



Review Article

Journal of Agricultural Biotechnology (JOINABT) 4(1), 11-17, 2023

Received: 18-May-2023 Accepted: 15-Jun-2023

<https://doi.org/10.58728/joinabt.1298964>



SAKARYA UNIVERSITY
OF APPLIED SCIENCES

Kavun Hastalıkları, Mücadele Yöntemleri ve Dayanıklılık Mekanizmalarında Kullanılan Moleküler Markırlar

Necibe Kayak^{1*} 

¹Bahçe Bitkileri, Ziraat Fakültesi, Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Türkiye

ÖZ

Kavun (*Cucumis melo*), dünyada ekonomik olarak yetiştiriciliği yapılan önemli türlerden biridir. Kavunda en önemli hastalıkların başındaki hastalık etmenleri *Fusarium* solgunluğu (FOM), kabak sarı mozaik virüsü (ZYMV), MNSV (Melon necrotic spot virüs), külleme (*Podosphaera xanthii*) olarak bilinmektedir. Bu hastalık etmenleri kavun üretim alanlarında önemli kayıplara neden olmaktadır. Kavun üretim alanlarında verim ve kalite kayıpların önüne geçilmesi için hastalığa dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi en etkili yöntemdir. Tek başına klasik ıslah programları uzun süreçler alması ve genetik açıdan kesin sonuçlar elde edilmemesinden dolayı ilgili genler için moleküler markırların geliştirilmesi ıslah programları için çok önemlidir. Yeni geliştirilen moleküler ıslah metodlarından DNA markırları PCR'a dayalı olmayan markırlar (RFLP) ve PCR'a dayalı markırlar (RAPD, SSR, AFLP, SRAP, SNP, CAPS vb.) şeklinde iki grupta sınıflandırılmaktadır. Günümüzde markırların çoğunluğu PCR'a dayalı markırlardır.

Anahtar Kelimeler: Kavun, moleküler ıslah, dayanıklılık ıslahı

Molecular Markers Used in Melon Diseases, Control Methods and Resistance Mechanisms

ABSTRACT

Melon (*Cucumis melo*) is one of the important species cultivated economically in the world. Disease agents at the beginning of the most important diseases in melon are known as *Fusarium* wilt (FOM), pumpkin yellow mosaic virus (ZYMV), MNSV (Melon necrotic spot virus), powdery mildew (*Podosphaera xanthii*). These disease agents cause significant losses in melon production areas. In order to prevent these losses, the most effective method is to develop disease-resistant varieties with breeding methods. Since classical breeding programs supported by molecular studies are faster and more effective, the development of molecular markers for related genes is very important for breeding programs. DNA markers from newly developed molecular breeding methods are classified in two groups as non-PCR-based markers (RFLP) and PCR-based markers (RAPD, SSR, AFLP, SRAP, SNP, CAPS, etc.). Today, the majority of markers are PCR-based markers.

Keywords: Melon, molecular markers, resistance breeding

^{1*}Sorumlu yazarın e-posta adresi: necibekayak@subu.edu.tr

1. Giriş

Kavun (*Cucumis melo* L.), *Cucurbitaceae* familyasına ait morfolojik çeşitliliği ve meyve yapısı bakımından yüksek polimorfizm gösteren ekonomik öneme sahip bir sebze türüdür [1, 2]. Dünya kavun üretim miktarı 28.617 milyon ton'dur (FAO, 2021) [3]. Dünya sıralamasında kavun üreten ülkelerde birinci sırada Çin (13.909 ton), ikinci sırada Türkiye (1.681 ton), üçüncü sırada Hindistan (1.423 ton) bulunmaktadır [3]. Türkiye kavunun sekonder gen merkezi olup, genetik kaynakları açısından da çok fazla çeşitliliğe sahip olduğu bildirilmiştir [4, 5, 6].

Geniş alanlarda yapılan kavun üretimlerinde, çeşitli sorunlar ile karşılaşmaktadır. Özellikle bu sorunların başında üretim alanlarını etkileyen hastalık etmenleri büyük miktarlarda verim ve kalite kayıplarına neden olmaktadır. Bu kayıpların en büyük nedeni virüs, bakteri, fungus ve nematodlardır. Kavunda en önemli hastalıkların başındaki hastalık etmeni kabak sarı mozaik virüsü (ZYMV), MNSV ve *Fusarium* solgunluğu, külleme (*Podosphaera xanthii*) olarak bilinmektedir.

Fusarium oxysporum f.sp. *melonis* (FOM), toprak kökenli bir fungustur. Risser, Banihashimi [7], *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (FOM)' un dört ırkını (0, 1, 2 ve 1.2) tanımlanmış ve bu ırklar iki dominant genle kontrol edilmektedir. Bitkide *Fusarium*'a dayanıklılık için bu iki genin de olması gerekmektedir. Yapılan bir çalışmada; kavun genotiplerinde DNA sekanslama çalışması sonucunda *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (Fom)'in 0 ve 2 numaralı ırklarına karşı FOM-1 geninin dayanıklı olduğu bildirilmiştir [8]. Yapılan başka bir çalışmada; kavunda genom sekanslama yöntemiyle *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (Fom) 'in ırklarına karşı dirençli genler belirlenmeye çalışılmış ve Fom'ın 0 ve 1 numaralı ırklarına karşı Fom-2 geninin dirençli olduğu ortaya çıkarılmıştır [9]. Patojen, kavun yetiştiriciliği yapılan ülkelerde ciddi ürün ve kalite kayıplarına neden olmaktadır. Toprak kökenli bu patojen ile mücadelede toprak fumigasyonu ile hastalığın etkinliği kontrol altına alınabilmektedir. Ancak bu yöntem oldukça pahalı ve çevreye olumsuz etkileri olmaktadır [8]. Toprak kökenli bu patojen ile mücadelede en etkili yol dayanıklı çeşit kullanmaktır.

Dünya kavun üretiminde ciddi zararları olan en büyük viral grup Zucchini Yellow Mosaic Virüsü (ZYMV) olup yüksek verim kayıplarına yol açmaktadır [10]. Enfekteli bitkilerde, meyvelerde deformasyon ve renk değişiklikleri kavunları pazarlanamaz hale getirmektedir. Pitrat Lecoq [11] yaptıkları çalışmada ZYMV dirençliliğini tek genle kontrol edildiğini rapor etmiş ancak Danin-Poleg, Tadmor [12] dirençliliğin 3 dominant genle (Zym-1, Zym-2, ve Zym-3) kontrol edildiğini çalışmalarında belirlemiştir [13]. Direncin ifadesi için üç dominant genin var olması gereklidir ve dominant alellerden herhangi birinin olmaması, duyarlılıkla sonuçlanacaktır. Kavunda ZYMV dirençleri genetik harita çalışmalarında belirtilmiş olsa da, ZYMV direnci kavun lokusları arasındaki genetik ilişkiler bilinmemektedir.

MNSV (Melon necrotic spot virüsü), Tombusviridae ailesindeki *Carmovirus* cinsine aittir ve yapraklarda sistemik nekrotik lekeler ve kavun, hıyar ve karpuzun saplarında izlere ve ayrıca zaman zaman bitki çökmesine neden olmaktadır [14]. Etmen *Cucurbitacea* familyasıyla sınırlı az sayıda konukçu dizisine sahip olmakla beraber tohumla ve toprak kökenli bir mantar olan *Olpidium borovanus* ile taşınmaktadır [15, 16]. MNSV genomu, en az beş farklı proteini kodlayan 4.3 kb'lik tek sarmallı bir RNA molekülüdür [17]. MNSV' nin tek bir resesif direnç geniyle (nsv) kontrol edildiğini belirtmişlerdir [18]. Çoğu bitki virüsünde olduğu gibi, MNSV sistematik olarak floem dokusu yoluyla kavun bitkilerinde yayılmaktadır [19].

Kabakgillerde en fazla görülen hastalıklardan birisi de küllemedir. Külleleme iki fungus sebep olmaktadır; *Podosphaera xanthii* ve *Golovinomyces cichoracearum*. Fungus besinlerini özel

organlarıyla (haustorium) konukçu bitkinin hücrelerinden karşılar. Bu nedenle bitkilerde verim ve kalite kayıpları meydana gelir. Kalıtım çalışmalarında küllemenin genellikle monogenik baskın genle (R direnç genleri) kontrol edildiği fakat resesif genlerinde hastalık üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir. Bugüne kadar kavunda *P. xanthii*'nin 5 ırkı (0, 1, 2, 3 ve 5), *G. cichoracearum*' un 2 ırkı (0 ve1) tespit edilmiştir. Küllemede hastalığı kontrol altına almak için kullanılan en belirgin yöntemlerden birisi kimyasal uygulamasıdır. Ancak kimyasal ilaç kullanımı hem maliyetli hem de zaman kaybına neden olmaktadır. Bu nedenle çevreye uyumlu, ekonomik ve daha etkili bir yol olan dayanıklı çeşitler kullanılmalıdır.

Günümüzde kavunda klasik ıslah metotları ile birçok yeni çeşit geliştirilmiştir ancak hastalık ve zararlılara dayanıklılığın iyileştirilmesi konusunda çalışmaların devam etmesi gerekmektedir [20]. Hastalık ve zararlı etmenlerin kontrolünde en etkin yöntem dayanıklı çeşitlerin ıslah edilmesi ve üretimde kullanılmasıdır. Dünyada hastalık ve zararın önlenmesi amacıyla her yıl tonlarca pestisit kullanılmaktadır [7]. Pestisit kullanılmaksızın üretim yapılması halinde, üretim miktarında %60 hatta %100 kayıp olabilmektedir. Dünyada tarım ilacı üretimi 3 milyon ton, yıllık satış tutarı ise 25-30 milyar \$ arasında değişmektedir. Türkiye'de 2019 yılında 51.297 ton tarım ilacı kullanılmıştır.

1.1. Tarım İlacı Kullanımın Zararları

Hastalık ve yabancı otlara karşı uygulanan ilaçlamalarda pestisitinin %0.015-%6'sı hedef canlı üzerine ulaşmakta ve yeterli etki alınmakta, geri kalan %94-99.9'luk kısım ise ekosistemde hedef olmayan organizmalara ve toprağa ulaşmakta ya da çevredeki doğal ekosistemlere kimyasal kirleticiler olarak karışmaktadır [21].

Tarım ilacı kullanımının getirdiği bu sorunlar araştırmacıları farklı savaşım yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiği noktasına getirmiştir.

Biyolojik mücadele terimi, "zararlı popülasyonları doğal düşmanları vasıtasıyla baskı altına alma ve düzenleme" şeklinde tanımlanmaktadır [22]. Biyolojik savaş doğada kendiliğinden işleyen bir sistemdir. Biyolojik savaş, hastalık etmenleriyle antagonistik organizmalar arasındaki etkileşimin bir ürünü olarak ortaya çıkar. Yarışma yani rekabet yoluyla biyolojik savaşta, bir ortamda patojen ve antagonistik organizma aynı faktöre gereksinim duyar ve bu faktör de sınırlı bulunursa burada bir rekabet ortamı doğar.

Biyolojik mücadelede kullanılan biyotik ve abiyotik faktörler;

- Doğal düşmanlar,
- Besin,
- Tür içi rekabet,
- Türler arası rekabet (diğer doğal düşmanlar),
- İklim ve diğer fiziksel faktörler ve
- Yer ve yaşam alanı istekleri.

Dayanıklı çeşit kullanımı sadece verim ve kalitenin artışını değil, aynı zamanda kimyasal kullanımını da azaltmaktadır.

1.2. Dayanıklılık Islahı

Dayanıklılık ıslahının amacı; üzerinde çalışılan hastalık veya zararlı etmene karşı dayanıklılığı sağlayan gen veya genleri belirlemek, bunları ıslah programında kullanarak dayanıklı bireyler elde etmektir.

Dayanıklılık ıslah programlarında en büyük sorun ebeveynlerin melezlenmeleri sonucu elde edilen dayanıklı bireylerin belirlenmesidir. Klasik ıslah programlarında elde edilen bitkilerin dayanıklılıkları patojenite testleriyle ortaya çıkarılmaktadır. Bu uygulamalar zaman almakta, fazla iş gücü gerektirmekte ve oldukça güç olmaktadır. Bitki ıslah çalışmalarında melezlemeler yoluyla genetik işlemlerin ve seleksiyonun etkinliği artırılmaya çalışılmaktadır. Fakat bunlar da çok uzun zaman alan, zahmetli ve yüksek maliyetli işlemlerdir. Günümüzde ise klasik bitki ıslahı programlarını tamamlayan ve destekleyen yeni moleküler ve biyoteknolojik yöntemler geliştirilmiştir.

Moleküler seleksiyon için kullanılan moleküler markırlar, çevresel koşullardan etkilenmez, her zaman her koşulda stabil olup, farklılık göstermezler. Moleküler markırlar, dominant veya kodominant özellikte olabilirler ve kalıtları basit ilkelere dayanmaktadır. Özellikle çevresel koşullardan çok etkilenen dolayısıyla fenotipik olarak gözlenmeleri zor olan karakterlerin seleksiyonunda son derece başarılı olup, doğru bir şekilde seçilmelerine olanak tanır. Moleküler markırlar ile direnç geni mevcut olmayan hassas çeşitlerin ıslahının kolaylaştırması beklenmektedir.

2. Kavunda Hastalık Dayanım Mekanizmasında Kullanılan Moleküler Markır Sistemleri

Moleküler markırlar, canlı genomunda rastgele bir gen bölgesi ya da belirli bir gen bölgesi ile ilişkili DNA parçası olarak adlandırılmaktadır [23]. Polimeraz zincir reaksiyonundan (PCR) sonra birçok morfolojik markır insan, hayvan ve bitki genetik çalışmalarında kullanılmaktadır. Kavunda kullanılan yöntemler belirli amaca yöneliktir bunlar; bitki gen kaynaklarının taranması, bitkiler arasındaki genetik mesafelerin belirlenmesi, çeşit ve hibrit bitki tanısı, genetik düzeyde çeşit saflığının belirlenmesi ve hastalık zararlılara dayanıklılıktır.

Dayanıklılık ıslahının en büyük amacı hastalık ve zararlıya karşı dayanıklılığı sağlayan gen veya genleri belirlemek ve bu genlere sahip olan dayanıklı bireyleri elde etmektir. Islah programında en büyük zorluk hassas ve dayanıklı ebeveynlerin melezlenmesi sonucu elde edilen dayanıklı bireylerin belirlenmesidir. Bu bireylerin belirlenmesi için kullanılan en uygun yöntemlerden birisi markır destekli seleksiyondur. Dayanıklılığı sağlayan genleri taşıyan bireylerin markır kullanarak belirlemek mümkün olmaktadır. DNA markırları PCR'a dayalı olmayan markırlar (RFLP) ve PCR'a dayalı markırlar (RAPD, ISSR; SSR, AFLP, SRAP, SNP, CAPS, vb.) şeklinde iki grupta sınıflandırılmaktadır. Günümüzde markırların çoğunluğu PCR'a dayalı markırlardır.

Markırların bir diğerine göre tercih edilmelerinde, ulaşılabilirliği, uygulama tekniğinin basit olması, çalışılacak olan popülasyonda öngörülen polimorfizm düzeyi, DNA miktar ve kalitesinin uygun olması, markır kalıtımı (dominant-kodominant) ve popülasyonda araştırılan genetik bilginin tipidir [24].

Çizelge 1: Yaygın olarak kullanılan bazı markır sistemlerinin özellikleri [25].

Markır Sistemi	PCR Gereksinimi	Polimorfizm Seviyesi	Dominantlık Durumu	Maliyet	Dizilenme Gereksinimi	Referans
RAPD	Evet	Çok Yüksek	Dominant	Düşük	Yok	[26]
RFLP	Hayır	Orta	Kodominant	Yüksek	Evet	[27]
AFLP	Evet	Yüksek	Dominant	Yüksek	Yok	[28]
SSR	Evet	Yüksek	Kodominant	Yüksek	Evet	[29]
ISSR	Evet	Yüksek	Dominant	Yüksek	Yok	[30]
SNP	Evet	Yüksek	Kodominant	Değişken	Evet	[31]
CAPS	Evet	Yüksek	Kodominant	Düşük	Evet	[32]

Ülkemizde kavun ıslahında tek genle veya majör genlerle idame edilen hastalıklara karşı markır yardımcı seleksiyon özel sektör tohum şirketleri ve kamu kuruluşları tarafından etkili bir şekilde kullanılmaktadır. MAS özellikle farklı hastalıklara karşı dayanıklılık genlerinin bir ıslah hattında veya çeşitte toplanması için oldukça etkili bir yöntemdir.

3. Sonuç

Dayanıklılık ıslahında markır destekli seleksiyon tekniğinin başta kavun olmak üzere *Cucurbitaceae* familyasında kullanım alanı oldukça fazladır. Bu teknik oldukça hızlı, etkin ve ekonomik bir seleksiyon yöntemidir. Tek başına klasik ıslah metodlarının yerine geçebilecek bir yöntem değil, ıslahın başarısını arttırmak için yardımcı olarak kullanılan bir tekniktir.

Hastalıklara karşı dayanıklılıkta fonksiyonel genomik bilgilerin etkin bir şekilde uygulanması, bitkide meydana gelen diğer moleküler işlevler anlaşılmasına da yardımcı olacaktır. Bu işlevlerin iyi anlaşılması ve farklı uygulamaların kombinasyonları oluşturularak kullanılması ile dayanıklı çeşit geliştirilmesine ve bitkilerde dayanıklılığa önemli katkılar sağlanabilecektir.

4. Beyanname

4.1. Yazarların Katkıları

Bu çalışma tek yazar tarafından yazıldığı için yazar katkı payı %100'dür.

Kaynakça

- [1] Fanourakis, N., Tsekoura Z., and Nanou, E. (2000). Morphological characteristics and powdery mildew resistance of *Cucumis melo* landraces in Greece. *Acta Horticulturae*, 510:241, 245
- [2] Soltani, F., Akashi, Y., Kashi, A., Zamani, Z., Mostofi, Y., and Kato, K. (2010). Characterization of Iranian melon landraces of *Cucumis melo* L. Groups Flexuosus and Dudaim by analysis of morphological characters and random amplified polymorphic DNA. *Breeding Science*, 60:34-45.
- [3] FAO. (2023): FAO, Statistic Database 2023. [cited 2022 <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>].
- [4] Sarı, N. and Solmaz, İ., (2007). Fruit characterization of some Turkish melon genotypes, *Acta Horticulturae*, 731, 103-107.
- [5] Şensoy, S., Büyükalaca, S., and Abak, K., (2007). Evaluation of genetic diversity in Turkish melons (*Cucumis melo* L.) based on phenotypic characters and RAPD markers., *Genet. Resour. Crop Evol.* 54: 1351-1365, 54 (6), 1351-1365
- [6] Pitrat, M., Chauvet, M., and Foury, C., 1999. Diversity, History and Production of Cultivated Cucurbits. Proc. 1st Int. Symp. on Cucurbits

- [7] Risser, G., Banihashimi, Z., and Davis, D., (1976). A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* races and resistance genes in *Cucumis melo*, *Phytopathology*, 66:1105-1106.
- [8] Oumouloud, A., Otmani, M.E., and Alvarez, J.M. (2015). Molecular characterization of Fom-1 gene and development of functional markers for molecular breeding of resistance to Fusarium race 2 in melon, *Euphytica*.
- [9] Schmidt, S.M., Lukasiewicz, J., Farrer, R., Dam, P.v., Bertoldo, C., and Rep, M., (2016). Comparative genomics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* reveals the secreted protein recognized by the Fom-2 resistance gene in melon, Europe PMC Funders Group, 209, 307-318.
- [10] Mandoulakani, B.A., Rahmanpour, S., Shaaf, S., Khoei, S.G., Rastgou, M., and Rafezi, R., (2015). Towards the identification of retrotransposon-based and ISSR molecular markers associated with populations resistant to ZYMV in melon. *South African Journal of Botany*, 100, 141-147.
- [11] Pitrat, M. and Lecoq, H., (1984). Inheritance of zucchini yellow mosaic virus resistance in *Cucumis melo* L., *Euphytica* 33, 57-61.
- [12] Danin-Poleg, Y., Tadmor, Y., Tzuri, G., Reis, N., Hirschberg, J., and Katzir, N., (2002). Construction of a genetic map of melon with molecular markers and horticultural traits, and localization of genes associated with ZYMV resistance. *Euphytica*, 125, 373-384.
- [13] Danin-Poleg, H.S.P. Y, S. Cohen, H.D. Rabinowitch, and Z. Karchi, (1997). Oligogenic inheritance of resistance to zucchini yellow mosaic virus in melons. *Euphytica* 93, 331-337.
- [14] Hibi, T. and Furuki, I., (1985). Melon necrotic spot virüs. CMI/AAB descriptions of plant viruses, 302. *CMI/AAB Descriptions of plant viruses. Warwick, UK: Association of Applied Biologists.*
- [15] Compbell, R.N., (1996). Fungal transmission of plant viruses, *Annu.Rev. Phytopathol*, 34:87-108
- [16] Hibi, T. and Furuki, I., (1985). Melon necrotic spot virüs. CMI/AAB descriptions of plant viruses, 302. *CMI/AAB Descriptions of plant viruses. Warwick, UK: Association of Applied Biologists.*
- [17] Genovés, A., Navarro, J., and Pallás, V.J., (2006). Functional analysis of the five melon necrotic spot virus genome-encoded proteins, *Gen Virol*, 87(Pt 8) 2371-238, doi: 10.1099/vir.0.81793-0
- [18] Nieto, C., Morales, M., Orjeda, G., Clepet, C., Monfort, A., Sturbois, B., Puigdomenech, P., Pitrat, M., Caboche, M., Dogimont, C., Garcia-Mas, J., Aranda, M.A. and Bendahmane, A., (2006). An eIF4E allele confers resistance to an uncapped and non-polyadenylated RNA virus in melon, *Plant Journal*, 48(3), 452-6.
- [19] Gosálvez-Bernal B., Genoves A., Navarro JA., Pallas V., and S.-P. MA, (2008). Distribution and pathway for phloem-dependent movement of Melon necrotic spot virus in melon plants. *Mol Plant Pathol*, 9(4):447-61.
- [20] Levi, A., Thomas, C.E., Keinath, A.P., and Wehner, T.C., (2001). Genetic diversity among watermelon (*Citrullus lanatus* and *Citrullus colocynthis*) accessions, *Genet. Resour. Crop. Evol*, 48: 559-566.
- [21] Yıldız, M., Gürkan, M.O., Turgut, C., Kaya, Ü., Ünal, G., (2014). Tarımsal savaşımında kullanılan pestisitlerin yol açtığı çevre sorunları, *ReserchGate*.
- [22] Uygun, N., Ulusoy, M.R., ve Tatar, S., (2010). Biyolojik mücadele. *Türk. biyolojik mücadele dergisi* 1(1), 1-14.
- [23] Yağcıoğlu, M., 2018. Hıyarda (*Cucumis Sativus* L.) Tohum iriliği ile düşük sıcaklıkta çimlenme yeteneğinin karşılıklı melezleme ve genomik bağlantı analizleriyle QTL haritalanması (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Sayfa sayısı!
- [24] Semagn, K., Bjørnstad, Å., and Ndjiondjop, M., (2006). An overview of molecular marker methods for plants. *African journal of biotechnology*, 5(25).

- [25] Kayak, N., 2022. Kırkağaç ve Hasanbey tipi kavunlarda Fom (*Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*) ve ZYMV (*Zucchini Yellow Mosaic* Virüs) dayanımlı ıslah hatlarının eldesi (Doktora Tezi). Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Bölümü. Sayfa sayısı!
- [26] Zhuang, F., Chen, J., Staub, J., and Qian, C., (2004). Assessment of genetic relationships among *Cucumis* spp. by ssr and rapd marker analysis. *Plant Breeding*, 123(2), 167-172.
- [27] BaudraccoArnas, S. and Pitrat, M., (1996). A genetic map of melon (*Cucumis melo* L) with RFLP, RAPD, isozyme, disease resistance and morphological markers, *Theoretical and Applied Genetics*, 93, 57-64.
- [28] Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijnhabs, M., Lee, Theo van de, Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., and Zabeau, M., (1995). AFLP: A New Technique for DNA Fingerprinting, *Nucleic Acid Res.*, 21, 4407-4414.
- [29] Robinson, A.J., Love, C.G., Batley, J., Barker, G., and Edwards, D., (2004). Simple sequence repeat marker loci discovery using SSR primer. *Bioinformatics*, 20, 1475-1476.
- [30] Godwin, I.D., Aitken, E.A.B., and Smith, L. W., (1997). Application of Inter Simple Sequence Repeat (Issr) Markers to Plant Genetics, *Electrophoresis*, 18, 1524-1528.
- [31] Twyman, R.M., (2005). Single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping techniques an overview, *Encyclopedia of Diagnostic Genomics and Proteomics*. New York, USA: Marcel Dekker, Inc, 1202-1207.
- [32] Konieczny, A. and Ausubel, F.M., (1993). A procedure for mapping Arabidopsis mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers, *The plant journal*, 4, 403-410.



© 2020 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).