

Review: Some Molecular Breeding Issues at Genome Level in Fruit Species

Emine Orhan
Ataturk University, Faculty of Agriculture,
Department of Agricultural Biotechnology, 25240, Erzurum, Turkey
E-mail: eorhan@atauni.edu.tr

Abstract

The traditional plant breeding studies preferred for centuries are still widely used. Human beings started their first selection studies within the scope of plant breeding by making use of wild plant products in order to meet their nutritional needs. Later, the first growers have discovered foreign pollination to increase the yield of some agricultural crops. Thus, they could make improvements in the vegetative characteristics of new offspring individuals by hybridization by artificial pollination in different parent plants. With a better understanding of the science of genetics, crossbreeding studies were also important in order to obtain new individuals with desired features. Plant breeding studies have improved further in the 20th century, and the mechanisms for how to obtain new agricultural varieties with superior qualifications that will keep the desired characteristics are better understood. The rapid developments in the fields of quantitative genetics, mutation breeding, polyploidy breeding and plant tissue culture studies have formed the foundations of today's plant breeding issues. In parallel with the advances in gene cloning, direct gene transfer studies to plant tissues have also been successful. Gel, hybridization and expression systems; cell imaging by light and electron microscopy; With advances in molecular techniques such as high-density microarrays and sequencing, various areas of 'omics' such as genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics and phenomics have been contributed. In the 2000s, plant breeders focused more on genomic studies. Plant breeding studies are now planned with intense interest on genome-wide association studies and genome editing (genome design) studies. The aim of this study is to give brief information about some molecular breeding issues that are being carried out at the genome level in the breeding of perennial fruit species. Molecular maps in fruit breeding, selection approaches at the molecular level and the purpose of creating genetic maps based on marker-character relationship are briefly explained by presenting examples. Although there are many documents about fruit breeding issues in different titles and in very detailed contents around the world, it is important to present a summary of these issues with Turkish narration for those interested in fruit breeding in our country and to share which fruit breeding subjects are studied.

Keywords: Fruit breeding, Characterization, Molecular maps, Selection, Association maps

DOI: 10.7176/JSTR/6-08-08

Meyve Türlerinde Genom Düzeyinde Çalışılan Bazı Moleküler İslah Konuları

Özet

Yüzyıllar boyunca tercih edilen geleneksel bitki ıslahı çalışmaları hala yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsanlık, bitki ıslahı kapsamında ilk olarak beslenme ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla yabani bitkisel ürünlerden faydalanarak ilk seleksiyon çalışmalarına başlamıştır. Daha sonra, ilk yetiştiriciler bazı tarımsal bitkilerin verimini artırmada yabancı tozlaşmayı keşfetmişlerdir ve farklı ebeveyn bitkilerde yapay yollarla tozlaşma yaparak melezleme yoluyla yeni yavru bireylerde bitkisel özelliklerde iyileştirmeler yapabilmişlerdir. Genetik biliminin daha iyi anlaşılmasıyla, istenilen özelliklere sahip yeni bitkisel bireyleri elde etmek amacıyla melezleme çalışmaları da önemli olmuştur. Bitki ıslahı çalışmaları 20. yüzyılda daha fazla gelişme göstermiş olup istenilen özellikleri bulunduracak üstün niteliklere sahip yeni tarımsal çeşitlerin nasıl elde edileceği yönündeki mekanizmalar daha iyi anlaşılmıştır. Kantitatif

genetik, mutasyon ıslahı, poliploidi ıslahı ve diğer taraftan bitki doku kültürü çalışmaları konularında olan hızlı gelişmeler sonucunda günümüz bitki ıslahı konularının temelleri oluşmuştur. Gen klonlama konusunda ilerlemelere paralel olarak bitki dokularına doğrudan gen aktarımı çalışmalarında başarılı olunmuştur. Jel, hibridizasyon ve ekspresyon sistemleri; ışık ve elektron mikroskopisi ile hücre görüntüleme; yüksek yoğunluklu mikrodiziler ve sekanslama gibi moleküler tekniklerde olan gelişmeler ile genomik, transkriptomik, proteomik, metabolomik ve fenomik gibi 'omiklerin' çeşitli alanlarına katkıda bulunulmuştur. 2000'li yıllarda genomik çalışmalar üzerine daha fazla yoğunlaşmıştır. Artık genom çapında ilişki çalışmaları ve genom düzeltme (genom tasarlama) çalışmaları üzerinde yoğun bir ilgi ile bitki ıslahı çalışmaları planlanmaktadır. Bu çalışmanın amacı, çok yıllık meyve türlerinin ıslahında genom düzeyinde yapılmakta olan bazı moleküler ıslah konuları ile ilgili olarak kısa bir bilgilendirme yapmaktır. Meyve ıslahında moleküler haritalar, moleküler düzeyde seleksiyon yaklaşımları ve markör-karakter ilişkisine dayalı genetik haritaların oluşturulmasındaki amaçlar örnekler sunularak kısaca anlatılmıştır. Söz konusu meyve ıslahı konuları hakkında dünya genelinde farklı başlıklarda ve çok detaylı olarak hazırlanmış içeriklerde çok sayıda doküman mevcut olsa da ülkemizde meyve ıslahı ile ilgilenenler için Türkçe anlatımla bu konuların bir özetinin sunulması ve özellikle hangi meyve ıslahı konularının çalışıldığının paylaşılması önem kazanmıştır.

Anahtar kelimeler: Meyve ıslahı, Karakterizasyon, Moleküler haritalar, Seleksiyon, İlişkilendirme haritaları

1. Giriş

Bitki ıslahı, tarımsal açıdan yeni bitki çeşitlerini üretmek amacıyla başvuru geleneksel bir mekanizmadır (Anonymous, 2020a). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından yetkilendirilen küresel bir platform olan Bitki Islah Kapasitesinin Geliştirilmesi için Küresel Ortaklık Girişimi (GIPB) isimli organizasyona göre, "Bitki Islahı" insanlığın yararına bitkilerin genetik olarak iyileştirilmesi sanatı ve bilimidir. Bitki ıslahı çalışmaları, çoğaltılması istenilen bitkilerin seçilmesinden daha karmaşık moleküler tekniklere kadar birçok farklı teknik ve yöntemlerle yapılabilmektedir (Anonymous, 2020b). Bitki ıslahçılarının amacı, iyileştirilmiş özelliklere sahip tarımsal ürün üretmek için istenilen kalıtsal özellikleri yeniden birleştirmektir. Bitki ıslahçıları, günümüze kadar daha çok ekonomik değeri yüksek, verimli, zararlılara ve hastalık etmenlerine karşı dayanıklı, besin değeri ve organoleptik özellikler bakımından en iyi olan karakterler üzerine çalışmalar yapmışlardır. Bu karakterler dışındaki bitki türüne özgü birçok spesifik parametre ve seleksiyon kriterinin de ıslah hedefi olarak ele alınması gelecek ıslah çalışmaları için önem arz etmektedir (Xu 2010).

Genotipi bilmeden en iyi fenotipi seçen ve çoğaltan ilk tarımla uğraşan insanların çabalarından günümüze kadar oldukça uzun bir süre geçmiştir. Fernie ve Yan (2019)'a göre; İnsanoğlu ilk ıslah çalışmalarında germplasm kaynaklarından deneyimleyerek bitki materyallerini seçmiştir (M.Ö. 5000 yılları). Bitki ıslahının başlangıcı olarak ifade edilen bu dönemde bitkilerde fenotipik ölçümler ve değerlendirmeler yapılmıştır (seleksiyon, 1G). 1900'li yıllarda yeşil devrim kavramı ortaya çıkmış ve bu dönemde melezleme ıslahı (2G) kullanılmaya başlamıştır. Biyoteknolojik çalışmaların artış gösterdiği 1980'li yıllar ve sonrasında ise ikinci yeşil devrim adı verilen bir dönem ıslah çalışmalarına damga vurmuştur (biyoteknolojik bitki ıslahı, 3G). Bu dönemde bitki ıslah çalışmalarında transgenik çalışmalar, markör (belirteç) yardımcı seleksiyon ve genom düzenleme çalışmaları ön plana çıkmıştır. Artık günümüzde tasarlanan ıslah (genom düzeltme) olarak isimlendirilen bir bitki ıslahı kavramı ortaya çıkmış olup büyük veri ve bilgi odaklı tasarım söz konusu olmuştur (tasarlanan bitki ıslahı, 4G). Bu kavram ise, artış gösteren insan nüfusunu besleyebilmek adına daha etkili ve daha kısa sürede sonuçların alınmasına yönelik bir bitki ıslahı planlaması olarak değerlendirilmektedir.

Gübreleme, sulama gibi yetiştirme koşullarının iyileştirilmesi bir yana son yüzyıldaki tarımsal ürünlerdeki verim artışının nedeni olarak bitki ıslahı çalışmaları gösterilmektedir. Moleküler biyoloji gibi bitki ıslahı çalışmalarını destekleyen bilim dallarının hızla gelişme göstermesi sonucunda günümüzde bitki ıslahı çalışmalarına daha da fazla katkı sağlanıyor olması önem arz etmektedir. Bitki ıslahçıları, genetik varyasyonları tanımlamak ve/veya oluşturmak, varyasyonla ilgili genlerin genetik özelliklerini tanımlamak (yeri, fonksiyonu ve diğer genler ve çevre ile olan ilişkisi), ıslah popülasyonlarının yapısını anlamak, yeni alelleri veya allel kombinasyonlarını spesifik çeşitlerde veya melezlerde yeniden birleştirmek ve değişen çevre şartlarına adapte olmalarını sağlayıcı istenilen genetik özelliklere sahip en iyi yeni bireyleri seçmek gibi yaklaşımlarla donatılmış durumdadır.

Çok yıllık meyve türlerinde verim, meyve kalitesi, zararlılara ve hastalıklara dayanıklılık, hasat periyodu gibi birçok bitkisel karakteri klasik ıslah metodlarıyla çalışılması oldukça zordur. Böyle çalışmalar, uzun yıllar alır ve fazla işgücü gerektirir. Meyve türlerinde, yabancı tozlanma nedeniyle yeni jenerasyon bireylerde heterozigotluk derecesi yüksek olmaktadır. Ayrıca, meyve türlerinde tohumdan meyve verme

yaşına ulaşana kadar gençlik kısırlığı olarak ifade edilen uzun yıllar alan bir sürecin tamamlanarak fizyolojik olgunluğa ulaşılması gerekmektedir. Örneğin, Atay ve Atay (2018)'ında belirttiği gibi, amaca uygun yeni bir meyve çeşidi elde etmek üzere belirli özelliklere sahip ebeveynlerin klasik melezleme işlemine tabi tutulması ve aşamalı seleksiyon işlemleri sonucunda çeşit tesciline ve sertifikasyon işlemlerine kadar olan 25-30 yılı bulan oldukça uzun bir meyve ıslah sürecinden bahsetmek mümkündür. Kültürü yapılan önemli meyve türlerinin Dünya genelinde farklı sınıflandırma şekilleri mevcuttur. Örneğin; sistematik sınıflandırma (Cins ismi ve Tür ismi kullanımı; *Prunus avium*), iklim özelliklerine göre sınıflandırma (ılıman iklim, subtropik iklim ve tropik iklim meyve türleri), ağaç şekillerine göre sınıflandırma (ağaç, çalı, yarı çalı ve köken yapıda meyve türleri), meyve olgunlaşma dönemine göre sınıflandırma (erkenci, mevsimlik ve geçici meyve türleri), meyve ve çekirdek yapısı özelliklerine göre sınıflandırma (yumuşak çekirdekli, sert çekirdekli, sert kabuklu, üzüksü ve turuncgil meyve türleri), pazar şartlarına göre sınıflandırma (yerli ve standart meyve türleri), değerlendirme şekillerine göre sınıflandırma (sofralık, kurutulmuş, şıralık ve konservelik meyve türleri). Meyve ve çekirdek yapısı özelliklerine göre sınıflandırma en fazla kullanılan olup kültürü yapılan önemli meyve türlerine ait bu sınıflandırma şekli ve temsil eden meyve türleri **Çizelge 1**'de verilmiştir.

Çizelge 1. Kültürü yapılan önemli meyve türlerinin meyve ve çekirdek yapısı özelliklerine göre yapılan sınıflandırılma şekli

Sınıflandırma	Meyve Türleri
<i>Yumuşak Çekirdekli Meyve Türleri</i>	Elma, Armut, Ayva, Alıç, Muşmula, Kuşburnu, Üvez
<i>Sert Çekirdekli Meyve Türleri</i>	Kiraz, Vişne, Kayısı, Şeftali, Erik, Kızılcık, İğde, Hünnap, Karayemiş, Zeytin, Yenidünya, Hurma
<i>Sert Kabuklu Meyve Türleri</i>	Antep Fıstığı, Badem, Ceviz, Fındık, Kestane, Pikan cevizi
<i>Üzüksü Meyve Türleri</i>	Üzüm, Çilek, Dut, Ahududu, Böğürtlen, Maviyemiş, Frenk Üzümü, İncir, Muz, Trabzon Hurması, Nar
<i>Turuncgil Meyve Türleri</i>	Portakal, Mandalina, Limon, Turunç, Lime, Altıntop

2. Meyve Islahında Kullanılan Moleküler Markör Teknik ve Yöntemleri

Bitki ıslahında herhangi bir tür, çeşit veya genotipe ait herhangi bir karakterin göstergesi “markör (belirteç)” olarak ifade edilmektedir. Bu markörler arasında fenotipik markörler olarak da ifade edilen gözle görülen ve/veya ölçülebilen nitelikteki *morfolojik markörler* ile birlikte sitolojik düzeyde tespit edilebilen *kromozom markörler* ve ölçülebilir nitelikte bitki metabolik ürünlerinin tespitine yarayan *biyokimyasal markörler* sayılabilir. *Moleküler markörler* ise farklı genotiplere ait DNA nükleik asit diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya koyan DNA esaslı markörlerdir. DNA markörleri kullanılarak gerek populasyonlar arası ve bir populasyon içindeki ilişkiyi gerekse türler arası ve bir tür içindeki genotipler ya da çeşitler arasındaki ilişkiyi DNA nükleik asit diziliş düzeyinde “moleküler düzeyde karakterize etmek” mümkündür. Dolayısıyla, bitkilerde ilgilenilen önemli özelliklerin DNA seviyesinde genetik değişiminin incelenmesi konusu ise “moleküler bitki ıslahı” olarak ifade edilmektedir (Yıldırım ve Kandemir, 2002; Bernardo, 2008; Bawonpon 2014). **Çizelge 4**'de moleküler karakterizasyon ile ilgili bazı meyve türlerinde yapılmış çalışma örneklerine yer verilmiştir.

Dünya genelinde moleküler bitki ıslahı çalışan araştırmacılar tarafından moleküler markörlerin sınıflandırılması çok az farklılıklarla yapılmış olup artık günümüzde moleküler biyoloji ve biyoenformatikteki gelişmelerin sayesinde çok sayıda farklı yöntemlerin de dahil edildiği farklı sınıflandırmalara rastlamak mümkündür. Günümüzde moleküler bitki ıslah çalışmalarında en sık tercih edilen DNA ve mRNA düzeyinde tespitleri kolaylaştıran moleküler markör teknikleri ve yöntemlerini içeren bir sınıflandırma yapılmış olup bu sınıflandırma **Çizelge 2**'de sunulmuştur.

RFLP kısaltmasıyla bilinen **Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi**, **Southern Botlama** tekniğine dayanır ve DNA-DNA hibridizasyonu ile gerçekleştirilir. Çeşitli şekillerde etiketlenmiş prob olarak adlandırılan bir DNA parçasının araştırılan bir DNA örneğindeki benzer veya aynı dizilişteki DNA'ya melezlenebilmesini esas alan bir yöntemdir (Eldredge et al. 1992).

Çizelge 2. Meyve ıslahında kullanılan bazı moleküler markör teknikleri ve yöntemlerinin sınıflandırılması

Sınıflandırma	Temsil eden moleküler teknikler ve yöntemler
1. <i>Hibridizasyon esaslı moleküler markör tekniği</i>	RFLP (Southern Blotlama)
2. <i>PCR esaslı moleküler markör teknik ve yöntemleri</i>	
a. <i>PCR esaslı yaygın kullanılan temel moleküler markörler</i>	RAPD, AFLP, CAPS, SCAR, SRAP, SSCP
b. <i>Tekrar dizileri esaslı moleküler markörler</i>	SSR, cpSSR, mtSSR, ISSR
c. <i>Retrotranspozon esaslı markörler</i>	IRAP, REMAP, iPBS, RPIB
d. <i>mRNA esaslı moleküler markörler</i>	EST, SAGE, DD, RT-PCR, DDRT-PCR
3. <i>Sekans bilgisi gerektiren markör teknik ve yöntemleri</i>	SNP, DArT-Seq, DNA mikroarray
4. <i>Sekanslama yöntemleri</i>	Sanger, YNS (DTT, LS, PS, RT-S)

En yaygın kullanılan PCR esaslı temel moleküler markörler arasında yer alan **RAPD (Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)** tekniğinin temel prensibi, rastgele seçilmiş 9-10 bp uzunlukta tek bir oligonükleotidin ilgili türe ait genomik DNA üzerinde düşük bağlanma sıcaklığında tesadüfi olarak bağlanarak PCR (polimorfik zincir reaksiyonu) ile çoğaltma yapmasına dayanır (Korbin et al. 2002). **AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi)**, PCR ve RFLP kombinasyonu bir tekniktir. Çoğaltılan parçaların parmakizi bilgisini verir. İki restriksiyon enzimi ile genomik DNA kesilir. DNA parçacıkların her iki ucuna dizisi tanımlı olan ticari adaptörler bağlanır. Hedef adaptörlere ve bazı parçaların 3' ucuna tamamlayıcı olan primerler kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirilir (Lerceteau-Kohler et al. 2003). **CAPS (Bölünerek Çoğaltılmış Polimorfik Diziler)** tekniği, PCR-RFLP olarak da bilinir. PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleriyle kesimi sonucunda oluşan DNA fragmentlerindeki polimorfizimleri yansıtır. Primer dizaynı için gerekli olan dizi bilgisi ise gen bankası, genomik DNA, cDNA ya da klonlanmış PCR ürünlerinden sağlanır (Kunihisa et al. 2003). Temel PCR esaslı moleküler markörlerden birisi de **SCAR (Sekansı Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler)** tekniği olup bu teknik RAPD ve ISSR yöntemleriyle elde edilen bantlardan polimorfizm ifade eden bantların jel üzerinden çıkarılarak 3' sonlarındaki DNA zincirlerinin tespiti ve bunların daha uzun ve daha spesifik primerler şeklinde PCR reaksiyonlarında kullanılması esası ile yapılır (Marieschi et al. 2016). **SRAP (Sekansa Bağlı Çoğaltılmış Polimorfizm)** tekniği, açık okuma bölgelerini (ORF) hedef alan PCR temelli bir diğer markör sistemidir (Li et al. 2010). **SSCP (Tek İplik Konformasyon Polimorfizmi)** tekniği ise denatüre edici olmayan poliakrilamid jelde denatüre edilmiş tek iplikli DNA'yı ayırmak esasına dayanır. Tek iplikli DNA'nın elektroforetik hareketi, nükleotid dizisine bağlı olarak almış olduğu konformasyona göre değişiklik göstermektedir. Mutasyonlar sonucu oluşan farklı baz yer değişimleri farklı sekonder yapıların oluşumuna yol açabilmektedir (Luro et al. 2011).

Tekrar dizileri esaslı moleküler markör teknikleri arasında bulunan **SSR'lar (Basit Dizi Tekrarları/Mikrosatellitler)**, bitki genomlarında geniş bir dağılım gösterir. Bu tür tekrarlarla dayalı bilgiler türe özgü korunmuş alanlara sahip olduğundan bütün genomu daha doğru temsil etmektedir. Tekrarlanan bölgelere özgü bilgi veren spesifik primerler geliştirilmekte ve bu primerler ile PCR yapılmaktadır (Ganopoulos et al. 2011). **Organel mikrosatellitleri: (i) (cpSSR/kloroplast SSR);** Kloroplast genomunu karakterize eden daha az mutasyon oranından dolayı yeterli dizi varyasyonlarını saptamak güç olsa da cpSSR'ların kullanımında kolay genotipleme ile daha yüksek polimorfizm elde edilir. Populasyon genetik çalışmaları için çok yararlı ve popüler bir belirteç olarak değerlendirilirler. cpSSR'leri çekirdeksel (genomik) mikrosatellitlerden ayıran iki önemli özellik vardır. Birincisi, kloroplastların tek atasal olarak kalıtılması durumudur. İkincisi ise kloroplast kromozomuna tüm cpSSR lokusları bağlı olması nedeniyle rekombinant olmayan bir molekül olmasıdır (Zhen et al. 2007). **(ii) (mtSSR/mitokondriyal SSR);** Bitki mitokondriyal DNA'sı (mtDNA) çok dinamik olup 200-2500 kb boyutunda farklı sayıda tekrarlanan elementler ve intronlardan meydana gelir. mtDNA markörlerinin evrim oranı yavaştır. Bu nedenle populasyon genetiğinde çok sınırlı bir uygulama alanına sahiptir (Zhang et al. 2012). Diğer taraftan, **ISSR (Basit Dizi Tekrarlamaları Arası Polimorfizm)** tekniğinde, birbirine yakın bulunan SSR'lar arasındaki DNA dizileri çoğaltılır ve ortaya çıkan fragmentlerin uzunlukları karşılaştırılır. Teknik, 5' ve 3' sonda güçlendirilen kısa ve tekrarlanan DNA zincirlerinin primer olarak PCR reaksiyonda kullanılmasını, PCR ürünlerinin elektroforez ile büyüklüklerine göre ayrılmasını ve jel üzerinde DNA'ların tespitini içerir (Korbin et al 2002).

Retrotranspozon esaslı markör tekniklerinden birisi olan **Retrotranspozonlar Arası Çoğaltılan Polimorfizm** olarak ifade edilen **IRAP** tekniğinde, iki retroelement arasında ki DNA bölgesinin çoğaltımı yapılır. Bu teknik retrotranspozon polimorfizimlerinin belirlenmesini sağlar. Amaç DNA parmak izi oluşturmaktır. Bu teknikte uzun uç tekrarları sahip yapıların dış kısmından itibaren ilerleyen 1 veya 2 primer kullanılır (Biswas et al. 2010). **REMAP (Retrotranspozon-Mikrosatellit Arası Çoğaltılan Polimorfizm)** tekniğinde, bir uzun tandem tekrar (LTR) dizisi ve bununla birlikte bir mikrosatellite bağlanan primerler arasında ki bölgenin çoğaltımı yapılır. Bunun nedeni, genomda yer alan mikrosatellitlerin retrotranspozonlar ile ilişki içerisinde bulunmasından dolayıdır (Biswas et al. 2010). **İPBS (Primer Bağlanma Alanları Arası İlişki)** tekniğinde ise retrotranspozonların içerisinde buldukları konumları ile iç içe geçmiş, ters dönmüş veya kesilmiş durumda bulunabilme özelliklerinden faydalanılır. Böyle bir yapıda, mevcut bulunan iç kısımlar ile birlikte LTR (uzun tandem tekrar) dizileri sıklıkla bir diğer retrotranspozonun yanına yerleşmiştir ve bu dizide PBS (primer bağlanma alanı) dizileri sıklıkla diğer PBS'nin yanında yer almaktadır. Genom yapısında retrotranspozon varlığının fazla olduğu bölgelerde, diğer retrotranspozon yapıları ile birlikte bulunma ihtimalinden dolayı PBS dizileri kullanılabilir (Kuras et al. (2013). **RPİB (Retrotranspozon Esaslı İnversiyon Polimorfizmi)** tekniğinin temelini oluşturan RBIP markörlerinin geliştirilebilmesi için inversiyon bölgesinde dizi bilgisine ya da büyük genomik veri tabanına gereksinim duyulmaktadır. Bu teknikte retrotranspozon yapıya sahip olan bölgeler, bir LTR (uzun tandem tekrar) primeri ve tek-kopyalı DNA'yı sınırlayan bir primer ile çoğaltılabilmektedir (Amar and Salam 2013).

mRNA esaslı moleküler markör tekniklerinin en önemli temsilcisi olan **EST (İfade Edilen Dizi Etiketleri)** tekniği, cDNA klonlarının rasgele dizi analizi olarak da bilinir. Bu teknik, haritalama ve dizileme çalışmaları için uygundur. cDNA'lar ve mRNA'lardan elde edildikleri için belirli şartlarda ya da gelişimin farklı aşamalarında ifade edilen genlerin incelenmesine olanak sağlarlar (Wisniewski et al. 2008). **SAGE (Serial Analysis of Gene Expression/Gen İfadesi Seri Analizi)**, binlerce genin ifadesini aynı anda nicel olarak sorgulamak için kullanılan bir yaklaşımdır. Bir transkript içinde tanımlı bir konumdan türetilen kısa dizi etiketlerinin (10-11 bp), bu transkripti kesin olarak tanımlamak için yeterli bilgi içeren analizine dayanır (Chavan-Gautam et al. 2017). **DD (Differential Display/Diferansiyel Gösterge)**, polimeraz zincir reaksiyonu yoluyla farklı şekilde eksprese edilen mRNA'ları ayırmak ve klonlamak için bir yöntemdir. mRNA'ların alt kümelerini kısa cDNA'lar olarak görüntüleyerek hücrelerin mRNA bileşimlerini görselleştirir (Wilkinson et al. 1995). **RT-PCR (Reverse Transcription PCR)**, RNA'nın DNA'ya ters transkripsiyonu (cDNA) ve polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) kullanıldığı hedef DNA'ların amplifikasyonunun gerçekleştirildiği bir tekniktir. Gen ekspresyonunun analizi ve RNA ölçümü amacıyla rutin kullanılmaktadır. mRNA'ların, pre-mRNA'ların, kodlamayan RNA'lar gibi diğer RNA tiplerinin varlığını saptamak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Asif et al. 2000). **DDRT-PCR (mRNA Diferansiyel Görüntüleme Ters Transkripsiyon-PCR)** tekniği, transkripsiyon düzeyinde diferansiyel gen ekspresyonunu analiz etmek için tercih edilir. Farklı olarak eksprese edilmiş gen, gen klonlaması, hormon düzenleme uygulamaları ve kontrol mekanizması gibi uygulamalarda kullanılmaktadır (Wang et al. 2000).

Genom sekansının belirlenmesinde en yaygın olarak kullanılan ve **zincir sonlandırma yöntemi** olarak da adlandırılan **Sanger (Shotgun Sekanslama tekniği/Dideoksi)** tekniği ilk nesil sekanslama tekniğidir. Bu teknikte, bir kerede dizi analizi yapılamayacak kadar uzun olan DNA'lar önce küçük parçalara bölünür. Elde edilen her bir parça bir plazmit klonlanır ve klonlanan plazmitler tek tek sekanslanır. Bu sekansların (dizilerin) biyoformatik analizlerle bir araya getirilmesi ile uzun DNA parçasının dizisi elde edilir. **YNS (Yeni Nesil Sekanslama)**, DNA'yı oluşturan bazların (A,G,C,T) sıralarını yani DNA'nın şifresini belirleyen üst düzey bir genetik analiz yöntemidir. Yeni nesil dizilemede daha önceki tekniklerden farklı olarak, paralel birçok dizileme reaksiyonu aynı anda yapılarak yüksek hacimli ve hızlı sonuç alınmaktadır. Ayrıca, barkod yöntemi ile DNA parçalarının hangi örneğe ait olduğu kolayca takip edilmekte ve bu sayede aynı reaksiyonda onlarca örnek bir arada çalışılıp örnek başına maliyet düşürülmektedir. Dizilenecek olan DNA ilk önce parçalara ayrılarak bir veri oluşturulur. Bu parçaların uçlarına adaptör dizileri ve barkod dizileri eklenir. Adaptör dizileriyle katı yüzeye tutturulmuş olan tek zincir halindeki DNA parçalarına işaretli bazlar eklenerek diğer zincirin sentezi gerçekleştirilir. Her yeni bazın eklenmesi ile ortaya çıkan ışık, pH veya iyon dengesinin değişimi nedeniyle kimyasal ve foto sensörler hangi bazın eklendiği belirlenmekte ve kaydedilmektedir. Reaksiyon tamamlandığında bilgisayarda kompleks biyoformatik analizler yapılır. Bu sırada aynı bölgeyi kapsayan 10-20 adet dizileme reaksiyonu sonucu üst üste getirilmekte ve herhangi bir baz değişikliğinin olup olmadığı referans dizisiyle birebir kontrol edilerek ortaya çıkarılmaktadır. Hem kalitatif hem de kantitatif sonuç verebilen bir yöntemdir. Bu nedenle aynı anda hem mutasyon analizi hem de kromozomların sayısındaki artma veya azalma tespit edilebilmektedir. Yeni nesil sekanslama yöntemleri şunlardır: (i) **Döngüsel tersinir terminasyon (DTT) ile sekanslama**; nükleotid ekleme, floresan görüntüleme, eklenmemiş

nükleotidlerin yıkanması döngüsünden ibarettir. Eklenmiş nükleotidler kimliklendirilir. (ii) *Ligasyon ile sekanslama (LS)*; floresan işaretlenmiş bir prob primer eklenmiş kalıba komşu olan tamamlayıcı sekansa hibridize olur. (iii) *Pirosekanslama/Tek nükleotid ekleme ile sekanslama (PS)*; bir dizi enzimatik reaksiyonla inorganik fosfatı orantılı bir şekilde görünür ışığa dönüştürme esasında çalışır. DNA zincirindeki nükleotid sırasını DNA polimeraz enzimi tarafından sentezlenen yeni DNA zincirine nükleotid eklenmesi aşamasında belirleyen nükleotid dizileme yaklaşımıdır. (iv) *Real-Time sekanslama (RT-S)*; floresan işaretli nükleotidlerin sürekli olarak eklenmesini görüntüleyen bir yöntemdir (Kaya et al. 2014).

SNP'ler (Tek Nükleotid Polimorfizmi), genetik bir lokusta farklı alleller oluşturacak biçimde baz(lar)da meydana gelen nokta mutasyonların sebep olduğu polimorfizmlerdir. Teorik olarak bir lokustaki SNP dört bazdan birini bulunduracak şekilde, dört allel oluşturabilir. SNP'ler hem kodlayıcı hem de kodlayıcı olmayan DNA bölgelerinde meydana gelebilirler (Wells et al. 2015). **DArT Seq (Diversity Array Technology)**, *Çeşitlilik Dizileri Teknolojisi*, karmaşıklık azaltma ve yeni nesil dizileme platformunun bir kombinasyonunun kullanıldığı bir restriksiyon alan ilişkili SNP markörleri üretimine dayanır (Shams et al. 2019). Kapsamlı genom profilleri için uygun olup yüksek hacimli analiz, hızlı karakterizasyon, tek baz değişimleri ile indeks tespitine olanak sağlar. DArT genom profilleri güvenilir ve hassas fenotipleme sağladığı için bitki ıslahında, yetiştiricilerin bir hafta içinde QTL haritalamasını ve önemli olan faktöre odaklanmalarını sağlar (Huttner et al 2004; Jones et al. 2009). **DNA Mikroarray (DNA çipleri)** teknolojisinin temeli ise Northern Blotlama ve Southern Blotlama tekniklerine dayanır. Ancak; bu geleneksel metodlarla az miktardaki gen saptanabilirken mikroarrayler kullanımında binlerce gen sekansı eşzamanlı saptanabilmektedir. Hücre fonksiyonu ve gen ekspresyonu ilişkisini kullanır (Shimadaa et al. 2005).

3. Meyve Islahında Moleküler Haritalar

Bir bitkiden diğerine değişen farklılıklar bitkinin genetik materyali DNA da kodludur ve genetik çeşitlilik (polimorfizm) olarak ifade edilmektedir. Bitkilerin özelliklerini kontrol eden genler, her bir kromozomun spesifik bölgelerinde bulunmaktadır (Bawonpon 2014). Bir genin kromozomlar üzerindeki yeri, iki gen arası mesafe, genler arasındaki bağlantı mesafesi ve genlerin sıralaması genetik haritalama ile belirlenebilmektedir.

İlk geliştirildiğinde fenotipik karakterlerin değerlendirilmesiyle yapılan genetik haritalar artık moleküler markörler kullanılarak daha etkin olarak kullanılmaktadır. Moleküler markörler kullanılarak yapılan genetik haritalar, daha sonra genetik markörler olarak da kullanılabilir nitelikte olup büyük genleri bulmak için de kullanılabilir (Xu 2010; Bernardo et al 2008). *Genetik haritalar*; 1913 yılında Sturtevant, genlerin kromozomlar üzerinde çizgisel biçimde yerleşmiş olduğunu saptamış olup *crossing over* (rekombinasyon) olayı ile meydana gelen iki gen arasındaki parça değişimi sıklığının, bunların bir kromozom üzerindeki konumlarının saptanmasına yardımcı olabileceğini ileri sürmüştür. Çeşitli özelliklerin ne sıklıkta birlikte kalıtıldıklarına bakarak genler arası mesafe tahmin edilebilmektedir ve "bağlantı haritası" şeklinde kromozom üzerindeki genlerin birbirlerine göre nerede oldukları gösterilebilmektedir. Aynı kromozomda bulunan genler, bağlantılı genler (linkage genes) olarak ifade edilmektedir. Bağlantılı genler arasındaki mesafe ne kadar az ise, bu genlerin birlikte kalıtılma olasılığı o kadar fazladır. Diğer taraftan, *fiziksel haritalar* ile bir kromozom üzerinde bilinen belirli DNA dizilimleri arasındaki fiziksel mesafenin tespiti mümkündür. Bu mesafenin ifade edilmesinde baz çiftlerinin sayısı ölçüt olarak kullanılmaktadır. Fiziksel haritalama, kromozomlarda aynı doğrusal sırada bulunan ve sürekli örtüşen klonlanmış DNA fragmanlarından oluşan fiziksel bir haritanın oluşturulmasını gerektirir (Zhang and Wing 1997; Brown 2002; Meyers et al. 2004; Lolle et al. 2005).

Çok sayıda agronomik karakterin çalışılmasında, *Kantitatif Karakter Lokuslarına (QTL)* dayalı haritaların oluşturulması önemlidir. Bitki boyu, verim, hastalığa direnç gibi karakterler kantitatif karakter lokus(lar)ı ile kontrol edilmektedir. Kantitatif nitelikte bir karakteri etkileyen bir yada çok sayıda lokus genomda bir yada çok sayıda yere lokalize olmuş olabilir. Bitki ıslahında QTL haritaları (QTL mapping) oluşturulması; kromozomal bölgelerin tespiti ve elit bir varyetede aranan QTL bölgesinin araştırılması olmak üzere iki amaçla yapılmaktadır. Bir QTL haritalama işlemi sıralanan şu adımlarda gerçekleştirilir: (1) haritalama popülasyonu oluşturulur (F₂, DH, NIL, RIL, BC), (2) polimorfik markörler ile genotipleme yapılır, (3) bağlantı haritaları oluşturulur, (4) fenotipleme yapılır (alanda izleme), (5) QTL analizleri yapılır (Fenotipik karakterler ile markörler arasındaki ilişkinin tespiti). Majör ve minör QTL'ler tanımlanır. Hangi kromozomda oldukları ve bir kromozom üzerinde lokalize oldukları yer tespit edilir (Bawonton 2014).

QTL haritalama çalışmaları, tek-markör esaslı ve bağlantılı iki-markör esaslı yaklaşımlarla başlamış olup çoklu-markör esaslı yaklaşımlar ve son yıllarda ise tüm-markörler esaslı olarak da ifade edilen tüm genom (whole genome) yaklaşımlarıyla yapılır olmuştur. Biparental (iki ebeveynli) hatlardan oluşturulan

basit ve iyi karakterize edilmiş bir F2 popülasyonu veya bir RIL (rekombinant izogenik hat) popülasyonu kullanılmıştır. Günümüzde ise, birden fazla ebeveynden oluşturulan popülasyonlar veya rastgele seçilmiş materyallerin dahil edildiği popülasyonlar kullanılmaktadır. Dünya genelinde yapılan çalışmalar sayesinde, daha fazla popülasyonun değerlendirilmesiyle QTL haritalarının bilgi birikimi artış göstermiştir. Böylece, meta-analiz, birleştirilmiş havuz analizi ve in-silico haritalama amacıyla mevcut tüm verilerin kullanılması giderek daha önemli hale gelmiştir. Artık, QTL haritalamasında tek bir özelliğe dayalı analizden aynı anda birden fazla özelliğin veya hatta binlerce ifadenin (karakterlerin) entegre analizine geçilmiştir. Triploid endospermiler ve farklı gelişim aşamalarındaki dinamik özellikler dahil olmak üzere bazı spesifik özellikler için yöntemler ve epistaz ve çevre ile genotip etkileşiminin dahil olduğu karmaşık genetik etkiler için de yöntemler geliştirilmiştir. Üstelik karmaşık özelliklerin genetik tespitinde karşılaşılabilecek hemen hemen tüm karmaşık durumlar için istatistiksel yöntemler geliştirilmiştir (Xu 2010).

Bununla birlikte, çoğu yöntem hala teori aşamasında kalmış olup pratikte tüm gereksinimleri karşılayabilecek genel bir yöntem mevcut değildir (Xu 2010). Örneğin, basit özellikler için daha basit yöntemler kullanılabilir gibi; çok sayıda parametrenin tercih edileceği ve çeşitli ortamlarla etkileşimli planlanacak karmaşık özellikler için ise modelleme veya simülasyon kullanılabilir. Sonuç olarak, karmaşık özelliklerin tespit edilmesinde uygulanan QTL haritalamasında, sürekli araştırma çabaları, genetik ve ıslah materyalleri (popülasyonlar, yapılandırılmış materyaller), moleküler markörler (sekanslar ve genler) ve çeşitli bilgi ve materyallerin birbirleriyle entegre kullanımına dayalı yapılması zorunlu olacaktır. Bitki ıslahı programlarında agronomik açıdan önemli birçok özellik için farklı çevresel ortamlardaki çoklu, ilişkili ve ilişkisiz melezlerden türetilen binlerce ıslah hattını değerlendirilebilmektedir. Artık, DNA sekanslayıcılar, DNA mikroçipleri, protein çipleri gibi fazla sayıda datanın kısa sürede alındığı sistemlerin kullanılması önem kazanmıştır. Klasik QTL haritalama çalışmalarının mevcut sınırlamaları, soyağacı tabanlı ve/veya haplotip esaslı QTL haritalama yaklaşımları ile aşılabilecek durumdadır (Jannink et al. 2001; Jansen et al. 2003). Karmaşık özelliklerin moleküler tespiti hem bağlantı hem de LD-tabanlı (linkage disequilibrium) bağlantı dengesizliği yöntemlerinin kullanımı ile başarılı bir şekilde sonuçlanacaktır. Bitki ıslahı programlarında QTL haritalaması amacıyla planlanacak çalışmalarda önemli olan hususlardan birincisi soyağacı bilgisi ve fenotipik verilerin toplanması olup ikinci önemli husus ise geniş germplasm kaynağında bulunan elit materyallerde mevcut en iyi allellerin tespitine olanak sağlayan tam bir QTL varyasyon örneklenmesinin yapılmasıdır (Manenti et al. 2009; Myles et al. 2009).

Çok yıllık, yabancı tozlanma gösteren meyve türlerinde genetik haritalama çalışması planlandığında, birbirinden farklı iki genotipin melezlenmesinden elde edilen F1 popülasyonu kullanılmaktadır. Her iki ebeveyn için ayrı bağlantı grupları yapılır. Ancak, önemli lokuslar açısından her iki ebeveynde de segregasyon yani açılım gösteren allellerle yapılan bağlantı haritalama çalışmaları problemler teşkil edebilmektedir. F1 hattında dört farklı segregasyon tipi meydana gelebilir. Bu durum haritalama etkinliği için bir sorun oluşturduğu için şuana kadar “Pseudo-Test Cross” metodu daha çok tercih edilmiştir.

Meyve ağaçlarında genetik haritalamanın kısa dönemde amacı, önemli bitkisel özellikler açısından erken seleksiyona izin verebilecek markörler (MAS) geliştirmektir. Geliştirilen markörler seleksiyon yapılacak karakteri kontrol eden gen(ler)e mümkün olduğunca bağlantılı olmalıdır (<5cM). Markör bir karakteri kontrol eden gene ne kadar yakınsa, rekombinasyonla markör ve genin birbirinden ayrılma ihtimali de bir o kadar düşüktür. Seleksiyon yapılacak popülasyon ebeveynlerinin en az birisi söz konusu markör ve karakter lokusları için heterozigot yapıda olmalıdır. Meyve ağaçlarında genetik haritalamanın uzun dönemde amacı ise, harita temeline dayalı olarak önemli bitkisel karakterleri kontrol eden genleri klonlamaktır. Bu amaç, öncelikle çok yüksek çözünürlüğe sahip olan boşlukların olmadığı genetik bağlantı haritalarının elde edilmesine bağlıdır.

Meyve ağaçlarında heterozigotluktan dolayı “saf hatlar” ebeveyn olarak kullanılmazlar, çok uzun yıllar geçmesi gerekir. Cinsler arası, türler arası (intergenic) ya da tür içi (intragenic) olmak üzere genetik olarak farklı iki ebeveyn kullanılmaktadır. Ebeveynlerden birisinde kromozom iptalleri, kromozomun bir parçasının ters çevrilmesi veya bir kromozom parçasının başka bir kromozoma taşınması gibi farklı kromozomal yapılar gözlenebilir ve böyle bir durumda öncelikle her iki ebeveyn için ayrı ayrı bağlantı grupları oluşturulur. Ortak kromozom grupları yapılır. Meyve ağaçlarında genetik olarak haritalanan genler, genellikle meyve ve ağaç özelliklerini kontrol eden genler ile biyotik ve abiyotik nitelikte stres faktörlerine dayanıklılık sağlayan genler olmuştur. Çok yıllık meyve türlerinde, ıslah çalışmaları kapsamında kantitatif karakter lokuslarının (QTL) çalışılması ve tüm genom seviyesinde genotiplendirme çalışmaları, DNA esaslı moleküler markör teknikler ve biyoenformatikteki gelişmelerin de katkısıyla artık daha etkin hale gelmiştir. Moleküler düzeyde meyve ıslahı çalışmaları arasında bağlantı haritalarının esas alındığı genom seviyesinde çalışmalar da yer almaktadır. Moleküler markörler ve fenotipik özellikler arasındaki ilişkinin tespiti amacıyla bağlantı haritaları ve ilişki haritaları

kullanılmaktadır. **Çizelge 4**'de bazı meyve türlerinde kantitatif karakter lokuslarının çalışıldığı bazı örneklere yer verilmiştir.

3.1. Bağlantı (Linkage) Haritaları:

Bağlantı haritalama kantitatif kalıtım gösteren fenotipler ile markörler arasındaki bağlantıyı tespit etmekte kullanılır. Bağlantı haritalarının yapılabilmesi için haritalama popülasyonlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bunlar F₂, F₃, rekombinant kendilenmiş hatlar (recombinant inbred lines, RIL), katlanmış haploid hatlar (double haploid, DH) gibi popülasyonlardır. Maksimum benzerlik (maximum likelihood) veya regresyon analizi kullanılarak, interval haritalama (interval mapping-IM), birleşik interval haritalama (composite interval mapping-CIM) ve çoklu interval haritalama (multiple interval mapping-MIM) gibi modellerle ilgilenilen fenotipik özellik ve markör arasındaki ilişki tespit edilmektedir (Semagn et al. 2010). Bağlantı haritalamada kullanılacak popülasyonların geliştirilmesi zaman almakta ve yoğun işgücü gerektirmektedir. Bağlantı analizlerinde çok sayıda örneğin değerlendirilme ve oluşturulma maliyeti ile haritalama popülasyonunun eldesi sırasında meydana gelen rekombinasyonun sınırlı sayıda olması bağlantı analizlerinde QTL'lerin çoğunlukla 10-20 cM aralığında lokalize olmasına yol açmaktadır (Doerge 2002; Holland 2007).

Bağlantı haritalarının oluşturulabilmesi için haritalama popülasyonları gerekli olup bunun için temelde iki yola başvurulmaktadır. Birincisi; bir tür içerisindeki bireylerden faydalanılmasıdır. İkincisi ise akraba türler arasındaki melezleme çalışmalarından elde edilen bireylerden faydalanılmasıdır. Bitkilerde haritalama popülasyon tipi bitkinin üreme şekline bağlıdır; (i) Kendine döllek: kendilemeye (inbreeding) duyarlı olan türlerdir. F₂ popülasyonu, rekombinant kendilenmiş hatlar (inbred) kullanılır. (ii) Yabancı döllek: kendi çiçek tozlarıyla uyumsuzluk problemi vardır. Yabancı tozlanma olmalıdır. F₁ popülasyonu kullanılır. Bu üreme şekillerinin her ikisinde de geri melez, double haploid yöntem tercih edilebilmektedir. **Çizelge 5**'de bağlantı haritalama ile ilgili bazı meyve türlerinde yapılmış çalışma örnekleri verilmiştir (Xu 2010).

Haritalama popülasyonunun oluşturulmasında önemli olan üç faktör aşağıda kısaca ifade edilmiştir (Xu 2010).

- **Ebeveyn seçimi:** DNA polimorfizmi, saflık/heterozitotluk, dölleme kabiliyeti, sitolojik özellikler dikkate alınmalıdır.
- **Popülasyon boyutu:** Harita popülasyonu büyüdükçe, genetik haritanın doğruluğu da artar.
- **Popülasyon seçimi:** Farklı popülasyon tipleri bağlantı haritalarında kullanılabilir.

Bağlantı haritaları oluşturmak için kullanılan popülasyonlar ve hatlar aşağıda sıralanmıştır (Xu 2010);

F₂ popülasyonları: F₁'lerin kendilenmesiyle oluşturulur. F₂ bitkileri genetik materyalin yeniden rekombine edildiği mayoz ürünleridir. Her kodominant markör için beklenen açılım oranı 1:2:1 şeklindedir.

Rekombinant kendilenmiş hatlar (RILs=Recombinant Inbred Lines); Çeşitli ıslah prosedürleri ile üretilebilirler. Birçok jenerasyon F₂ 'lerin kendilenmesiyle oluşur. Bu, homozigotluğa ulaşmak için yapılır. Rekombinant kendilenmiş hatlar ile tekrarlı çalışmalar yapmak mümkündür ve birçok araştırma grubu tarafından ortak kullanılabilir.

Geri Melez Popülasyonlar (BC=Back-Crossing Populations): Verici nitelikte bir ebeveynin spesifik DNA fragmentlerini, alıcı nitelikte bir diğer ebeveynle melezlemeye tabi tutulması ve sonraki adımlarda alıcı nitelikteki ebeveyn ile geri melezleme işleminin devam ettirilmesi sonucunda elde edilirler. Her geri melezlemede verici genomun bilgisi %50 azalış gösterir. Moleküler markörler, bu işlemin izlenmesinde ve hızlı sonuç alınmasında yardımcı olmaktadır.

Yakın izogenik hatlar (NILs=Near-Isogenic Lines); birbirini takip eden geri çaprazlama ürünüdür. Bir-iki lokus haricinde genomlarının her yeri aynı olan hatlara denilir. Markör seleksiyonu yardımıyla birkaç jenerasyon geri melezleme yapılarak elde edilirler.

Katlanmış Haploid Hatlar (DHs=Double Haploids); Haploidler, n sayıda kromozom setine sahiptirler ve tabiatla kendiliğinden meydana gelebileceği gibi yapay olarak laboratuvar şartlarında da elde edilebilirler (Anter ve mikrospor kültürleri/Bulbosum tekniği). Haploid hatların kromozom sayısının ikiye katlanmasından üretilen diploitlere (2n) ise double (çift) haploidler denir. Bu katlanmış haploid hatlar ile kesin homozigot saf hatlar elde edilebilmektedir.

3.2. İlişki haritalama (Association Mapping):

Bağlantı haritalama çalışmalarında kullanılan populasyon iki ebeveynin melezlenmesi ile elde edildiğinden genetik varyasyon kısıtlı olurken, ilişki haritalamada genellikle çok sayıda jenerasyondan oluşan populasyon kullanılması nedeniyle genetik varyasyon çok fazla olmaktadır. İlişki haritalama isimli yöntem, farklı lokuslardaki allellerin “Bağlantı Dengesizliğine (LD, Linkage Disequilibrium)” dayanan kantitatif özelliklerin haritalanması ve bu kantitatif özellikler ile markörler arasındaki ilişkinin belirlenmesi için geliştirilmiş olan güçlü ve etkili bir yöntemdir.

İki ebeveynli haritalama olarak bilinen bağlantı haritalaması, 20 yılı aşkın bir süredir çeşitli bitki türlerinde bağlantıyı incelemek için kullanılan klasik bir haritalama tekniği olsa da (Holland 2007), bazı bitki türlerinde QTL haritalamanın sınırlamalarından dolayı bağlantı dengesizliği (LD) esaslı ilişkilendirme haritaları daha fazla tercih edilmiştir (Goldstein and Weale 2001; Gupta et al. 2005; Nadeem et al. 2018). “Bağlantı dengesizliği (LD)” farklı lokuslarda allellerin rasgele olmayan birleşmesi olarak bilinir. İlişkilendirme haritalamasının genel metodolojisi, geniş bir genetik çeşitliliğe sahip doğal bir popülasyondan bireylerin seçilmesini içerir. Yıllardır, tam ve kesin fenotipleme, tercihen farklı lokasyonlar ve farklı çevresel şartlarda ilgilenilen çeşitli karakterler için gerçekleştirilmektedir. Uygun markörlerle genotiplendirdikten sonra, popülasyonların yapısı ve akrabalıkları belirlenmektedir. Son olarak, fenotipleme ve genotipleme verileri bazı istatistiksel yazılım programları kullanılarak ilişkilendirilir. GOLD (Abecasis and Cookson 2000) ve TASSEL (Bradbury et al. 2007), LD'nin yapısını ve düzenini tanımlamak amacıyla en yaygın kullanılan yazılım uygulamalarıdır. İlişki haritalama iki kategoride değerlendirilir: (i) aday gen esaslı ilişki haritalama, (ii) genom çapında ilişki haritalama. İlişki haritalama ile ilgili olarak bazı meyve türlerinde yapılmış çalışma örnekleri Çizelge 5’de yer almaktadır.

4. Meyve İslahında Moleküler Düzeyde Seleksiyon Yaklaşımları

Bir meyve ıslahı programında moleküler markörlerin kullanımı ile farklı seleksiyon stratejileri esas alınabilmektedir. Temelde markör destekli seleksiyon (MAS/marker assisted selection) ve genomik seleksiyon (GS/genomic selection) olmak üzere iki moleküler seleksiyon stratejisi bulunmaktadır. MAS’ta hedef karakterlerle ilişkili markörler esas alınırken, GS’de tüm genomu kapsayan tüm markörler esas alınmaktadır.

Moleküler düzeyde bir seleksiyon programı oluşturabilmek için, klasik bitki ıslahı yöntemlerinin bilgisi yanında genetik çeşitlilik analizleri, gen fonksiyonu analizleri, markör destekli seleksiyon, genomik seleksiyon ve genom çapında ilişki analizleri (GWAS/genome-wide association) gibi moleküler bitki ıslahı bilgisine de ihtiyaç vardır. Doğal yada yapay olarak oluşturulmuş bitki populasyonlarında fenotipleme, genotipleme ve çevresel faktörlerin birlikte değerlendirildiği seleksiyon stratejileri önem arz etmektedir. Fenotipleme; verim, kalite, biyotik ve abiyotik koşullara dayanıklılıkla ilişkili ya da tarımsal değeri etkilemesi düşünülen çeşitli girdilerin kullanım verimliliğini tespit etmek amacıyla geniş çaplı ve çoklu bölgesel nitelikte planlanır. Genotipleme; çekirdeksel materyal DNA’dan faydalanılarak çip esaslı değerlendirme, sekanslama ile genotipleme (GBS/genotyping by sequencing), yada transkriptomik ve proteomik analizler şeklinde planlanabilmektedir. İleve olarak, “e-typing” (environmental typing) olarak da ifade edilen çevresel faktörlerin (su, ışık, sıcaklık, toprak, gübreleme), fenotip ve genotip üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği bir strateji adımı önem kazanmış olup çok sayıda bitki türünde seleksiyon çalışmalarına dahil edilmektedir.

Son yıllarda “Tüm Genom Stratejileri” başlığı altında yer alan MAS ve GS esaslı olarak programlanan meyve ıslahı çalışmaları önem kazanmış durumdadır. Tüm genom stratejileri, tüm genom seviyesinde bitki moleküler ıslahı için gerekli olan araçları ve metodolojilerin tamamını tanımlar (Xu et al. 2012). Bu stratejiler; (i) Tüm germplazm bireyleri için bütün genomik dizileri, (ii) Önemli genomik bölgeler, genler ve fonksiyonel allelleri kapsayan moleküler markörleri, (iii) Farklı hedef karakterler için farklı çevre koşullarında ölçülen yüksek tahminli fenotiplendirme sistemini, (iv) Genleri, genotipleri ve tüm bitki performansını etkileyen çevresel faktörlerle ilgili bilginin bütünleştirilmesini kapsar. Tüm genom stratejilerinin nihai hedefi, istenilen fenotipler/ıslah ürünleri için, en iyi genotip, gen, allel ya da haplotip kombinasyonlarını, spesifik genomik bölgelerini tespit etmede yardımcı olmaktır. Populasyon boyutu, genom büyüklüğü ve markör sayısı önemlidir.

4.1. İlgilenilen Gen(ler) için Markör Destekli Seleksiyon (MAS)

Markör destekli seleksiyon (MAS), hedef lokusla sıkı ilişkide olan DNA markörlerinin kullanımını esas alır. Fenotipi izleme ya da seleksiyon amaçlı kullanılır. İslah süresini kısaltarak erken jenerasyonlarda seleksiyona olanak sağlar. İstenilmeyen gen kombinasyonları erkenden ıslah programından çıkarılmış olur. Özellikle bitki hastalıklarına dayanıklılık ile ilgili ıslah çalışmalarında MAS kullanımı ile hassas olan bireyler programdan çıkarılarak zaman ve işgücünden tasarruf edilmiştir (Ribaut et al. 2010; Xu 2010; Xu et al. 2012; Bawonton 2014 Collard and Mackill, 2008).

Bitki ıslahçıları genellikle, gözle görülebilir ölçülebilir karakterleri esas alarak fenotipik değerlendirme ile amaçlarına uygun olan bireyleri seçmişlerdir. Bu işlem birçok bitki türünde oldukça zor bir işlem olarak ortaya çıkmaktadır. Çiçek rengi gibi bazı karakterler sadece tek bir gen tarafından kontrol edilirken; verim, kalite yada besin değeri gibi bazı kompleks karakterler ise birden fazla gen tarafından kontrol edilmektedir ve uzun süren ve fazla işgücü gerektiren ölçümler gerektirmektedir. Diğer taraftan, fenotipik karakterler çevre tarafından etkilenmektedir ve sonuçlar değişiklik gösterebilmektedir (Genler + Çevre = Fenotip).

Moreux (2011)'de, fenotipik değerlendirme yerine moleküler markörlerin kullanıldığı MAS çalışmalarının bazı avantajlar sağladığı ifade edilmiştir. Bunlar;

- Erken seleksiyona olanak sağlama (çöğür/tohum aşamasında bile çalışılabilir)
- Maliyeti azaltma (daha az bitki/daha az zaman gerektirir)
- Vejetasyon süresini kısaltma (Şayet bir gen resesifse çiçeklenme sonrası gözlenebilir. Heterozigot bitkilerin seçiminde kolaylık sağlar)
- Islah çalışmalarının etkinliğini artırma (kompleks karakterlerde)

Moleküler meyve ıslahında DNA esaslı moleküler markörlerin kullanıldığı alanlardan biri olan MAS çalışmalarında bazı ıslah stratejileri tercih edilmektedir. Bunlar arasında; MABC, MARS ve MAP yer almaktadır. **Çizelge 4'**de markör destekli çalışma örneklerine yer verilmiştir.

MABC (Markör destekli geri melezleme): Hedeflenen karakteri geliştirmek için (amaca uygun karakter bakımından) üstün özellikli elit bir ıslah hattına bir ya da birden fazla gen ya da QTL'nin transferine olanak sağlanmış olur. Geri melezleme (BC/Back crossing) ıslahında iki seleksiyon şekli kullanılabilir: (i) *İleri seleksiyon (foreground selection)*; hedef geni taşıyan bireylerin seçimine yardımcı olur (sıkı ilişkide bağlı markörler kullanılarak), (ii) *Geri seleksiyon (background selection)*; tekrarlayan ebeveyn genomunu tespit için kullanılır ve elit olan bireyleri tespit etmede fayda sağlar (Bawontton 2014).

MARS (Markör destekli tekrarlamalı seleksiyon): Çok sayıda minör QTL (20-30 QTL) tarafından varyasyon kontrol edildiğinde MABC uygulaması sınırlanır ve MAP uygulaması ise çok zorlaşır. Bu durumda MARS etkili bir strateji olarak tercih edilir ve kompleks karakterlerin çalışılmasında yararlıdır. Popülasyondaki istenilen markör allellerinin frekansını artırmada etkilidir. MARS şunları kapsar: (i) F2 ya da F2'den türetilmiş bir seleksiyon indeksi tanımlama, (ii) seçilen bireylerin kendilenmiş döllerinin rekombine edilmesi, (iii) bu işlemin çok sayıda tekrarı. Bawontton (2014), markör destekli tekrarlamalı seleksiyon adımları şu şekilde sıralanmaktadır: 1. aşama; MAS aşamasıdır. F2 oluşturulur, F2'de test melezi uygulaması yapılır. Çoklu çevre şartlarında hatlar değerlendirilir. "Multiple linear regrasyon" kullanılarak önemli karakterlerle ilişkili bir indeks oluşturulur ve en iyi olanlar rekombine edilir. 2. aşama; Örtü altında seleksiyon ya da fidanlıklarda açıkta seleksiyondur.

MAP (Markör destekli piramitleme): Islah amacını karşılayan birden fazla genin/kantitatif karakter lokusunun (QTL'leri) tek bir genotipte kombin edilmesi işlemidir. Klasik ıslah ile yapılabilsede oldukça zordur ve erken jenerasyonlarda sonuç alınması mümkün olmayabilir. Moleküler markörlerin kullanılması ile amaca uygun karakterlerin erkenden tespiti mümkün olacağından ıslah programını kolaylaştırabilir. Fenotipik değerlendirmeye gerek kalmadan etkin DNA esaslı markörlerle tespit mümkündür. Örneğin, birden fazla hastalık etmenine dayanıklılık ile ilişkili kantitatif karakter lokuslarına yönelik tespit çalışmaları (Bawontton 2014).

4.2. Genomik Seleksiyon (GS)

Büyük bitki ıslahı programları/popülasyonları için tercih edilen yeni bir yaklaşımdır. Tüm genom düzeyinde moleküler markörler kullanılır. Fenotipik bilgi ile markör bilgisi birleştirilir. Islah çalışmasının doğru tahmini ve genotipik değerlerin doğruluğunu artırmak için etkin ıslah amaçlı önemlidir. Geleneksel MAS programında kullanılan QTL tanımlama yerine her bir bireyin ıslah değerini tahmin etmek için kullanılır ve aşağıda sıralanan avantajları sahiptir (Bawontton 2014).

- Yüksek yoğunlukta moleküler markör gerektirir (LD seviyesi)
- Tüm markörlerin birlikte etkilerini kapsar (ilave varyasyon kazanımı)
- Markör etkileri öncelikle tahmin edilir (Training population; yeterli büyüklükte deneme popülasyonu (300'den fazla)).

d) Islah değeri her genotipte test edilir (Testing population; tahmini markör etkileri kullanılan test popülasyonu)

Genomik seleksiyon, genomun bölgesel çalışılmasına olanak sağlayan markör destekli seleksiyonun, tüm genomu kapsayan genetik markörlerin kullanıldığı bir formudur (Goddard and Hayes, 2007; Shamshad and Sharma, 2018). Markör destekli bitki ıslahında bölgesel genom analizleri ile tüm genom analizlerinin bir karşılaştırması **Çizelge 3**'de verilmiştir. Ayrıca, meyve türlerinde genomik seleksiyon konularında yapılmış bazı çalışma örneklerine **Çizelge 4**'de yer verilmiştir.

Çizelge 3. Markör yardımcı bitki ıslahında bölgesel genom analizleri ile tüm genom analizlerinin bir karşılaştırması (F: fenotipleme, G: genotipleme, E: e-typing) (Xu et al. 2012)

	Bölgesel Genom analizleri (MAS)	Tüm Genom analizleri (GS)
DNA örneği	Yaprak	Tohum ve Yaprak
Populasyon yönetimi	Biparental populasyonlar ve bağımsız ilişkide değerlendirmeler	NAM (Nested Association Mapping), MAGIC (Multiparent Advanced Generation Intercross) ve doğal populasyonlar
Genotiplendirme	Markörler ya da çipler (array)	Sekanslama ve yüksek yoğunlukta markör çipler
Fenotiplendirme	Hedef karakterlerin bireysel fenotiplendirmesi	Tüm karakterler için yüksek derecede doğrulukla fenotiplendirme
Markör-karakter ilişkisi	Markörlerle ya da seçilmiş aday genlerle ilişkili	Yüksek yoğunlukta markörler ya da GBS kullanılarak GWAS
Seleksiyon	Önemli ölçüde ilişkili markörler esas alınır	Tahmini etkileri olan tüm markörler esas alınır
Çevresel etkiler	Çevre bilgisi kullanılmaksızın fenotipik bilgiyi esas alarak değerlendirme	Hem fenotipik hem de çevre bilgisi ile değerlendirme
Bilgi yönetimi	2 boyutlu: G-P Excel ve veritabanları aracılığıyla	3 boyutlu: G-P-E WEB esaslı araçlar ya da ağ oluşturma
Destek araç kararı	Ayrı araçlar ile desteklenen bireysel kararlar	Küresel kapsamda entegre araçlar ile desteklenen toplu kararlar

5. Meyve Islahında Markör-Karakter İlişisine Dayalı Genetik Haritaların Oluşturulması (Association Mapping)

5.1. NAM (Nested association mapping)

Kantitatif karakter lokuslarını taramada, bağlantı analizi veya ilişkilendirme haritalamasının dezavantajları olmadan, düşük markör yoğunluğu gereksinimi, yüksek allel zenginliği, yüksek haritalama çözünürlüğü ve yüksek istatistiksel güç avantajlarına sahip olmak amacıyla hem geçmiş rekombinasyonlardan hem de son rekombinasyon olaylarından yararlanır (Yu et al. 2008).

5.2. MAGIC (Multi-parent advanced generation inter-cross)

Çoklu ebeveynli ileri nesiller arası melezleme tekniği, birkaç alleli inceleyerek biparental haritalamaya kıyasla daha yüksek rekombinasyon hızı ve gelişmiş haritalama çözünürlüğü sağlar. MAGIC populasyonlarının gelişiminin temel esası, çaprazlama seviyesini arttırmak ve genom karışımını arttırmaktır. İleri melezleme hatları MAGIC populasyonları olarak kullanılır ve iki kendilenmiş hattın melezlenmesiyle geliştirilen bir populasyonda rastgele ve müteakip çaprazlamaların gerçekleştirilmesiyle geliştirilir. MAGIC populasyonları farklı bitki ıslahı programlarında, QTL'lerin daha doğru belirlenmesinde ve doğrudan veya dolaylı olarak çeşitliliğin geliştirilmesinde, kalıcı haritalama populasyonları olarak kullanılabilir (Darvasi et al. 1995; Cavanagh et al. 2008; Bandillo et al. 2013).

5.3. Aday gen esaslı haritalama (Candidate-gene-based association mapping)

İlgilenilen bir karakter ile bir gendeki DNA polimorfizmi arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla tercih edilen kullanışlı bir tekniktir. Aday genler genellikle biyolojik fonksiyonları bilinen ilgilenilen bir karakter üzerinde doğrudan veya dolaylı etkiye sahip olan genlerdir (Tabor et al. 2002; Sehgal et al. 2016). Bu teknik, hatlar arasında ve spesifik genler içinde bulunan SNP'lerin saptanmasını kapsar. Aday geni araştırmanın en basit yöntemi amplikonların yeniden dizilimine bağlıdır. Birim uzunluk başına SNP miktarı, belirli bir aday gen lokusu için LD bozunma hızı ile tanımlanabilen önemli ilişkinin saptanması için gereklidir (Mackay 2001; Whitt ve Buckler 2003; Lau et al. 2015).

5.4. Genom Çapında İlişkilendirme Çalışması (GWAS/Genome-Wide Association)

Uzun zaman ve maliyet gerektiren melez popülasyonlara gerek kalmadan, doğal popülasyonlar kullanılarak DNA markörleri ve agronomik özellikler arasındaki ilişkiler saptanabilmektedir. Sekanslama ile genotipleme (GBS), kompleks genomlardan referans sekans bilgisine gerek duymadan çok fazla sayıda SNP elde edilmesini sağlayan, hızlı bir yöntemdir. GBS metodu indirgenmiş temsili sekanslamaya dayanmaktadır. Bu methoda genom restriksiyon enzimleri ile kesilmekte ve kesim bölgelerinden sekanslama yapılmaktadır (Karaca 2018). Bi-parental haritalama ve klasik ıslah uygulamalarının sahip olduğu dezavantajların üstesinden gelebilmek için ilişkili haritalama yöntemleri geliştirilmiştir (Nadeem et al. 2018). İlişkili haritalama, iki ebeveynli haritalamaların aksine hem daha büyük germplazm koleksiyonlarına, hem de yüksek rekombinasyona sahiptir ve bu yolla çok daha iyi ilişkili bir ayrıştırma sunmaktadır (Ersoz et al. 2007). Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) üç önemli unsur gerektirir: 1) Araştırma ile ilgili genetik bilgiyi etkili bir şekilde sağlayacak yeterli büyüklükte popülasyon örnekleri, 2) Bütün genomu kaplayacak şekilde polimorfik allelerin etkili genotiplemesi, ve 3) Genetik ilişkileri tarafsız bir biçimde ortaya koyan güçlü istatistiksel metotlar (Cantor et al. 2009). Çizelge 5'de bazı meyve türlerinde markör-karakter ilişkisine dayalı planlanarak yapılmış olan GBS ve GWAS konulu çalışma örneklerine yer verilmiştir.

Çizelge 4. Bazı meyve türlerinde yapılmış olan moleküler karakterizasyon, kantitatif karakter lokusları ve markör destekli seleksiyon ve genomik seleksiyon başlıklı çalışma örnekleri

Meyve türü	Markör	Tür, Populasyon	Metod/ Harita bilgisi	Referans
Çilek	SNP	<i>Fragaria x ananassa</i> 'Emily' × 'Fenella' 181 F1 populasyon	<i>Phytophthora cactorum</i> 'a dayanıklılık	Nellist et al. (2019)
Çilek	SNP	<i>Fragaria x ananassa</i> 'Emily' × 'Fenella' 181 F1 populasyon	<i>Podospaera aphanis</i> 'a dayanıklılık (Külleme hastalığı)	Cockerton et al. (2018)
Çilek	SSR, SCAR	<i>Fragaria x ananassa</i> 'Delmarvel' × 'Selva' 177 F1 populasyon	Çiçeklenme ve meyve kalitesinden sorumlu karakterler	Castro and Lewers (2016)
Çilek	SNP	<i>F. chiloensis</i> × <i>F. virginiana</i> 106 F1 populasyon	Çiçeklenme ve meyve kalitesinden sorumlu karakterler	Hancock et al. (2016)
Çilek	SSR, NBS (nükleotid bağlama sekansı)	<i>Fragaria x ananassa</i> 'Holiday' ve 'Korona' 82 F1 populasyon	Kahverengi kök çürüklüğüne dayanıklılık	Yılmaz-Temel (2011)
Çilek	SSR	heterozigot 'Capitola' yada 'Mara des Bois' ve homozigot 'CF1116'yada 'Pajaro' 1. populasyon 375 birey 2. populasyon 85 birey	Çiçeklenmeyi kontrol eden FaPFRU lokusu	Perrotte et al. (2016)
Çilek	SNP	<i>Fragaria x ananassa</i> 19 oktoploid ve 6 diploid çilek	SNP array geliştirme ve değerlendirme çalışması	Bassil et al. (2015)
Çilek	ISSR	<i>Fragaria chiloensis</i> 41 genotip	Çiçeklenme zamanı	Carrasco et al. (2013)
Çilek	AFLP, SDRF	<i>Fragaria x ananassa</i> 119 F1 populasyon	Disomik ve polisomik kalıtımın karakterizasyonu	Lerceteau-Kohler et al. (2003)
Kivi	EST	<i>A. chinensis</i> var. <i>chinensis</i> × <i>A. eriantha</i> 275 BC hattı	Kırmızı petal renginden sorumlu R2R3 MYB transkripsiyon faktörünün belirlenmesi	Fraser et al. (2013)
Kivi	SNP	<i>Actinidia chinensis</i> 'Hort16A' × P1 236 F1 populasyon	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>actinidiae</i> 'e dayanıklılık (bakteriyel kanser)	Tahir et al. (2019)
Kırmızı Ahududu	BAC library	<i>Rubus idaeus</i> 'Glen Moy' × 'Latham' 188 F1 populasyon	<i>Phytophthora rubi</i> 'ye dayanıklılık (Kök çürüklüğü) ile ilişkili kantitatif karakter lokusları	Woodhead et al. (2013)
Kırmızı Ahududu	SSR	<i>Rubus idaeus</i> 'Glen Moy' × 'Latham' 188 F1 populasyon	Kök ve tomurcuk ile ilişkili EST'lerden 25 SSR markör karakterizasyon, haritalama	Woodhead et al. (2008)
Siyah Ahududu	SSR	<i>Rubus occidentalis</i> 'ORUS 4304' × 'ORUS 4305' İki ayrı populasyon	<i>Amphorophora agathonica</i> 'ya dayanıklılık (Yaprak biti etmeni) bağlantı haritalama, ilişki haritalama	Bushakra et al. (2018)
Yalancı iğde	SRAP	<i>Hippophae L.</i> 77 genotip, 22 çeşit	Doku yumuşamasından sorunlu patojen etmenine dayanıklılık (MAS), Toplam 289 bant, 191 polimorfik bant	Li et al. (2010)
Lingonberry	SNP	<i>Vaccinium vitis-idaea</i> 56 örnek	Hastalıklara dayanıklılıkla ilişkili karakterler ve çevresel koşullarla ilişkili genetik varyasyon tespit çalışması (GBS), Toplam 1586 SNP	Alam et al. (2018)
Zeytin	RAPD, AFLP ve SSR	<i>Olea europaea</i> 88 çeşit, 96 genotip	Karakterizasyon 52 RAPD markör (215 polimorfik bant), 26 AFLP markör (919 polimorfik bant), 14 SSR markör (62 polimorfik bant)	Çetin (2012)
Elma	SNP	<i>Malus</i> × <i>domestica</i> Borkh. 'Orin' × 'Akane' 119 F1 populasyon	MdPG1 geni, QTL ve GWAS	Moriya et al. (2017)

Çizelge 5. Bazı meyve türlerinde yapılmış olan genetik haritalama, ilişki haritalama ve sekanslama ile genotipleme, tüm genom ilişki haritalama, markör karakter ilişkisi başlıklı çalışma örnekleri

Meyve türü	Markör	Tür, Populasyon	Metod/ Harita bilgisi	Referans
Antepfıstığı	ISSR, SRAP, AFLP	'Siirt' (<i>Pistacia vera</i> L.) x 'PA-18' (<i>P. atlantica</i> Desf.) 92 F1 populasyon	17 bağlantı grubu 'Siirt' 165 markör (1237.3 cM) 'PA-18' 156 markör (1337.5 cM)	Türkeli (2010)
Antepfıstığı	SSR	<i>Pistacia vera</i> , 'Siirt' x 'Bağyolu' 89 F1 bitkisi	'Siirt' genetik haritasında; 70 SSR 'Bağyolu' genetik haritasında; 85 SSR markörü ; 15 bağlantı grubu (671 cM)	Akyüz (2012)
Antepfıstığı	SSR	'Siirt' (<i>Pistacia vera</i>) x 'Pa-18' (monoik atlantik sakızı) F1 populasyonu	59.280 SSR motifi 388 SSR markörü, 15 genetik bağlantı grubu (1.492 cM)	Ziya-Motalebipour (2017)
Zeytin	SSR, DArT-SNP	<i>Olea europaea</i> 'Memecik' x 'Uslu' 96 F1 populasyon	23 linkage grubu Memecik (2921.9 cM) ve Uslu çeşitleri (2543.2 cM) Memecik (2071 markör) ve Uslu (1836 markör); 39 aday QTL bölgesi	Mete (2015)
Zeytin	SNP, AFLP, SSR	<i>Olea europaea</i> 96 genotip	Meyve özellikleri (AM) Toplam 11 markör (8 AFLP, 3 SSR)	Kaya (2016); Kaya et al. (2016)
Ceviz	AFLP, SRAP, SSR	<i>Juglans regia</i> , 'Maraş-12' x 'Kaplan-86' F1 populasyonu	45 AFLP, 40 SRAP ve 122 SSR markör, 'Maraş-12' genetik haritası 1407 cM ve 'Kaplan-86' genetik haritası 1426 cM	Doğan (2016)
Citrus	SSR	<i>Citrus maxima</i> x <i>Citrus clementina</i> (Chandler pummelo x Clemenules) 190 F1 populasyon	46 SSR mörkür 9 bağlantı grubu (310 cM)	Turunç (2010)
Citrus	SSR	Şadok (<i>Citrus maxima</i> (Burn) Merr.) x (Şadok x Mandarin (<i>Citrus clementina</i>) Geri melez (BC) populasyon	149 SSR markör 8 bağlantı grubu (293,9 cM)	Aslan (2012a)
Nar	SNP	<i>Punica granatum</i> L. 'Nana' x 'Black' 76 F2 populasyon	1092 SNP markör (1141 cM)	Harel-Beja et al. (2015)
Nar	SSR	<i>Punica granatum</i> L. 88 genotip	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>punicae</i> 'e dayanıklılık (bakteriyel yanıklık)(AM) ve bazı meyve kalite özelliklerine yönelik genetik çeşitlilik tespiti toplam 112 allel, 44 lokus	Singh et al. (2015)
Siyah Frenk üzümü	AFLP, SSR, SNP	<i>Ribes nigrum</i> L. (Ben Alder x cv. Ben Loyal) x (EMRS B1426 x cv. Ben Lomond); 125 F1 populasyon	<i>Cecidophyopsis ribis</i> dayanıklılık (Gal akarı) 107 AFLP markörü, 16 SNP, 43 SSR haritalama markörü	Brennan et al. (2008)
Siyah Frenk üzümü	RAPD, AFLP, ISSR, SSR	<i>Ribes nigrum</i> L.	<i>Cecidophyopsis ribis</i> dayanıklılık (Gal akarı) ile ilişkili kantitatif karakter lokusları (<i>Ce</i> ve <i>P</i> gen lokusları)	Pikunova et al. (2019)
Elma	SSR, SCAR, SNP, RAPD	<i>Malus</i> sp. Malling 9 x Robusta 5	224 SSR, 18 SCAR, 14 SNP, 42 RAPD markör (elma EST dizilerinden) 17 bağlantı grubu (1,175.7 cM (M.9) ve 1,086.7 cM (R.5))	Celton et al. (2009)

Meyve türü	Markör	Tür, Populasyon	Metod/ Harita bilgisi	Referans
Elma	SNP	<i>Malus × domestica</i> İki populasyon (185 4 75 genotip)	Genetik karakterizasyon ve bağlantı haritalama 237 SNP markör	<i>Micheletti et al.(2011)</i>
Elma	SSR	'Kaşel-37' × 'Delbarestivale' 180 F1 populasyon	363 SSR markör. 'Kaşel-37' genetik haritası; 17 bağlantı grubu (1397.9 cM), 'Delbarestivale' genetik haritası; 1346.0 cM	<i>Aslan (2012b)</i>
Elma	SSR, SNP	349 <i>Malus domestica</i> ve 14 <i>Malus sieversii</i> genotipi	Popülasyon yapısı, karakterizasyon, ploidi seviyesi Toplam 29,494 SNP (GWAS- GBS)	<i>Larsen et al.(2018)</i>
Elma	SSR, SNP, HRM	<i>M. × domestica</i> 'Royal Gala' × <i>M. sieversii</i> PI613981 169 F1 populasyon	<i>Penicillium expansum</i> 'a dayanıklık Genetik bağlantı grubu 3 (qM- Pe3.1) ve 10 (qM-Pe10.1) qM-Pe3.1 için dayanıklık allelinin kaynağı PI613981; (GBS)	<i>Norelli et al. (2017)</i>
Elma	SNP	<i>Malus domestica</i> Borkh. (NZSelectionT153, NZSelectionT179, 'Sciros' ve 'Fuji') × (NZSelectionT31 ve NZSelectionT51); 1120 çöğür	Meyve kalite özellikleri (GS) 8,000 SNP	<i>Kumar et al. (2012)</i>
Çilek	SNP	<i>Fragaria × ananassa</i> 565 genotip	<i>Fusarium oxysporum f. sp.</i> <i>Fragariae</i> 'e dayanıklılık (<i>Fusarium solgunluğu</i>) (Fw1 lokusu); 14,408 SNP, 11 bağlantı grubu	<i>Pincot et al. (2018)</i>
Çilek	EST-SSR	<i>Fragaria × ananassa</i> 6 çeşit (Fukuoka S6, Kaorino, Sachinoka, 06A-184, Beni hoppe, Ookimi) çoklu melezleme; 338 F1 populasyon	Bazı meyve özellikleri ile ilişkili MAGIC popülasyonunun geliştirilmesi ve karakterizasyonu	<i>Wada et al. (2017)</i>
Dut	SSR, AFLP	<i>Morus</i>	<i>Macrophomina phaseolina</i> 'ya dayanıklık (kök kömür çürüklüğü) (AM) Toplam 773 alel üretimi (105 SSR lokusu ve 20.384 AFLP markörü)	<i>Pinto et al. (2018)</i>
Dut	ISSR	<i>Morus</i> 93 genotip	Meyve özellikleri (AM) 15 ISSR markör, %90 polimorfizm	<i>Zhang et al. (2016)</i>
Ahududu		<i>Rubus idaeus</i> "Glen Moy x Latham" 188 F1 populasyon	Meyve olgunlaşması ile ilişkili (GBS) 2348 SNP	<i>Hackett et al. (2018)</i>
Ahududu		<i>Rubus idaeus</i> 'Heritage' × 'Tulameen' 71 F1 populasyon	Meyve kalite özellikleri (GBS) İki harita; 4521 SNP (462.7 cM) ve 2391 SNP (376.6 cM)	<i>Ward et al. (2013)</i>
Amerikan yaban mersini	SSR, SNP	<i>Vaccinium macrocarpon</i> CNJ97-105 (MullicaQueen) × NJS98-23 (CrimsonQueen) 168 F1 populasyon	Meyve kalite özellikleri (GBS) Toplam 6073 SNP 12 linkage grubu (1124 cM)	<i>Schlautman et al. (2017)</i>
Amerikan yaban mersini	SSR, SNP	<i>Vaccinium macrocarpon</i> [BGx(BLxNL)]95 (P1) ve GH1 × 35 (P2) 362 F1 populasyon	Meyve kalite özellikleri (GBS) Tolam 10842 SNP 5477 SNP, 12 linkage grubu (1112 cM)	<i>Covarrubias-Pazaran et al. (2016)</i>

Meyve türü	Markör	Tür, Populasyon	Metod/ Harita bilgisi	Referans
Kivi	SNP	(<i>A. chinensis</i> var. <i>deliciosa</i> × <i>A. eriantha</i>) × (<i>A. chinensis</i> var. <i>deliciosa</i> × <i>A. chinensis</i> var. <i>chinensis</i>), 85 F1 populasyon	Vitamin-C sorumlu gen (AsA, süper gen) moleküler karakterizasyonu, (GWAS)	McCallum et al. (2019)
Kayısı	SNP	<i>Prunus armeniaca</i> 259 genotip	Meyve ağırlığı, meyve eti sertliği ve meyve eti rengi (GBS) 20.264 SNP markörü tespiti	Ferik (2019)
Şeftali	SNP	<i>Prunus persica</i> (L.) 132 genotip	Meyve olgunlaşması (GWAS) Kromozom-4 üzerinde 3 SNP (43,067 bp)	Elsadr et al. (2019)
Şeftali	SNP	<i>Prunus persica</i> (L.) 'Okubo' × 'You Pan Tao 1-3' 87 F1 populasyon	Meyve asitliği (GWAS), 129 çeşit sekanslama, 436 çeşit Sequenom MassArray genotipleme. 224 genotipten 212 genotip TT 212 genotipten 200 genotip TC ya da CC	Wang et al. (2016)
Şeftali	SNP	<i>Prunus persica</i> (L.) 220 genotip	Meyve kalite özellikleri (GWAS) Toplam 93,353 SNP markör tespiti, 18,373 SNP çalışılması, (% 70 kodlanan sekansta)	Thurrow et al. (2020)
Şeftali	SNP	<i>Prunus persica</i> (L.) 94 çeşit	Meyve kalite özellikleri (GWAS) Toplam 8,144 SNPs markör tespiti 347 önemli markör-karakter ilişkisi	Forcada et al. (2019)

Referanslar

- Abecasis G.R. & Cookson W.O. (2000). Gold-graphical overview of linkage disequilibrium. *Bioinformatics*, 16(2):182-183.
- Akyüz, M.A. (2012). Antepfistığında Siirt x Bağyolu F1 populasyonu kullanılarak SSR markörleri ile genetik haritalama. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı (Yüksek lisans tezi)
- Alam, Z Roncal, J. & Peña-Castillo, L. (2018). Genetic variation associated with healthy traits and environmental conditions in *Vaccinium vitis-idaea*. *BMC Genomics*, 19:4, DOI 10.1186/s12864-017-4396-9
- Amar M.H. & Salam M.A.E., (2013). Retro transposon-markers: an overview of the recent progress in Citrus germplasm. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*. 3(10):31-41.
- Anonymous (2020a). <https://www.nature.com/subjects/plant-breeding>
- Anonymous (2020b). Plant Breeding Impacts and Current Challenges. The Global Partnership Initiative for Plant Breeding Capacity Building (GIPB). <http://www.fao.org/3/a-at913e.pdf>
- Aslan, F. (2012a). Şadok (*Citrus maxima* (Burn) Merr.) x (şadok x mandarin (*Citrus clementina* hort. ex. Tanaka)) geri melez populasyonunda SSR markörleri ile genetik haritalama. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı (Yüksek lisans tezi)
- Aslan, N. (2012b). Amasya elmasında SSR markörleri ile genetik haritalama. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı (Yüksek lisans tezi)

- Atay, A.N. & Atay E. (2018). Derleme: Elma Islahında ve Çeşit Yönetiminde Yenilikçi Eğilimler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(2): 234-240.
- Bandillo N. et al. (2013). Multi-parent advanced generation inter-cross (MAGIC) populations in rice: progress and potential for genetics research and breeding. *Rice*. 6(1):11.
- Bassil, N.V. et al. (2015). Development and preliminary evaluation of a 90 K Axiom (R) SNP array for the allo-octoploid cultivated strawberry *Fragaria x ananassa*. *BMC Genomics*, Volume: 16. DOI: 10.1186/s12864-015-1310-1
- Bawonpon C. (2014). Molecular Breeding and Marker Assisted Selection. https://www.slideshare.net/bawonponc_honnipat/molecular-breeding-v4-42982600
- Bernardo, R. (2008). Molecular markers and selection for complex traits in plants: Learning from the last 20 years. *Crop Science*, 48(5):1649-1664.
- Biswas, M.K. et al. (2010). Retro-transposon based genetic similarity within the genus Citrus and its relatives. (2010). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 57:963–972. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10722-010-9533-0>
- Bradbury P.J. et al. (2007). TASSEL: Software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*. 23(19):2633–2635.
- Brennan, R. (2008). The development of a genetic linkage map of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) and the identification of regions associated with key fruit quality and agronomic traits. *Euphytica*. 161(1-2): 19-34
- Bushakra, J.M. et al. (2018). Characterization of aphid resistance loci in black raspberry (*Rubus occidentalis* L.). *Molecular Breeding*. 38(7). Article Number: 83, DOI: 10.1007/s11032-018-0839-5
- Cantor J.M. et al. (2008). Cerebral white matter deficiencies in pedophilic men. *J. Psychiatr. Res.* 42:167-183.
- Carrasco, B. et al. (2013). Inter Simple Sequence Repeat Markers Associated with Flowering Time Duration in the Chilean Strawberry (*Fragaria chiloensis*). *Journal of Agricultural Science And Technology*. 15(6): 1195-1207
- Castro, P. & Lewers, K.S. (2016). Identification of quantitative trait loci (QTL) for fruit-quality traits and number of weeks of flowering in the cultivated strawberry. *Molecular Breeding*, 36(10), Article Number: 138, DOI: 10.1007/s11032-016-0559-7
- Cavanagh C. et al. (2008). From mutations to MAGIC: resources for gene discovery, validation and delivery in crop plants. *Curr Opin Plant Biol.*;11 (2):215-221.
- Celton, J.M. et al. (2009). Construction of a dense genetic linkage map for apple rootstocks using SSRs developed from Malus ESTs and Pyrus genomic sequences. *Tree Genetics & Genomes*. 5:93–107
- Chavan-Gautam, P., Shah, T. & Joshi, K., 2017. Transcriptomics and Epigenomics (Chapter 8), *Innovative Approaches in Drug Discovery: Ethnopharmacology, Systems Biology and Holistic Targeting*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801814-9.00008-8>
- Cockerton, H.M. et al. (2018). Identification of powdery mildew resistance QTL in strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Theoretical and Applied Genetics*, 131(9):1995-2007. DOI: 10.1007/s00122-018-3128

- Collard, B. C. & Mackill, D.J. (2008). Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 363(1491):557-572pp.
- Covarrubias-Pazaran, G. et al. (2016). Exploiting genotyping by sequencing to characterize the genomic structure of the American cranberry through high-density linkage mapping. *BMC Genomics*, 17(Article number: 451). DOI: 10.1186/s12864-016-2802-3
- Çetin, Ö. (2012). Zeytin genotiplerinin DNA markörleri yardımı ile karakterizasyonu Ege Üniversitesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı (Doktora tezi)
- Darvasi A. & Soller M. (1995). Advanced intercross lines, an experimental population for fine genetic mapping. *Genetics*. 141(3):1199–1207.
- Doerge, R. W. (2002). Mapping and analysis of quantitative trait loci in experimental populations. *Nature Reviews Genetics*, 3(1): 43-52.
- Doğan, Y. 2016. Cevizde (*Juglans regia* L.) DNA markörleri ile genetik haritalama. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı (Doktora tezi)
- Eldredge, R. et al. (1992). Application of RFLP Analysis to Genetic Linkage Mapping in Peaches L. *Hortscience*, 27(2):160-163. <https://journals.ashs.org/hortsci/view/journals/hortsci/27/2/article-p160.xml>
- Elsadr, H. et al. (2019). Refining the Genomic Region Containing a Major Locus Controlling Fruit Maturity in Peach. *Scientific Reports*, 9:7522. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44042-4>
- Ersoz, E.S. Yu, J. & Buckler, E. S., (2007). Applications of linkage disequilibrium and association mapping in crop plants Genomics-assisted crop improvement, *Springer*. 97-119pp.
- Ferik, F. (2019). Ülkemiz kayısı genetik kaynaklarında bazı agronomik özellikler ile DNA markörleri arasındaki ilişkilerin ilişki haritalama (association mapping) ile saptanması ve biyoçeşitliliğin moleküler düzeyde belirlenmesi. Ege Üniversitesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı (Doktora tezi)
- Fernie, A.R. & Yan, J. (2019). De Novo Domestication: An Alternative Route toward New Crops for the Future. *Molecular Plant*, 12(5):615-631.
- Forcada, C.F., et al. (2019). Association Mapping Analysis for Fruit Quality Traits in *Prunus persica* Using SNP Markers. *Front. Plant Science*. 9(Article no:2005), <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.02005>
- Fraser, L.G. et al. (2013). An R2R3 MYB transcription factor determines red petal colour in an *Actinidia* (kiwifruit) hybrid population. *BMC Genomics*. 14:28 <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1471-2164-14-28>
- Ganopoulos, I.V. et al. (2011). Genetic diversity, structure and fruit trait associations in Greek sweet cherry cultivars using microsatellite based (SSR/ISSR) and morpho-physiological markers. *Euphytica*. 181:237-25
- Goddard M.E. & Hayes B.J. (2007). Genomic selection. *J. Anim. Breed. Genet.* 124(6):323-30. DOI:10.1111/j.1439-0388.2007.00702.x
- Goldstein D.B. & Weale M.E. (2001). Population genomics: linkage disequilibrium holds the key. *Curr. Biol.* 11(14):576–579.
- Gupta, P.K. Rustgi, S. & Kulwal, P.L. (2005). Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: present status and future prospects. *Plant Mol Biol.* 57(4):461–485.

- Hackett, C.A. et al. (2018). Enhancement of Glen Moy x Latham raspberry linkage map using GbS to further understand control of developmental processes leading to fruit ripening. *BMC Genetics*.19(Article number: 59. DOI: 10.1186/s12863-018-0666-z
- Hancock, J.F. et al. (2016). Public Availability of a Genotyped Segregating Population May Foster Marker Assisted Breeding (MAB) and Quantitative Trait Loci (QTL) Discovery: An Example Using Strawberry. *Frontiers in Plant Science*. 7 (Article number: 619). DOI: 10.3389/fpls.2016.00619
- Harel-Beja, R. et al. (2015). A novel genetic map of pomegranate based on transcript markers enriched with QTLs for fruit quality traits. *Tree Genetics & Genomes*, 11:109. DOI 10.1007/s11295-015-0936-0
- Holland, J. B. (2007). Genetic architecture of complex traits in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(2), 156-161.
- Huttner, E. et al. (2004). Diversity Arrays Technology: A Novel Tool for Harnessing the Genetic Potential of Orphan Crops. In book: Discovery to Delivery: BioVision Alexandria, Proceedings of the 2004 Conference of The World Biological Forum (pp.145-155) Chapter:14. https://www.researchgate.net/publication/265072468_Diversity_Arrays_Technology_A_Novel_Tool_for_Harnessing_the_Genetic_Potential_of_Orphan_Crops
- Jannink, J.L. Bink, M. & Jansen, R.C. (2001). Using complex plant pedigrees to map valuable genes. *Trends in Plant Science*. 6:337-342.
- Jansen, R.C. Jannink, J.-L. & Beavis, W.D. (2003). Mapping quantitative trait loci in plant breeding populations: use of parental haplotype sharing. *Crop Science*. 43, 829-834.
- Jones, N. Ougham, H. & Thomas, H. (2009) "Pasakinskiene I. Markers and mapping revisited: Finding your gene", *New Phytol*.183: 935-966.
- Karaca, N. (2018). Genome wide association studies (GWAS) metodu aracılığı ile kültür (*Cicer arietinum L.*) ile yabani nohut (*C. reticulatum*) populasyonlarında danede Fe, Zn, Ca, Mn, Mg ve besin değeri bileşenleri ile ilişkili DNA markörlerinin saptanması. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı (Yüksek lisans tezi)
- Kaya, H.B. et al. (2014). Moleküler biyoloji (Bölüm 22-Genomik) (Ed: Mehmet Karataş), Nobel Akademik Yayıncılık, ISBN: 978-605-133-880-4: 523-558. https://www.researchgate.net/publication/313386437_Bolum_22_Genomik
- Kaya, H.B. et al. (2013). SNP Discovery by Illumina-Based Transcriptome Sequencing of the Olive and the Genetic Characterization of Turkish Olive Genotypes Revealed by AFLP, SSR and SNP Markers. *Plos One*. 8(9): e73674. doi: 10.1371/journal.pone.0073674
- Kaya, H.B. et al. (2016). Association Mapping in Turkish Olive Cultivars Revealed Significant Markers Related to Some Important Agronomic Traits. *Biochemical Genetics*, 54:506–533.
- Kaya, H.B. (2016). Zeytinde ilişki haritalaması (Association mapping) ile bazı karakterlerle ilişkili DNA markörlerinin geliştirilmesi. Ege üniversitesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı (Doktora tezi)
- Korbin, M., Kuras, A. & Żurawicz, E., (2002). Fruit Plant Germplasm Characterisation Using Molecular Markers Generated in RAPD and ISSR-PCR. *Cellular and Molecular Biology Letters*. 7:785-794. <http://www.cmbi.org.pl>
- Krishnan, R.R. et al. (2014). MulSatDB: a first online database for mulberry microsatellites. *Trees-Structure and Function*. 28(6):1793-1799. DOI: 10.1007/s00468-014-1086-y

- Kunihisa M., Fukino N. & Matsumoto S. (2003). Development of cleavage amplified polymorphic sequence (CAPS) markers for identification of strawberry cultivars. *Euphytica*. 134:209–215. <https://link.springer.com/article/10.1023/B:EUPH.0000003884.19248.33>
- Kumar, S. et al. (2012). Genomic Selection for Fruit Quality Traits in Apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Plos One*. 7(5):e36674. doi: 10.1371/journal.pone.0036674
- Kuras, A. et al. (2013). Application of five DNA marker techniques to distinguish between five apple (*Malus × domestica* Borkh.) cultivars and their sports. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 88(6):790-794. <https://doi.org/10.1080/14620316.2013.11513040>
- Larsen, B. et al. (2018). Population structure, relatedness and ploidy levels in an apple gene bank revealed through genotyping-by-sequencing. *Plos One*, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201889>
- Lau W.C. et al. (2015). Review of functional markers for improving cooking, eating, and the nutritional qualities of rice. *Front Plant Sci*. 6:832.
- Lerceteau-Kohler, E. et al. (2003). Characterization of mixed disomic and polysomic inheritance in the octoploid strawberry (*Fragaria x ananassa*) using AFLP mapping. *Theoretical and Applied Genetics*. 107(4):619-628. DOI: 10.1007/s00122-003-1300-6
- Li, H. et al. (2010). Associations of SRAP markers with dried-shrink disease resistance in a germplasm collection of sea buckthorn (*Hippophae* L.). *Genome*, 53(6): 447-457. DOI: 10.1139/G10-020
- Luro, F., et al. (2011). Analysis of genetic diversity in Citrus. *Plant Genetic Resources*. 9(2):218-221. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1479262111000189>
- Marieschi M. et al. (2016). Authentication of *Punica granatum* L.: Development of SCAR markers for the detection of 10 fruits potentially used in economically motivated adulteration. *Food Chemistry*. 202:438-444. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.011>
- Mackay T.F. (2001). The genetic architecture of quantitative traits. *Annu. Rev. Genet.* 35(1):303–339.
- McCallum, J. et al. (2019). Molecular Characterisation of a Supergene Conditioning Super-High Vitamin C in Kiwifruit Hybrids. *Plants*. 8:237
- Mete, N. (2015). Zeytinde genom haritasının oluşturulması ve meyve olgunlaşmasını kontrol eden genlerle ilişkili DNA markörlerinin saptanması. Ege üniversitesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı (Doktora tezi)
- Manenti, G. et al. (2009) Mouse genome-wide association mapping needs linkage analysis to avoid false-positive loci. *Plos Genetics*. 5(1):e1000331.
- Micheletti, D. et al. (2011). Genetic diversity of the genus *Malus* and implications for linkage mapping with SNPs. *Tree Genetics & Genomes*. 7:857–868
- Moriya, S. et al. (2017). Identification of QTLs for Flesh Mealiness in Apple (*Malus × domestica* Borkh.). *The Horticulture Journal*. 86(2):159–170. doi: 10.2503/hortj.MI-156
- Myles, S. et al. (2009) Association mapping: critical considerations shift from genotyping to experimental design. *The Plant Cell*. 21:2194–2202.
- Nadeem, M.A. et al. (2018). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 32(2):261–285 <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1400401>

- Nellist, C.F. et al. (2019). Quantitative trait loci controlling Phytophthora cactorum resistance in the cultivated octoploid strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Horticulture Research*. 6:Article Number: 60, DOI: 10.1038/s41438-019-0136-4
- Norelli, J.L. et al. (2017). Genotyping-by-sequencing markers facilitate the identification of quantitative trait loci controlling resistance to *Penicillium expansum* in *Malus sieversii*. *Plos One* DOI:10.1371/journal.pone.0172949
- Perrotte, J. et al. (2016). Narrowing down the single homoeologous FaPFRU locus controlling flowering in cultivated octoploid strawberry using a selective mapping strategy. *Plant Biotechnology Journal*. 14(11):2176-2189. DOI: 10.1111/pbi.12574
- Pikunova, A.V. et al. (2019). Genome Studies by Means of DNA Markers of the Blackcurrant. *Russian Journal of Genetics*. 55(9):1061-1071
- Pincot, D.D.A. et al. (2018). Genome-Wide Association Mapping Uncovers Fw1, a Dominant Gene Conferring Resistance to Fusarium Wilt in Strawberry. *G3-Genes Genomes Genetics*. 8(5):1817-1828, DOI: 10.1534/g3.118.200129
- Pinto, M.V. et al. (2018). Association mapping of quantitative resistance to charcoal root rot in mulberry germplasm. *Plos One*. 13(7):Article Number: e0200099. DOI: 10.1371/journal.pone.0200099
- Schlautman, B. et al. (2017). Construction of a High-Density American Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) Composite Map Using Genotyping-by-Sequencing for Multi-pedigree Linkage Mapping. *G3-Genes Genomes Genetics*. 7(4):1177-1189, DOI:10.1534/g3.116.037556
- Sehgal, D. Singh, R. & Rajpal V.R. (2016). Quantitative trait loci mapping in plants: concepts and approaches. In: Rajpal V, Rao S, Raina S, editors. Vol. 2, Molecular breeding for sustainable crop improvement. Cham: Springer International. p. 31 –59. (*Sustainable development and biodiversity*; Vol. 11).
- Semagn, K. Bjørnstad, Å. & Xu, Y. (2010). The genetic dissection of quantitative traits in crops. *Electronic Journal of Biotechnology*. 13(5):1617pp.
- Shimadaa, T. et al. (2005). Toward comprehensive expression profiling by microarray analysis in citrus: monitoring the expression profiles of 2213 genes during fruit development. *Plant Science*. 168(5):1383-1385. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.01.013>
- Singh, N.V. et al. (2015). Genetic diversity and association mapping of bacterial blight and other horticulturally important traits with microsatellite markers in pomegranate from India. *Molecular Genetics and Genomics*, 290(4):1393-1402. DOI: 10.1007/s00438-015-1003-0
- Shamshad, M. & Sharma, A. (2018). The Usage of Genomic Selection Strategy in Plant Breeding. DOI: 10.5772/intechopen.76247. <https://www.intechopen.com/books/next-generation-plant-breeding/the-usage-of-genomic-selection-strategy-in-plant-breeding>
- Shams, F. et al. (2019). Application of DArT seq derived SNP tags for comparative genome analysis in fishes; An alternative pipeline using sequence data from a non-traditional model species, *Macquaria ambigua*. *Plos One*. 14(12): e0226365. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226365>
- Tabor H.K, Risch N.J. & Myers RM. (2002). Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nat. Rev. Genet*. 3(5):391–397.
- Tahir, J. et al. (2019). Multiple quantitative trait loci contribute to resistance to bacterial canker incited by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in kiwifruit (*Actinidia chinensis*) Jibrán. *Horticulture Research*. 6:101. doi.org/10.1038/s41438-019-0184-9

- Thurrow, L.B. et al. (2020). Genome-wide SNP discovery through genotyping by sequencing, population structure, and linkage disequilibrium in Brazilian peach breeding germplasm. *Tree Genetics & Genomes*. 16:10 <https://doi.org/10.1007/s11295-019-1406-x>
- Turunç, A. (2010). Klemantin mandarininde (*Citrus clementina* blanco) SSR markörleri ile genetik haritalama. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı (Yüksek lisans tezi)
- Türkeli, Y. (2010). *Pistacia vera* L. x *Pistacia atlantica* Desf. melez populasyonunda genetik haritalama. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı (Doktora tezi)
- Wada, T. et al. (2017). Development and characterization of a strawberry MAGIC population derived from crosses with six strawberry cultivars. *Breeding Science*. 67(4):370-381. DOI: 10.1270/jsbbs.17009
- Wang, X. et al. (2000). The theory of DDRT-PCR and its applications in plants. *Acta Universitatis Agriculturae Boreali-occidentalis*. 28(6):197-202 (Language:chi) CBA:341610. <https://europepmc.org/article/cba/341610>
- Wang, Q. et al. (2016). DNA marker-assisted evaluation of fruit acidity in diverse peach (*Prunus persica*) germplasm. *Euphytica*. 210:413–426. DOI 10.1007/s10681-016-1709-z
- Ward, J.A. et al. (2013). Saturated linkage map construction in *Rubus idaeus* using genotyping by sequencing and genome-independent imputation. *BMC Genomics*. 14, Article Number:2. DOI: 10.1186/1471-2164-14-2
- Wilkinson, J.Q. et al. (1995). Identification of mRNAs with enhanced expression in ripening strawberry fruit using polymerase chain reaction differential display. *Plant Molecular Biology*. 27:1097–1108. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00020883>
- Whitt, S.R. & Buckler, E.S. (2003). Using natural allelic diversity to evaluate gene function. *Plant Func. Genomics*. 236:123–139.
- Wisniewski, M. et al. (2008). Expressed sequence tag analysis of the response of apple (*Malus x domestica* 'Royal Gala') to low temperature and water deficit. *Physiologia plantarum*. 133(2):298-317. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01063.x>
- Woodhead, M. et al. (2008). Identification, characterisation and mapping of simple sequence repeat (SSR) markers from raspberry root and bud ESTs. *Molecular Breeding*. 22(4): 555-563. DOI: 10.1007/s11032-008-9198-y
- Woodhead, M. et al. (2013). Identification of quantitative trait loci for cane splitting in red raspberry (*Rubus idaeus*). *Molecular Breeding*. 31(1):111-122, DOI: 10.1007/s11032-012-9775-y
- Xu, Y. (2010). *Molecular Plant Breeding*. CABI (ISBN: 978 1 84593 392)
- Xu, Y. et al. (2012). Whole-genome strategies for marker-assisted plant breeding. *Mol. Breeding*. 29(4):833-854, DOI 10.1007/s11032-012-9699-6
- Yılmaz-Temel, H. (2011). Çilek genomunun SSR ve nükleotid bağlama sekansı (NBS) markörleri ile profilinin çıkarılması ve kahverengi kök çürüklüğüne (*Phytophthora cactorum*) dayanıklılığı kontrol eden gen bölgeleri ile ilgili GTL'lerin belirlenmesi. Ege üniversitesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Doktora tezi.
- Yu, J. et al. (2008). Genetic design and statistical power of nested association mapping in maize. *Genetics*. 178(1):539-551. doi:10.1534/genetics.107.074245

Zhang, J. et al. (2016). Association analysis of fruit traits in mulberry species (*Morus L.*). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 91(6):645-655, DOI: 10.1080/14620316.2016.1209989

Zhen, Z., et al. (2007). Establishment of cpSSR marker technology and optimization of its reaction system in genus *Castanea*. *Journal of Fruit Science*. 4.

Zhang, X. et al. (2012). Add to Favorite Get Latest Update Genetic Diversity of *Castanea mollissima* Variety Based on Mitochondrial SSR Markers. *Journal of Beijing University of Agriculture*, 2. http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTTotal-BNXB201202008.htm

Zıya Motalebıpour, E. (2017). Yeni nesil sekanslama teknolojisi kullanılarak *pistacia* türlerinde SSR markörlerin geliştirilmesi ve türlerarası F1 popülasyonu kullanılarak genetik haritalama ve QTL analizleri. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı (Doktora tezi)