

SSR Markörleri İle Amasya Elmasının İskelet Haritasının Oluşturulması

Elmira Ziya Motalebipour¹, Nergiz Çoban², Mortaza Khodaciaminjan¹, Hayat Topçu¹, Murat Güney¹, Şerif Özongun³, Nilgün Atay³, Salih Kafkas¹

¹Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Adana

²Antepfıstığı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü, Gaziantep

³Eğirdir Meyvecilik Araştırma İstasyonu, Isparta

e-posta: elipour83@yahoo.com

Özet

Bu çalışmada ‘Amasya’ elmasının SSR markörleri ile iskelet haritasının oluşturulması amaçlanmıştır. Bu amaçla Amasya elması içerisinde seçilen ‘Kaşel-41’ çeşidi ile ‘Williams Pride’ çeşitlerinin melezlenmesinden oluşan F1 popülasyonu çalışmanın materyalini oluşturmuştur. SSR primer çiftlerinin taranması sonucunda 699 primer çiftinden 417 adedi açılım göstermiş ve bunlardan 207 adet ortak SSR markörü olarak 96 melez bireyde analiz edilerek iskelet harita oluşturulmuştur. Amasya elmasının iskelet haritasının oluşturulmasında açılım gösteren 207 markör, 17 bağlantı grubuna dağılım göstermiştir. Bu harita 1351 cM uzunluğunda olup, markör yoğunluğu 12.2 ve markörler arası ortalama uzaklık ise 6.5 cM olarak saptanmıştır. Böylece elmada şimdiye kadarki en iyi SSR markörleri ile iskelet harita bu çalışma ile oluşturulmuştur. Yeni SSR markörleri ve farklı markör yöntemlerinin kullanılması, ileriki zamanlarda yapılacak genetik haritalama çalışmalarında yüksek yoğunluklu harita elde edilmesinde fayda sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Elma, SSR, iskelet harita, mikrosatellit

Construction of the Reference Genetic Linkage Map of Amasya Apple by Microsatellite (SSR) Markers

Abstract

This study aimed to construct reference genetic map of ‘Amasya’ apple cultivar with SSR markers. With this aim, the cross between selected ‘Kaşel-41’ from ‘Amasya’ apple cultivar and ‘Williams Pride’ cultivar establishes this study's materials. As a result of screening 699 SSR pairs of primer in 96 hybrid individuals showed 417 polymorphism. A reference map was constructed by using 207 common SSR markers. The reference genetic map was 1351 cM long, average marker number 12.17 with a mean marker density of 6.52. Thereby producing the most dense SSR-based reference map currently reported for apple. In the future genetic mapping and genomic studies, use of the new SSR markers and other marker methods will be useful to obtain high density map.

Keywords: Apple, SSR, reference map, microsatellite

Giriş

Elma, Rosaceae familyasının, Pomoideae alt familyası içerisinde yer alır. Haploid kromozom sayısı $n=17$ 'dir. Elma çeşitlerinin büyük bir çoğunluğu diploittir ($2n=34$). Elma Türkiye’de uzun yıllardan beri yetiştiriciliği yapılan üretim ve yetiştirme alanı bakımından diğer ılıman iklim meyvelerinin başında gelen bir tür olduğu için yıllara göre dünya sıralamasında üçüncülük ile altıncılık arasında yer almıştır. 2013 yılı rakamlarına göre (Faostat, 2015), Türkiye 2013 yılında elma üretiminde 3.128.450 ton ile Çin ve ABD’den sonra üçüncü sırada yer almaktadır.

Dünyada 6000’den fazla önemli elma çeşidi olduğu bildirilmektedir. Ancak bunların çok azı ticari öneme sahiptir (O’Rourke, 2003).

Türkiye elma gen merkezlerinden biri olmasına rağmen, yabancı çeşitlerin baskısı altında kalmış ve elma üretim desenimizde yerli

çeşitler (Amasya çeşidi dışında) yer alamamıştır. Amasya elma çeşidimiz de periyodisite göstermesi nedeni ile çok dar bir alanda varlığını devam ettirmektedir. Yeme kalitesi oldukça iyi olan ‘Amasya’ elmasında periyodisite ile birlikte meyve iriliği ve çekirdek evi büyüklüğü gibi bazı kalite problemleri de vardır. Amasya elması Türkiye’nin en önemli elma çeşitlerinden biri olup tadı ve aroması günümüzde üretilen ticari çeşitlerden çok farklıdır. Amasya elması ile ilgili olarak ilk çalışma Eltez ve Kaşka (1983) tarafından yapılmıştır. Araştırmacılar, Niğde yöresinde yaptıkları seleksiyon çalışması ile her yıl meyve veren ve Kaşel elması olarak adlandırılan ve özellikleri birbirinden farklı 52 adet ‘Amasya’ elması tipi elde etmişlerdir.

Genetik çeşitliliği belirlemek için kullanılan morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal yöntemler hem çevreden etkilenmekte hem de çok zaman almaktadır. Fakat DNA markör tekniklerinin geliştirilmesi

ile farklı ekolojilerdeki genetik materyaller daha kolay incelenebilmektedir. Günümüzde AFLP, ISSR, SSR, SRAP gibi farklı markör teknikleri kullanılarak daha kısa sürede, daha güvenilir sonuçlarla, genetik çeşitlilikler belirlenmektedir (Kafkas ve ark., 2008).

Elmada bugüne kadar; RFLP, RAPD, ISSR, SRAP, SSR ve AFLP yöntemleri genelde genetik kaynakların karakterizasyonu ve genetik haritalama çalışmalarında kullanılmıştır. Bu moleküler markör teknikleri birbirleriyle karşılaştırıldığında, RFLP ve SSR markörlerinin kodominant olması bu markör sistemlerini avantajlı duruma getirmektedir. Çünkü kodominant markör sistemlerinin bilgi içeriği çok yüksektir ve özellikle genetik haritalama çalışmalarında çok büyük avantajlara sahiptir.

Genetik bağlantı (linkage) haritaları moleküler markörlerin kalıtımı temeline dayanmaktadır. Bitkilerde yapılan genetik haritalama çalışmalarında çoğunlukla F2, F3, geri melez, double haploid gibi populasyonlar kullanılmaktadır. Çok yıllık bitkilerde ise gençlik kısırlığı döneminin uzun olması nedeniyle F1 populasyonları kullanılabilir. Elmanın haploid kromozom sayısı n=17 olduğu için (Liebhard ve ark., 2003) ideal olarak oluşturulacak genetik haritada 17 bağlantı grubunun olması beklenir.

Bu çalışmanın amacı, Amasya elması olarak, daha önce Amasya elması içerisinde iyi meyve özellikleri nedeniyle seleksiyon sonucu elde edilmiş 'Kaşel-41' çeşidi ile 'Williams Pride' çeşidi arasında yapılan melezleme sonucu oluşturulan F1 populasyonu ile SSR markörlerini kullanarak Amasya elmasının iskelet genetik haritasını ortaya çıkarmaktır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Bu çalışmada 'Kaşel-41' ve 'Williams Pride' melezlenmesinden elde edilen 96 adet F1 bitkisi ile ebeveynler materyal olarak kullanılmıştır. F1 bitkileri M9 anacı üzerine aşılanmış ve sonra bu bitkiler ile Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsü, Samsun Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü ile Malatya Kayısı Araştırma Enstitüsü'nde her F1 bitkisinden 2'şer adet olacak şekilde deneme parselleri kurulmuştur.

Bu çalışma kapsamında SSR analizlerinde Guilford ve ark. (1997), Hokanson ve ark. (1998), Gianfranceschi ve ark. (1998), Cipriani

ve ark. (1999), Testolin ve ark. (2000), Oddou-Muratoriov ve ark. (2001), Dirlewanger ve ark. (2002), Liebhard ve ark. (2002), Yamamoto ve ark. (2002a; b), Hemmat ve ark. (2003), Silfverberg Dilworth ve ark. (2006), Fernandez ve ark. (2006), Inoue ve ark. (2007), Gasic ve ark. (2009) ile Han ve ark. (2009; 2011) tarafından geliştirilen 699 adet SSR primer çifti genetik haritalamada kullanılmıştır. Bunlara ilaveten, Cheng ve ark. (1996) tarafından geliştirilen meyve rengi ile ilişkili markör, Tartarini ve ark. (1999) tarafından geliştirilen karaleke hastalığına dayanım ile ilişkili markör ve Khan ve ark. (2007) tarafından geliştirilen ateş yanıklığına dayanım ile ilişkili markör de haritalamada kullanılmıştır. Böylece toplam 702 primer çifti bu çalışmada kullanılmıştır.

DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu Doyle ve Doyle (1987)'nin geliştirdiği ve Kafkas ve ark. (2006) tarafından modifiye edilen CTAB yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İzolasyon sonucu elde edilen DNA'lar SSR analizleri için 5 ng/µl konsantrasyonuna ayarlanmıştır. Bu şekilde tüm DNA örnekleri PCR'a hazır hale getirilmiştir.

SSR Primer Çiftlerinin DNA'ya Bağlanma Sıcaklıklarının Belirlenmesi

SSR primer çiftlerinin DNA'ya bağlanma sıcaklıklarının ve amplifikasyon durumlarının belirlenmesi için gradient PCR uygulanmıştır. SSR primer çiftlerinin yapışma sıcaklıklarının belirlenmesinde, 50.5°C, 53.5°C, 55.5°C, 57.5°C, 59.5°C ve 61.5°C sıcaklıkları kullanılmıştır. En iyi amplifikasyonun elde edildiği sıcaklık primer çiftinin DNA'ya bağlanma sıcaklığı olarak belirlenmiştir. Gradient PCR reaksiyonu, 12.5 mL olarak hazırlanmıştır. Gradient PCR reaksiyonu 75 mM Tris- HCl, pH: 8.8, 20 mM (NH₄)₂SO₄, 2.0 mM MgCl₂, %0.01 Tween 20, 200 mM dNTP, 10 nM 5' ucunda M13 üniversal (5'-TGTAACACGACGGCCAGT-3') baz dizisi (Schuelke, 2000) primeri eklenmiş ileri primer, 200 nM geri primer, 200 nM FAM, VIC, NED, PET ile işaretlenmiş M13 üniversal primer, 0.6 ünite Taq DNA polimeraz ve 10 ng DNA içermiştir. Gradient PCR döngü koşulları 94°C 2 dk, ön denatürasyon, 30 döngü boyunca 94°C 30 saniye, denatürasyon 50.5°C, 53.5°C, 55.5°C, 57.5°C, 59.5°C ve 61.5°C sıcaklıkları arasında 45 saniye, DNA'ya yapışma, 72°C'de 1 dk, uzama, 10 döngü boyunca 94°C'de 30 sn denatürasyon, 52°C 45 sn, DNA'ya yapışma,

72°C'de 1 dk uzama ve 1 döngü 72°C 5 dk son uzama safhası olarak uygulanmıştır.

SSR Primer Çiftlerinin Polimorfizm Bakımından Taranması ve Açılım Durumlarının Belirlenmesi

Gradient PCR sonucu amplifiye olan ve yapışma sıcaklığı saptanan primerler 96 elma F1 bitkisinde polimorfizm bakımından taranmıştır. PCR ürünlerinin elektroforezi ABI 3130xl otomatik baz dizileme ünitesinde (kapiler elektroforez) yapılmıştır. SSR analizleri sonucu elde edilen bantların büyüklükleri birbirlerine çok yakın olduğu için agaroz jelde ayırmak mümkün olmadığından, kapiler elektroforez ile gerçekleştirilmiştir. SSR PCR koşulları bir önceki bölümde anlatıldığı gibi yapılmıştır. ABI cihazında elektroforezi yapılan örnekler GeneMapper 4.0 paket programı kullanılarak DNA bantları pikler halinde değerlendirilmiş, primerlerin allelleri ve allel büyüklükleri belirlenmiştir.

Elektroforez sonucunda açılım gösteren markörler Joinmap 4.1 (Van Ooijen, 2011) paket programına göre skorlanıp kodlanmıştır. Farklı açılımlara sahip SSR primer çiftlerinin skorlanmasından örnekler Çizelge 1'de verilmiştir. Ana ebeveynin heterozigot, baba ebeveynin homozigot ise 'lmxll', baba ebeveynin heterozigot, ana ebeveynin homozigot ise 'nnxnp' açılımı ve ebeveynler ortak bir adet allele sahiptir. Bu durumda 1:1 açılımı görülmektedir.

Ebeveynlerin her ikisinin de ikişer allele sahip olduğu durumlarda açılım gösteren markörler 'Ortak Markör' olarak değerlendirilmiştir. Bu tip markörler hem ana hem de baba ebeveynin haritası ile iskelet harita oluşturmak için kullanılabilir. Ortak markörler, her iki ebeveynde iki allelin de aynı olması ile hxxhk (1:2:1), tek bir allel bakımından farklı olması ile efxeg (1:1:1:1), her iki allelin de farklı olması ile abxcd (1:1:1:1) olarak değerlendirilmiştir.

Genetik Bağlantı Gruplarının Oluşturulması

Genetik haritanın oluşturulması Joinmap 4.1 (Van Ooijen, 2011) bilgisayar paket program kullanılarak yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen amplifikasyon ürünleri Joinmap 4.1 paket programına göre skorlanıp kodlanmıştır. Referans genetik haritanın elde edilmesi ortak markörler ile oluşturulmuştur. Bağlantı gruplarının uzunlukları ve rekombinasyon birimi

centiMorgan (cM) olarak Kosambi (1944)'ye göre hesaplanmıştır.

Ortak markörler ile oluşturulan iskelet genetik haritada bağlantı gruplarının oluşturulmasında en düşük LOD 5.0 değeri kullanılmıştır. Her bir bağlantı grubu içindeki markör sırasını belirleyebilmek için hesaplamalarda standart Joinmap parametre ayarları kullanılmıştır. İstatistik hesaplamaları tamamlanarak bağlantı grupları oluşturulduktan sonra, MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) bilgisayar programı kullanılarak bağlantı gruplarına ait grafik verilerinin ve şekillerinin düzenlenmesi ve sayfa üzerinde yerleştirilmesi yapılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada 'Kaşel-41' x 'Williams Pride' populasyonu kullanılarak ortak markörlerle ile referans genetik haritanın oluşturulması hedeflenmiştir. oluşturulan genetik haritada haritalanan 207 adet markörden 118 adedi 'abxcd', 70 adedi 'efxeg' ve 19 adedi 'hxxhk' açılımı göstermiş ve bu markörler 17 bağlantı grubunda dağılım göstermiştir (Çizelge 2 ve Şekil 1). Toplam genetik harita uzunluğu 1351 cM ve markörler arası ortalama uzaklık ise 6.53 cM olarak hesaplanmıştır. En fazla (20 adet) ortak markör 15. Bağlantı grubunda yer alırken, 1. bağlantı grubu en az (7 adet) ortak markörü içeren grup olmuştur. En uzun bağlantı grubu (120.9 cM) 15. bağlantı grubu olurken, 2. Bağlantı grubu 8 adet markör ile en kısa bağlantı grubunu oluşturmuştur. Ortak markörlerle oluşturulan genetik harita toplamda 207 markör ile 6.5 cM markör yoğunluğuna sahip olmuştur (Çizelge 2). Oluşturulan haritada bağlantı gruplarının özellikleri karşılaştırıldığında, ortak markörlerle oluşturulan genetik haritasında 14. bağlantı grubu en yoğun (markörler arası mesafe 4.1 cM) grup iken, 9. bağlantı grubu ise en az (10.7 cM) yoğun grup olmuştur.

Bu çalışmada ortak markörler ile oluşturulan genetik haritadan elde edilen bulgular ile diğer araştırmacılar tarafından elmada ortak SSR markörleri ile yapılan genetik haritalama çalışmalarından en fazla ortak markör (207 adet) bu çalışmada haritalanırken, en uzun haritada da (1351.0 cM) bu çalışmadan elde edilmiştir. Yine bağlantı grubu başına düşen en yüksek ortalama markör sayısı (12.18 adet) bu çalışmadan elde edilmiştir. Markör yoğunluğu bakımından ise Aslan (2012) ile benzer değerler (6.5 cM) elde edilmiştir.

İlk Kez Bu Çalışmada Haritalanmış Olan SSR Markörler

Bu çalışmada elmanın haritalama analizlerinde SSR markör tekniği kullanılarak, açılım gösteren birçok kodominant markörün eldesi sağlanmıştır. Ortak markörler ile oluşturulan genetik haritada bugüne kadarki en fazla ortak markör (207 adet) bu çalışmada haritalanmış ve en uzun SSR esaslı harita da (1351.0 cM) bu çalışmada elde edilmiştir. Ayrıca bağlantı grubu başına düşen ortalama markör sayısı en yüksek (12.18 adet) bu çalışmada elde edilmiştir (Çizelge 2 ve Şekil 1)

Bu çalışmada ortak markörler ile oluşturulan genetik haritada toplam 19 markör ile ilk defa haritaya yerleştirilmiştir. Bunlardan 15 adedi Han ve ark. (2009), 3 adedi Inoue ve ark. (2007) ve 1 adedi Oddou-Muratorio ve ark. (2001) tarafından geliştirilmiştir (Çizelge 3).

Sonuç

Bu çalışmada SSR markörleri kullanılarak Amasya elması içerisinde seleksiyon ile elde edilen 'Kaşel-41' çeşidi ile 'Williams Pride' çeşitlerinin genetik haritasının SSR markörler ile oluşturulması gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında, bugüne kadar yapılmış olan elma genetik haritalama analizleri içerisinde en fazla SSR primer çifti kullanımı gerçekleşmiştir. Tüm genomu kapsayan kodominant markörlerce doymuş bir harita eldes edilmiştir. Gelecekte yapılacak haritalama çalışmalarında daha yüksek yoğunluklu genetik haritalar elde etmek için daha fazla sayıda açılım gösteren markörler bağlantı gruplarına yerleştirilmelidir. Bunun için AFLP ve SRAP gibi dominant markörlerden ve özellikle SSR ve SNP gibi kodominant markörlerden yararlanılmalıdır.

Ayrıca bu çalışmada F1 bitkilerden yapılacak gözlem ve analizler ile bazı önemli özellikler ile ilişkili markörler geliştirilebilecektir.

Teşekkür

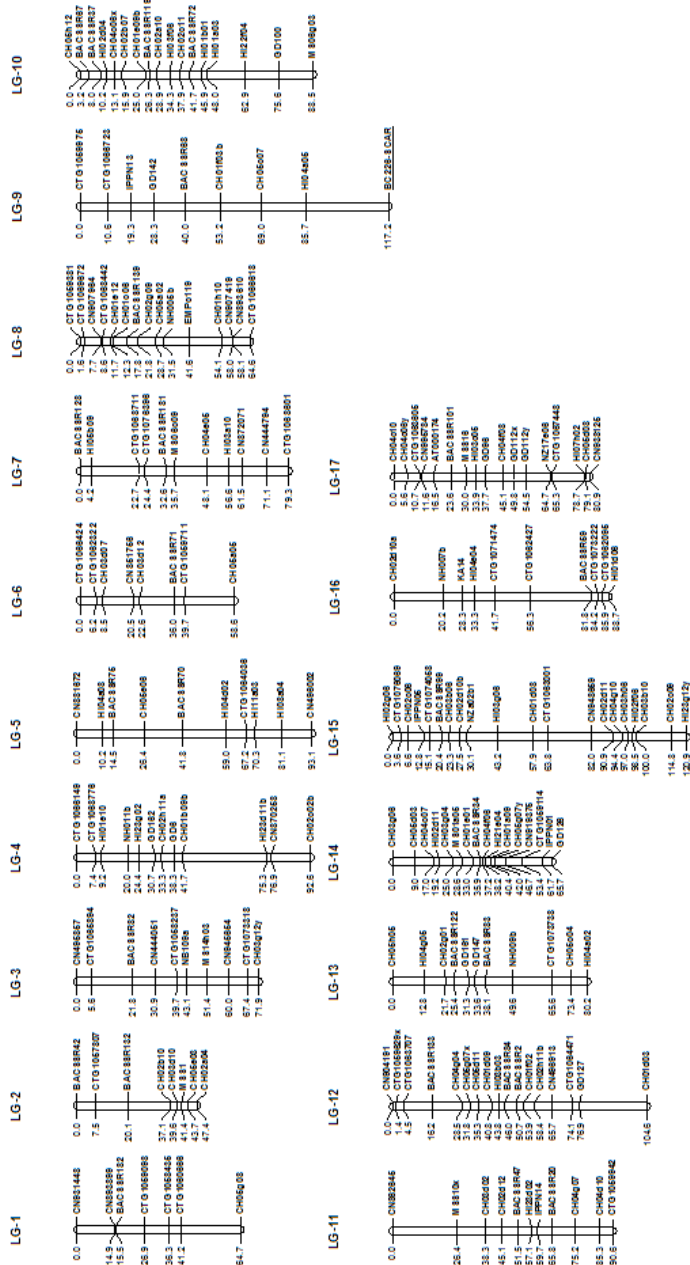
Bu çalışma esnasında maddi destek veren Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: ZF2012YL4) ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK-TOVAG 110O093 No.lu proje) içten teşekkürlerimizi sunarız.

Kaynaklar

Aslan, N., 2012. Amasya elmasında SSR markörler ile genetik haritalama. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü.

- Cipriani, G., Lot, G., Huang, W.G., Marazzo, M. T., Peterlunger, E., Testolin, R., 1999. AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. Theoretical and Applied Genetics, 99: 65-72.
- Cheng, F.S., Weeden, N.F., Brown, S.K., 1996. Identification of co-dominant RAPD markers tightly linked to fruit skin color in apple. Theoretical and Applied Genetics, 93: 222-227.
- Dirlewanger, E., Cosson, P., Tavaud, M., Aranzana, M., Poizat, C., Zanetto, A., Arús, P., Laigret, F., 2002. Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). Theoretical and Applied Genetics, 105: 127-138.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., 1987. A Rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin, 19: 11-15.
- Eltz, M., Kaşka, N., 1983. Niğde yöresinde her yıl meyve veren üstün özellikte Kaşel-Amasya elma türlerinin seleksiyonu. Doğa Bilim Dergisi Seri D., Cilt 9, Sayı 1.
- Faostat, 2015. Food and Agriculture Organization of The United Nations. <http://faostat.fao.org/default.aspx>.
- Fernández-Fernández, F., Harvey N.G., James C.M., 2006. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers from European pear (*Pyrus communis* L.). Molecular Ecology Notes, 6: 1039-1041.
- Gasic, K., Han, Y., Kertbundit, S., Shulaev, V., Iezzoni, A.F., Bell, E.W., Wisniewski, M.E., Korban, S.S., 2009. Characteristics and transferability of new apple EST-derived SSRs to other Rosaceae species. Molecular Breeding, 23: 397-411.
- Gianfrancesco, F., Esposito, T., Montanini, L., Ciccodicola, A., Mumm, S., Mazzarella, R., Rao, E., Giglio, S., Rappold, G., Forabosco, A., 1998. A novel pseudoautosomal gene encoding a putative GTP-binding protein resides in the vicinity of the Xp/Yp telomere. Human Molecular Genetics, 7:407-414.
- Guilford, P., Prakash, S., Zhu, J.M., Rikkerink, E., Gardiner, S., Bassett, H., Forster, R., 1997. Microsatellites in: *Malus domestica* (Apple): abundance, polymorphism and cultivar identification. Theoretical and Applied Genetics, 94: 249-254.
- Han, Y., Chagne, D., Gasic, K., Rikkerink, E.H.A., Beever, J.E., Gardiner, S.E., Korban, S.S., 2009. BAC-end sequence-based SNPs and Bin mapping for rapid integration of physical and genetic maps in apple. Genomics, 93: 282-288.

- Han, Y., Zheng, D., Vimolmangkang, S., Khan, M.A., Beever, J.E., Korban, S.S., 2011. Integration of physical and genetic maps in apple confirms whole-genome and segmental duplications in the apple genome. *J.Exp.Botany*, 1-14. Doi: 10.1093/jxb/err215.
- Hemmat, Weeden, N.F., Brown, S.K., 2003. Mapping and evaluation of 'Malus' x 'domestica' microsatellites in apple and pear. *J. Amer. Soc. for Hort. Sci.*, 128 (4): 515-520.
- Hokanson, S.C., Szewc-Mcfadden, A.K. Lamboy, W.F., Mcferson, J.R., 1998. Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity, and relationships in a 'Malus' x 'domestica' Borkh. *Theoretical and Applied Genetics*, 97: 671-683.
- Inoue, E., Matsuki, Y., Anzai, H., Evans, K., 2007. Isolation and characterization of microsatellite markers in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Molecular Ecology Notes*, 7: 445-447.
- Kafkas, S., 2006. Phylogenetic analysis of the genus *Pistacia* by AFLP markers. *Plant Systematics and Evolution*, 262: 113-124.
- Kafkas, S., Özgen, M., Doğan, Y., Özcan, B., Ercişli, S., Serçe, S., 2008. Molecular characterization of mulberry accessions in Turkey by AFLP markers. *J. Amer. Soc. for Hort. Sci.*, 133: 593-597.
- Khan, M.A., Durel, C.E., Duffy, B., Drouet, D., Kellerhals, M., Gessler, C., Patocchi, A., 2007. Development of molecular markers linked to the 'Fiesta' linkage group 7 major QTL for fire blight resistance and their application for marker-assisted selection. *Genome*, 50 (6): 568-577.
- Kosambi, D.D., 1944. The estimation of map distance from recombination values. *Annals of Eugenics*, 12(3): 172-175.
- Liebhart, R., Gianfranceschi, L., Koller, B., Ryder, C.D., Tarchini, R., Weg, Van De E., Gessler, C., 2002. Development and characterisation of 140 new microsatellites in apple ('Malus' x 'Domestica' Borkh.). *Molecular Breeding*, 10: 217-241.
- Liebhart, R., Koller, B., Potacchi, A., Kellerhals, M., Pfammatter, W., Jermini, M., Gessler, C., 2003. Mapping quantitative field resistance against apple scab in a 'Fiesta' x 'Discovery' progeny. *Phytopathology*, 93: 493-501.
- Oddou-Muratorio S.R., Petit, J., Le Guerroue, B., Guesnet, D., Demesure, B., 2001. Pollen-versus seed-mediated gene flow in a scattered forest tree species. *Evolution*, 55: 1123-1135.
- O'Rourke, D., 2003. World Production, Trade, Consumption and Economic Outlook for Apples. (In Apples Books). CABI Publishing, Cambridge, p: 15-29.
- Scheulke, M., 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology*, 18: 233-234.
- Silfverberg-Dilworth, E., Matasci, C.L., Van De Weg, W.E., Van Kaauwen, M.P.W., Walser, M., Kodde, L. P., Soglio, V., Gianfranceschi, L., Durel, C. E., Costa, F., Yamamoto, T., Koller, B., Gessler, C., Patocchi, A., 2006. Microsatellite markers spanning the apple ('Malus' x 'domestica' Borkh.) genome. *Tree Genetics and Genomes*, 2 (4): 202-224.
- Tartarini, S., Gianfranceschi, L., Sansavini, S., Gessler, C., 1999. Development of reliable PCR markers for the selection of the Vf gene conferring scab resistance in apple. *Plant Breeding*, 118: 183-186.
- Testolin, R., Marrazzo, T., Cipriani, G., Quarta, R., Verde, I., Dettori, M.T., Pancaldi, M., Sansavini, S., 2000. The use of microsatellite DNA for fingerprinting and testing the genetic origin of peach (*Prunus persica* (L) Batsch) cultivars. *Genome*, 43 (3): 512-520.
- Van Ooijen, 2011. JoinMap ® 4, Software for the calculation of genetic linkage
- Voorrips, R.E., 2002. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *The Journal of Heredity*, 93: 77-78.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Shoda, M., Ban, Y., Hayashi, T., Matsuta, N., 2002a. Development of microsatellite markers in the Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) . *Molecular Ecology Notes*, 2: 14-16.
- Yamamoto, T., Kimura T., Sawamura, Y., Manabe, T., Kotobuki, K., Hayashi, T., Ban, Y., Matsuta, N., 2006b. Simple sequence repeats for genetic analysis in pear. *Euphytica*, 124: 129-137.



Şekil 1. 'Kaşel-41' ve 'Williams Pride' popülasyonun ortak SSR markerleri ile tüm. bağlantı grubulan. Şekil de soldaki rakamlar cüm olarak markerler arasındaki mesafeyi göstermektedir.

Çizelge 1. Farklı açılımlara sahip SSR primer çiftlerinin skorlanmasından

Açılım	Ana ebeveyn		Baba ebeveyn	
	1.Says alleli	2.Says alleli	1.Says alleli	2.Says alleli
Abxcd (1:1:1:1)	a	b	c	d
Efxeg (1:1:1:1)	e	f	e	g
Hkxhk (1:2:1)	h	k	h	k
Lmxll (1:1)	l	m	l	l
Nnxnp (1:1)	n	n	n	p

Çizelge 2. ‘Kaşel-41’ ve ‘Williams Pride’ çeşidleri ortak genetik haritasının bağlantı gruplarına ait markör sayıları

LG	Açılım			Toplam markör sayısı	Uzunluk (cM)	Markörler arası ortalama uzaklık (cM)
	abxcd	efxeg	hkxhk			
1	2	3	2	7	64.7	9.2
2	6	-	2	8	47.4	5.9
3	7	3	-	10	71.9	7.1
4	6	5	1	12	92.6	7.7
5	5	3	2	10	93.1	9.3
6	4	3	1	8	58.6	7.3
7	2	8	1	11	79.3	7.2
8	11	4	-	15	64.6	4.3
9	3	5	-	8	85.8	10.7
10	10	6	1	17	88.5	5.2
11	8	3	-	11	90.6	8.2
12	10	4	2	16	77.5	4.8
13	5	5	1	11	80.2	7.2
14	13	2	1	16	65.7	4.1
15	13	6	1	20	120.9	6.0
16	5	2	3	10	88.7	8.8
17	8	8	1	17	80.9	4.7
Toplam	118	70	19	207	1351.0	6.5

Çizelge 3. ‘Kaşel-41’ ve ‘Williams Pride’ çeşidleri ortak genetik haritasının bağlantı gruplarında ilk kez bu haritalanmış olan primerler

Sıra	Primer	Geliştirildiği tür	Açılım	Bağlantı grubu
1	BACSSR182	<i>Malus pumila</i>	hkxhk	LG1
2	BACSSR42	<i>Malus pumila</i>	abxcd	LG2
3	MSS1	<i>Sorbus torminalis</i>	hkxhk	LG2
4	BACSSR70	<i>Malus pumila</i>	abxcd	LG5
5	BACSSR71	<i>Malus pumila</i>	abxcd	LG6
6	BACSSR139	<i>Malus pumila</i>	abxcd	LG8
7	BACSSR68	<i>Malus pumila</i>	abxcd	LG9
8	IPPNI3	<i>Pyrus pyrifolia</i>	abxcd	LG9
9	BACSSR67	<i>Malus pumila</i>	abxcd	LG10
10	BACSSR72	<i>Malus pumila</i>	abxcd	LG10
11	BACSSR119	<i>Malus pumila</i>	efxeg	LG10
12	BACSSR37	<i>Malus pumila</i>	efxeg	LG10
13	BACSSR84	<i>Malus pumila</i>	abxcd	LG12
14	BACSSR133	<i>Malus pumila</i>	abxcd	LG12
15	BACSSR122	<i>Malus pumila</i>	abxcd	LG13
16	IPPNO1	<i>Pyrus pyrifolia</i>	abxcd	LG14
17	BACSSR99	<i>Malus pumila</i>	efxeg	LG15
18	Ka14	<i>Pyrus pyrifolia</i> - <i>Pyrus communis</i>	hkxhk	LG16
19	BACSSR101	<i>Malus pumila</i>	abxcd	LG17