

## Asmada Moleküler Tanımlama Teknikleri

Burçak İŞÇİ<sup>1</sup>

Ahmet ALTINDIŞLI<sup>2</sup>

Geliş tarihi: 10.03.2005

Kabul edilmiş tarihi: 20.06.2005

**Öz:** Bu derlemede, asmada biyoteknolojik yöntemler ve bazı önemli teknikler özetlenmiştir. Biyoteknolojinin bağcılıkta uygulanmaya başlamasıyla çevre koşullarından tamamen bağımsız, doğrudan genetik materyalin okunması ile doğru adlandırmalar yapılabilmektedir. Materyalin isminin doğru olması bilimsel çalışmalarda önemli olduğu gibi, ticarete ve patent almada önemli avantajlar getirmektedir. Biyoteknolojinin yarattığı olanakların asma ıslahında kullanılmaya başlanması ile birlikte günümüzde ıslah kavramı önemli bir değişim süreci içindedir. Özellikle, biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılık ıslahının genetik mekanizmaları üzerinde önemli çalışmalar yapılmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Biyoteknoloji, moleküller markörler, asma ıslahı.

### Moleculer Identification Techniques in *Vitis vinifera*

**Abstract:** Methods and some important techniques of biotechnology in *Vitis* were summarized in this review. Since the start of biotechnology in viticulture, true identification, which is independent from environmental conditions, could be possible through the direct study of genetic material. Correct identification of grape varieties is important in scientific studies and it has also great advantage in commerce and patent purposes. The breeding concept in viticulture has been undergoing important changes along with the use of biotechnology. Especially, there are significant studies on the mechanisms of resistance to biotic and abiotic stress conditions.

**Key words:** Biotechnology, moleculer markers, grape breeding

### Giriş

Asma, kültürü yapılan ilk meyve türlerinden birisidir. Çok zengin genetik çeşitliliğe sahip bu türde dünyada yetiştiriciliği yapılan 30,000 kadar çeşit ismi bilinmekle birlikte yalnızca 15,000 civarında genotipin varlığından söz edilmektedir. (Alleweldt, 1988). Kültürü

<sup>1</sup> Araş Gör., E.Ü.Z.F. Bahçe Bitkileri Bölümü, 35100 Bornova-İzmir, burcak@ziraat.ege.edu.tr

<sup>2</sup> Doç. Dr., E.Ü.Z.F. Bahçe Bitkileri Bölümü, 35100 Bornova-İzmir

yapılan bitki türleri içinde asmalarda, “çeşit” adı altında ciddi bir karmaşa yaşanmaktadır.

Sürekli değişen tüketici istekleri, farklı yetiştirme teknikleri, ekolojilere uygun yeni çeşit ve anaçlara gereksinim, biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı dayanıklı, verim ve kalitesi yüksek çeşit ve anaçlara olan talep, ıslahçıları, istenilen özelliklere sahip yeni genotipleri elde etmeye, ya da var olan çeşitlere bazı özellikler kazandırmaya yönelmektedir. Genetik kaynaklara sahip olma ve bu materyalin ismine doğruluğunun bilinmesi, ıslah çalışmalarında ve özellikle son yıllarda ülkeler arası ticarete büyük prestij sağlamaktadır. Bu bağlamda bir ülkenin kendi yerel çeşitlerinin uluslararası düzeyde korunabilmesi amacıyla patentlenmesi büyük önem kazanmaktadır. Ülkemizin sahip olduğu bitki gen kaynakları, çevresel ve diğer baskılarla genetik erozyona uğramakta ve yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalmaktadır. Bu kaynakların kaybolmadan günümüzdeki ve gelecekteki araştırmalarda kullanımına hazır bir şekilde saklanması gerekmektedir. Bu sebeple, günümüzde, bitki ıslahı, gen kaynakların korunması ve patentleme konularında moleküller yöntemlerinin devreye girmesiyle birlikte, bu konular biyoteknolojik boyut kazanmıştır.

Asma tür ve çeşitlerinin tanımlanması, böylece gen potansiyelinin belirlenmesi, korunması ve değerlendirilmesine yönelik olarak asmanın botanik özelliklerinin incelenme esasına dayanan sistematik çalışmaların en başında ampelografik çalışmalar yer almaktadır. Ampelografi terimi ilk olarak 1661 ‘de F.L.Sachs tarafından “Ampelographia” adlı eserinde kullanılmıştır (Kara, 1990). Kişisel değerlendirmelerin göreceli olması, çevre koşulları, hastalık ve zararlılar veya kültürel uygulamaların etkisiyle asmanın yalnızca dış görünümünde veya ölçülebilir karakterlerinde meydana gelen değişiklikler sebebiyle çoğu kez çeşitlerin ayırımında zorluklar yaşanmaktadır. Bu karmaşayı ortadan kaldırmak ve genetik olarak çeşitler arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla, çiçektozu özelliklerinin mikroskobik olarak incelenmesi (Ahmedullah, 1986), çiçektozu duvarının protein kompozisyonunun analizi (Bertnatzky, et al., 1989; Tadesco, et al., 1989) ve izoenzim analizleri (Schwennesen, et al., 1982; Marasalı, 1995) gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır. Asma bitkisinde türler arasında sitogenetik ve morfolojik özellikleri geleneksel yöntemlerle tanımlamak kolay olmakla birlikte, özellikle tür içi tanımlamalarda bu yöntemlerde yetersiz kalmaktadır, Tüm bu yöntemlerde sıcaklık, stres koşulları, hastalıklar gibi dış koşullardan

etkilenmektedir, bu nedenle asma gen kaynaklarının belirlenmesi ve ismine doğruluğunun araştırılmasında klasik ve modern anlamdaki ampelografik çalışmalar yetersiz kalabilmektedir.

Asmanın tanımlanmasında kullanılan geleneksel yöntemlerde karşılaşılan tüm bu olumsuzlukları gideren, kişisel yorumlardan ve çevre koşullarından etkilenmeyen, içsel kökenli karakterlerin incelenmesi yoluna gidilerek, DNA'nın analizini esas alan moleküller tanımlama teknikleri, tekrarlanabilir olma özellikleri nedeniyle son yıllarda tanımlamalarda yoğun bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır.

“DNA parmak izi (DNA fingerprint)”adı altında toplanan RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) ve SSR (Simple Sequence Repeat Polymorphism) teknikleriyle çeşitlerin ve aynı çeşit içerisindeki eko tipler, mutant tipler gibi alt grupların tanımlanmaları üzerinde yoğun olarak çalışılmaktadır (Bowers, 1990; Meredith, ve ark., 1994). CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences), ISSR (Basit Dizi Arası Tekrarlar) asmalarda haritalama çalışmalarında kullanılmaktadır. Son yıllarda ise “DNA Microarray” adı verilen teknoloji ile, aynı anda binlerce genin birbirleriyle olan ilişkisini öğrenebilme imkanı sağlanarak mutasyon ve polimorfizm tespiti gibi pek çok konuda geniş araştırmalar yapılmaktadır (Yurter, 2002).

#### **Asmada moleküller Tanımlamada Kullanılan Markör Sistemler**

Asmada çeşit tanımlaması ve genetik benzerliklerin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda öncelikli olarak izoenzimlerin kullanıldığını görmekteyiz. Asma yapraklarındaki peroksidaz izoenzimlerinin çeşitlere göre farklılık gösterdiği Schaefer ve Wolfe tarafından belirlenmiştir, Blaich'ın floem dokusundaki peroksidaz bantlarından da çeşit teşhisinde yararlanıldığı ifade etmektedir (Uzun, 1996). Hızlı ve pahalı olmayan bu tekniğin kullanımı, sınırlı düzeyde polimorfik bant eldesi, genetik çalışmalar için oldukça az sayıda lokus ve allellerin varlığı, her bir izoenzim markörü için ayrı bir boyama işleminin zorunluluğu gibi dezavantajlardan dolayı bu moleküller markörün kullanımı oldukça sınırlı kalmıştır (Cagnello et al. 1998).

Günümüzde tanımlamalarda izoenzim markörlerden daha başarılı sonuç veren yeni markör sistemler uygulanmaya başlamıştır. Tüm bu yeni teknikler için gerekli olan DNA, asmanın sürgün ucu, genç yapraklar ve bir yaşlı dallarından izole edilebilmektedir. Tane ve şıra örneklerinde bile DNA ekstraksiyon teknikleri geliştirilmiş ve

şarap endüstrisinde karşılaşılan sorunların çözümüne yönelik çalışmalarda kullanımları yoğunluk kazanmıştır. Bu durum, çalışmaların asmanın tüm vejetasyon dönemi gerçekleştirilebilmesine olanak sağlamaktadır.

RFLP (Restricted Fragment Length Polymorphism) markörler olarak adlandırılan; kesilmiş parça uzunluğu polimorfizmi tekniğinde restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesilen genom DNA parçalarının (fragmentlerinin) agaroz jel elektroforezi ile ayrılarak, "southern blot" tekniği ile uygun membrana aktarılması ve radyoaktif bir prob ile hibridizasyonun yapılarak bitki tür ve çeşidine özgü restriksiyon parçalarının belirlenmesi, yöntemin başlıca aşamalarını oluşturmaktadır. Kalıtımda kodominant olan RFLP, asmalarda türler, *Vitis vinifera* L. türüne ait çeşit ve anaçların genetik benzerliklerinin ortaya çıkarılmasında başarı ile kullanılır. Özellikle anaçlar arasındaki çalışmalarda izoenzim analizlerine oranla daha hızlı ve daha doğru sonuçlar alınmaktadır (Guerra and Meredith 1995). Hibrit analizi bağlantı gruplarının oluşturulması ve genom haritalaması gibi konularda kullanılmasına rağmen çok pahalı ve yoğun işgücü gerektiren bir teknik olması ve çoğunlukla cDNA problemleri olması nedeniyle genomda kodlama bölgelerinin sınırlı kalması ve radyoaktivite kullanma zorunluluğu sebepleriyle yöntemin kullanım alanı sınırlıdır.

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markörler bütün PCR temel markörlerin en basitidir. 300 ile 2000 baz çifti (bp) uzunluğu arasındaki rastgele genom parçaları, rastgele dizinin tek oligonükleotid primeri kullanılarak uygulanır. Tekniğin uygulanmasındaki esas prensibi; uygun bir optimizasyon koşulu tespit edip bu koşullarda çalışan uygun primerleri seçmektir. Sonuç değerlendirmelerinde ise çoğaltımı iyi gerçekleştirmiş bantlar değerlendirilmektedir. Bu aşamada, kuvvetli bantlar seçilir, zayıf bantlar değerlendirme dışı bırakılır. RAPD markörlerin pratik sonucu olan çoğaltım ürünlerinin (bantlarının) ve bunların farklı kaynaklı DNA'lardaki polimorfizm oranlarının ortaya çıkışı bir çok faktöre bağlıdır; bu faktörler kısaca, primer bağlanma bölgelerinin moleküller yapısı, uygun PCR döngülerin oluşturulması, amplifikasyon koşullarının düzenlenmesi, primer dizilerinin belirlenmesi olarak sıralanabilir. Kalıtımda dominant karakterde olmakla birlikte yüksek düzeyde polimorfik bant elde edilebilmesi, RFLP' ye göre daha ucuz, hızlı bir teknik olması , radyoaktivite gerektirmemesi, çok az bir miktarda DNA ile gerçekleştirilebilmesi gibi özelliklerinden dolayı

özellikle gen haritalarının çıkarılmasında çok yaygın bir şekilde kullanılır (Grattapaglia et al., 1992; Paran, and Michelmore, 1993; Hemmat, et al., 1994; Malyshev and Kartel, 1997). Grando ve arkadaşları 1995 yılında bazı *Vitis vinifera* çeşitleri ve *Vitis vinifera* ssp. *Silvestris* arasında 44 RAPD primeri kullanarak yaptığı çalışma sonucunda incelediği bant profillerinden *vitis vinifera* çeşitlerinde bazı karakterlerin ayrımı konusunda yöntemin etkin olduğunu belirtmektedir.

RAPD bir lokustaki sadece 1 allelin varlığını tespit etmesi sebebiyle dominant markör olarak tanımlanır ve heterozigot lokusun tespitinde kullanılmaz. Bilgiyi elde etmedeki hızlı adımı, diğer çalışmalarda olduğu kadar türler arası melezleme, gen aktarma, klonların sınıflandırılması, cinsiyet belirlenmesi ve genetik çeşitlilik ölçülerine bağlanması çalışmalarında kullanılır. Teknikteki sakıncalar RAPD markörlerin, uzaktan akraba bireyler arasında genetik uzaklıkları eksik değerlendirmesi ve farklı laboratuvar koşullarında aynı sonuçların tekrarlanması şeklinde elde edilmemesidir. Wolfe ve ark., 1998, aynı örnekler ve aynı primerlerle üç farklı laboratuvarda farklı sonuçlar alındığını bu farklılığın laboratuvarlar arası amplifikasyon koşullarından kaynaklandığını belirtmektedirler.

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism); kesimleme enzimleri ile kesilmiş DNA parçalarının selektif amplifikasyonuna dayanmaktadır. Genomik DNA, birisi altı, diğeri dört taban tanıyan iki kesim enzimi tarafından kesilir. Kesilen parçaların uçlarına nükleotid dizilişi sentetik olan DNA'nın nükleotid dizilişini de taşıyan başlatıcı DNA'lar kullanılır. Çoğaltmanın ilk aşamasında, her iki uçtan DNA kesim enzimlerinin tanıdığı diziden sonraki ilk nükleotide göre seçici çoğaltımın yapıldığı ön üretim yapılır. Bütün başlatıcılar sentetik uçların nükleotid dizilişini de taşıdığı için üretim oldukça spesifik şartlarda yapılmış olur (Zabeau, 1993). Genellikle primerler P<sup>33</sup>, P<sup>32</sup> radyoaktifleriyle işaretlenir, tekrar edilebilirliği ve polimorfizm oranı yüksektir. Primer bağlanmaları RAPD tekniğinde olduğu gibi tesadüfi olmayıp; RAPD ve RFLP tekniklerinin kombinasyonu olan bir uygulamadır. Üretilen parçacıklar bir baz uzunluğu değişikliğini bile ayırt etme özelliğinde olan poliakrilamid jel üzerinde hareket ettirilerek genotipler arasındaki ayrımı gösteren parçacıklar tespit edilir (Andersen, 2000).

Ergül ve arkadaşlarının 2001 yılında Kalecik karası üzüm çeşidinin 19 klonunda olası farklılık ve benzerlikleri araştırmışlardır. AFLP tekniğiyle yaptıkları çalışmada, klonlar arası tanımlama ve

ayrımı iki farklı enzim sistemine ait 6 primer kombinasyonu kullanarak uygulamış ve 3 selektif primerde klonal polimorfizme ulaştıklarını kaydetmişlerdir. Bu teknik, asma tür, anaç ve çeşitlerine ait genetik ilişkilerin ortaya çıkarılması, ebeveyn tayini, ekotip ve klonal polimorfizmin belirlenmesi ve genetik haritalama çalışmalarında kullanılmaktadır. Heterozigot ve homozigot genotiplerin birbirinden ayrılması bantların yoğunluğuna bağlı olarak yapılabilmektedir.

CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences), kesilmiş çoğaltılmış polimorfik diziler olup PCR ürünlerinin kesilmesi ile oluşturulmuş DNA parçalarının uzunluğundaki değişimlerle saptanan genetik varyasyondur. CAPS markörler, kodominant markörler olup, asmalarda haritalama çalışmalarında kullanılmaktadır. *Vitis vinifera* L. türüne ait çeşitler ile anaçların genetik benzerlik ve genom haritalaması gibi konularda kullanılmaktadır.

ISSR (Basit dizi arası tekrarlar) PCR sırasında mikrosatellitlere bağlanan primerlerin, iki primer arasındaki DNA parçasının amplifike edildiği bir tekniktir. Polimorfizm sabit nükleotiddeki değişiklikler nedeniyle çoğunlukla dominant tiptedir. Ökaryotik organizmalarda bulunan yaygın SSR (Simple Sequence Repeats) markörlerden geliştirilmiştir. RAPD tekniğinin bir çeşidi olması nedeniyle sorunları ve avantajları aynı olmaktadır (Robinson and Harris,1999).

SSR (Simple Sequence Repeats) veya mikrosatellitlere ökaryotik genomlar boyunca dağılmış bulunan ve ardışık olarak tekrarlanmakta olan 2-6 nükleotid gruplarından oluşmaktadır. Bu gruplar (AT)<sub>n</sub>, (GT)<sub>n</sub>, (ATT)<sub>n</sub> veya (GACA)<sub>n</sub> şeklinde gösterilmekte ve "n" ardışık tekrar sayısını belirtmektedir. Mikrosatellitleri çevreleyen DNA dizileri genellikle aynı türün bireyleri arasında korunmuş olduklarından, farklı genotipler de çakışan SSR'ların PCR primerleri ile çoğaltılarak seçimine izin vermektedir. Ardışık SSR tekrarların sayısındaki farklılık PCR sonucu farklı uzunlukta parça çoğaltılmasıyla sonuçlanır. Bu tekrarlar çok yakın tür ve çeşitler arasında dahi tekrarlanan ünitelerin sayısında değişikliğe yol açan mutasyonlar nedeniyle oldukça polimorfiktir (Gupta, et al., 1991). SSR'ları çevreleyen korunmuş DNA dizileri primer olarak kullanılarak PCR metodu vasıtasıyla bir lokustaki farklı alleller tespit edilebilir. Carreno ve arkadaşları 2004 yılında, İspanya'nın bazı yerel ve yabani çeşitleri arasında gerçekleştirdiği araştırmasında mikrosatellitler yardımıyla yüksek oranda genetik benzerliği tespit ettiğini bildirmiştir. Bu markerlere ait ağırlıklı çalışma konuları; anaç, çeşit, klon ve hibrit tanımlamaları ve genetik haritalamalar oluşturmaktadır

Microarray; Çok yeni ve ümit verici teknolojiyle, ilgili hücreden veya dokudan RNA izolasyonu ile genlerin fonksiyonlarına ilişkin önemli bilgiler sağlar. DNA Microarray yönteminin çalışma prensibi baz eşleşmesi veya hibridizasyondur. İlgili hücreden veya dokudan RNA izolasyonu, komplementer nükleotidler kullanılarak hedef üretimi, işaretlenen hedefin cam/ naylona (array) fikse edilen prob ile hibridizasyon aşamalarından oluşmaktadır. Ekspresyon farklılıkları kontrolle karşılaştırılarak bilgisayar yardımıyla analiz edilmektedir (Yurter, 2002).

Lodhi et al. (1995), tarafından asmada yapılan genetik haritalama çalışmasıyla geliştirilen cinsiyet ve hastalıklara dayanıklılıkla ilgili seleksiyon markörler yanında, çekirdeksizlik ve diğer özelliklere yönelik markörler ıslah çalışmaları sırasında arzu edilen fenotipik özellikleri taşıyan bireylerin erken seleksiyonun da çok büyük değer taşımaktadır.

Asma, üzüm verimi bakımından ekonomik, çeşit zenginliği ile de ülkemizin önemli bir bitkisidir. Anadolu'nun asmanın anavatanı olduğu düşünüldüğünde çeşit tanımlamalarında, kişisel yorumlardan ve çevre koşullarından etkilenmeyen modern biyoteknoloji yöntemler kullanılarak mevcut bitkisel materyelimizin adına doğruluğu konusunda çalışmalara hız vermemiz gerekmektedir. Yerel çeşitlerimizin patentlenmesi, bize dünya ticaretinde prestij kazandıracaktır. Biyotik ve abiyotik stres koşullarına uyum sağlayabilecek, yüksek kalite ve verim özelliklerine sahip yeni tiplerin elde edilmesine yönelik ıslah programlarında biyoteknolojik yöntemlerin kullanılarak yapılacak çalışmalarda en kısa zamanda istenilen sonuca ulaşılabilecektir. Modern yöntemler kullanılarak gerçekleştirilecek olan kapsamlı çalışmalar sayesinde ülkemizin sahip olduğu gen zenginliği ortaya konulacaktır.

## Kaynaklar

- Ahmedullah, M., 1986. Pollen Morphology of *vitis* cultivars Using Scanning Electron Microscopy and the Significance of Pollen Classification in Grape Improvement Programme. Proceedings, 4 th International Symposium on Grapevine Breeding. Vignevini 13: 54-56
- Alleweldt, G., 1988. The Genetic Resources of Vitis. Federal Research Centre for Grape Breeding, Geilweilerrhof, Federal Reppublic of Germany,
- Andersen, S.B. 2000. Amplified Fragment Length Polymorphism ([http://www.agsci.kvl.dk/breed/kortleg1/Background/Markertypes/aflp\\_markers.htm](http://www.agsci.kvl.dk/breed/kortleg1/Background/Markertypes/aflp_markers.htm), accessed 5/2/01)
- Anonymous, 1987. Türkiye Asma Fidanı Üretimi, Sorunları Ve Çözüm Yolları. T:O:K:B: Çanakkale Mey. Üret. İst.
- Bertnatzky, R. and Tanksley, S. D. 1989. Restriction Fragments as Molecular Markers for Germplasm Analysis and Utilization in Brown A.D.H., Marshall, D.R., Frankel, O. H. Williams J. T (eds). The Use of Plant Genetic Resources, Cambridge University Press, Cambridge. pp. 353-362.
- Bowers, J.E., 1990. DNA Fingerprint Analysis of Some Wine Grape Cultivars. MSc. Thesis, University of California, Davis.
- Cargnello, G.; Gianazza, E.; Tadesco G.; Capella, M.; Gerola, F.M., 1998. Wall Proteins of *Vitis vinifera* Pollen. I. Constancy of the phenotype. *Vitis* 27: 47-55,
- Carreno, E.; Lopez, M.A.; Labra, M.; Rivera, D.; Sanha, J.; Ocete, R.; Martinez de Toda, F. 2004. Genetic Relationship Between Some Spanish *Vitis vinifera* *L.subsp. sativa* cultivars and Wild Grapevine Populations [*Vitis vinifera* *L. subsp. silvetris* (Gmelin) Hegi]: a Preliminary Study. Plant Genetic Resources Newsletter, No:137:42-45.
- Ergül, A.; Aras, S.; Söylemezoğlu, G.; Ağaoğlu, Y.S., 2001. Kalecik Karsı Üzüm Çeşidi Klonlarında AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) Tekniği İle Polimorfizmin Belirlenmesi. III. Bağcılık ve Şarapçılık Sempozyumu, Kapodokya, 31-37.
- Grattapaglia, D.; Chapparro J.; Wilcox, P.; McCord, S.; Werner, D.; Amerson, H.; McKeand, S.; Bridgewater, F.; Whetten, R.; O' Malley, D, and Sederoff, R. 1992. Mapping in Woody Plants with RAPD Markers: Application of RAPD Technology and Plant Breeding. Plant Sci. Soc. of Am. Madison, WI, pp: 37-40.
- Grando, M.S.; Micheli, De L.; Biasetto. L.; Scienza, A. 1995. RAPD Markers in Wild and Cultivated *Vitis vinifera*. *Vitis* 34 ( 1), 37-39.
- Guerra. B. and Meredith P. C. 1995. Comparison of *Vitis Berlandieri* x *Vitis riparia* Rootstock Cultivars by Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis. *Vitis* 34 ( 2) 109-112.
- Gupta, M.; Chyi, Y.S.; Romero-Severson, Owen, J.L. 1991. Amplification of DNA Marker From Evaluationarily Diverse Genomes Using Single Primers of Simple-sequence Reports Theor. Apple.Genet. 89; 998-1006.
- Hemmat, M.; Weeden, N.F.; Manganaris, A.G.; Lawson, D.M. 1994. Molecular Marker Linkage Map for Apple. *J. Hered.*85: 4-11.



- Kara, İ. 1990. Tokat Yöresinde Yetiştirilen Üzüm Çeşitlerinin Ampelografik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar.. Basılmamış Doktora Tezi. 318 s. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Ens. Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara.
- Lodhi, M.A.; Daly, M.J.; Ye, G.-N.; Weeden, N.F.; Reisch, B.I. 1995. a Molecular Marker based Linkage Map of *Vitis*. Genome 38; 786-794
- Malyshev, S.V. and Kartel, N.A.1997. Molecular Markers in Mapping Plant Genomes, Molecular Biology Vol:31 No:2, 163-171.
- Marasalı, B., 1995. Üzüm çeşitlerinin RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) Tekniği ile Moleküller Tanımlaması. Biyoteknoloji ve Bitki Islahı . 17-19 Nisan, 163-168.
- Meredith, C.P and Dangl, G.S., 1994. Clarifying the Identity of Some California Winegrapes by DNA Profiling Proceedings, American Society for Enology and Viticulture 45<sup>th</sup> Annual Meeting, June 30- July 2, Anaheim, California.
- Paran, I. and Michelmore, R.W.1993. Development of reliable PCR based markers Linked to Downy Mildew Resistance Genes in Lecture. Theor. Appl. Genet. 85: 985-993.
- Robinson, J.P. and Harris, S.A. 1999. Amplified Fragment Length Polymorphisms and Microsatellites: a Phenetic Perspective [http://www.vebdock.sub.gwdg.de/cbook/y/1999/wichmarker/m12/chap12htm.accessed\(7/2/01\)](http://www.vebdock.sub.gwdg.de/cbook/y/1999/wichmarker/m12/chap12htm.accessed(7/2/01)).
- Schwennesen, J., Mielke, E.A., Wolfe, W.H., 1982. Identification of Seedless Table Grape Cultivars and a Bud Sport With Berry Isozymes. HortScience 17 (3) : 366-368.
- Tadesco, G.; Gianazza, E.; Arrigotti, S.; Cargnello, G., 1989. Wall proteins of *Vitis vinifera* Pollen. II. Influence of Environment and Rootstock on the Electrophoretic Pattern. Vitis 28: 65-72.
- Uzun, İ. 1996. Bazı Sinonim Üzüm Çeşitlerinin İzoenzim ve Protein Bant Desenlerinden Tanısı Üzerinde Araştırmalar. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Tarım orman ve Gıda Teknolojileri Araştırma Grubu Proje No: TOGTAG 1256
- Yurter, H.E. 2002. Gen Ekspresyon Analizinde Microarray Teknolojisinin Kullanımı. D.E.U. Tıp Fakültesi Dergisi Özel Sayısı 41-47
- Wolfe, A. D., and A. Liston. 1998. Contributions of PCR-based Methods to Plant Systematics and Evolutionary Biology. In: Plant Molecular Systematics II Soltis, D. E., Soltis, P. S., and Do
- Zabeau, M. 1993. Amplified fragment Length Polymorphism (AFLP). European Patent Application 92 402629.7.