilecek veriler arkeolojik ve antropolojik hipotezlerin sınanması için önemli bir bilgi birikimi oluşturacaktır. Hedef 4: Elde edilen tüm genom verisinden mtDNA ve Y kromozomuna ait okumalar seçilerek, bu genetik belirteçlerdeki çeşitlilik seviyesi araştırılacaktır. Gerekçe: Evcil atların mtDNA haplogrup çeşitliliğinin yüksek, Y kromozom çeşitliliğinin ise çok düşük olduğu bilinmektedir. mtDNA ve Y kromozomunun çeşitliliğinin incelenmesi Anadolu'nun bir at evcilleştirme bölgesi olup olmadığı ve Anadolu'da at evcilleştirme ya da at yetiştiriciliği geleneklerinin diğer evcilleştirme bölgelerinden farklı 1001BF-01 Güncelleme Tarihi: 08/01/2016 olup olmadığını ortaya koyacaktır. Beklenti: Antik Anadolu atları ile ilgili literatürde yeterli bilgi olmamasından ötürü, bu hedefin sonuçları literatürü zenginleştirecektir. Anadolu'da farklı bir Y kromozomu haplogrubu keşfedilmesi, antik at DNA'sı çalışmalarına yeni bir ivme kazandıracaktır. Hedef 5: Müslümantepe kazısında çıkarılan Osmanlı dönemi atlarından, Osmanlı dönemi at yetiştiriciliğine dair bilgiler elde edilecektir. Gerekçe: Osmanlı ordusunun önemli unsurlarından olan atlı birlikler açısından at yetiştiriciliği uygulamalarına dair halihazırda var olan bilgiler biyolojik yöntemlerle bugüne kadar hiç sınanmamıştır.

**Beklenti:**

Bu çalışma ile Osmanlı döneminde kullanılan atların genetik kökenleri ve bu dönemde atlar üzerinde hangi özelliklerin seçildiği ortaya koyularak yazılı kaynaklara destek veriler elde etmeyi bekliyoruz.



**Şekil 1. Önerilen proje kapsamında at örneklerinin temin edileceği kazı alanları**

**Ekonomik/Ticari/Sosyal**  
 (Ürün, Prototip Ürün, Patent, Faydalı Model, Üretim İzni, Çeşit Tescili, Spin-off/Start-up Şirket, Görsel/İşitsel Arşiv, Envanter/Veri Tabanı/Belgeleme Üretimi, Telif Konu Olan Eser, medyada Yer Alma, Fuar, Proje Pazarı, Çalıştay, Eğitim vb. Bilimsel Etkinlik, Proje Sonuçlarını Kullanacak Kurum/Kuruluş, vb. diğer yaygın etkiler)

Önerilen projenin sonuçları, örneklerin elde edildiği Türkiye'nin farklı bölgelerinden müzeler ile paylaşılarak, söz konusu müzelerde Anadolu ve at evcilleştirilmesi/yetiştirilmesi konusunda tanıtım bölümleri oluşturulmasında kullanılabilir.

Ayrıca at genomu için oluşturulacak TNP seçiminin başarılı olması durumunda, yalnızca bu TNP'leri hedefleyecek bir oligo seti tasarlanabilecektir. Bu set, Anadolu coğrafyasından çıkarılacak at örneklerine uygulanabilecek ve önerilen projenin başlattığı amacın genişletilmesinde kullanılabilir.

Elde edilecek sonuçlar Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı ile paylaşılarak at yetiştiriciliği ve ıslahı politikalarında kullanılacaktır.