

Moleküler Markörlerin *Prunus* Türlerinde Kullanımı

Yıldız AKA KAÇAR

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Balcalı-ADANA

Öz

DNA teknolojilerinin geliştirilmesi bitki ıslahı, genetiği ve evrimi konularında çalışan araştırmacılara büyük avantajlar sağlamıştır. Analizler, izoenzim, RFLP, RAPD ve/veya mikrosatellit (SSR) markörlerini kullanarak fenotipten genotipe doğru kaymıştır. Bu yazıda moleküler markörlerin *Prunus* türlerinde kullanımına değinilmiştir. Araştırmalar; (1) markörler yardımı ile seleksiyon (2) genom haritalaması (3) karşılaştırmalı haritalama (4) gen kaynaklarının karakterizasyonu (5) filogenetik analizler ve kültür çeşitlerinin tanımlanması konularından verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: DNA, moleküler markörler, *Prunus*, genom haritalama

Utilization of Molecular Markers in *Prunus* Species

Abstract

The development of DNA technologies has provided great advantage to researchers working on plant breeding, genetics and evaluation. Analyses shifted from phenotype to genotype, using isoenzymes, RFLPs, RAPDs and/or microsatellites (syn. simple sequence repeats, SSRs) as markers. The objective of this review is to outline some important usage of molecular markers in *Prunus*. Examples include following topics (1) marker assisted selection (2) genom mapping (3) comparative mapping (4) characterization of germplasm (5) phylogenetic analysis and cultivar identification.

Key Words: DNA, molecular markers, *Prunus*, genom mapping

Giriş

Dünya’da ılıman iklim bölgelerinde *Rosaceae* familyası ekonomik önem bakımından üçüncü sırayı almaktadır. Klasik olarak bu familya 4 alt familyaya ayrılmıştır. Bunlardan birisi olan *Prunoideae* alt familyası kayısı (*Prunus armeniaca* L.), kiraz (*P. avium* L.), vişne (*P. cerasus* L.) şeftali (*P. persica* L.), erik (*P. domestica* L.) ve badem [*P. amygdalus* Batsch = *P. dulcis* (Miller) D.A. Webb]] gibi bazı önemli meyve türleri ile kara kiraz (*P. serotina* Ehrh.) gibi orman ağaçlarını da içerir.

Moleküler markör teknolojileri, bitki ıslahı ve gen kaynaklarının korunması konusunda çalışanlara pek çok türde olduğu gibi *Prunus*’larda da yeni ufuklar açmıştır. Moleküler markörler; markörler yardımı ile seleksiyon (MAS), QTL analizleri, karşılaştırmalı haritalama, gen izolasyon stratejileri, gen kaynaklarının karakterizasyonu, filogenetik analizler ve kültür çeşitlerinin tanımlanması gibi analizlerde kullanılmaktadır.

1. Markörler Yardımı ile Seleksiyon (Marker-Assisted Selection=MAS)

Önemli agronomik özelliklerin fenotipik seleksiyonu, ıslah çalışmalarında zaman alan bir yöntemdir. Morfolojik markörler yardımıyla seleksiyon gibi geleneksel yöntemlerde; markörlerin azlığı, pleiotropik ve epistatik etkilerin bulunması ve çevre koşullarının değişken olması gibi sorunlarla karşı karşıya kalınmaktadır. Moleküler markörler yardımıyla seleksiyon ise, bu tür sorunlardan kaçınmak ya da çözmek için bir potansiyeldir (Melchinger, 1990). İki ebeveynin melezlemesinden oluşturulan bitki populasyonlarından yararlanılarak yürütülen çalışmalarda, istenilen genlerle ilişkili markörler tespit edilerek bunların ıslah çalışmalarında erken seleksiyon kriteri olarak kullanmak veya bu markörlerden hareketle ilgili genlerin klonlanmasını sağlamak amaçlanmaktadır.

Ayrıca MAS, kantitatif özelliklerin seleksiyonu ve kalıtım mekanizmasının araştırılmasında, moleküler bağlantı haritalarının oluşturulmasında ve tamamlanmasında da potansiyel olarak karşımıza çıkmaktadır (Knapp, 1994). Klasik kiraz-vişne ıslahı ile elde edilen melez bireylerin

çiçeklenme ve meyve verebilmesi için minimum 3-5 yıllık bir gelişme periyoduna gereksinim vardır. Eğer markör lokusları ile önemli çiçeklenme ve meyve karakteristikleri arasındaki bağlantı (linkage) biliniyorsa istenmeyen bireylerin erken dönemde elimine edilerek ümitvar bireylere işgücü, kaynaklar, zaman vb ayrılabilir (Stockinger ve ark. 1996).

2. Genom Haritalaması

Kiraz ve vişne de bağlantı haritalarının oluşturulması çok önemli olmasına rağmen çalışmalar diploid *Prunus* türlerinde yoğunlaşmıştır. Şeftali (*P.persica*), badem (*P.amgdalus*, syn. *P.dulcis*), şeftali x badem ve şeftali x *P. davidiana* türlerarası melez populasyonlarında bağlantı haritalarının oluşturulması gerçekleşmiştir (Arús ve ark., 1994b; Chapparo ve ark., 1994; Dirlevanger ve Bodo 1995; Foolad ve ark., 1995; Rajapakse ve ark., 1994, Viruel ve ark., 1995). Örneğin, şeftali melezlerinde 107 markör içeren genetik bağlantı haritası (800 cM) oluşturulmuştur (Foolad ve ark., 1995). Tobutt ve Nicoll (1992) kirazda (n=8), 26 izoenzim lokusu ve bir morfolojik özelliği haritalamışlardır.

Prunus'larda genom haritalamalarına ilk olarak, ekonomik önemi, coğrafik dağılımı ve *Prunus* türleri içerisinde en iyi karakterize edilmiş tür olması nedeniyle şeftali ile başlanmıştır (Mowrey ve ark., 1990). Şeftali diploid bir tür olup her haploid çekirdekte 0.30 ± 0.02 pg veya 3×10^8 bp DNA içermektedir (Baird ve ark., 1994). Bununla beraber genom yapısı ve organizasyonu hakkında çok az bilgi vardır. Örneğin 25 morfolojik (Monet, 1989; Monet ve ark., 1985) ve 10 izoenzim özelliği (Monet, 1989; Mowrey ve ark., 1990) tanımlanmasına rağmen şeftalinin somatik kromozomlarında herhangi bir sitogenetik markör tanımlanmamıştır.

Şeftali'de bugüne kadar bilinen 40'dan fazla basit kalıtsal özellikten yalnızca 3 çift arasında bağlantı (linkage) bulunmuştur (Hesse, 1975; Monet ve ark., 1985; Yamazaki ve ark., 1987). Bu tür için doku kültürü ve somatik hücre genetiğini kullanma olasılığı *in vitro* koşullarda fenotipi araştırarak genetik markörlerin azlığı nedeniyle düşüktür.

Moleküler markörlerin kullanımı haritaların geliştirilmesinde ve "gen tagging" çalışmalarında işlemleri hızlandırmaktadır (Abbott ve ark., 1990,1991,1992; Chaparro ve ark., 1992; Eldredge ve ark., 1992). Şeftali ve diğer *Prunus* türlerinde genetik markörlerin azlığı genetik haritaların oluşturulmasını kısıtlamaktadır.

Genom haritalamaları ile ilgili olarak, Rajapakse ve ark. (1995) ağaç şekli ve formlarından sorumlu genler üzerine bir araştırma yapmışlardır. Bu haritalama çalışmasında harita; New Jersey Pillar x KV 77119 çeşitlerinin melezlenmesiyle elde edilmiş olan F₁ bireylerinin kendilenmesiyle elde edilmiş olan 71 F₂ bireyinin segregasyon analizleri ile elde edilmiştir. Bu çalışmada ağaç şekli dışında meyve et rengi (Y), çiçek şekli (Sh), petal sayısı (DI) ve rengi (w)'ni kontrol eden genler de araştırılmıştır. Bu populasyon için geliştirilen harita RFLP ve RAPD markörlerinden elde edilen 47 bağlantı markörü ve 8 bağlantı grubu içermektedir. Araştırma sonucunda dikine büyümeyi kontrol eden genler ile petal sayısını kontrol eden genler I. bağlantı grubu üzerinde 17.6 cM uzaklıkta olduğu belirlenmiştir.

Prunus'larda yürütülen genom haritalama projelerinden bir diğeri de, şeftalide meyve kalitesi ve soğuğa dayanıklılık üzerine yapılmış olan bir haritalama çalışmasıdır. Bu basit ve kompleks gen özelliklerini haritalamak amacıyla "Sun Crest" ve "Bailey" arasında yapılan melezlemelerden elde edilmiş olan F₁ bireylerinin kendine melezlemesinden oluşturulan 200 F₂ bireyi kullanılmıştır.

Baird ve ark. (1996) yapmış oldukları bu çalışmada şeftali genomik klonlarından elde edilmiş olan RFLP ve cDNA klonları ile RAPD markörlerini içeren 80 markör tanımlanmıştır. New Jersey Pillar x KV 77119 kombinasyonundan elde edilmiş olan haritada 45 RFLP lokusundan %36'sı bu kombinasyonlarda da polimorfik bulunduğu için karşılaştırma yapma olasılığı

bulunmuştur. Sun Crest x Bailey kombinasyonunda genomik klonlar yerine cDNA kullanıldığında polimorfizm oldukça düşük bulunmuştur (%5). cDNA klonları prob olarak kullanarak genomik klonlarla karşılaştırıldıklarında %15 ile %20 arasında polimorfik bulunmuştur.

3. Karşılaştırmalı Haritalama (Comparative Mapping)

Prunus türlerinde genetik bağlantı haritalarının oluşturulmasının ardından ikinci aşama haritaların karşılaştırılması ve birleştirilmesi ile her tür için ayrı haritaların oluşturulmasıdır.

Haritalanmış RFLP problemleri tüm laboratuvarlar arasında kullanılabilir. Clemson Üniversitesi'nde WY bireylerinde haritalanmış şeftali genomik klonları Michigan State Üniversitesi'nde vişnede "Rheinische Schattanmorelle" ve "Erdi Batermo" ebeveynlerinde test edilmiştir. Bu şeftali genomik klonlarının %50'si vişnede olumlu sonuçlar vermiştir. Bu oran Clemson Üniversitesi'nde diğer şeftali klonlarında gözlenen sonuçlarla ve polimorfizm oranı ile uyumlu bulunmuştur. Ayrıca çok sıkı bir şekilde bağlantılı olan 2 RFLP lokusu WY haritasının 3. bağlantı grubundaki B4A9 ve B7A5 markörleri vişne haritasında da bağlantılı bulunmuştur (Baird ve ark., 1996).

Bitki ve hayvan aleminde yakın türler arasında bilinen genlerde, markör lokuslarında ve hatta QTL'lerde genetik benzerlikler bulunmaktadır (Paterson ve ark., 1995). Bu durum *Prunus*'larda da geçerli ise *Prunus* ve *Malus* arasında önemli uygulamalar yapılabilir. Örneğin *Prunus* türü içerisinde şeftali ve bademde haritalama işlemleri tamamlanmış, *Malus* türünde ise tam detaylı olmayan haritalar oluşturulmuştur (Foolad ve ark., 1995; Rajapakse ve ark., 1995; Viruel ve ark., 1995).

Buna ek olarak *Malus* araştırma grubu pek çok fenotipik karakteri *Prunus*'larda çalışan araştırmacılarla karşılaştırmalı olarak haritalamışlardır. Eğer kiraz, vişne ve diğer *Prunus* ve *Malus* türleri arasındaki genlerin belli bölgeleri aynı ise (korunmuş bölgeler) bu bilgiler ile;

-haritalama çalışmalarında tamamlanmamış bölgelerdeki potansiyel markörler tanımlanabilir,

-harita üzerindeki homolog genleri içeren bölgeler önceden belirlenebilir.

Karşılaştırmalı haritalama hazırlamada problemlerin diğer türlerde ve hatta cinslerarası kullanılması nedeniyle en yoğun olarak kullanılan markörler RFLP markörleridir (Beckman ve Soller, 1986).

Prunus'larda Avrupa *Prunus* haritalama grubu (Arus ve ark., 1994a), Güney Carolina ve California haritalama gruplarının (Rajapakse ve ark., 1994; Bliss ve ark., 1994) kullandıkları problemler kullanarak vişnelerde RFLP haritası oluşturmuşlardır (Wang ve Iezzoni, 1996).

4. Gen Kaynaklarının Karakterizasyonu

Gen kaynaklarındaki bitkilerin eldesi zor olduğu için koleksiyondaki genetik varyasyonu anlamak ve gen kaynaklarını tanımlamak, bu konuda çalışanlara yardımcı olacaktır. Moleküler markörler bu açıdan çok önemlidir. Özellikle koleksiyondaki tekrarlanan bitkilerin tespiti ve çeşitlerin doğrulanması bakımından yararlıdır.

Önceleri, moleküler markörlerin kirazda kullanımı düşük polimorfizm göstermesinden dolayı daha sınırlı olmuştur. PCR'a dayalı genetik markörlerin kullanımı polimorfik markörlerin elde edilmesini sağlamıştır. RAPD markörleri, uygulanmasındaki kolaylık, sentetik oligonükleotidlerin çok fazla sayıda bulunması ve kolay olması, düşük miktarda ve düşük kalitede DNA'ya gereksinim duyulması gibi nedenlerden ötürü tercih edilen markörlerdir.

SSR markörleri ise yüksek oranda polimorfizm göstermesi, araştırmacılar arasında primer değişiminin kolay olması, *Prunus* türleri arasında primer bölgelerinin korunmuş olması ve hatta *Malus* ve *Prunus* türleri arasında bile gen kaynaklarının tanımlanması için aynı primerlerin

sonuç verebilmesi (Cipriani ve ark., 1999; Downey ve Iezzoni, 2000; Cantini ve ark., 2001) nedeniyle yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır.

Cantini ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada, Amerika Tarım Araştırma Servisi (USDA/ARS) Geneva, N.Y., koleksiyon parselinde yer alan içerisinde vişne (*P.cerasus* L.), *P. fruticosa* Pall. ve bunların hibritlerinin de bulunduğu 75 bireyi tam ve doğru olarak tanımlayarak genetik kaynakların korunması ve kullanılmasını amaçlamışlardır. Çalışmada SSR (mikrosatellit) markörleri kullanılmıştır. Kiraz, vişne ve şeftali genomlarından elde edilmiş 10 adet SSR primer çifti ile yüksek oranda polimorfizm elde edilmiş, her bir primer çifti için 4 ile 16 arasında farklı putative allel amplifiye olmuştur. Putative alleler <0.05 ve heterozigoti oranı ise 0.679 ile 1.00 arasında bulunmuştur. Araştırmacılar SSR verilerine dayanarak koleksiyonda yer alan tüm bireylerin DNA parmakizlerini çıkararak tanımlamışlardır.

Gregor ve ark. (1994), eriklerde (*Prunus domestica*) gen kaynaklarının tanımlanması amacıyla RAPD markörlerini kullanmışlardır. Toplam 145 primer test etmişler ve bu primerler içinden 6 tanesinin kullanılan kültür çeşitleri arasındaki genetik varyasyonu araştırmada yeterli olduğunu belirtmişlerdir.

5. Filogenetik Analizler ve Kültür Çeşitlerinin Tanımlanması

Ticari gen kaynaklarının sertifikasyonu için kültür çeşitlerinin tanımlanması, doğru kültürel uygulamalar ve bitki patent haklarının korunması bakımından DNA markörlerinin kullanımı büyük önem taşımaktadır. Markörler yardımıyla seleksiyonda ihtiyaç duyulan bağlantı haritalarına, bu uygulamalarda gereksinim yoktur (Baird ve ark., 1996).

Rajapakse ve ark. (1995), 34 şeftali çeşidini 9 RFLP markörü ile tanımlamışlardır. Bliss ve ark. (1994), *Prunus* ve elmalarda (*Malus domestica* Borkh.) RAPD markörleri kullanarak 9 kaysı çeşidinin tümünü, 9 kiraz ve erik çeşidinden 7'sini, 19 badem çeşidinden 15'ini tanımlamışlardır.

Quarta ve ark. (1994), şeftali ve nektarin çeşitlerini tanımlamak amacıyla RAPD markörleri kullanmışlardır. Bu çalışmada 24 şeftali çeşidi ve seleksiyonları ile 3 nektarin ve *P. ferganensis* olmak üzere toplam 28 genotip kullanılmıştır. RAPD analizleri Redhaven ve Compact Redhaven dışındaki tüm çeşitleri ayırmada başarılı sonuç vermiştir. Bu çeşitler ise tüm primerlerle aynı bant profillerini vermişlerdir.

Evrimsel ilişkilerin ortaya koyulması amacıyla bireyler arasında genetik ilişkilerin anlaşılması çok önemlidir. Genetik ilişkilerin anlaşılması özellikle kiraz, vişne ve *P. fruticosa* (ground cherry) açısından çok karmaşıktır. Çünkü bu türler arasında belli gen değişimleri gerçekleşmiştir. Beaver ve ark. (1995) yaptıkları çalışmada, izoenzim ve RFLP allelleri kullanarak kiraz ve "ground cherry"i tanımlamada başarılı olamamışlardır.

Brettin ve Iezzoni (1995) ise yaptıkları çalışmada, vişnenin ebevenlerini daha iyi anlamak ve kloroplastın kalıtımdaki etkisini belirlemek amacıyla kloroplast genomunun moleküler organizasyonunu analiz etmişlerdir. Taberlet ve ark. (1991)'nin kloroplast genomundan izole ettikleri primeri kullanarak kiraz, vişne ve ground cherry arasından "ab" fragmenti için 7 tane uzunluk polimorfizimi tanımlamışlardır.

Prunus türlerinden biri olan eriklerde genetik markörlerin araştırılmasına son yıllarda başlanmıştır. Boonprakop ve Byrne (1995) diploid eriklerde filogenetik ilişkileri araştırmak amacıyla RAPD markörlerini kullanmışlardır. Araştırmacılar *Prunus*'ların alt türleri olan *Euprunus* ve *Prunocerasus*'larda moleküler polimorfizmin araştırılmasının genetik uzaklıkların belirlenmesinde ve fenogramların oluşturulmasında önemli olduğunu belirtmişlerdir.

İtalya'nın güneyinde yetiştirilen 15 kiraz çeşidinin genetik olarak tanımlanması amacıyla RAPD tekniği kullanılmıştır. Toplam 31 adet primerden 87 adet polimorfik DNA bantı elde edilmiş UPGMA dendogram bu polimorfizmlere göre oluşturulmuştur. Elde edilen dendograma göre bir grup Lapins, Sunburst, New Star ve Van gibi birbirleri ile ilişkili çeşitleri içerirken, diğer grup Ferrovia, Germersdorfer, Schneiders ve Belge çeşitlerinden oluşmuştur. Sonuç olarak analiz edilen genotipler içerisinde benzerlik olabilecek Belge ve Germersdorfer ile Montagnola ve Dura di Bisceglie arasındaki yakın benzerliğin oluşumu tartışılmıştır (Corona ve ark., 1997). Bartolozzi ve ark. (1998), yaptıkları çalışmada, 17 badem genotipi ve bir şeftali çeşidi arasındaki genetik akrabalıkları belirlemek amacıyla 37 RAPD markörü kullanmışlardır. Bademde genetik çeşitlilik kendine uyumsuz olması ve dışardan tozlanmasına rağmen sınırlı bulunmuştur. RAPD analizleri ile çeşitler orijinlerine göre; göz sport mutasyonları, erkenci California genotipleri, California gen kaynakları dışındaki genotipler olmak üzere 3 gruba ayrılmışlardır. Benzerlik indeksi, bireylerin aynı bantı taşımasına göre hesaplanmış ve badem gen kaynaklarında 0.75 ya da daha fazla oranda benzerlik bulunmuştur. Badem ve şeftali arasında da 0.424 oranında benzerlik düzeyi tespit edilmiştir. Araştırmacılar, şeftali gen kaynaklarının bu benzerlik nedeniyle, bademde yapılacak genetik çalışmalarda kullanılmasında ki önemini vurgulamışlardır.

Gerlach ve Stosser (1998) kiraz çeşitlerinde çeşit tanısında RAPD markörleri kullanmışlar ve toplam 18 kiraz çeşidinden DNA izole edilerek çeşitler arasındaki farklılıkları araştırmışlardır. Kullandıkları primerlerden 23 adedi başarılı sonuç vermiş ve 56 polimorfik fragment elde edilmiştir. Primere göre değişmekle birlikte 1 ile 5 arasında polimorfik bant ortalama 2.4 bant/primer elde edilmiştir. Yalnızca polimorfik primerler dikkate alınarak ve Jaccard coefficient kullanılarak genetik benzerlikler belirlenmiştir. Genetik benzerlik 0.2 ile 0.89 arasında değişmiştir. Kiraz çeşitlerinden "Hedelfinger" ile "Glemser", "Büttner's Späte Rote Knorpel" ve "Qerfurter Königskirsche" arasında genetik varyasyon bulunmamıştır.

Zhou ve ark. (2001), Kanada Summerland Pasifik Agri-Food araştırma istasyonunda yürütülen ıslah programlarından elde edilmiş çeşit ve seleksiyonlar arasındaki genetik benzerlik ve varyasyonları araştırmak amacıyla AFLP tekniği kullanmışlardır. 30 primer kombinasyonu ile ön seleksiyon yaparak 67 çeşit ve selekte edilmiş birey için toplam 6 primer çifti belirlemişlerdir. Bu primerlerle yapılan AFLP analizleri sonucunda 118'i polimorfik olan 625 fragment elde edilmiştir. Her primer için ortalama 20 markör ortaya koyulmuş ve AFLP tekniğinin kiraz gibi genomu küçük olan bitkilerde [diploid genomda 0.7 pg (Arumuganathan ve Earle, 1991)] genetik akrabalıkların ve farklılıkların belirlenmesinde iyi bir teknik olduğunu vurgulamışlardır.

Moleküler markörler, anaçlar gibi vegetatif olarak çoğaltılan bitkisel materyalin ya da doku kültüründen rejenere olan veya üretilen materyalin karakterize edilmesinde de kullanılmaktadır. *Prunus* anaçlarının DNA parmakizi yöntemleri ile tanımlanması pratik olarak bir ihtiyaçtır. Bu konuda yapılan çalışmalardan birinde aynı ebeveynlerden gelen 2 seleksiyon ile 18 klonal anacın farklılıklarının ortaya koyulmasında RAPD primerleri kullanılmıştır. 80 primerden 20 tanesi polimorfik bulunmuş ve 40 DNA bantı elde edilmiştir. Tüm anaçların tanımlanmasında 6 primer yeterli bulunmuştur. 18 şeftali anacının cluster analizleri sonucu elde edilen dendogram 2 gruba ayrılmıştır. Araştırmacılar, bu gruplardan birinin kök ur (*Meloidogyne incognita*) nematoduna dayanıklı, diğer grubun ise duyarlı bireyleri içerdiğini belirtmişlerdir (Lu ve ark., 1996). Bunlara ek olarak UPGMA cluster analizlerinden elde edilen dendogram varsayılan ebevenlerle uyumlu bulunmuştur. Elde edilen bulgular elmada (Landry ve ark. 1994; Nybom, 1990) ve *Rubus*'da minisatellit SSR markörleri kullanılarak (Nybom ve Hall, 1990) yapılan çalışmalarla benzerlik göstermiştir.

Yang ve Schmidt (1994) X ışınları uygulayarak elde edilmiş olan mutant kirazlar ile ebeveynleri RAPD primerleri kullanılarak ayırt etmişlerdir.

Benzer olarak; Hasmi ve ark. (1992), “Redhaven” ve “Sunhigh” şeftali çeşitlerinde kök ur [*Meloidogyne incognita* (Kofoid ve White)] nematoduna dayanıklılık için yapılan somaklonal varyasyon çalışmalarında *in vitro* koşullarda elde ettikleri rejenerantları tanımlamışlardır. Bu rejenerantlar RAPD markörleri ile test edilmiş ve birkaç primer kullanılarak rejenerantlar ve bunların *in vitro*'da çoğaltılmış çeşitleri arasında polimorfizm araştırılmıştır (Hashmi, 1993). Araştırmacılar bu çalışmanın somaklonal varyasyonun genetik temelini desteklediğini belirtmişlerdir.

Son yıllarda PCRa dayalı SCAR, SRAP, STS gibi yeni markör sistemlerinin geliştirilmesi pek çok bitki türünde olduğu gibi *Prunus* türlerinde yapılmakta olan moleküler ıslah çalışmalarında stratejik rol oynayacaktır. Teknolojinin gelişmesi ile analiz başına harcanan emek ve maliyet azalacak, fazla sayıda bireyle çalışma şansı artacaktır. Bunların sonucu olarak ıslah süreci kısalarak çalışılan bitkilere ait daha kesin ve detaylı bilgiler elde edilecektir.

Kaynaklar

- Abbott, A., Belthoff, L., Rajapakse, S., Ballard, R., Baird, V., Monet, R., Scorza, R., Morgens, P., Callahan, A., 1992. Development of Genetic Linkage Map of Peach. Proc. Plant Genome I:22 (Abstr.115).
- Abbott, A., Eldredge, L., Ballard, R., Baird, V., Callahan, A., Morgens, P., Scorza, R., 1991. Genetic Mapping-Implication for Variety Improvement and Identification. Proc. Southeast and Natl. Peach Conf., Savannah, Ga. p. 23-32.
- Abbott, A., Eldredge, L., Ballard, R., Baird, V., Callahan, A., Morgens, P., Scorza, R., 1990. Molecular Genetic Mapping in Peaches. Proc. Southeast and Natl. Peach Conf., Hilton Head, S.C. p:38-43.
- Arumuganathan, K., Earle, E.D., 1991. Nuclear DNA Content of Some Important Plant Species. Plant Mol. Biol. Rep. 9:208-218.
- Arús, P., Messeguer, R., Viruel, M., Tobutt, K., Dirlevanger, E., Santi, F., Quarta, R., Ritter, E., 1994a. The European *Prunus* mapping project. Euphytica 77:97-100.
- Arús, P., Olarte, C., Romero, M., Vargas, F., 1994b. Linkage Analysis of Tenisozyme Genes in F₁ Segregating Almond Progenies. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 119:339-344.
- Baird, W.V., Estager, A.S., Wells, J., 1994. Estimating Nuclear DNA Content in Peach and Related Diploid Species Using Laser Flow Cytometry and DNA Hybridization. J. Amer. Soc. Hort Sci. 199: 1312-1316.
- Baird, W.V., Ballard, R.E., Rajapakse, S., Abbott, A.G., 1996. Progress in *Prunus* Mapping and Application of Molecular Markers to Gerplasm Improvement. Hort Sci. 31(7):1099-1106.
- Bartolozzi, F., Walburton, M.L., Arulsekhar, S., Gradziel, T.M., 1998. Genetic Characterization and Relatedness Among California Almond Cultivars and Breeding Lines Detected by Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis. J.Amer. Soc. Hort. Sci. 123(3):381-387.
- Beaver, J.A., Iezzoni, A.F., Ramm, C.W., 1995. Isozyme diversity in Sour, Sweet and Ground Cherry. Ther. Appl. Genet. 90:847-852.
- Beckmann, J.S., Soller, M., 1986. Restriction Fragment Length Polimorphism and Genetic Improvemet of Agricultural Species. Euphyt. 35:111-124.
- Bliss, F.A., Arulsekhar, S., Dandekar, A.M., 1994. Identification of Woody Plant Cultivars Using DNA Fingerprinting p.1-8 In: Research Reports, California Peaches and Nectarines. California Tree Fruit Agreement, Sacramento.
- Boonprakob, U., Byrne, D.H. 1995. Genetic Relationships of Diploid Plums Based on RAPD Polymorphisms. HortScience 30:736. (Abstr.92).

- Brettin, T.S., Iezzoni, A.F. 1995. Chloroplast DNA Polymorphisms in Sweet, Sour and Ground Cherry. Hort Sci. 30:855 (abs).
- Cantini, C., Iezzoni, A.F., Lamboy, W., Boritzki, M., Struss, D., 2001. DNA Fingerprinting of Tetraploid Cherry Germplasm Using Simple Sequence Repeats. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 126:205-209.
- Chapparo, J.X., Werner D.J., O'malley, D., Sederoff, R.R., 1992. Targeted Mapping and Likage Analysis in Peach. Proc. Plant Genome I:21. (Abstr.23).
- Chapparo, J.X., Werner D.J., O'malley, D., Sederoff, R.R., 1994. Targeted Mapping and Likage Analysis of Morphological, Isozyme, and RAPD Markers in Peach. Theor. Appl. Genet. 87:805-815.
- Cipriani, G., Lot, G., Huang, W.G., Marrazzo, M.T., Peterlunger, E., Testoline, R., 1999. AC/GT and AG/CT Microsatellite Repeats in Peach [*Prunus persica* (L) Batsch] Isolation, Characterisation and Cross-Species Amplification in *Prunus*. Theor Appl Genet 99:65-72.
- Corono, M.G., Resta, P., Fanizza, G., Palasciano, M., Godini, A., 1997. Prima Indagine su Cultivar Pugliesi di Ciliegio Dolce (*Prunus avium* L.) mediante lo Studio di Polimorfismi del DNA (RAPDs). In: Atti del Convegno Nazionale del Ciliegio, A.Godini (eds.), p.201-213. 17-21 Giugno 1997. Valezano (Ba).
- Dirlevanger, E., Bodo, C., 1995. Molecular Genetic Map of Peach. Euphytica 77:101-103.
- Downey, S.L., Iezzoni, A.F., 2000. Polymorphic DNA Markers in Black Cherry (*Prunus serotina*) are Identified Using Sequences From Sweet Cherry, Peach and Sour Cherry. J.Amer. Soc. Hort. Sci. 125(1):76-80.
- Eldredge, L., Ballard, R., Baird, V., Abbott, A., Morgens, P., Callahan, A., Scorza, R., Monet, R., 1992. Application of RFLP Analysis to Genetic Linkage Mapping in Peaches. Hort Science 27: 160-163.
- Foolad, M.R., Arulsekhar, S., Becerra, V., Bliss, F.A., 1995. A Genetic Map of *Prunus* Based on Interspecific Cross Between Peach and Almond. Theor. Appl. Genet. 91:262-269.
- Gerlach, H.K., Stosser, R., 1998. Sweet Cherry Cultivars Identification Using RAPD-derived DNA Fingerprints. Proc. Third Int. Cherry Sym., Ed. Jonas Ystaas Acta Hort. 468. ISHS 1998.
- Gregor, D., Hartmann, W., Stosser, R., 1994. Cultivar Identification in *Prunus domestica* Using Random Amplified Polymorphic DNA Markers. Acta Hort. 359:33-40.
- Hasmi, G., 1993. Evaluation of Peach Regenerants, Cultivars and Seedlings for Resistance to Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*. PhD. Diss., Dept. Of Botany, Univ. of Maryland, College Park.
- Hasmi, G., Hammerschlag, F., Krusberg, L., Huettel, R., 1992. Selection of Somaklonal Variants of Peach Root-Knot Nematode Resistance. J. Nematol. 24:596. (Abstr.)
- Hesse, C.O., 1975. Peaches, p. 285-335. In: J. Janick and J. Moore (ed.). Advances in Fruit Breeding. Purdue Univ. Press, West Lafayette, Ind.
- Knapp, S.J., 1994. Selection Using Molecular Marker Indexes, p.1-11. In: Proceedings of the 2nd Symposium of the American Society for Horticultural Science and Crop Science Society of America: Analysis of Molecular Marker Data (Corvallis, Ore.). Amer. Soc. Hort. Sci. Alexandria, Va.
- Landry, B.S., Li, R.Q., Cheung, W.Y., Granger, R.L., 1994. Phylogeny Analysis of 25 apple Rootstocks Using RAPD Markers and Tactical Gene Tagging. Theor. Appl. Genet. 89:847-852.
- Lu, Z.X., Reighard, G.L., Baird, W.V., Abott, A.G., Rapakse, S., 1996. Identification of Peach Rootstock Cultivars by RAPD Markers. HortScience 31:127-129.
- Melchinger, A.E., 1990. Use of Molecular Markers in Breeding for Oligogenic Disease Resistance. Plant Breeding 104:1-19.

- Monet, R., 1989. Peach Genetics: Past, Present and Future. *Acta Hort.* 254: 49-57.
- Monet, R., Bastard, Y., Gibault, B. 1985. Etude Genetique et Amelioration des Peches Plates, *Agronomie* 5:727-731.
- Mowrey, B.D., Werner, D.J., Byrne, D.H., 1990. Inheritance Of Isocitrate Dehydrogenase, Malate Dehydrogenase, and Shikimate Dehydrogenase in Peach and Peach X Almond Hybrids. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 115:312-319.
- Nyborg, H., 1990. Genetic in Ornamental Apple Trees and Their Seedlings (*Malus*, *Rosaceae*) Revealed by DNA "Fingerprinting". *Hereditas*, 113:17-28.
- Nyborg, H., Hall, H., 1990. Minisatellite DNA "Fingerprints" Can Distinguished *Rubus* Cultivars and Estimate Their Degree of Relatedness. *Euphytica* 53:107-114.
- Quarta, R., Dettori, M., Verde, I., Laino, P., Santucci, F., Vantaggi, A., Sabatini, S., 1994. Analisi Della Variabilità Genetica in Germoplasma di Pesco Mediante Marcatori Molecolari, p.73-82. In: S.Sansavini and Pancaldi (eds.) *Agro bio frut su: Tecnologie Avanzate per l'identificazione Varietale e il Controllo Sanitario nel Vivaismo Fruttivendolo*. Agro-Bio-Frut-Cesena 6 May. 1994.
- Paterson, A.H., Lin, Y.R., Li, Z., Schertz, K.F., Doebley, J.F., Pinson, S.R.M., Liu, S.C., Stansel, J.W., Irvine, J.E., 1995. Convergent Domestication of Cereal Crops by Independent Mutations at Corresponding Genetic Loci. *Science* 269:1714-1718.
- Rajapakse, S., Belthoff, L.E., Scorza, R., Ballard, R.E., Baird, W.V., Monet, R., Abbott, A.G., 1994. Genetic linkage mapping in peach. *Hort Science* 264:699-703
- Rajapakse, S., Belthoff, L.E., He, G., Estager, A.E., Scorza, R., Verde, I., Ballard, R.E., Baird, W.V., Callahan, A., Monet, R., Abbott, A.G., 1995. Genetic Linkage Mapping in Peach Using Morphological, RFLP and RAPD Markers. *Theor. Appl. Genet.* 90:503-510.
- Stockinger, E.J., Mulinix, C.A., Long, C.M., Brettin, T.S. Iezzoni, A.F., 1996. A Linkage Map of Sweet Cherry Based on RAPD Analysis of a Microspore-Derived Callus Culture Population. *Journal of Heredity* 87:214-218.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., Bouvet, J. 1991. Universal Primers for Amplification of Three Non-Coding Regions of Chloroplast DNA. *Plant Mol.Biol.* 17:1105-1109.
- Tobutt, R. K., Nicoll, R. J., 1992. Joint Meeting of the European *Prunus* and Apple Genome Mapping Groups. East Malling, UK, May 1991. *Fruit Var J* 46:263-265.
- Viruel, M.A., Messeguer, R., De Vicente M.C., Garcia- Mas, J., Puigdomenech. P., Vargas, F., Arús, P., 1995. A Linkage Map with RFLP and Isozyme Markers for Almond. *Theor. Appl. Genet* 91: 964-971.
- Wang, D., Iezzoni, A.F., 1996. A Genetic Linkage Map of Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) Plant and animal genome. San Diego, P273, pg.121.
- Yamazaki, K., Okabe, M., Takahashi, E. 1987. Inheritance of Some Characteristics and Breeding of New Hybrids in Flowering Peaches. *Bul. Kanagawa Hort. Expt.* 34: 46-53.
- Yang, H., Schmitt, H., 1994. Selection of a Mutant from Adventitious Shoots Formed in X-ray Treated Leaves and Differentiation of Standard from Mutant with RAPDs, p.287-290. In: H. Schmitt and M. Kellerhals (eds.). *Progress in temperate fruit breeding*. Kluwer Academic publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Zhou, L., Kappel, F., Wiersma, P.A., Hampson, C., Bakkeren, G., 2001. Genetic Analysis and DNA Fingerprinting of Sweet Cherry Cultivars and Selections Using Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP). 4th International Cherry Symposium, 25-30 June Oregon/Washington, USA, Abstract Book.