

Aspirde Geliştirilen Rekombinant Saf Hat Populasyonunun Genetik Harita Populasyonu Olarak Kullanma İmkânlarının Araştırılması

Muhammet TONGUÇ^{1*} Sabri ERBAŞ² Hasan BAYDAR²

^{1*}Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Isparta

²Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Isparta

*Yazışma yazarı: muhammettonguc@sdu.edu.tr

Geliş tarihi:01.12.2010, Yayına kabul tarihi:21.11.2011

Özet: Genetik haritalar birçok bitki türü için geliştirilmiştir. Genetik haritalar tarımsal açıdan önemli genlerin kromozomlar üzerindeki yerlerinin belirlenmesi ve ıslah programlarında seçilen karakterlerin manipülasyonu için önemli avantajlar sağlamaktadırlar. Aspir yüzyıllardır tarımı yapılan bir yağ bitkisidir fakat bitki ıslahçıları tarafından kullanılabilecek bir genetik harita aspir için henüz mevcut değildir. Mevcut çalışmada Dinçer 5-118 ile Remzibey-05 çeşitlerinin çaprazlanması ile geliştirilen ve F₆ seviyesine kadar ilerletilen rekombinant saf hatların (RIL) aspirde genetik haritalama populasyonu olarak kullanılıp kullanılmayacağı incelenmiştir. Çalışmada toplam 16 RIL hattı ve anaçlar arasındaki polimorfizmler 10 AFLP primer kombinasyonu kullanılarak incelenmiştir. Çalışmada AFLP primerleri ile toplam 439 bant gözlenmiş ve bu bantlardan 20 tanesi anaçlar ve hatlar arasında polimorfizm üretmiştir ve primer kombinasyonu başına üretilen polimorfizm sayısı 0-4 arasında değişmiştir. Elde edilen polimorfik bantlardan 9 tanesi beklenen orandan sapma göstermiştir.

Anahtar kelimeler: AFLP, *Carthamus tinctorius*, genetik harita, RIL

Investigation on Possible Use of Recombinant Inbred Line Population as Possible Mapping Population in Safflower

Abstract: Linkage maps have been developed for many plant species. Genetic maps could be used to locate important genes on linkage groups and enable breeders to manipulate important genes and characters. Safflower has been cultivated for centuries as oilseed crop but there is no genetic map developed for safflower. In the present study, possible use of a recombinant inbred population (RIL) as a mapping population was investigated. The population was developed by crossing Dincer 5-118 and Remzibey-05 cultivars and advanced to F₆ generation. Sixteen lines along with parents were used to screen 10 AFLP primer combinations to reveal polymorphisms. A total of 439 bands were produced and 20 of those were found to be polymorphic both between parents and among the individuals. Amount of polymorphisms produced by the primer combinations ranged between 0-4. Among the polymorphic bands, 9 showed skewed distribution from the expected ratio.

Key words: AFLP, *Carthamus tinctorius*, linkage map, RIL

Giriş

Türkiye, birçok tarımsal üründe yeterli üretim yapmasına karşın, bitkisel yağ üretiminde kendine yeter üretim yapamamaktadır. Türkiye'nin yıllık bitkisel yağ üretimi yaklaşık 900 bin tondur. Ülkemizde üretilen bitkisel yağların %40'ı ayçiçeğinden, %25'i pamuk çekirdeğinden, %20'si zeytinden, ve geri kalan %15'i soya,

mısır, fındık, kanola, susam ve yerkıstığı gibi diğer yağ bitkilerinden elde edilmektedir (TÜİK, 2010). Türkiye'nin bitkisel yağ üretiminde sahip olduğu potansiyel kaynaklardan birisi de aspir bitkisidir. Dünyada 2009 yılı verilerine göre yaklaşık 732 bin ha alanda aspir tarımı yapılmış ve 653.791 ton tohum elde

edilmiştir (FAO, 2010). Ülkemizde ise aspir tarımı son yıllarda önem kazanmış, ekim alanı 400 da'dan 21.513 da'a, üretim miktarı ise 150 tondan 20.076 tona yükselmiştir.

Her ne kadar ülkemizdeki aspir ekim alanları son yıllarda sürekli bir artış eğilimi gösteriyor olsa da, mevcut tarımı yapılan aspir çeşitlerinin (Dinçer 5-118, Remzibey-05 ve Yenice 5-38) tohum verimi ve yağ oranı düşüktür (Baydar, 2009).

Asteraceae familyasından olan *Carthamus* cinsi 25 tür içermektedir ve bu türlerden birçoğu Akdeniz havzasına özgü türlerdir. Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) *Carthamus* cinsinin kültürü yapılan tek türüdür ve 3000 yıldan beri yağ, baharat ve boya bitkisi olarak kullanılmaktadır (Knowles, 1980).

Moleküler yöntemlerin geliştirilmesine kadar bitki ıslahçıları istenilen karakterleri seçmek için klasik ıslah metotlarını kullanmışlardır fakat bu metotların kullanımında bazı sorunlar ortaya çıkabilmektedir. Moleküler tekniklerin geliştirilmesi ortaya çıkabilecek problemlerin en aza indirilmesinde yardımcı olmaktadır (Tanksley et al., 1989). Bitki genetiği ve ıslahında kullanılabilen pek çok moleküler markır sistemi (RFLP, RAPD, SCAR, SSR, AFLP vb) geliştirilmiş ve kullanılmaktadır.

AFLP tekniği genetik haritaların yapılmasında (Van Der Voort et al., 1997), genetik çeşitliliğin incelenmesinde (Nyboom, 2004), melezlerin ve çeşitlerin teşhisinde (İncirli and Akkaya, 2001; Goldman et al., 2004), filogenetik analizlerde (Kardolus et al., 1998; Belaj et al., 2003), fenotipik karakterlere bağlı markır geliştirilmesinde ve klonlamada (Brugmans et al., 2006) kullanılabilen bir markır sistemidir.

Genlerin genetik haritalar üzerindeki yerlerini belirlemek için açılım gösteren populasyonlar gereklidir. Genetik haritalamalar için genelde F_2 , double haploid hatlar ve geri melez (BC) populasyonları kullanılmaktadır. F_2 ve BC populasyonları her ne kadar hızlı bir şekilde geliştirilebilse de bu populasyonları kullanmanın sakıncası DNA kullanıldıktan sonra bu populasyonların kullanım

imkânının kalmamasıdır. Bu problemi çözmek için melezleme sonucu populasyon F_2 seviyesinde bırakılmayarak F_6 ve sonrasına getirilmiş ve elde edilen durulmuş populasyonlar rekombinant saf hatlar (RIL) olarak adlandırılmışlardır (Burr and Burr, 1991). RIL populasyonları homozigot halde oldukları için sürekli olarak kendilenip kullanılabilir ve diğer araştırmacılar da aynı populasyonu kullanabilir. Ayrıca çıkan sonuçlar ortak bir platformda değerlendirilebilir (Burr and Burr, 1991; Alanso-Blanco et al., 2000).

Aspir bitkisi için geliştirilen bir harita bulunmamasına karşın asperde genetik haritalama çalışmalarını yapmak üzere populasyonlar geliştirilmeye başlanmıştır. Mayerhofer et al., (2008) tarafından yapılan bir araştırmada, 138 bireyden oluşan F_2 haritalama populasyonu Centennial ve NP-12 anaçlarının melezlenmesinden ve 120 bireyden oluşan interspesifik BC_1 populasyonu *C. oxycanthus* ve Centennial'in melezlemesi ile üretilmiştir. Haritalama için kodominant RFLP ve SSR markırları kullanılmış ve her iki haritalama populasyonunda 12 bağlantı grubu oluşturulmuştur. F_2 populasyonunda bağlantı grupları 9-379 cM, BC_1 populasyonunda ise 3-44 cM uzunluğunda değişmiştir.

Mevcut çalışmanın amacı daha önceki bir TÜBİTAK projesi kapsamında iki farklı çeşidin melezlenmesi sonucu üretilen ve F_6 seviyesine ilerletilen RIL hatlarının asperde genetik harita çıkarmak için kullanılabilme potansiyelini araştırmaktır.

Materyal ve Yöntem

Bitki materyali

2001 yılında Dinçer 5-118 ile Remzibey-05 aspir çeşitleri melezlenmiştir. Bu melezleme de dışı olarak seçilen Dinçer-5-118 çeşidinin çiçek tomurcuklarına 100-300 ppm gibberellik asit uygulanarak sentetik erkek kısırlığı yaratılmış (Baydar and Gökmen, 2003) ve elde edilen melez tohumlar 2002 yılında tarlaya ekilerek F_1 bitkileri üretilmiş ve 2003 yılında F_1 tohumları ekilerek F_2 populasyonu elde edilmiştir. İlerleyen yıllarda F_2 populasyonundan pedigrı seleksiyonu ile

seçilen üstün hatlar F₆ seviyesine getirilmişler ve HB hatları olarak numaralandırılmışlardır (Baydar ve Erbaş, 2007; Erbaş ve Baydar, 2009). Bu hatlardan 16 tanesi çalışmada kullanılmıştır.

DNA izolasyonu

HB hatlarına ait tohumlar torf içeren violler içine ekilmiş ve genç yapraklar DNA izolasyonu için kullanılmışlardır. DNA izolasyonu CTAB yöntemi ile yapılmıştır (Doyle and Doyle, 1990). Örneklere ait DNA'ların kalitesi ve miktarı spektrofotometrik yöntemi ile tespit edilmiştir. Tüm örneklere ait DNA konsantrasyonu TE tamponu (1 mM Na₂EDTA, 10 mM Tris-HCl pH 8.0) ile 250 ng/µl'ye ayarlanmış ve elde edilen DNA örnekleri kullanılmaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

AFLP analizi

AFLP analizleri, AFLP Analysis System I kitinde sağlanan materyaller kullanılarak ve üretici firmanın direktifleri izlenerek yapılmıştır (Invitrogen Life Technologies, ABD). 250 ng genomik DNA, 5 µl 5X reaksiyon tampon çözeltisi içinde 2 µl *EcoR* I/*Mse* I kesim enzimleri ile 2 saat süreyle 37 °C'de kesilmiştir. Reaksiyonun toplam hacmi steril saf su ile 25 µl'ye tamamlanmıştır. Kesim işlemi ortam sıcaklığının 70 °C'ye çıkarılması ile sonlandırılmıştır. Adaptörlerin eklenmesi için kesilen DNA'nın içine 1 µl T4 DNA Ligaz enzimi ve 24 µl adaptör solüsyonu eklenmiş ve 2 saat süreyle 20 °C'de inkübe edilmiştir.

Ön seçici amplifikasyonlar için TE ile seyreltilmiş örneklerden 5 µl alınmış ve yeni PCR tüplerine konulmuştur. Üzerlerine 10X PCR çözeltisi 1 µl Taq polimeraz (Vivantis, Malezya) ve 40 µl ön seçici amplifikasyon solüsyonu (*EcoR* I+A ve *Mse* I+C primerleri ve dNTP karışımı) eklenmiştir. PCR işlemi 20 döngü olarak 90 °C'de 30 s, 56 °C'de 60 s ve 72 °C'de 60 s şeklinde gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri seçici amplifikasyonlar da kullanmak için 1:50 oranında TE çözeltisi ile seyreltilmişlerdir.

Seçici amplifikasyonlar üretici firmanın sağladığı primerler kullanılarak yapılmıştır. Seçici amplifikasyon için reaksiyon başına 5 µl seyreltilmiş PCR ürünü, 0.5 µl *EcoR* I primeri, 4.5 µl *Mse* I primeri ve dNTP karışımı, 2 µl 10X PCR çözeltisi, 7.9 µl steril dH₂O ve 0.1 µl Taq polimeraz kullanılmıştır. PCR amplifikasyonu için touchdown metodu kullanılmıştır. PCR döngüsünün birinci adımında denatürasyon için 94 °C'de 30 s, hibridizasyon adımında sıcaklık 65 °C'den başlayarak her döngüde 0.7 °C düşürülmüş ve bu işlem sıcaklık 56 °C'ye ulaşmaya kadar devam ettirilmiştir (30 s). Uzatma için 72 °C'de 60 s bekletilmiştir. PCR'ın ikinci adımı 23 döngüde, denatürasyon 94 °C 30 s, hibridizasyon 56 °C 30 s ve uzatma 72 °C 60 s'de tamamlanmıştır. Seçici amplifikasyon ürünleri poliakrilamid jellere yüklenmeden önce 3X STR solüsyonu ile boyanmıştır.

Jel ve data analizi

PCR ürünleri Owl S4S elektroforez sistemi kullanılarak ayrıştırılmıştır (Thermo Scientific, ABD). PCR ürünlerini ayrıştırmak için %6'lık poliakrilamid jeller kullanılmış (19:1 akrilamid:bisakrilamid) ve jel üzerindeki her bir kuyucuğa 3 µl PCR ürünü yüklenmiştir. Jeller yaklaşık 500 ml 0.5X TBE çözeltisi kullanılarak 2400 V sabit akımda 3 saat süre ile koşturulmuşlardır. Poliakrilamid jellerin hazırlanması ve gümüş nitrat ile boyanması işlemleri Pillen et al., (2000) tarafından açıklandığı şekilde yapılmıştır.

HB hatlarından 16 adedinde AFLP primer kombinasyonlarından toplam 10 adet denenmiştir. HB hatları tarafından üretilen polimorfizmler arasındaki bağlantı durumları MAPMAKER programı kullanılarak (Lander et al., 1987), İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde incelenmiştir. χ^2 değerleri üretilen her allel için hesaplanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

16 adet HB hattından elde edilen DNA'lar 10 primer kombinasyonu

kullanılarak amplifiye edilmiş ve PCR ürünleri %6'lık poliakrilamid jeller üzerinde ayrıştırılmış ve jeller gümüş nitrat ile boyanmıştır. HB hatları ile birlikte bu hatların anaçları olan Remzibey-05 ve Dinçer 5-118 çeşitlerinin DNA'larında amplifiye edilmiş ve HB hatlarında gözlemlenen polimorfizmlerin anaçlarda bulunup bulunmadığını test etmek için HB hatlarına ait PCR ürünleri ile birlikte jeller üzerinde ayrıştırılmışlardır.

Jel üzerinde en uzağa göç eden polimorfik bant, birinci allel olarak kabul edilmiş ve diğer alleller bu kurala göre numaralandırılmışlardır. Kullanılan primer kombinasyonlarının ürettikleri bant sayısı ve HB hatları arasında ortaya çıkardıkları polimorfik bant sayısı Çizelge 1'de verilmiştir. Primer kombinasyonları

tarafından üretilen toplam bant sayısı 27-70 arasında değişmiştir. En az bant üreten primer kombinasyonu E-AGC/M-CAC iken en fazla sayıda bant üreten primer kombinasyonu EAAC/M-CAA olmuştur. Primer kombinasyonu başına üretilen polimorfik bant sayısı 0-4 arasında değişmiştir. E-AGC/M-CAA kombinasyonları tarafından üretilen PCR ürünleri HB hatlarında ve anaçlarda polimorfizm üretmemişlerdir. En fazla polimorfizm üreten primer kombinasyonu E-AAC/M-CAA olarak bulunmuştur. Primer kombinasyonları toplam olarak 439 bant üretmişler ve bu bantlardan 20 tanesi polimorfik olarak bulunmuştur. Polimorfizm oranı % 4.5 olarak bulunmuştur.

Çizelge 1. HB hatlarında denenen primer kombinasyonları, toplam bant ve polimorfik bant sayıları.

Primer kombinasyonu	Toplam bant sayısı	Polimorfik bant sayısı
E-ACA/M-CTT	52	3
E-AAC/M-CTT	37	3
E-AAC/M-CAG	29	2
E-ACC/M-CTG	45	1
E-AAC/M-CAG	70	2
E-AGC/M-CAA	48	0
E-AGC/M-CAC	27	2
E-ACT/M-CTA	34	1
E-ACA/M-CGA	32	2
E-AAC/M-CAA	65	4
Toplam	439	20

χ^2 testi gözlenen sonuçların RIL hatları için beklenen sonuçlardan (1:1) farklı olup olmadığını test etmek için uygulanmıştır. Hesaplanan χ^2 değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. χ^2 analizi sonuçlarına göre 9 allel beklenen orandan sapma göstermiş, 11 allelin ürettiği polimorfizm ise beklenen orandan sapma göstermemiştir.

Üretilen polimorfizmler arasında bağlantı olup olmadığını test etmek için MAPMAKER programı kullanılarak bağlantı analizi yapılmıştır. Analizler için LOD 2 ve 3 kritik eşik olarak kullanılmıştır. Analiz sonucu üretilen polimorfizmler arasında yeterli rekombinasyon olmadığından dolayı üretilen alleler

kullanılarak bağlantı grupları kurulamamıştır. Üretilen polimorfizmlerin hepsi birbiri ile bağlantılı olduğu için alleler yığılma yapmış ve bundan dolayı bağlantı grupları bulunamamıştır.

Genetik haritalar pek çok bitki türü için geliştirilmişler ve geliştirilmeye devam edilmektedirler (O'Brien, 1993). Genetik haritalar yolu ile bitki genomlarının haritalanması ve genomların manipülasyonu (Tanksley et al., 1989), kantitatif özellik gösteren genlerin (QTL) bağlantı grupları ve kromozomlar üzerindeki yerlerinin tespiti (Jeong et al., 2002) ve kalitatif özellik gösteren karakterlerin haritalanması ve manipülasyonu (Yuan et al., 2002) gibi

işlemler mümkündür. Genetik haritalar farklı populasyonlar kullanılarak oluşturulabilir fakat RIL populasyonlarının kullanılması diğer haritalama

populasyonlarına göre daha avantajlı fakat geliştirilmeleri diğer populasyonlara göre daha çok zaman almaktadır (Burr and Burr, 1991).

Çizelge 2. AFLP primerleri tarafından üretilen polimorfik allellere ait χ^2 testi sonuçları.

Primer kombinasyonu	Bant var (1)	Bant yok (0)	χ^2 değeri
E-AAC/M-CTT-1	3	13	6.25*
E-AAC/M-CTT-2	6	10	1.0
E-AAC/M-CTT-3	6	10	1.0
E-ACA/M-CTT-1	6	10	1.0
E-ACA/M-CTT-2	8	8	0.0
E-ACA/M-CTT-3	13	3	6.25*
E-ACC/M-CTG-1	4	12	4.0*
E-AAC/M-CAG-1	4	12	4.0*
E-AAC/M-CAG-2	3	13	6.25*
E-AGC/M-CAC-1	5	11	2.25
E-AGC/M-CAC-2	5	11	2.25
E-AAC/M-CAG-1	8	8	0.0
E-AAC/M-CAG-2	3	13	6.25*
E-ACT/M-CTA-1	8	8	0.0
E-ACA/M-CGA-1	10	6	1.0
E-ACA/M-CGA-2	3	13	6.25*
E-AAC/M-CAA-1	10	6	1.0
E-AAC/M-CAA-2	6	10	1.0
E-AAC/M-CAA-3	12	4	4.0*
E-AAC/M-CAA-4	12	4	4.0*

*beklenen orandan sapma gösteren alleller

Mevcut çalışmada Dinçer 5-118 ve Remzibey 05 çeşitlerinin çaprazlanması ile geliştirilen ve F_6 seviyesine kadar ilerletilen RIL hatlarının genetik haritalamada kullanılıp kullanılmayacağı incelenmiştir. Bu melezlemeden geliştirilen HB hatlarının verim ve yağ asitleri bileşenleri gibi bazı agronomik ve kalite özellikleri bilinmektedir ve bundan dolayı incelenmiş özelliklerin haritalanmasında da ayrıca faydalı olacağı düşünülmüştür. Genetik haritalarının geliştirilebilmesi için seçilen anaçlarda, polimorfizm üretebilmek için birbirleri ile genetik akrabalıklarının az olması gerekmektedir (Burr and Burr, 1991). Mevcut çalışmada kullanılan çeşitler Türkiye’de tescil edilmiş ve yaygın olarak kullanılan standart aspir çeşitleridir. HB hatları üzerinde denenen 10 AFLP primer kombinasyonu ile toplam 439 bant ve HB hatları ve anaçlarda açılım gösteren 20 polimorfizm tespit edilmiştir (Çizelge 1). Polimorfizm oranı kullanılan tüm primer

kombinasyonları için % 4.5 olarak bulunmuştur.

Intraspesifik F_2 ve interspesifik BC_1 populasyonlarında toplam 1482 SSR ve RFLP markırı polimorfizm tespit etmek için kullanılmış ve F_2 ve BC_1 populasyonları için bulunan polimorfizm oranları sırası ile %8.2 ve %13.7 olarak bildirilmiştir (Mayerhofer et al., 2008). AFLP markır sistemi; RAPD, SSR ve RFLP sistemlerine göre çok daha fazla polimorfizm üreten bir markır sistemi (Milbourne et al., 1997; Belaj et al., 2003) olmasına karşın, HB hatlarında ürettiği polimorfizm oranı çok düşük kalmıştır ve bu durum HB hatlarını geliştirmek için kullanılan çeşitlerin birbirleri ile çok yakın akraba olduklarını göstermektedir. Çeşitler için yapılan bir çalışmada, gruplandırma analizinde anaç olarak kullanılan Dinçer 5-118 ve Remzibey 05 çeşitleri aynı grup içinde yer almışlar ve birbirleri ile yakın akraba olarak bulunmuşlardır (Tonguç ve ark., 2010).

RIL hatları melezlemeden sonra kendilenerek homozigotluğa ulaştırılmış hatlardır. Bundan dolayı bu hatlarda beklenen dağılım oranı 1:1 oranıdır (Burr and Burr, 1991). HB hatlarında üretilen polimorfizmlerin bu orana uyup uymadığı tespit etmek için χ^2 testi kullanılmıştır ve üretilen 9 polimorfizmin beklenen değerleri vermediği tespit edilmiştir (Çizelge 2). Mevcut çalışma bir ön deneme olduğu için sadece 16 hat kullanılmıştır ve bu sayı χ^2 testi için oldukça düşük bir sayıdır. Hat sayısının artırılması, yeni rekombinasyonların bulunması ile gözlenen sapmaların sayısını daha aşağıya çekecek ve polimorfizm gösteren markırların bir noktada gruplanmasını azaltacaktır.

Sonuç

Dinçer 5-118 ve Remzibey 05 çeşitlerinin melezlenmesi ile geliştirilen RIL popülasyonu çok düşük sayıda polimorfizm üretmiştir ve bu melezlemeden elde edilen hatlar haritalama popülasyonu olarak kullanılmaya uygun bulunmamıştır. Haritalama popülasyonu geliştirmek için genetik akrabalığı uzak olan genotipler arasında veya fertil döller veren türler arasında melezlemeler yaparak daha fazla polimorfizm yaratılma yolu seçilmelidir.

Teşekkür

Bu çalışmanın yapılabilmesi için gereken maddi desteği veren TÜBİTAK (Proje No:107O504) ve data analizinde yardımcı olan Dr. Anne Frary'e teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Alonso-Blanco, C., Koornneef, M., Stam, P. 2000. The Use of Recombinant Inbred Lines (RILs) for Genetic Mapping. In: Arabidopsis Protocols. (Ed. Martinez-Zapater, J., Salinas, J.), Humana Pres Inc., Totowa, NJ.
- Baydar, H. 2009. Tarla Bitkileri Ders Notu, SDÜ Ziraat Fakültesi Yayınları, Isparta.
- Baydar, H., Erbaş, S. 2007. Türkiye'de Yemeklik Yağ ve Biyodizel

Üretimine Uygun Aspir Islahı. 1.Ulusal Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Biyodizel Sempozyumu, 28-31 Mayıs, 2007, Samsun, 378-386.

- Baydar, H., Gökmen, O.Y. 2003. Hybrid Seed Production in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Following the Induction of Male Sterility by Gibberellic Acid. Plant Breed. 122: 459-461.
- Belaj, A., Satovic, Z., Cipriani, G., Baldoni, L., Testolin, R., Rallo, L., Trujillo, I. 2003. Comparative Study of the Discriminating Capacity of RAPD, AFLP and SSR Markers and of their Effectiveness in Establishing Genetic Relationships in Olive. Theor. Appl. Genet. 107: 736-744.
- Brugmans, B., Hutten, R.G.B., Rookmaker, A.N.O., Richard, G.F.V., Van Eck, H.J. 2006. Exploitation of a Marker Dense Linkage Map of Potato for Positional Cloning of a Wart Disease Resistance Gene. Theor. Appl. Genet. 112: 269-272.
- Burr, B., Burr, F.A. 1991. Recombinant Inbreds for Molecular Mapping in Maize: Theoretical and Practical Considerations. Trends Genet. 7: 55-60.
- Doyle, J., Doyle, J. 1990. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. Focus 12: 13-15.
- Erbaş, S., Baydar, H. 2009. Aspir (*Carthamus tinctorius* L.)'de Melezleme ve Seleksiyonla Elde Edilen Hatların Farklı Lokasyonlarda Verim ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. VIII. Tarla Bitkileri Kongresi, 19-22 Ekim, 2009, Hatay, 771-774.
- FAOSTAT Database, <http://www.fao.org> (erişim Ekim 2010).
- Goldman, D.H., Kansen, R.K., Van Den Berg, C., Leitch, I.J., Fay, M.F., Chase, M.V. 2004. Molecular and Cytological Examination of *Calopogon* (Orchidaceae, Epidendroideae): Circumscription, Phylogeny, Polyploidy, and Possible Hybrid Speciation. Am. J. Bot. 91: 707-723.

- İncirli, A., Akaya, M.S. 2001. Assesment of Genetic Relationships in Durum Wheat Cultivars Using AFLP Markers. *Genet. Res. Crop Evol.* 48: 233-238.
- Jeong, S.C., Kristipati, S., Hayes, A.J., Maughan, P.J., Noffsinger, S.L., Gunduz, I., Buss, G.R., Maroof, A.S. 2002. Genetic and Sequence Analysis of Markers Tightly Linked to the Soybean Mosaic Virus Resistance Gene *Rsv3*. *Crop Sci.* 42: 265-270.
- Kardolus, J.P., Van Eck, H.J., Van Den Berg, H.G. 1998. The Potential of AFLPs in Biosystematics: a First Application in *Solanum* Taxonomy (Solanaceae). *Plant Syst. Evol.* 210: 87-103.
- Knowles, P.K. 1980. Safflower. In: Hybridization of Crop Plants. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, pp. 535-548.
- Lander, E.S., Green, P., Abrahamson, J., Barlow, A., Daly, M.J. 1987. MAPMAKER: an Interactive Computer Package for Constructing Primary Genetic Linkage Maps of Experimental and Natural Populations. *Genomics* 1: 174-181.
- Mayerhofer, R., Bowles, V., Mayerhofer, M., Good, A.G. Genetic Linkage Maps of *Carthamus* Species Based on SSR and RFLP Markers. 7th International Safflower Conference, 2008, Wagga-Australia, 89-94.
- Milbourne, D., Meyer, R., Bradshaw, J.E., Baird, E., Bonar, N., Provan, J., Powell, W., Waug, R. 1997. Comparison of PCR-based Marker Systems for the Analysis of Genetic Relationships in Cultivated Potato. *Mol. Breed.* 3:127-136.
- Nybom, H. 2004. Comparison of Different Nuclear DNA Markers for Estimating Intraspecific Genetic Diversity in Plants. *Mol. Ecol.* 13: 1143-1155.
- O'Brien, S.J. 1993. Genetic Maps: Locus Maps of Complex Genomes. Cold Springs Harbor Laboratory, Cold Springs Harbor, N.Y.
- Pillen, K., Binder, A., Kreuzkam, B., Ramsay, L., Waugh, R., Forster, J., Leon, J. 2000. Mapping New EMBL-derived Barley Microsatellites and their Use in Differentiating German Barley Cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 101: 652-660.
- Tanksley, S.D., Young, N.D., Paterson, A.H., Bonierbale, M.W. 1989. RFLP Mapping in Plant Breeding: New Tool for an Old Science. *Bio/Technology.* 7: 257-264.
- Tonguç, M., Baydar, H., Karakurt, Y., Erbaş, S. 2010. Aspirde Genetik Çeşitliliğin Morfolojik ve Moleküler Yöntemlerle Karakterizasyonu ve İleri Hatlarda Genetik Harita Çıkarma İmkanlarının Araştırılması Sonuç Raporu. TÜBİTAK Proje No:107O504.
- TÜİK, <http://www.tuik.gov.tr> (erişim Ekim 2010).
- Van Der Voort, R., Zandvoort, P., Van Eck, H.J., Folkertsma, R.T., Hutten, R.C., Draaistra, J., Gommers, F.J., Jacobsen, E., Helder, J., Bakker, J. 1997. Use of Allele Specificity of Comigrating AFLP Markers to Align Genetic Maps from Different Potato Genotypes, *Mol. Gen. Genet.* 255: 438-447.
- Yuan, J., Njiti, V.N., Meksem, K., Iqbal, M.J., Triwitayakorn, K., Kassem, M.A., Davis, G.T., Schmidt M.E., Lightfoot, D.A. 2002. Quantitative Trait Loci in Two Soybean Recombinant Inbred Line Populations Segregating for Yield and Disease Resistance. *Crop Sci.* 42: 271-277.