

Amasya Elmasının SSR, AFLP, E-STS ve RGA Markörleri İle Doymuş Genetik Haritasının Oluşturulması

Murat Güney¹, Nergiz Çoban², Elmira Ziya Motalebipour¹, Mortaza Khodaeiaminjan¹, Hayat Topçu¹, Ebru Kafkas¹, Şerif Özgün³, Nilgün Atay³, Kadir Uğurtan Yılmaz⁴, Salih Kafkas¹

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

²Antepfıstığı Araştırma İstasyonu Müdürlüğü, Gaziantep

³Eğirdir Meyvecilik Araştırma İstasyonu, Isparta

⁴Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Kayseri

e-posta: muratguney.dna@gmail.com

Özet

Ülkemizde en önemli yerel elma çeşidi olan Amasya elması, sahip olduğu iyi meyve kalitesiyle önemli bir genetik kaynaktır. Bu çalışmada Amasya elması içerisinde seçilen 'Kaşel-37' ile 'Delbarestivale' çeşidi melezlemesinden elde edilen F1 popülasyonu kullanılarak Amasya elmasının doymuş genetik haritasının elde edilmesi ve sonrasında aroma bileşikleri, şeker ve organik asitler gibi bazı meyve kalite özellikleri ile ilişkili kantitatif özellik lokuslarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında 699 SSR, 240 AFLP, 121 E-STS, 24 RGA primer çifti öncelikle ebeveynler ve 6 F1 bitkisinde açılım gösterme bakımından taranmış olup, açılım gösterenler tüm F1 bitkilerinde analiz edilmişlerdir. 'Kaşel-37' çeşidinin genetik haritasında toplam 621 markör yer almış ve toplam harita uzunluğu 1.700,1 cM, ortalama bağlantı grubu uzunluğu ise 100,0 cM olarak hesaplanmıştır. Toplam 17 bağlantı grubu üzerinde, 286 AFLP, 323 SSR, 7 adet E-STS, 2 RGA ve 3 adet farklı özellikler ile ilişkili markörler yer almıştır. 'Delbarestivale' çeşidinin genetik haritasında toplam 557 markör yer almış ve harita uzunluğu 1.826,7 cM, ortalama bağlantı grubu uzunluğu ise 107,5 cM olarak hesaplanmıştır. Toplam 17 bağlantı grubu üzerinde, 254 AFLP, 390 SSR, 7 E-STS, 1 RGA ve 5 adet farklı özellikler ile ilişkili markörler yer almıştır. Sonuç olarak, 'Kaşel-37' ve 'Delbarestivale' çeşitleri için QTL analizlerinde kullanmak üzere doymuş genetik haritalar oluşturulmuştur.

Anahtar kelimeler: Elma, amasya elması, genetik harita, mikrosatellit

Construction of a Saturated Genetic Linkage Map of Amasya Apple by SSR, AFLP, E-STS and RGA Markers

Abstract

The most important local cultivar in Turkey is 'Amasya' which is a very important genetic source with a good fruit quality. In this study, it was aimed to construct especially genetic map of Amasya cultivar and to determine quantitative trait loci of fruit quality characters such as aroma compounds, sugars etc. by using a F1 population that was created by crossing 'Kaşel-37' (female parent; selected from Amasya cultivar) and 'Delbarestivale' (male parent) cultivars. 699 SSR, 240 AFLP, 121 E-STS, 24 RGA primer pairs were screened for segregation firstly in the DNAs of parents and 6 F1 plants, then segregated ones were analyzed in all F1 plants. A total of 621 markers were mapped in the genetic map of 'Kaşel-37' cultivar, and the total map was 1.700,1 cM. The average length of linkage groups was calculated 100,0 cM. A total of 17 linkage groups was located with 286 AFLP, 323 SSR, 7 E-STS, 2 RGA and 3 different characters. A total of 557 markers were mapped in the genetic map of 'Delbarestivale' cultivar, and the total map was 1.826.7 cM. The average length of linkage groups was calculated 107.5 cM. A total of 17 linkage groups was located with 254 AFLP, 390 SSR, 7 E-STS, 1 RGA and 5 different characters. In conclusion, saturated genetic maps were established for both 'Amasya' and 'Delbarestivale' cultivars to use them for QTL analysis.

Keywords: Apple, Amasya apple, genetic map, microsatellite

Giriş

Elma (*Malus communis* L.) Rosaceae (gülgiller) familyası, Pomoideae alt familyası ve *Malus* cinsine giren ve kültürü yapılan bir meyve türüdür. Elma ılıman iklim meyve türleri içerisinde üretimi ve yetiştirme alanı en fazla olan türdür (Özçağırın ve ark., 2004). Dünya meyve üretiminde elma 80.822.520.63 ton ile

ikinci sırada yer almaktadır (Faostat, 2015). Çin ve ABD dünya elma üretiminde ilk iki sırayı alırken Türkiye 2.4 milyon tonla üçüncü sırada yer almaktadır. Ülkemizde elma yetiştiriciliğinde 'Golden', 'Red Delicious', 'Elstar', 'Granny Smith', 'Braeburn', 'Fuji', 'Mutsu', 'Idared', 'Jonagold', 'Gala' ve mutantları ile yerli elmalarımız ve 'Amasya' çeşitleri kullanılmaktadır (Şahinoğlu, 2011).

Amasya elma çeşidi aroma ve şeker içerikleri yönünden yabancı standart çeşitlerden ayrılan, ıslah ve genetik çalışmaları için oldukça önemli bir genetik kaynaktır. Amasya elma çeşidinin periyodisite, renk, çekirdek evi büyüklüğü ve meyve küçüklüğü gibi problemlerinin çözülmesi, yanı sıra bazı yeni karakterlerin geliştirilmesi ıslah çalışmalarıyla mümkündür (Kafkas ve ark., 2010). Elmada ilk genetik haritalama çalışması Hemmat ve ark. (1994), ikinci olarak Conner ve ark. (1997) ve daha sonra Maliapaard ve ark. (1998) tarafından yapılmıştır. Elmada referans olabilecek genetik haritalar Liebhard ve ark. (2003), Silfverberg-Dilworth ve ark. (2006), Han ve ark. (2011), Wang ve ark. (2012), Zhang ve ark. (2012), Khan ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmalar ile oluşturulmuştur. Elma çeşit ıslahında süreç, oluşturulacak genetik haritalar ve geliştirilecek DNA markörleri ile kısaltılabilir. Genetik bağlantıların oluşturulmasında ideal olarak, bir türün haploid kromozom sayısı kadar bağlantı grubu oluşturulması gerekmektedir. Elmanın haploid kromozom sayısı $n=17$ 'dir. Bu çalışmanın amacı, ileride elmada meyve kalite özellikleri ile ilişkili DNA markörleri geliştirmek için yerel çeşidimiz olan Amasya elması içerisinde seçilmiş 'Kaşel-37' çeşidi ile 'Delbarestivale' çeşitleri arasında yapılan melezleme sonucu oluşan F1 populasyonu kullanarak doymuş genetik haritalar oluşturmaktır.

Materyal ve Yöntem

Bitki Materyali ve DNA İzolasyonu

Bu çalışma kapsamında, bitki verim ve meyve özellikleri bakımından zıt özelliklere sahip Kaşel-37 (ana ebeveyn) x Delbarestivale (baba ebeveyn) mezeleşmesinden elde edilen 180 adet F1 bitkisi ile ebeveynler materyal olarak kullanılmıştır. Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsü, Samsun Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü ile Malatya Kayısı Araştırma Enstitüsü'nde; F1 bitkileri M9 anacı üzerine aşılınmış olarak ve her F1 bitkisinden 2 veya 3 adet olacak şekilde deneme parselleri kurulmuştur. Ebeveyn ve F1 bitkilerden DNA izolasyonu Doyle ve Doyle (1987)'nin geliştirdiği Kafkas ve ark. (2006) tarafından modifiye edilen CTAB yöntemi kullanılarak yapılmıştır. İzolasyonu sonrası ise stok DNA'lar SSR, E-STS ve RGA analizleri için 5 ng/μl konsantrasyonuna ve AFLP analizleri için ise 50 ng/μl konsantrasyonuna ayarlanmıştır.

SSR Analizleri

Bu çalışma kapsamında SSR analizlerinde 699 adet SSR primer çifti (Çizelge 1) genetik haritalama çalışmalarında kullanılmıştır. SSR primer çiftlerinin DNA'ya bağlanma sıcaklıklarını belirlemek için gradient PCR yapılmıştır. SSR primerlerinden bant verenlerin açılım durumları belirlenmiştir. Son olarak ise açılım gösteren primer çiftleri tüm F1 populasyonunda analiz edilmiştir.

AFLP Analizleri

AFLP analizleri Vos ve ark. (1995)'nin geliştirdiği, Kafkas ve ark. (2008)'nin değişiklik yaptığı yöntemle göre yapılmıştır. AFLP ileri ve geri primerleri ile oluşturulan 240 primer kombinasyonu, 'Kaşel-37' ve 'Delbarestivale' bitkileri ile 6 F1 melez bitkinin DNA'larında tarama aşamasında kullanılmış olup açılım gösteren ve kolay skorlanan 45 adet primer kombinasyonu seçilerek 180 adet F1 melez bitkinin analizlerinde kullanılmışlardır.

E-STS ve RGA Primerlerinin Analizleri

121 adet E-STS ve 24 adet RGA (resistance gene analogues) primer çifti (Naik ve ark., 2006) ebeveynlerde ve 6 F1 bitkisinde tarandıktan sonra açılım gösterenler 180 adet F1 bitkisinde test edilmiştir.

Elmada Önemli Özellikler İle İlişkili Geliştirilen Markörlerin Analizleri

Elmada önemli özellikler ile ilişkili daha önce farklı araştırmacılar tarafından bulunan markörlerin analizi markörleri bulan araştırmacılar göre yapılmıştır. Külleme, ateş yanıklığı, yaprak biti ile elma pamuklu biti, karalekeye (*I/f*) dayanım, meyve asitliği, meyve kabuk rengi ve raf ömrü ile ilgili geliştirilen markörler de öncelikle ebeveynler ve 6 F1 bitkisinde taranmıştır. Açılım gösteren primerler ile tüm F1 bitkilerde analiz edilmiştir. PCR reaksiyonları ve elektroforez, markörleri geliştiren araştırmacılar göre yapılmıştır.

Elektroforez

E-STS ve RGA pcr ürünlerinden 10 μl kullanılarak %1.5-3 arası jel konsantrasyonlarında agaroz elektroforez yapılmıştır. Elektroforez işleminde PCR ürünlerinden 0.5xTBE tampon çözeltide (89 mM Tris-Cl, 89 mM borik asit, 20 mM EDTA) agaroz jelde yürütülerek ethidium bromid ile boyanmış, UV altında görüntüleri çekilmiş ve DNA bant görüntüleri bilgisayara aktarılmıştır. Elde edilen görüntülere göre açılım gösteren

bantlar belirlenerek değerlendirmede kullanılmıştır. AFLP ve SSR yöntemlerinde PCR örneklerinin kapiler elektroforez işlemi ABI 3130xl [Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, ABD, (ABI)] genetik analizör cihazı kullanılarak yapılmıştır. Analiz sonunda oluşan elektroferogram görüntüleri Genmap 4.0 (Applied Biosystems Inc.) paket programı kullanılarak DNA bantları pikler halinde değerlendirilerek primerlerin allelleri ve allel büyüklükleri belirlenmiştir.

Markörlerin Değerlendirilmesi ve Genetik Bağlantı Gruplarının Oluşturulması

Grattapaglia ve Sederoff (1994)'un çok yıllık bitkilerde önerdiği 'double pseudo testcross' metoduna göre genetik haritalar elde edilmiştir. Buna göre her bir ebeveyn için ayrı bir harita yani iki genetik harita oluşturulmuştur. Joinmap 4.1 (Van Ooijen, 2011) bilgisayar paket programı genetik bağlantı gruplarının oluşturulmasında kullanılmıştır. Bağlantı gruplarının uzunlukları ve rekombinasyon birimi centiMorgan (cM) olarak Kosambi (1944)'ye göre hesaplanmıştır. Öncelikle ortak markörler ('hxxhk', 'efxeg' ve 'abxcd') ile referans genetik harita oluşturulmuş ve sonra diğer markörler ile ebeveyn haritaları oluşturulmuştur. Joinmap paket programında 'Lokus genotip frekans' fonksiyon komutu ile önce her bir markör için ki-kare (X^2) değerleri hesaplanmış ve bağlantı gruplarının oluşturulmasında markörlerin beklenen 1:1:1:1, 1:2:1 ve 1:1 açılım oranlarına uygunluğunu test edilmiştir. Mendel oranlarından sapma gösteren markörler ki-kare (X^2) analizi belirlenmiştir. Genetik bağlantı grupları (linkage) Kosambi haritalama fonksiyonu (Kosambi, 1944) yardımıyla 'LOD gruplaması' yapılarak oluşturulmuştur. Her iki ebeveyn ile tüm ve ortak markörler ile oluşturulan genetik haritalarda bağlantı gruplarının oluşturulmasında en düşük LOD 5.0 değeri 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

'Kaşel-37' ve 'Delbarestivale' çeşitleri için doymuş genetik haritalar oluşturulmuştur. Çalışma kapsamında 699 SSR, 240 AFLP, 121 E-STS, 24 RGA primer çifti F1 bitkilerinde analiz edilmişlerdir. 'Kaşel-37' ve

'Delbarestivale' elma çeşitlerinin genetik bağlantı gruplarında toplamda 468 AFLP, 417 SSR, 12 E-STS, 3 RGA ve 7 adet belirli özellik ile ilişkili markörler yer almıştır (Şekil 1). Sonuçta, her iki çeşidin bağlantı gruplarında haritalanan markörlerin %62.6'sı AFLP, %46'sı SSR ve geri kalan %2.4'ünü diğer markörler oluşturmuştur.

'Kaşel-37' çeşidinin genetik haritasında 193 adet 1:1:1:1 ve 13 adet 1:2:1 açılım gösteren SSR markörü, 82 adet 3:1 açılım gösteren AFLP ve E-STS markörü ile 333 adet 1:1 açılım gösteren AFLP, SSR, E-STS, RGA ve diğer markörler olmak üzere toplam 621 adet markör yer almıştır. 'Kaşel-37' çeşidinin genetik harita uzunluğu 1701,1 cM, ortalama bağlantı grubu uzunluğu ise 100,0 cM olarak hesaplanmıştır. Toplam 17 bağlantı grubu üzerinde, 286 AFLP, 323 SSR, 7 E-STS, 2 RGA ve 2 adet belirli özellik ile ilişkili markörler yer almıştır. 'Delbarestivale' çeşidinin genetik haritasında ise 188 adet 1:1:1:1 ve 12 adet 1:2:1 açılım gösteren SSR markörü, 83 adet 3:1 açılım gösteren AFLP ve E-STS markörü ile 274 adet 1:1 açılım gösteren AFLP, SSR, E-STS, RGA ve diğer markörler olmak üzere toplam 557 markör yer almıştır. 'Delbarestivale' çeşidinin genetik harita uzunluğu 1826,7 cM, ortalama bağlantı grubu uzunluğu ise 107,5 cM olarak hesaplanmıştır. Toplam 17 bağlantı grubu üzerinde, 254 AFLP, 290 SSR, 7 E-STS, 1 RGA ve 5 adet belirli özellik ile ilişkili markörler yer almıştır.

Bu çalışmada farklı araştırmacılar tarafından geliştirilen elmada 7 farklı özellik ile ilişkili daha markörleri haritalanmıştır. Elmada meyve rengi ile ilgili BC226 SCAR markörü 'abxcd' açılımı göstermiş ve 'Kaşel-37' ve 'Delbarestivale' genetik haritalarının 9. bağlantı grubuna yerleşmiştir. Ateş yanıklığına dayanıklılık ile ilgili CH-Sd1 markörü her iki ebeveyn haritasında da 7. bağlantı grubunda haritalanmıştır. Elmada rosy leaf curling afide dayanım ile ilgili SdSSR markörü hem 'Kaşel-37' hem de 'Delbarestivale' çeşitlerinin 7. bağlantı grubunda ateş yanıklığına dayanım ile yakın bölgede haritalanmışlardır. Karalekeye dayanım ile ilgili bulunan CH-Vf1 markörü 'nnxnp' açılımı göstermiş ve 'Delbarestivale' çeşidi genetik haritasının 1. bağlantı grubunun sonuna yerleşmiştir. Meyve yumuşaması ile ilgili Md-Exp7SSR markörü 'nnxnp' açılımı göstermiştir ve Delbarestivale çeşidinde haritalanmıştır. Küllemeye dayanım ile ilgili

bulunan EMM02-SCAR markörü 'nnxnp' açılımı göstererek öncelikle 'Delbarestivale' çeşidinin genetik haritasında yer almış ancak daha sonra haritalama sırasında ortalama ki-kare katkı değeri yüksek olması nedeniyle haritadan çıkarılmıştır. Sonuç olarak, markörleri bulan araştırmacılar ile bu çalışmadaki markörlerin kromozomlar üzerindeki yerleri karşılaştırıldığında, markörlerin aynı kromozomlar üzerinde yer aldığı belirlenmiştir (Şekil 1).

Bu çalışmada elde edilen toplam harita uzunlukları literatürde yer alan birçok çalışmadan daha uzun bulunmuş ve sadece Khan ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmaya göre daha kısa bulunmuştur. 'Kaşel-37' ve Delbarestivale çeşitlerinde elde edilen toplam harita uzunlukları sırasıyla 1700.1 cM ve 1826.7 cM iken Khan ve ark. (2012) tarafından beş genetik haritadan elde edilen ortak haritanın toplam uzunluğu 1991.4 cM olarak bulunmuştur. Bunun en önemli nedeni de Khan ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada çok sayıda SNP markörünün kullanılmış olmasıdır. Özellikle SNP markörlerin genomda çok sık bulunması nedeniyle bağlantı gruplarını uzatmak mümkün olmuştur.

Literatürlerde genetik harita yoğunlukları 2.4 cM ile 9.4 cM arasında değişmekte, bu çalışmada ise 'Kaşel-37' çeşidinde 2.9 cM ve Delbarestivale çeşidinde ise 3.6 cM yoğunluğu ile iyi bir doymuş genetik harita elde edilmiştir. Bu çalışmada 'Delbarestivale' çeşidi genetik haritasının 8. bağlantı grubu diğer bağlantı gruplarına göre en az sayıda (9 adet) markör içeren bağlantı grubu olmuştur. Benzer şekilde, 'Kaşel-37' çeşidi genetik haritasının 6. bağlantı grubu da diğer gruplara göre en az markör (18 adet) içeren grup olmuştur.

Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada SSR, AFLP, E-STS, RGA markörleri ve önemli özellikler ile geliştirilen markörler kullanılarak Amasya elması ('Kaşel-37') ve 'Delbarestivale' çeşitlerinin genetik haritaları oluşturulmuştur. Böylece ileri aşamada bu haritalar kullanılarak elmada aroma bileşikleri, şeker ve organik asitler gibi bazı meyve kalite özellikleri ile ilişkili kantitatif özellik lokusları belirlenebilecektir. Böylece elmada ileride meyve kalite özellikleriyle ilişkili marköre dayalı seleksiyon (MAS) çalışmaları yapılabilecektir.

Hem 'Kaşel-37' hem de 'Delbarestivale' çeşitlerinin harita yoğunluklarını arttırmak amacıyla genomda diğer markörlere göre çok daha sık olarak yer alan SNP markörleri kullanılabilir.

Sonuç olarak, elmada iyi ve doymuş genetik haritaların oluşturulması ile F1 bitkilerden fenotipik verilerin alınması sonucunda elmada ıslah süresini ve maliyetini kısaltmak üzere önemli özellikler ile ilişkili DNA markörleri geliştirilebilir.

Teşekkür

Bu çalışma süresince maddi destek veren Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (Tübitak-Tovag 110 O 093) ve C.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (ZF2012YL10 ZF2013D22) teşekkürlerimizi sunarız.

Kaynaklar

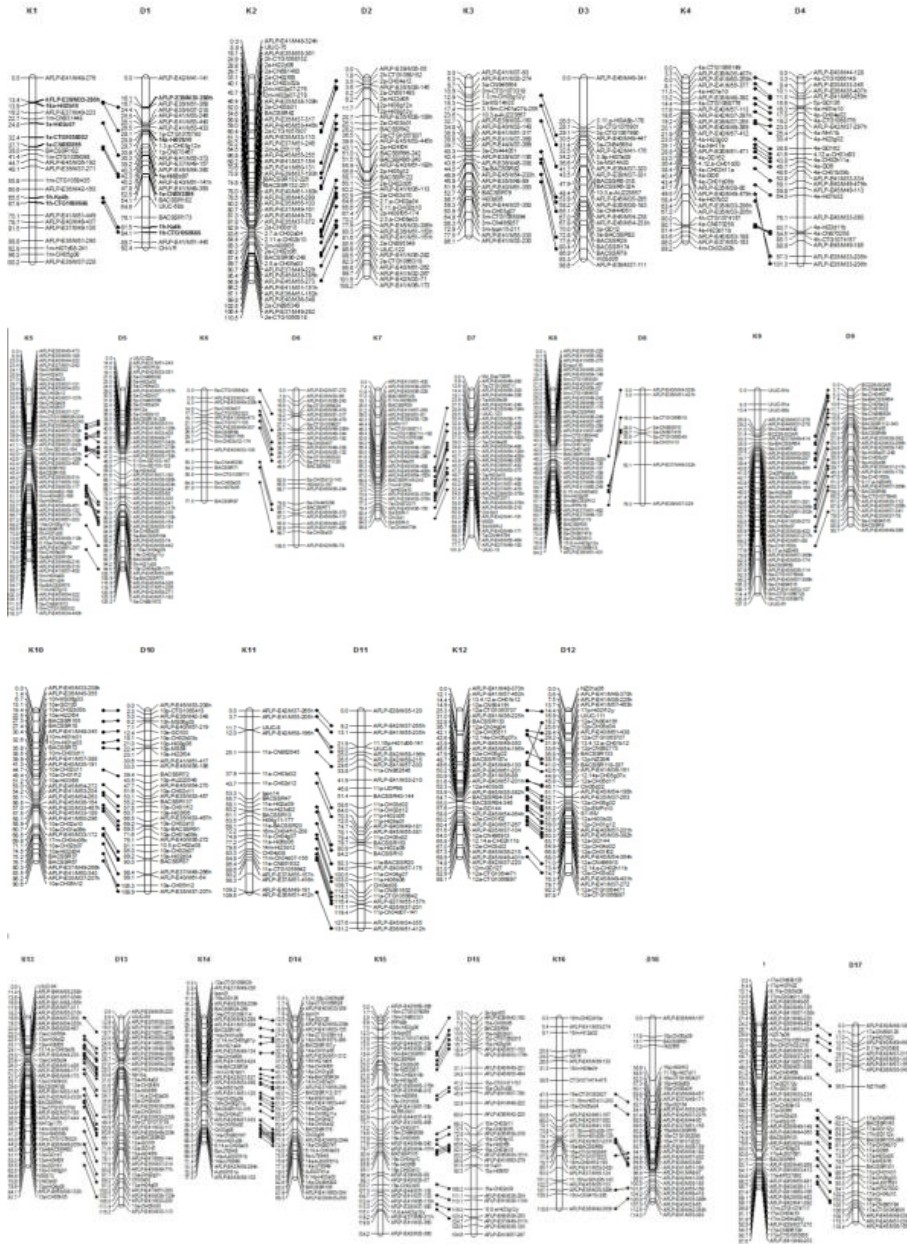
- Conner, P.J., Brown, S.K., Weeden, N.F., 1997. Randomly amplified polymorphic DNA-based genetic linkage maps of three apple cultivars. J. Amer. Soc. for Hort. Sci., 122: 350-359.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., 1987. A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin 19: 11-15.
- Faostat, 2015. Agriculture data [online]. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>.
- Fernandez, F.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.
- Grattapaglia, D., Sederoff, R., 1994. Genetic linkage maps of eucalyptus grandis and eucalyptus urophylla using a pseudo-testcross: mapping strategy and RAPD markers. Genetics 137: 1121-1137.
- Guilford, P., Prakash, S., Zhu, J.M., Rikkerink, E., Gardiner, S., Bassett, H., Forster, R., 1997. Microsatellites in *Malus x domestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification. Theoretical and Applied Genetics, 97: 249-254.
- Gianfranceschi, L., Seglias, N., Tarchini, R., Komjanc, M., Gessler, C., 1998. Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. Theoretical and Applied Genetics 96: 1069-1076.
- 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. of Experimental Botany*, 1-14.
- Hemmat, M., Weeden, N.F. and Brown, S.K., 2003. Mapping and evaluation of *Malus x domestica* microsatellites in apple and pear. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 128 (4): 515-520.
- Hokanson, S.C., Szewc-McFadden, A.K., Lamboy, W.F., McPerson, J.R., 1998. Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus x domestica* borkh. Core subset collection. *Theoretical and Applied Genetics* 97: 671-683.
- Hemmat, M., Weeden, N.F., Manganaris, A.G., Lawson, D.M., 1994. Molecular marker linkage map for apple. *J. Heredity* 85:4-11.
- Inoue, E., Matsuki, Y., Anzai, H., Evans, K., 2007. Isolation and characterization of microsatellite markers in Japanese pear *Molecular Ecology Notes*, 7: 445-447.
- Kafkas, E., Atasay, A., Sabır, F., Akgül, H., Uçgun, K., 2010. Effects of different irrigation intervals and fertilizer applications on certain biochemical contents of 'Breaburn' apple cultivar. *African J. of Biotechnology*, 8(10):2138-2142.
- 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.*, 13:593-597.
- Khan, M.A., Han, Y., Zhao, Y.F., Troggio, M., Korban, S.S., 2012. A Multi-population consensus genetic map reveals inconsistent marker order among maps likely attributed to structural variation in the apple genome. *Plos One* 7: 11.
- Kosambi, D.D., 1944. The estimation of map distances from recombination values. *Annals. Eugenics* 12: 172-175.
- Liebbard, 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. *Molecular Breeding* 10: 217-241.
- Liebbard, 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.
- Maliepaard, C., Alston, F.H., Arkel, van G., Brown, L.M., Chevreau, E., Dunemann, F., Evans, K.M., Gardiner, S., Guilford, P., Heusden, van A.W., Janse, J., Laurens, F., Lynn, J.R., Manganaris, A.G., Nijs, den A.P.M., Periam, N., Rikkerink, E., Roche, P., Ryder, C., Sansavini, S., Schmidt, H., Tartarini, S., Verhaegh, J.J., Ginkel, van- M.V., King, G.J., 1998. Aligning male and female linkage maps of apple (*Malus pumila* Mill.) using multi-allelic markers. *Theoretical and Applied Genetics* 97 (1-2) : 60-73.
- Naik, S., Hampson, C., Gasic, K., Bakkeren, G., Korban S.S., 2006. Development and linkage mapping of E-STS and RGA markers for functional gene homologues in apple. *Genome* 49: 959-968.
- Oddou-Muratorio, S., Aligon, C., Decroocq, S., Plomion, C., Lamant, T., Mush-Demesure, B., 2001. Microsatellite primers for *Sorbus torminalis* and related species. *Molecular Ecology Notes* 1: 297-299.
- Özçağırın, R., Ünal, A., Özeker, E., İsfendiyaroğlu, M., 2004. İlman İklim Meyve Türleri-Yumuşak Çekirdekli Meyveler. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Yayınları* 556, Cilt II: 7-9.
- Silfverberg-Dilworth, E., Matasci, C.L., Van de Weg, W.E., Van Kaaunen, 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 & Genomes* 2 (4) : 202-224.
- Şahinoğlu, A.R., 2011. Bazı elma çeşitlerinde soğuklama gereksinimlerinin saptanması ve subtropik koşullara uygunluğunun incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, 55s.
- Testolin, R., Marrazzo, T., Cipriani, G., Quarta, R., Verde, I., Dettori, M.T., Pancaldi, M., Sansavini, S., 2000. Microsatellite DNA in peach (*Prunus persica* L. Batsch) and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars. *ProQuest Health and Medical Complete* 43 (3) : 512.
- Van Ooijen, J.W., 2011. JoinMap 4.1, Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Kiyazma B.V., Wageningen, Netherlands.
- Voorrips, R.E., 2002. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *The Journal of Heredity* 93: 77-78.
- Vos, P., Hogers, L., Bleeker, M., Van De Lee, T., Hornes, m., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M., 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.

- Wang, A., Aldwinckle, H., Forsline, P., Main, D., Fazio, G., Brown, S., Xu, K., 2012. EST contig-based SSR linkage maps for *Malus x domestica* cv Royal Gala and an apple scab resistant accession of *M. sieversii*, the progenitor species of domestic apple. *Molecular Breeding* 29: 379-397.
- Yamamoto, T., Kimura, T., Shoda, M., Ban, Y., Hayashi, T., Matsuta, N., 2002a. Development of microsatellite markers in the Japanese pear *Mole*. *Eco.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.
- Zhang, Q., Ma, B., Li, H., Chang, Y., Han, Y., Li, J., Wei, G., Zhao, S., Khan, M. A., Zhou, Y., Gu, C., Zhang, X., Han, Z., Korban, S. S., Li, S., Han, Y., 2012. Identification, characterization, and utilization of genome-wide simple sequence repeats to identify a QTL for acidity in apple. *BMC Genomics* 13: 537.

Çizelge 1. SSR primerlerinin sayıları ve yararlanıldığı kaynaklar

No	Kaynak	Geliştirildiği Tür	Kısaltmalar	Test Edilen SSR Primer Çifti Sayısı
1	Guilford ve ark. (1997)	<i>Malus pumila</i>	NZ	14
2	Hokanson ve ark. (1998)	<i>Malus pumila</i>	GD	8
3	Testolin ve ark. (2000)	<i>Prunus persica</i>	UDP	1
4	Oddou ve ark. (2001)	<i>Sorbus torminalis</i>	MSS	9
5	Liebhard ve ark. (2002) ve Gianfranceschi ve ark. (1998)	<i>Malus pumila</i>	CH,MS	146
6	Yamamoto ve ark. (2002a)	<i>Pyrus pyrifolia</i> - <i>Pyrus communis</i>	BG,K,HG	9
7	Yamamoto ve ark. (2002b)	<i>Pyrus pyrifolia</i>	NH,NB	15
8	Hemmat ve ark. (2003)	Elma, Armut	GD	10
9	Fernandez ve ark. (2006)	<i>Malus pumila</i>	EMPC	19
10	Silverberg ve ark. (2006)	<i>Pyrus communis</i>	Hi,CN,AJ,AF,AU, U,Z	148
11	Inoue ve ark. (2007)	<i>Malus pumila</i>	IPPN	14
12	Han ve ark. (2009)	<i>Pyrus pyrifolia</i>	BAC	187
13	Han ve ark. (2011)	<i>Malus pumila</i>	CTG,CN	119
TOPLAM				699



Şekil 1. 'Kaşel37'(K) ve 'Delbarestivale' (D) çeşitlerinin bağlantı grupları.

Şekildeki sol kısımda yer alan rakamlar cM olarak markörler arası mesafeyi ifade etmektedir.