

Suomalaisilla taimitarhoilla lisättävien koristeomenapuiden
lajikeaitous

Katariina Vuorinen
Maisterintutkielma
Helsingin Yliopisto
Maataloustieteiden laitos
Kasvintuotannon biologia,
puutarhatiede
Helmikuu 2012

HELSINGIN YLIOPISTO — HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta		Laitos — Institution — Department Maataloustieteiden laitos	
Tekijä — Författare — Author Katariina Elina Vuorinen			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Suomalaisilla taimitarhoilla lisättävien koristeomenapuiden lajikeaitous			
Oppiaine — Läroämne — Subject Kasvintuotannon biologia, puutarhatiede			
Työn laji — Arbetets art — Level Maisterintutkielma		Aika — Datum — Month and year Helmikuu 2012	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 68 + 15
<p>Tiivistelmä — Referat — Abstract</p> <p>Omenapuiden (<i>Malus</i> Mill.), niin koriste- kuin tarhaomenapuidenkin, tunnistaminen on pitkään perustunut puhtaasti ulkoisiin tuntomerkkeihin. Valitettavasti lajikekuvaukset eivät aina ole kyllin kattavia tarkkaa tunnistusta varten. Myytävän kasvimateriaalin pitäisi olla aitoa, mutta kaupattavien taimien luotettavuuteen on kohdistettu kritiikkiä jo 1900-luvun alkupuolelta asti.</p> <p>DNA- ja molekyylietekniikoiden kehityttyä on löytynyt uudenlaisia keinoja sukulaisuussuhteiden ja yksilöidentiteettien selvittämiseen. Mikrosatelliittimerkit ovat yksi uusista menetelmistä ja niitä voidaan hyödyntää erityisesti yksilöiden tunnistamisessa sekä geenivarojen määrittämisessä ja säilyttämisessä. Omenapuilla mikrosatelliittimerkit ovat erityisen käyttökelpoisia, sillä tarhaomenapuille kehitetyt alukkeet toimivat koko <i>Malus</i>-suvulla.</p> <p>Tutkimuksessa selvitettiin verrannenäytteiden avulla tutkittavien koristeomenapuiden lajikeaitoutta, sekä pyrittiin löytämään nimet väärin nimetyille sekä toistaiseksi tuntemattomille koristeomenapuille. Tutkimuksen painopiste oli suomalaisten taimistojen emopuissa ja niiden nimien selvittämisessä. Yhdeksällä mikrosatelliittialukeparilla, jotka kopioivat 12 lokusta, luotiin DNA-sormenjäljet yhteensä 201 näytteelle, jotka edustivat 200 eri puuta. Tutkimusnäytteitä oli 99 kappaletta ja verrannenäytteitä oli mukana 102 kappaletta. Lokuskohtaisia alleelitietoja kertyi tutkimuksessa noin 2400 kappaletta. Identtiseksi jonkin toisen näytteen kanssa määriteltiin yhteensä 96 näytettä sisältäen sekä tutkimus- että verrannenäytteitä. 47 tutkimusnäytettä kyettiin varmasti tunnistamaan, joista 21 oli nimetty oikein. Väärin nimettyjä näytteitä oli tutkimuksessa yhteensä 23 kappaletta. Yhteensä 52 tutkimusnäytettä jäi joko nimettömiksi tai niiden nimeä ei kyetty verrannenäytteillä varmistamaan. Tutkimuksessa kyettiin löytämään alkuperäinen nimi kahdelle KESKAS-lajikkeelle.</p> <p>Mikrosatelliittimerkit osoittautuivat tässäkin tutkimuksessa käyttökelpoisiksi <i>Malus</i>-suvun yksilöiden tunnistamisessa. Tulosten perusteella on ilmeistä, että koristeomenapuiden oletetut identiteetit eivät aina vastaa todellista lajikeidentiteettiä. Tulokset palvelevat ensisijaisesti suomalaista taimikauppaa ja niiden avulla on mahdollista aloittaa lajikeaitoudeltaan varmennettujen puiden lisääminen. Jatkossa tutkimustuloksia voidaan hyödyntää myös laajemmissa lajikeaitouskartoituksissa.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords <i>Malus</i> , mikrosatelliittimerkit, lajikeaitous, lajiketunnistus			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Maataloustieteiden laitos ja Viikin kampuskirjasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Työtä ohjasivat: Leena Linden, Kristiina Antonius, Inka Juntheikki-Palovaara Yhteistyötahot: Taimistoviljelijät ry, Hyvinkään kaupunki, MTT			

HELSINGIN YLIOPISTO — HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Laitos — Institution — Department Department of Agricultural Sciences	
Tekijä — Författare — Author Katariina Elina Vuorinen			
Työn nimi — Arbetets titel — Title Ornamental crab apple cultivar authentication of Finnish nursery propagation material			
Oppiaine — Läroämne — Subject Plant Production Biology, Horticulture			
Työn laji — Arbetets art — Level Master's thesis	Aika — Datum — Month and year February 2012	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 68 + 15	
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>Identification of apple species (<i>Malus</i> Mill.) has traditionally depended on morphological descriptions. Cultivar identification based completely on characteristics is problematic at best as original descriptions are often lacking. Additionally authenticity of nursery products has been criticised in Finland since early 20th century.</p> <p>As DNA and molecular methods have developed, new ways of species and cultivar identification have emerged. Microsatellites have proven to be especially useful for identifying individual genotypes and for defining genetic polymorphism within a chosen population. Markers designed for apple (<i>Malus × domestica</i> Borkh.) function on all apple species making them extremely useful for <i>Malus</i> research.</p> <p>In our study, DNA fingerprinting was carried out with nine microsatellite markers copying 12 loci. Study material consisted of 201 samples representing 200 accessions. Most of the 99 study samples were from Finnish nurseries. Reference samples were gained from various botanical collections from North America and Europe. Altogether 47 study samples were re-identified or their original names authenticated. 52 samples remained nameless or unauthenticated. Two KESKAS cultivars were renamed as DNA-fingerprints revealed their true identity.</p> <p>Microsatellite fingerprinting proved to be a suitable method for ornamental crab apple cultivar authentication. False naming of nursery propagation material was evident and future studies are needed to illustrate the problem further.</p>			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Department of Agricultural Sciences and Viikki Campus Library			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Supervisors: Leena Linden, Kristiina Antonius and Inka Juntheikki-Palovaara In co-operation with: Taimistoviljelijät ry, City of Hyvinkää, MTT			

Sisälllys

Käsitteet	6
Nimistö	7
1 JOHDANTO	8
2 KIRJALLISUUSKATSAUS	9
2.1 Omenapuut	9
2.2 Koristeomenapuiden jalostuksen historia	12
2.3 Lajikeaitous ja <i>Malus</i> -suvun monimuotoisuus	15
2.3.1 Koristeellisen omenapuun aitous ostettaessa	15
2.3.2 Koristeomenapuiden tutkimus ja saatavuuden historia Suomessa	15
2.3.3 Morfologinen tunnistaminen	17
2.3.4 Lajikekuvaukset	17
2.4 Mikrosatelliitit	18
2.4.2 Mikrosatelliittien hyvät puolet	19
2.4.3 Mikrosatelliittien huonot puolet	20
2.4.4 Mikrosatelliittien mutatoituminen	21
2.5 <i>Malus</i> -suvun tunnistaminen mikrosatelliiteilla	22
2.5.2 Mikrosatelliittien käyttökelpoisuus <i>Malus</i> -suvun monimuotoisuuden selvittämisessä ja säilyttämisessä	24
3 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET	26
4 AINEISTO JA MENETELMÄT	27
4.1 Tutkimusaineisto: näytteet ja alukkeet	27
4.2 DNA:n eristys	32
4.3 PCR	33
4.4 Näytteiden analyysi kapillaarisekvensoinnilla	34
4.5 Kapillaarisekvensoinnin tulosten analysointi	34
4.6 DNA-sormenjälkien analysointi	35
5 TULOKSET	36
5.1 Alleelit ja hyväksyttävän geneettisen etäisyyden määrittäminen	36

5.2 Sukupuu sekä pääkomponenttianalyysi.....	38
5.3 Tutkimusaineiston lajikeaitous.....	41
5.4 'Hyvingiensis' ja löytöomenapuut.....	44
5.5 Vertailu aikaisempiin tutkimuksiin, KESKAS-lajikkeiden identiteetti.....	45
6 TULOSTEN TARKASTELU.....	47
6.1 Sormenjälkiaineisto.....	47
6.1.2 DNA-sormenjälkien lukeminen Genetic Profiler ohjelmasta.....	49
6.2 UPGMA-sukupuu ja pääkomponenttianalyysin tulkitseminen.....	51
6.3 Lajikeaitous.....	53
6.4 Löytöomenapuut ja 'Hyvingiensiksen' alkuperä.....	55
6.5 KESKAS-lajikkeiden 'Kirjailija' ja 'Kadetti' lajikeidentiteetti.....	56
6.6 Virhelähteiden arviointia.....	59
6.7 Jatkotutkimuksen aiheita.....	60
7 JOHTOPÄÄTÖKSET.....	61
8 KIITOKSET.....	62
LÄHTEET.....	63
LIITE1. Tutkimusaineiston näytekohtaiset tiedot, joilla näyte on toimitettu tutkimukseen.....	69
LIITE 2. Tutkimusaineiston DNA-sormenjäljet.....	75
LIITE 3. UPGMA-fylogeneettinen sukupuu tutkimusaineistosta.....	79
LIITE 4. Inka Juntheikki-Palovaaran (2008) pro gradu -työssä luodut DNA- sormenjäljet.....	83

Käsitteet

alleeli= vastingeeni, eli saman geenin tai esimerkiksi mikrosatelliitin toisesta eroava muoto

KESKAS-lajike= KESKAS-hankkeessa arvokkaaksi ja säilytettäväksi todettu numerokoodattu viherrakentamisen kasvikanta

kodominantti = ei osoita tavanomaista dominantti tai resessiivinen -asettelua, molemmat perityt alleelit näkyvät fenotyypissä

lokus= geenin tai esimerkiksi mikrosatelliitin paikka kromosomissa

MQ-vesi= milliQ-vesi, puhdistettua ja deionisoitua vettä, joka on tuotettu Millipore yhtiön Milli-Q laitteistolla

PCA= Principal Component Analysis, pääkomponenttianalyysi

PCR= Polymerase Chain Reaction, polymeraasiketjureaktio

polyploidia= kromosomiston tavallista suurempi moninkertaisuus, esimerkiksi triploidia eli kolminkertainen kromosomisto

RAPD= Randomly Amplified Polymorphic DNA

SNP= Single Nucleotide Polymorphism, analyysimenetelmä joka perustuu yksittäisten emästen muutoksiin

SSR= Simple Sequence Repeats, mikrosatelliitti

taksoni = taksonominen yksikkö, kuten suku, laji tai lajike

UPGMA= Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean, analyysimenetelmä joka perustuu etäisyyksien ryhmittelyyn

Nimistö

Käytän maisterintutkielmassani nimitystä koristeomenapuu käsitellessäni tutkimusaineistoani sekä *Malus*-suvun taksoneja tarhaomenapuuta lukuun ottamatta. Nimitystä omenapuut käytän käsitellessäni koko *Malus*-sukua. Nimityksenä koristeomenapuu ei ole täysin ongelmaton, sillä sitä on käytetty muun muassa purppuraomenapuiden synonyyminä (Räty ja Alanko 2004, Alanko ja Lagerström 2004). Omenapuista kirjoittaminen aiheuttaa puolestaan sekaannuksen tarhaomenapuiden (*Malus × domestica* Borkh.) kanssa, sillä kansanomaisesti ne ovat toistensa synonyymejä. Nimitystä omenapuu on käytetty myös kirjallisuudessa tieteellisen nimen yhteydessä tarkoittaessa tarhaomenapuuta (muun muassa Heikel 1913, Lindgren 1903). Täysin sopivaa nimitystä ei siis suomenkielessä ole, kun käsitellään laajasti *Malus*-suvun taksoneja tai kun halutaan käsitellä kaikkia muita taksoneja kuin tarhaomenapuuta. Englanninkielisessä kirjallisuudessa käytetään usein nimitystä crabapple kaikista muista *Malus*-suvun taksoneista kuin tarhaomenapuusta (muun muassa Fiala 1994) sekä nimitystä ornamental crabapple kun halutaan erityisesti painottaa, että kyseessä on taksoni, jota käytetään koristeellisuuden vuoksi. Sopivan nimityksen puuttuessa käytän ongelmista huolimatta yksinkertaisuuden vuoksi nimityksiä koristeomenapuu ja omenapuut maisterintutkielmassani.

1 Johdanto

Omenat ovat yksi maailman kahdestakymmenestä arvokkaimmasta sadosta vuosittain. Nykyiset tarhaomenapuulajikkeet ovat moninkertaisten risteymien tuotoksia ja vain osa *Malus*-suvun monimuotoisuudesta. Suvun sisäinen monimuotoisuus ja lajikkeiden kirjo ovat päätyneet tarkastelun kohteiksi kun molekyyliomenat ovat kehittyneet.

Koristeomenapuita on Suomessa käytetty kotipuutarhojen ja puistojen sulostuttajina jo 1800-luvun lopusta alkaen. Ne eivät ole koskaan saavuttaneet yhtä suurta suosiota kotipuutarhoissa kuin perinteiset tarhaomenapuut. Kuitenkin pohjoisiin oloihin sopeutuneilla koristeomenapuilla on merkitystä sekä viherrakentamisen, että jalostustyön kannalta. Suomalaisia koristeomenapuita on tutkittu aktiivisesti jo 1990-luvulta asti, jolloin Helsingin koristeomenapuukantoja selvitettiin viherrakentamisen näkökulmasta KESKAS- hankkeen osana. Sitten tutkimus on keskittynyt erityisesti koristeomenapuukantojen tunnistamiseen ja lajikenimien etsintään niin morfologisin kuin geneettisin menetelmin. Alun perin tarhaomenapuille kehitetyt ja optimoidut mikrosatelliittimerkit todettiin käyttökelpoisiksi myös koristeomenapuiden tunnistamiseen. Tämä antaa mahdollisuudet laajempaan lajikeidentifioimiseen ja lajikeaitouden varmistamiseen. Tässä työssä keskitytään toimivaksi todetun menetelmän pohjalta kotimaisten koristeomenapuukantojen tutkimiseen. Erityisesti työ painottuu kotimaisten taimistojen emopuiden lajikeaitouden selvittämiseen, mutta myös vanhojen tuntemattomien puistopuiden nimien etsimiseen.

Suomi on sitoutunut osaltaan kansainvälisiin sopimuksiin, joiden tarkoituksena on suojella maapallon monimuotoisuutta ja geenivarjoja. Sopimusten ansiosta Suomella on oma kansallinen geenivarjojen suojelustrategia. Geenivarjojen säilyttämisellä vastataan muihinkin arvoihin kuin puhtaasti biodiversiteetin säilyttämisellä. Vanhoilla viljely- ja koristekasveilla on myös historiallinen sekä kulttuurinen merkityksensä. Muuttuva ilmasto luo paineita kasvinviljelylle, jolloin laaja geneettinen

jalostusmateriaali on tarpeen. Geenivarojen säilyttämisen ja suojelun kannalta on oleellista tuntea yksilöiden laji- ja/tai lajikeidentiteetti. Ilman varmennettuja yksilöitä suojelussa saatetaan sortua samojen kantojen suojeluun useamman sijaan tai väärin kantojen suojeluun nimisekaannusten vuoksi.

2 Kirjallisuuskatsaus

2.1 Omenapuut

Malus-suku kuuluu *Maloidae*-alaheimoon, joka puolestaan kuuluu *Rosaceae*-heimoon. Omenapuiden sukuun kuuluu lähteestä riippuen noin 23–55 lajia (Fiala 1994, Phipps ym. 1990). Suomalaisessa kirjallisuudessa lajimääräksi mainitaan muun muassa 35 lajia (Alanko ja Lagerström 2004). Tarkasta lajimäärästä ei ole toistaiseksi tieteellistä yhteisymmärrystä. Esimerkiksi Fiala (1994) pohjaa luokittelunsa Rehderin lajilistaan *Malus*-suvusta. Molemmat lajilistaukset ovat pääosin yhtenevät (taulukko 1) ja lajimäärä asettuu noin 23–25 lajiin. Fiala (1994) on Rehderiä tiukempi lajien suhteen, ja siirtää kaksi lajia *M. coronaria* (L.) Mill. alalajeiksi. Phipps ynnä muut (1990) hyväksyy lajilistaukseensa jopa 55 lajia perustaen näkemyksensä laajaan lähdemateriaaliin, joka ei valitettavasti välttämättä anna sen parempaa käsitystä todellisesta lajimäärästä kuin muutkaan katsaukset *Malus*-sukuun. Kuriositeettina voidaan mainita tarhaomenapuun puuttuminen useimmista lajilistauksista (muun muassa Fiala 1994, Rehder 1977), vaikka se laajemmissa selvityksissä saattaa olla mainittuna (Phipps ym. 1990). Tämä voi vaikuttaa ensin oudolta, sillä tarhaomenapuut ovat monelle tutuin *Malus*-taksoni. *Malus* × *domestica* on kuitenkin useiden risteymien tulos (muun muassa Hokanson ym. 2001, Gharghani ym. 2009).

Epäselvyyksiä esiintyy omenapuiden suvussa lajimäärien lisäksi myös tieteellisissä nimissä. Omenapuut kuuluivat alun perin *Pyruksiin*, mutta erotettiin omaksi suvukseen 1800-luvun ja 1900-luvun vaihteessa. Lajien sekä varsinkin lajikkeiden ja hybridien nimet ovat vaihtuneet useasti. Muun muassa den Boer (1959) listaa kirjassaan kuuden sivun verran pelkästään synonyymejä. Listausta kattaa nimiä sen jälkeen kun

Malukset erotettiin omaksi suvukseen sekä aiemmat *Pyrus*-sukuun liitetyt nimet. Fiala (1994) esittää lajilistauksessaan Rehderistä eroavan nimeämisen japaninmarjaomenapuun (taulukko 1, laji 10) ja koralliomenapuun (taulukko 1, laji 9) kohdalla. *Malus toringo* Sieb. on vanhempi japaninmarjaomenapuun nimi kuin *M. sieboldii* (Reg.) Rehd. den Boer (1959) mainitsee japaninmarjaomenapuun englanninkieliseksi nimeksi Toringo Crab, vaikka sen tieteellinen nimi on samassa kirjassa *M. sieboldii*. Japaninmarjaomenapuun synonyymeiksi den Boer (1959) listaa muun muassa nimet *Pyrus toringo*, *Pyrus sieboldii*, *Pyrus mengo*, *Sorbus toringo* ja *Malus toringo*. Viljelykasvien nimistössä (Räty ja Alanko 2004) käytetään samaa nimistöä kuin Fiala (1994) kirjassaan käyttää.

Malus-suku on voimakkaasti hybridisoiva eikä lajien välillä ole risteytymistä estäviä geneettisiä esteitä (Campbell ym. 1991). Suvussa esiintyy myös polyploidiaa (Campbell ym. 1991), eli kromosomisto on tavallista moninkertaisempi esimerkiksi kolme- tai nelinkertainen. *Malus*-sukuun kuuluvia koristeellisia taksoneja, hybridiklooneja ynnä muita on mainittu Fialan (1994) kirjassa olevan ainakin yli 700 ilman, että lukuun lasketaan mukaan tarhaomenan erilaisia yhdistelmiä ja muotoja. Uusien yhdistelmien myötä koristeellistenkin *Malus*-taksonien määrä kasvaa jatkuvasti.

Taulukko 1. Fialan (1994) ja Rehderin (1977) lajilistaukset, sekä lajien asettuminen sektioihin ja serieksiin.

	Fiala, 1994	Rehder, 1977
Sektio <i>Eumalus</i> Zabel, Series <i>Pumilae</i> Rehder	1. <i>M. pumila</i> Miller	1. <i>M. pumila</i> Mill.
	2. <i>M. prunifolia</i> (Willdenow) Borkhausen	2. <i>M. prunifolia</i> (Willd.) Borkh.
	3. <i>M. spectabilis</i> (Aiton) Borkhausen	3. <i>M. spectabilis</i> (Ait.) Borkh.
	4. <i>M. x micromalus</i> Makino	4. x <i>M. micromalus</i> Mak.
Series <i>Baccatae</i> Rehder	5. <i>M. baccata</i> (Linnaeus) Borkhausen	5. <i>M. baccata</i> (L.) Borkh.
	6. <i>M. hupehensis</i> (Pampanini) Rehder	6. <i>M. hupehensis</i> (Pamp.) Rehd.
	7. <i>M. halliana</i> Koehne	7. <i>M. Halliana</i> Koehne
Sektio <i>Sorbomalus</i> Zabel, Series <i>Sieboldiana</i> Rehder	8. <i>M. floribunda</i> Siebold	8. <i>M. floribunda</i> Sieb.
	9. <i>M. sieboldii</i> (Asami) Fiala, ent. <i>M. x zumi</i> Rehder	9. x <i>M. Zumi</i> (Mats.) Rehd.
	10. <i>M. toringo</i> Siebold	10. <i>M. Sieboldii</i> (Reg.) Rehd.
	11. <i>M. sargentii</i> Rehder	11. <i>M. sargenti</i> Rehd
Series <i>Florentinae</i> Rehder	12. <i>M. florentina</i> (Zuccagni) Schneider	12. <i>M. florentina</i> (Zuccagni) Schneid.
Series <i>Kansuenses</i> Rehder	13. <i>M. fusca</i> (Rafinesque) Schneider	13. <i>M. fusca</i> (Raf.) Schneid.
	14. <i>M. toringoides</i> (Rehder) Hughes	14. <i>M. toringoides</i> (Rehd.) Hughes
	15. <i>M. kansuensis</i> (Batalin) Schneider	15. <i>M. kansuensis</i> (Batal.) Schneid.
Series <i>Yunnanenses</i> Rehder	16. <i>M. prattii</i> (Hemsley) Schneider	16. <i>M. prattii</i> (Hemsl.) Schneid.
	17. <i>M. yunnanensis</i> (Franchet) Schneider	17. <i>M. yunnanensis</i> (Franch.) Schneid.
Sektio <i>Chloromeles</i> Rehder	18. <i>M. x platycarpa</i> Rehder	18. <i>M. platycarpa</i> Rehd.
	19. <i>M. glaucescens</i> Rehder	19. <i>M. glaucescens</i> Rehd.
	20. <i>M. coronaria</i> (Linnaeus) Miller	20. <i>M. coronaria</i> (L.) Mill.
	(21.) <i>M. lancifolia</i> Rehder (<i>M. c.</i> var. <i>lancifolia</i> Fiala)	21. <i>M. lancifolia</i> Rehd.
	(22.) <i>M. angustifolia</i> (Aiton) Michaux (<i>M. c.</i> var. <i>angustifolia</i> Fiala)	22. <i>M. angustifolia</i> (Ait.) Michx.
	21. (23.) <i>M. ioensis</i> (A. Wood) Britton	23. <i>M. ioensis</i> (Wood) Brit.
Sektio <i>Eriolobus</i> Schneider	22. (24.) <i>M. trilobata</i> (Labill.) Schneider	24. <i>M. trilobata</i> (Poir.) Schneid.
Sektio <i>Docyniopsis</i> Schneider	23. (25.) <i>M. tschonoskii</i> (Maxim.) Schneider	25. <i>M. Tschonoskii</i> (Maksim.) Schneid.

Malus-suvun lajirikkaimmat alueet sijaitsevat Aasiassa ja Pohjois-Amerikassa. Keski-Aasiasta ja Kauko-Itään ulottuvalta alueelta tunnetaan suuri määrä eri lajeja, kuten *M. sieversii* (Lebed.) Roem., marjaomenapuu (*M. baccata* (L.) Borkh.), G.R. Hallin mukaan nimetty *M. halliana* Koehne ja japaninomenapuu (*M. tschonoskii* (Maxim.) Schneider) (Phipps ym. 1990). Euraasian alueella voidaan katsoa olevan kolme todellista lajia, eli *M. sieversii*, marjaomenapuu ja metsäomenapuu (*M. sylvestris* L.) (suullinen tiedonanto Alexander Sennikovilta Helsingissä 3.11.2011). Pohjois-Amerikasta on puolestaan löydetty useita alkuperäisiä *Malus*-lajeja; muun muassa oregoninomenapuu (*M. fusca* (Raf.) Schneider), "amerikankoristeomenapuu" (*M.*

coronaria(L.) Mill.), "preeriaomenapuu" (*M. ioensis* (Wood.) Britt.) ja *M. glaucescens* Rehder (Phipps ym. 1990, Fiala 1994, Alanko ja Lagerström 2004).

2.2 Koristeomenapuiden jalostuksen historia

Ensisijaisesti koristekäyttöön tarkoitettujen omenapuiden suunnitelmallisella jalostuksella on lyhyt historia, kuten muullakin periytyvyyteen perustuvalla jalostuksella. Paikallisia omenapuulajeja on kuitenkin käytetty hyödyksi ja vaalittu jo hyvin pitkään (Luby 2003). Muun muassa muinaiset eurooppalaiset heimot käyttivät paikallisia lajeja hyödyksi ennen tarhaomenapuun viljelyn leviämistä (Luby 2003).

Koristeomenapuiden tahaton ja osittain suunniteltu jalostus alkoi 1800-luvulla. Kasvitieteilijät matkustivat kaukasiin maihin ja toivat mukanaan uusia eksoottisia lajeja kotimaihinsa. Kiinnostus *Malus*-suvun lajeja kohtaan kasvoi uusien lajien myötä ja lajeja alettiin risteyttää keskenään, joskin tahattomasti. Valtaosa risteymistä tapahtui itsekseen, joten jalostus ei ollut vielä erityisen suunnitelmallista. Emopuiden alta löytyneitä risteymiä istutettiin kuitenkin paljon puistoihin. (Fiala 1994)

Seuraava käännekohta koristeomenapuiden jalostuksessa oli *M. pumila* 'Niedzwetzkyan' löytyminen 1890-luvulla. Fiala (1994) mainitsee löytymisajankohdaksi vuoden 1897, mutta suomalaisessa kirjallisuudessa vuosiluvuksi mainitaan 1891 (Kallio 1984, Alanko ja Lagerström 2004). Puun löytäjä oli venäläinen kasvitieteilijä Niedzwetzky (Fiala 1994, Alanko ja Lagerström 2004), ja Niels Hansen vei sen mukanaan Turkestanista Yhdysvaltoihin (Fiala 1994). Puun erikoisuus oli sen voimakas punainen väritys, joka esiintyi niin kukissa, hedelmissä ja lehdissä kuin oksien kaarnassa ja puuaineessa. Erilaisten punakukkaisten ja –lehtisten omenapuiden katsotaan olevan lähtöisin *M. pumila* 'Niedzwetzkyanasta' (Fiala 1994, Alanko ja Lagerström 2004), vaikka myös ruusuomenapuulla (*M. floribunda*), "kiinanomenapuulla" (*M. spectabilis*) ja *M. x micromaluksella* Makino on punaiset kukat, jotka vaalenevat kukinnan myötä (Alanko ja Lagerström 2004). Ensimmäiset punakukkaisten risteytykset Pohjois-Amerikassa tehtiin *M.*

pumila 'Niedzwetzkyanan' ja muiden *Malus*-taksonien välillä ensimmäisen maailmansodan jälkeen (Fiala 1994, Preston 1944). Näitä ensimmäisiä punakukkaisia lajikkeita (muun muassa 'Cowichan', 'Wabiscaw' ja 'Makamik') kutsutaan yhteisellä nimellä Rosybloom (Preston 1944). 'Niedzwetzkyanaa' käytettiin risteyttämisessä jo ennen Rosybloomeja Ranskassa, jossa se risteytettiin *M. × atrosanguinean* (Späth) Schneider kanssa (Fiala 1994). Tämä yhdistelmä kantaa nimeä *M. × purpurea* (Barbier) Rehder (Fiala 1994).

Jalostus on törmännyt yllättäviinkin ongelmiin, joista Rosybloomien syntyyn liittyy yksi erikoinen esimerkki. Kukkia pölytettiin käsin, jotta haluttu yhdistelmä saataisiin varmistettua (Preston 1944). Toivottu risteytymä oli *M. pumila* 'Niedzwetzkyana' × *M. baccata*. Miltei kaikki käsin pölyttämällä muodostuneista hedelmistä kuitenkin varastettiin, sillä puu sijaitsi näkyvällä paikalla (Preston 1944). Jalostuksessa jouduttiin siten tyytymään muutamaaan hedelmään, joiden molemmat vanhemmat tunnettiin sekä emopuun latvasta kerättyihin hedelmiin, joiden toisesta vanhemmasta ei ollut varmaa tietoa (Preston 1944).

Fiala (1994) mainitsee kirjassaan ryhmän koristeomenapuuristeymiä, joita hän kutsuu *Zumi*-hybrideiksi. Näiden hybridien perimässä on koralliomenapuuta (*Malus sieboldii* (Rehder) Fiala). Laji tunnettiin aikaisemmin nimellä *M. × zumi* (Fiala 1994, Rätty ja Alanko 2004). Zumi-hybrideille ominaisia piirteitä ovat punaiset nuput, jotka aukeavat valkoisiksi kukiksi, runsas kukinta ja taudinkestävyys.

Erilaisia risteymiä risteytettiin ja risteytetään keskenään ja puhtaiden lajien kanssa. Nämä moninkertaiset risteymät (englanniksi multibrids) ovat perimältään liian monimutkaisia, jotta ne voitaisiin sijoittaa jonkin ryhmänimen alle (Fiala 1994). Jalostuksen avulla on saatu aikaan monenlaisia puita, joiden valikoimasta löytyy vaihtoehtoja puun koon ja mallin, kukkien, hedelmien sekä lehtien värin ja hedelmien koon suhteen. Joukossa on muun muassa hyvin pienimarjaisia puita, polyploideja sekä riippuvaoksaisia lajikkeita (Fiala 1994).

Suomessa *Malus*-taksoneja ei ole juurikaan jalostettu niiden koristeellisuutta ajatellen. 1900-luvun alussa pyrittiin kehittämään maamme oloihin sopivia puita, joilla olisi taloudellista merkitystä. Heikel (1913) mainitsee, että Suomessa aloitettiin perusrunkojen jalostus lajista *Pyrus baccata* (nykyisin *Malus baccata*), vuonna 1908. Kiinnostus ”siperialaisia omenapuita” (*M. baccata* ja *M. prunifolia*) kohtaan heräsi ilmeisesti kanadalaisten onnistuneiden jalostuskokeiden innoittamana. William Soundersin jalostamia tarhaomenapuun ja ”siperialaisten omenapuiden” risteytyksiä hankittiin myös Suomeen, jotta niiden soveltuvuus ilmastoomme voitaisiin selvittää (Heikel 1913). Heikel (1913) mainitsee myös Suomesta löytyneen marjaomenapuun muunnoksen, joka on yhtä satoisa kuin kanadalaiset lajikkeet. Valitettavasti kyseistä Käkisalmen kaupungista sattumalta löytynyttä yksilöä ei ainakaan Heikelin (1913) kirjassa ole nimetty. Perusrunkojen kokeiluja ja jalostusta toteutettiin 1900-luvun alussa ainakin Lepaan puutarhaopistossa sekä Heikelin (1913) mukaan ”Mustilan kartanossa Elimäellä”. Perusrunkoina on Suomessa käytetty jo pitkään marjaomenapuuta (Heikel 1913) ja Laurila (1995) pitää marjaomenapuun siemenjälkeläisestä lisättyä YP-perusrunkoa parhaana.

1990-luvulla suomalaisille taimistoille tarjottiin Helsingistä löytyneitä koristeellisia *Malus*-taksoneja, joista suuren osan arvellaan olevan entisen kaupunginpuutarhuri Bengt Schalinin (kaupunginpuutarhurina vuodet 1946–1957) peruja (Tegel ja Apajalahti 1994). Lajikkeiden emoyksilöt arvioitiin arvokkaiksi niiden kestävyys- ja näyttävyyden vuoksi KESKAS-hankkeessa, eikä niille löydetty alkuperäistä nimeä arkistoista eikä morfologisten tuntomerkkien avulla (Tegel ja Apajalahti 1994). Työnimillä lisäykseen annetuille näytteille on sittemmin pyritty löytämään alkuperäisiä nimiä (muun muassa Linden ym. 2010a).

Nimetyistä koristeomenapuista valtaosan merkitys markkinoilla on vähäinen tai olematon. Fiala (1994) arvioi turhien taksonien määrän olevan noin 60–70 % kaikista nimetyistä koristeomenapuista. Taimistot lisäävät ja myyvät lisäksi paljon vanhoja lajiristeymiä sekä Rosybloomeja, vaikka parempia taksoneja olisi olemassa (Fiala 1994). Kaikin puolin paremmat uudet lajikkeet jäävät harmillisen usein jalostajien omiin puutarhoihin eivätkä päädy markkinoille saakka (Fiala 1994).

Umpimähkäinen tai sekava lisääminen tuottaa useimmiten sellaisia jälkeläisiä, joilla ei ole haluttuja piirteitä (Wyman 1950).

2.3 Lajikeaitous ja *Malus*-suvun monimuotoisuus

2.3.1 Koristeellisen omenapuun aitous ostettaessa

Kasvien laatuun ja aitouteen kiinnitti Suomessa huomiota jo Heikel vuonna 1913 julkaistussa kirjassa Hedelmän- ja marjanviljelys. Heikel (1913) arveli, ettei Venäjältä tilattujen kasvien laatu ollut aina sitä, mitä tilaaja on halunnut. Tilanne ei Heikelin (1913) mukaan välttämättä ollut Suomessakaan erityisen hyvä. Myös kolmekymmentä luvulla Salonen ja Jaatinen (1933) muistuttivat Kodin puutarha- kirjassa hankkimaan hedelmäpuut "luotetusta taimistosta" sekä varmistamaan, että taimet ovat kotimaisia. Ulkomailla tilanne on ollut mitä ilmeisimmin sama, sillä muun muassa Wyman (1950) kehottaa hankkimaan koristeomenapuut luotettavilta kasvattajilta, jotka lisäävät kasvinsa tavalla, joka takaa aitouden, eli kasvullisesti lisäämällä. Sekaannuksia on oletettavasti tapahtunut kasvien kohdalla myös sotien jälkeen, sillä 1940-luvun puolivälissä arviolta vain 20 %:iin tarhaomenapuuntaimitarpeesta pystyttiin vastaamaan kotimaisilla taimilla (Laurila 1995). Fiala (1994) varoittaa kirjassaan, että koristeelliset omenapuut kannattaa ostaa asiantuntevilta ja luotettavilta taimistoilta, sillä puutarhamyymälöissä puut myydään usein pelkän kukkien värin perusteella ilman nimiä tai ainakaan vakuutta nimestä. Jopa tietellisissä kasvinkoelmissa saattaa olla ongelmia *Malus*-suvun yksilöiden aitouden suhteen (Hokansson ym. 2001). Tämä johtuu alkuperätietojen puutteellisuudesta sekä siemenestä kasvatetuista yksilöistä, sillä *Malus*-suvun lajit risteytyvät helposti keskenään (Hokansson ym. 2001).

2.3.2 Koristeomenapuiden tutkimus ja saatavuuden historia Suomessa

Ensimmäiset kotimaiset hinnastomaininnat koristeellisista omenapuutaksoneista ovat 1800-luvun jälkipuoliskolta. Vuonna 1886 ilmestyneessä M.G Steniuksen hinnastossa mainittiin *Pyrus baccata* (*Malus baccata*), sekä siperianomenapuun

(*Malus prunifolia*) punahedelmäinen muoto (*Pyrus prunifolia* fr. *rubro*) (Stenius 1886). Alexandra Smirnoff esittelee Suomen Pomologian käsikirjassa (1894) muun muassa *Pyrus Sieversiin* (*Malus sieversii*), *Pyrus baccatan* (*Malus baccata*) ja *Pyrus prunifolian* (*Malus prunifolia*) sekä edellä mainittujen lajien erilaisia muotoja. Kyseessä on kuitenkin esittely Pietarin pomologisessa puutarhassa kasvavista taksonista (Smirnoff 1894) eikä lisättävistä tai myynnissä olevista puista. Ensimmäiset lajikkeiksi laskettavat taksonit tulivat hinnastojen perusteella Suomessa myyntiin 1920-luvun puolella, jolloin kotimaisissa taimihinnastoissa mainittiin ensimmäisen kerran *Malus* 'John Downie' nimellä *Malus prunifolia* John Downie (Schalin 1928). Seuraavalla vuosikymmenellä myyntiin tulivat muun muassa lajikkeet 'Eleyi' (*M. floribunda purpurea* Eleyi, Schalin 1933), 'Hyslop' (*M. prunifolia* Hyslop, Olsson 1936), 'The Fairy' (*M. prunifolia* 'The Fairy', Olsson 1936) ja 'Lemoinei' (Mustilan taimitarhat 1935). Säilyneiden hinnastojen perusteella lajike 'Hopa' ilmaantui myyntiin sotien jälkeen 1950-luvulla (Harviala 1950). Ensimmäinen hinnastomaininta saatavilla olevissa hinnastoissa rautatienomenapuusta, eli lajikkeesta 'Hyvingiensis', on peräisin 1960-luvulta (Harviala 1963). Puun alkuperä on hämärän peitossa, vaikka Ridelius (2010) mainitsee sen olevan alun perin lajiketta *Malus prunifolia pendula* (aikaisemmin *Pyrus prunifolia pendula*) ja olleen nimellä 'Hyvingiensis' Hyvinkään taimiluetteloissa jo 1800-luvulta asti.

Helsingin kaupunginpuutarhuri Bengt Schalin oli ilmeisen innostunut koristeomenapuista ja hänen jäljiltään vanhoista puistoista löydettiin joukko tuntemattomia koristeomenapuuksilöitä, joista parhaista toimitettiin taimistoille lisäysmateriaalia (Tegel ja Apajalahti 1994). Näiden niin kutsuttujen KESKAS-lajikkeiden lisäksi taimistoilla on lisäyksessä omia lajikkeita, jotka ovat ilmeisesti alun perin löytöpuita. KESKAS-hankkeen myötä koristeomenapuita alettiin tutkia tarkemmin Helsingin yliopistolla. Löydetyille arvokkaiksi katsotuille kannoille pyrittiin löytämään lajikenimiä morfologisten tuntomerkkien (Temmes 2007) ja molekyylimerkkin avulla (Juntheikki-Palovaara 2008, Linden 2010b). Juntheikki-Palovaaran (2008) pro gradu -tutkielman avulla selvitettiin myös tiettyjen alun perin tarhaomenapuille optimoitujen mikrosatelliittialukkeiden toimivuus koristeomenapuille jatkotutkimuksia ajatellen. Muun muassa Hokanson ynnä muut

(2001) selvittivät samaa asiaa tutkiessaan laajaa *Malus*-taksonien joukkoa ja totesivat alukkeiden toimivan kaikilla tutkituilla taksonneilla.

2.3.3 Morfologinen tunnistaminen

Kasvin ulkoisiin piirteisiin perustuvaa tunnistamista kutsutaan morfologiseksi tunnistamiseksi. Kasvien näkyvät yhteneväisyydet ja eroavaisuudet ovat olleet ainoa keino kasvien tunnistamiseen ja sukulaisuussuhteiden määrittämiseen siihen saakka kunnes tekniikka kehittyi riittävästi mahdollistaakseen aineenvaihduntatuotteiden ja itse perimäaineksen tutkimisen ja vertailun. Ulkoiset tuntomerkit ovat helppo ja vaivaton tunnistamistapa niin pitkään kuin kasvit ovat helposti toisistaan erotettavissa. Kasvupaikan vaikutus fenotyyppiin ja läheiset sukulaisuussuhteet vaikeuttavat tunnistamista tapauksissa, joissa tunnistettavat yksilöt ovat tuntomerkeiltään hyvin samankaltaiset. Muiden tunnistusmenetelmien ollessa vielä kehitysvaiheessa ja ilman yhtenäisiä standardeja, morfologinen tunnistaminen on edelleen varmin tapa yksilöidä muun muassa uudet lajikkeet ja varmistaa niiden tuotesuoja. Esimerkiksi UPOV (The International Union for the Protection of New Varieties of Plants) listaa laajalti eri ominaisuuksia joiden perusteella uutta lajiketta rekisteröitäessä kasvi on kuvattava (UPOV 2003). Tarkasteltavien ominaisuuksien joukossa on muun muassa puun olemus, versojen väri, kukan ja hedelmän väri, hedelmän muoto sekä lukuisia muita ominaisuuksia. Vanhoista lajikkeista yhtä tarkkoja kuvailuja ei valitettavasti usein ole saatavilla. Tämä vaikeuttaa entisestään koristeomenapuiden morfologista tunnistusta, kun uusia lajikkeita ja lajikeristeymiä on saatavilla yhä suurempi valikoima.

2.3.4 Lajikekuvaukset

Koristeomenapuiden, kuten muidenkin kasvien, kuvailun täsmällisyys ja kattavuus riippuu lähteestä. Monissa teoksissa pyritään esittämään kasvin kuvaus mahdollisimman tiiviisti, jolloin myös tiedon kattavuus kärsii. Alkuperäiset laji- ja lajikekuvaukset voivat olla hankalasti saatavilla ja ne voivat olla hyvin suppeat. Tällöin muun muassa lajikkeiden erottaminen toisistaan voi olla vaikeaa tai lähes

mahdotonta. Vanhoissa sekä joissakin uusissakin kuvauksissa sorrutaan satunnaisesti maalailevaan kielenkäyttöön, joka ei anna konkreettista tietoa, vaan kertoo pikemminkin kirjoittajan mielipiteen kuvatusta lajista tai lajikkeesta. Toinen lajikkeiden alkuperään liittyvä ongelma on, ettei niiden jalostajia tai jalostusajankohtaa mainita tai tiedetä. Tällöin alkuperäisen kuvauksen etsiminen vaikeutuu entisestään. Kohtuullisen kattavat koristeomenapuukuvaukset löytyvät Fialan (1994) teoksesta *Flowering crabapples the genus Malus* sekä jo vanhentuneesta den Boerin (1959) teoksesta *Flowering Crabapples*. Monet suomalaisille tutut lajikkeet kuitenkin puuttuvat näistä teoksista, sillä kotimaiset vanhatkin lajikkeet ovat muualla tyystin tuntemattomia.

2.4 Mikrosatelliitit

Eukaryooteilla valtaosa tuman genomista koostuu toistuvista DNA-elementeistä (Weising ym. 2005). Lyhyitä toistojaksoja on eukaryoottisten solujen genomissa suuria määriä (Ellegren 2004). Mikrosatelliitit kuvattiin ensimmäisen kerran Weberin (1990) artikkelissa, joka käsitteli ihmisen genomissa esiintyvän polymorfismin informatiivisuutta. Kasveilla mikrosatelliitit kuvattiin ensimmäisen kerran 1990-luvun taitteessa (muun muassa Weising ym. 1989). Polymeraasiketjureaktion (PCR), menetelmä jolla voidaan kopioida DNA:ta, avulla tuotetut lokuskohtaiset mikrosatelliitit kuvattiin soijalla vuonna 1992 (Akkaya ym. 1992). Mikrosatelliitit ovat lyhyitä DNA:n pätkiä, joissa toistuu sama 1–6 nukleotidin järjestys yhä uudestaan. Toistojakso koostuu yleensä noin 6–40 toistosta (Selkoe ja Toonen 2006). Tätä pidemmätkin toistojaksot ovat mahdollisia, mutta useimmiten toistoja on maksimissaan noin 60 (Goldstein ja Pollock 1997). Mikrosatelliitteja pidetään usein niin sanottuna itsekkäänä DNA:na eli loisivana DNA:na, jolle ei ole löydetty muuta tarkoitusta kuin kopioida itseään. Ne saattavat kuitenkin olla myös rakenteellisia elementtejä telomeereissä ja sentromeereissä, sitoa tuman proteiineja, toimia laskeutumisalueina transkriptiofaktoreille ja lisätä tai vähentää viereisen geenin ilmentymistä (Weising ym. 2005). Geneettisinä markkereina käytetyt mikrosatelliitit sijaitsevat useimmiten DNA:n epäkoodaavassa osassa, jolloin niiden kehityksen oletetaan olevan neutraalia, eli ne eivät vaikuta organismin elinkelpoisuuteen

(Ellegren 2004). On kuitenkin mahdollista, että mikrosatelliitti periytyy jonkin valintapaineen alaisen geenin mukana (Selkoe ja Toonen 2006). Toisin kuin DNA:n monimuotoisuus, mikrosatelliittien monimuotoisuus perustuu niiden pituuden eikä sekvenssin vaihteluun. Mikrosatelliittien geneettinen vaihtelevuus lokuksissa on heterotsygotian ja useiden alleelien aikaansaannosta (Ellegren 2004). Mikrosatelliitteista tuli nopeasti PCR:n kehittämisen jälkeen yleisimmin käytetty molekyyli-markkeri genomien tutkimisessa, sekä populaatioiden geneettisessä tutkimuksessa sekä niihin liittyvissä aihealueissa (Ellegren 2004). 2000-luvulla mikrosatelliittien rinnalle on noussut SNP (singlenucleotide polymorphism), AFLP (amplified fragment length polymorphism) sekä DNA:n sekvenssointi (Schlötterer 2004). Mikrosatelliitteja nimitetään lyhyesti usealla tavalla, kuten SRS (simple repetitive sequences), SSR (simple sequence repeats), STR (simple tandem repeats) ja VNTR (variable number tandem repeats) (Weising ym. 2005, Selkoe ja Toonen 2006). Alun perin mikrosatelliitteista käytettiin vain lyhyttä nimitystä simple sequence (Tautz ja Renz 1984), joka kuvaa toistojakson yksinkertaisuutta kun sama 1-6 nukleotidin järjestys toistuu samana yhä uudelleen.

2.4.2 Mikrosatelliittien hyvät puolet

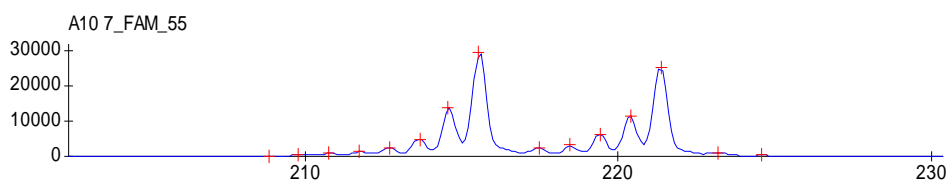
Mikrosatelliittien käytön kannalta on edullista, ettei menetelmää varten tarvita suurta määrää DNA:ta, vaan PCR:n avulla voidaan pienestäkin määrästä lisätä riittävästi tutkittavaa materiaalia (Selkoe ja Toonen 2006). Mikrosatelliitit ovat verrattain lyhyitä pätkiä, jolloin genomisen DNA:n osittainen hajoaminen ei useimmiten haittaa kopioitumista ja DNA:ta voidaan eristää ja käsitellä nopeasti ja alhaisilla kustannuksilla (Selkoe ja Toonen 2006). Muiden organismien aiheuttamat kontaminaatiot eivät ole mikrosatelliittien kohdalla erityisen suuri ongelma, sillä mikrosatelliitit ovat lajispesifejä (Selkoe ja Toonen 2006). Tällöin kontaminaatorisikin aiheuttavat lähinnä tutkimuksen muut näytteet sekä samassa laboratoriossa käsiteltävät samaa lajia tai sukua ovat organismit. Mikrosatelliitit ovat hyvin informatiivisia, mikä tekee niistä erityisen käyttökelpoisia. Esimerkiksi jo kahdella eri mikrosatelliitilla voidaan erottaa valtaosa tarhaomenapuulajikkeista toisistaan (Gianfranceschi ym. 1998). Korkea mutatoitumisaste ilmenee laajana alleelien

vaihtelevuutena. Eri tutkimuksissa alleeleja on todettu *Malus*-suvulla yhtä lokusta kohti jopa 25 (Gharghani ym. 2009) tai 40 (Hokanson ym. 2001). Korkean mutatoitumisasteen vuoksi mikrosatelliitit sopivat parhaiten nykyisten erojen ja hiljattain, eli viimeisten 10–100 sukupolven aikana, tapahtuneiden muutosten tarkasteluun (Selkoe ja Toonen 2006). Alleelien vaihtelevuuden mukaan voidaan valita tutkimukseen sopivat mikrosatelliitit. Kun halutaan tarkastella sukulaisuussuhteita ylemmällä taksonomisella tasolla kuin alalajit, kannattaa valita vain vähän alleelivariaatiota ilmentävät mikrosatelliitit (Goldstein ja Pollock 1997).

2.4.3 Mikrosatelliittien huonot puolet

Lajispesifisyyden vuoksi alukkeiden kiinnittymisalueiden tulee olla identtisiä, mikä ei useimmiten ole asianlaita eri lajien välillä (Selkoe ja Toonen 2006). Mutaatiot kiinnittymisalueella voivat johtaa siihen, ettei aluke kiinnity eikä mikrosatelliitista siis saada kopioitua PCR:n avulla tuotteita (Selkoe ja Toonen 2006). Tämä voi näkyä joko nolla-alleeleina, eli toinen alleeli kopioituu normaalisti, mutta toinen ei mutaation vuoksi kopioitu, vaikka se on perimässä, tai kopioitumistuotteiden puuttumisena tyystin (Selkoe ja Toonen 2006). Mikrosatelliittien mutatoitumisprosessi on monimutkainen, mikä tekee tulosten tilastollisesta tulkinnasta hankalaa (Schlötterer 2004). Tulosten automaattinen tulkinta on myös mikrosatelliittien kohdalla hankalaa, sillä PCR:ssä tapahtuvien virheiden vuoksi esiintyy niin sanottuja stutter bandeja (kuva 1) eli ylimääräisiä piikkejä (Schlötter 2004). Yhden lisäongelman mikrosatelliittien käytölle ja tulkinnalle pituuden mukaan aiheuttaa myös se, etteivät kaikki yhtä pitkät alleelit välttämättä ole emäsjärjestykseltään samoja (Selkoe ja Toonen 2006). Tätä ilmiötä kutsutaan homoplasiaksi. Alleelien pituus on siis sama, mutta alkuperä ja/tai emäsjärjestys voivat erota (Selkoe ja Toonen 2006). Homoplasiaa on sekä havaittavaa että huomaamatonta. Havaittava homoplasia voidaan erottaa sekvensoimalla alleelin emäsjärjestys, mutta huomaamaton homoplasia eroaa ainoastaan alleelin kehitysalkuperän suhteen (Selkoe ja Toonen 2006). Kokoon liittyvä homoplasia on mikrosatelliiteille yleistä (Weising ym. 2005). Mahdollisia virhelähteitä tuloksissa ovat huono kopioituminen, piikkien väärin tulkitseminen (esimerkiksi stutter bandin ottaminen mukaan aitona alleelina tai ylimääräisen

kopioitumistuotteen tulkitseminen alleeliksi), kontaminaatio, väärä nimeäminen tai lyöntivirheet (Bonin ym. 2004). Ihmisvaikutus molekyyli-merkeillä tehtävässä genotyypitutkimuksessa ei ole mitätön, vaikka siitä ei mielellään puhuta (Bonin ym. 2004). Ongelmia tulkintaan saattaa tuoda myös erikokoisten alleelien kopioutuminen hieman eri tavalla PCR:ssa, eli lyhyemmät alleelit kopioituvat tehokkaammin ja suuremmat puolestaan saattavat ikään kuin pudota pois kopioitumistuotteista, kun niiden voimakkuus ei ylitä valintakynnystä (Selkoe ja Toonen 2006).



Kuva 1. Stutter bandit eräällä tutkimuksen näytteistä. Stutter bandit ovat kopioitumisen aikana tapahtuneiden virheiden tuloksia. Usein ne edeltävät oikeaa korkeinta piikkiä matalampina harjanteina kuten kuvassa.

2.4.4 Mikrosatelliittien mutatoituminen

Goldstein ja Pollock (1997) mainitsevat artikkelissaan, että mikrosatelliittit ovat hyvin epävakaita ja niillä on korkea mutaatioaste. Mikrosatelliittien pituus mutatoituu usein DNA-monistumisessa tapahtuvien virheiden vuoksi (Schlötter 2004). Mikrosatelliittien mutatoitumiselle ei ole yhdenmukaista nopeutta, vaan mutatoitumisnopeus vaihtelee paitsi lajin, niin myös lokuksen, toistoaihelman pituuden ja jopa alleelin mukaan (Ellegren 2000). Mutatoituminen kiihtyy toistojen lukumäärän lisääntyessä (Ellegren 2000). Pitkät toistojaksot mutatoituvat lyhyitä herkemmin, joten mutatoituminen on alleelikohtaista useammin kuin lokuskoh- taista (Weising ym. 2005). Jotkin toistot saattavat olla vakaampia ja toiset puoles- taan herkempiä mutatoitumaan (Weising ym. 2005). Toistojaksojen täydelliset insertiot ja deleetiot ovat yleisimpiä mutaatioita mikrosatelliiteilla (Goldstein ja Pollock 1997). Suurempi osa mutaatioista on ilmeisesti insertioita kuin deleetioita, mutta toistojakson pituus voi vaikuttaa siihen, onko lisäyksiä vai poistoja enemmän (Goldstein ja Pollock 1997). Pidempiä toistojaksoja voi muodostua, jos virhe yhdis- tää kaksi aikaisempaa toistojaksoa (Weising ym. 2005). Epätäydellisyydet, kuten

pistemutaatiot, tekevät mikrosatelliiteista vakaampia (Goldstein ja Pollock 1997). Insertiot ja deletiot sekä pistemutaatiot ovat yleisiä myös mikrosatelliittia ympäröivillä alueilla, joille mikrosatelliittialukkeet usein suunnitellaan (Weising ym. 2005). Mikrosatelliittimerkkien kiinnittymisalueet eroavat usein lajien välillä, minkä vuoksi merkit ovat usein lajispesifisiä (Weising ym. 2005).

2.5 *Malus*-suvun tunnistaminen mikrosatelliiteilla

Mikrosatelliitteja käytetään yleensä lajinsisäisissä tutkimuksissa, sillä ne eivät useimmiten sovellu lajienvälisiin tutkimuksiin (Goldstein ja Pollock 1997). Tarhaomenapuulle (*M. x domestica* Borkh.) kehitetyt mikrosatelliitit toimivat kuitenkin muillakin *Malus*-suvun lajeilla (muun muassa Hokanson ym. 2001). Tarhaomenapuu on usean *Malus*-lajin risteytys, mikä selittää mikrosatelliittien toimivuuden koko suvulla. Hokanson ynnä muut (2001) mainitsee artikkelissaan, että usean tutkimuksen mukaan tarhaomenan perimässä on muun muassa seuraavia lajeja: *M. sieversii* (Ledeb.) M. Roemer, *M. orientalis* Uglitzk., *M. sylvestris* Miller, *M. baccata* (L.) Borkh., *M. mandshurica* (Maxim) V. Kamarov ja *M. prunifolia* (Wild.) Borkh.

Perinteiset tunnistusmenetelmät (morfologiset ja taksonomiset) eivät ole usein riittäviä kasvupaikan vaikuttaessa suuresti puun ulkoisiin tuntomerkkeihin. Lisäksi jalostuksen kautta markkinoille on tullut hyvin samankaltaisia lajikkeita, joiden kuvaukset ovat puutteellisia (Routson ym. 2009). Molekyyliimerkit tunnistamisen välineenä ovat etulyöntiasemassa perinteisiin tunnistusmenetelmiin nähden, sillä ne ohittavat täysin ympäristön vaikutuksen ja pohjautuvat ainoastaan perimäaineeseen. Vanhojen omenapuiden kohdalla nimeäminen on tehty välillä jälkikäteen, jolloin fenotyypin mukaan nimeäminen on varsin haastavaa (van Treuren ym. 2010).

Malus-suvun monimuotoisuutta ja sukulaisuussuhteita on selvitetty useissa tutkimuksissa molekyyliimerkkien avulla. Dunemanin ynnä muiden (1994) RAPD molekyyliimerkeillä tehdyillä sormenjäljillä tarkasteltiin 18 villitaksonin ja 27 tarhaomenataksonin sukulaisuussuhteita. Mikrosatelliitteja on *Malus*-sukua tutkittaessa käytetty muun muassa kaupallisesti viljeltyjen tarhaomenapuiden taksonien

tunnistamisessa (muun muassa Galli ym. 2005), tarhaomenapuiden paikallisten taksonien ja *Malus*-suvun lajien tunnistamisessa ja vertailussa (Gharghani ym. 2009) sekä yhdessä muiden molekyyliemerkkien kanssa suojeleohjelmien suunnittelussa (Coart ym. 2003). Mikrosatelliitteja on käytetty lajikeaitouden selvittämisessä myös muun muassa riisillä (Chuang ym. 2011) ja aprikoosilla (Rao ym. 2010). Mikrosatelliiteilla on luotu tomaatille tietokanta, joka kattaa yli 500 lajiketta (Bredemeijer ym. 2002).

Mikrosatelliitteja ei pidetä erityisen hyvinä lajien sukulaisuussuhteiden tai fylogenen selvittämisessä. Muut molekyyliemerkit soveltuvat fylogeniaturkimuksiin mikrosatelliittimerkkejä paremmin. Esimerkiksi RAPD molekyyliemerkkeillä Duneman ynnä muut (1994) saivat tulokset, jotka vastasivat varsin hyvin tiedossa olevia sukulaisuussuhteita tarhaomenapuiden osalta ja villilajien asettuminen sukupuussa vastasi kohtuullisesti fylogeneettistä tietoa lajien sukulaisuussuhteista. RAPD merkit ilmenivät myös Forten ynnä muiden (2002) tutkimuksessa hyödyllisiksi *Malus*-suvun geneettisten sukulaisuussuhteiden tarkastelussa. Lajikkeen vanhempien tarkistamiseen mikrosatelliitteja voidaan kuitenkin käyttää (Moriya ym. 2011, Evan ym. 2011). Tarkistettaessa *Malus*-yksilön vanhempia aloitetaan sen oletetuista vanhemmista, mutta tarkastelu voidaan ulottaa myös muihin tunnettuihin genotyyppeihin (Evans ym. 2011).

Molekyyliemerkkejä hyödyntävissä tutkimuksissa on käytetty hyvin vaihtelevia määriä tutkimusyksilöitä sekä mikrosatelliittialukkeita. Guarinon ynnä muiden (2005) tutkimuksessa tutkittiin 48 vanhan italialaisen tarhaomenayksilön geneettistä monimuotoisuutta kahdeksan vertailunäytteen ja yhdeksän mikrosatelliittialukeparin (SSR) avulla. Routson ynnä muut (2009) vertailivat tutkimuksessaan seitsemällä mikrosatelliiteilla 280 puun perimää 109 tunnettuun lajikkeeseen selvittäessään Lounais-Yhdysvaltojen historiallisten omenapuiden identiteettiä. Van Treuren ynnä muut (2010) selvittivät tutkimuksessaan omenapuiden monimuotoisuutta Alankomaissa. Tutkimuksessa oli yhteensä 695 puuta ja niille luotiin sormenjäljet 16 mikrosatelliitimarkkerilla (van Treuren ym. 2010). Riippumatta tutkimusaineiston

laajuudesta sekä käytettyjen mikrosatelliittimerkkien määrästä eri genotyypin omaavat yksilöt on kyetty tutkimuksissa erottamaan toisistaan.

Mikrosatelliittimerkkejä on käytetty tutkimuksissa onnistuneesti lajikkeiden tunnistamisessa. Muun muassa Routsonin ynnä muiden (2009) tutkimusnäytteissä esiintyi 144 erilaista genotyyppiä ja 280 puusta 120 tunnistettiin joksikin tunnetuksi lajikkeeksi. Tunnistettuja lajikkeita oli 34 (Routson ym. 2009). Tutkimuksissa on selvinnyt varmistettujen identiteettien lisäksi nimien päällekkäisyyksiä. Guarino ynnä muut (2005) havaitsivat, että 27 näytettä 56 genotyypistä oli identtisiä jonkin muun näytteen kanssa ja osalla samaa genotyyppiä edustavista näytteistä oli eri nimi. Van Treuren ynnä muut (2010) saivat tutkimuksessaan 45 näytteen nimen korjattua aikaisemmasta virheellisestä osoittautuneesta nimestä. Myös Hokanson ynnä muut (2001) havaitsivat nimien päällekkäisyyttä. Routson ynnä muut (2009) löysivät tunnetuista lajikkeista, joiden piti toimia verrannäytteinä heidän tutkimuksessaan, päällekkäisyyksiä. Routson ynnä muut (2009) arvelivat, että väärin nimien taustalla olivat joko synonyymit, läheiset mutaatiot tai värinimeäminen.

Artikkeleissa on mainintoja standardinäytteiden käytöstä eri tutkimuksien yhteensovittamiseksi (van Treuren ym. 2010). Tutkimusten välisiä standardinäytteitä ei kuitenkaan mainita kovin monessa artikkelissa, vaikka niillä olisi mahdollista parantaa tutkimusten vertailtavuutta.

2.5.2 Mikrosatelliittien käyttökelpoisuus *Malus*-suvun monimuotoisuuden selvittämisessä ja säilyttämisessä

Artikkeleissa on tullut ilmi, että myös lajien aitous on ongelma (Hokanson ym. 2001). Sen lisäksi kokoelmissa esiintyy päällekkäisyyttä säilytettävien puiden genotyypeissä. Van Treuren ynnä muut (2010) havaitsivat, että 695 tutkimuspuuta edustivat 475 erilaista genotyyppiä, mikä viittasi tutkimuskokoelmien päällekkäisyyksiin. Päällekkäisyyksiä genotyypeissä esiintyi lähinnä kokoelmien välillä eikä kokoelmien sisällä (van Treuren ym. 2010). Yksittäisissä kokoelmissa olevista näytepuista noin

50 % oli sellaisia genotyyppisiä, joita ei muissa kokoelmissa ollut, minkä vuoksi kokoelmien yhteistyötä ja verkostoitumista pidettiin kannattavana keinona taata monimuotoisuuden säilyminen sen sijaan, että yhteen kokoelmaan olisi yritetty koota kaikki todettu monimuotoisuus (van Treuren ym. 2010). Vaikka kokoelmissa esiintyi paljon monimuotoisuutta genotyyppien osalta, alleeleja, joita ei esiintynyt muissa kokoelmissa, oli vain vähän kokoelmaa kohti, eli genotyyppien monimuotoisuus vaikutti perustuvan rekombinaatioon enemmän kuin alleelien monimuotoisuuteen (van Treuren ym. 2010). Routson ynnä muut (2009) katsoivat, että monimuotoisuutta esiintyy yhä Lounais-Yhdysvaltojen omenapuissa, mutta varsinkin tuntemattomien puiden suojelutoimiin olisi ryhdyttävä. He olivat myös sitä mieltä, että vanhat, joskin nimettömät, omenapuut tarjoavat katsauksen siihen monimuotoisuuteen mitä puiden istutusaikana on esiintynyt (Routson ym. 2009).

Mikrosatelliiteilla voidaan saada selville yksilön erilaisuus muista, mikä palvelee suo-
jelu- ja tunnistustyötä. Erityisesti Gianfranceschi ynnä muut (1998) korostivat mikrosatelliittimerkkien käyttöä monimuotoisuuden suojelun suunnittelussa sekä geneettisten resurssien määrittelyssä. Mikrosatelliiteilla luotuja sormenjälkiä voidaan käyttää jalostuksessa esimerkiksi valittaessa mahdollisimman etäiset vanhemmat sekä tunnistaa itsepölyttyneet tai väärin pölyttyneet jälkeläiset (Galli ym. 2005). DNA-sormenjälkiä voidaan käyttää Gallin ynnä muiden (2005) mukaan myös taimistojen valvonnassa sekä jalostajien oikeuksien turvaamisessa, kuten myös Rao ynnä muut (2010) sekä Chuang ynnä muut (2011) totesivat. Van Treuren ynnä muut (2010) pitävät mikrosatelliittimerkkejä ja niillä luotuja DNA-sormenjälkiä potentiaalisina välineinä dokumentoinnissa sekä tunnistuksessa tapahtuneiden virheiden havaitsemisessa ja lajikkeiden tunnistamisessa.

3 Tutkimuksen tavoitteet

Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää kotimaisten taimistojen emopuiden lajikeaitoutta. Tutkimusnäytteille pyrittiin etsimään oikeat lajikenimet sekä selvittämään kuinka monet oli nimetty oikein tai väärin. Väärin nimetyille näytteille pyrittiin löytämään oikea lajikenimi. Taimistojen emopuiden lisäksi tutkimuksessa selvitettiin KESKAS-lajikkeiden mahdollisia oikeita lajikenimiä sekä yritettiin selvittää ovatko *M. 'Hyvingiensis'* sekä löytöomenapuut jotakin tunnettua lajiketta. Tutkimuksen avulla oli tarkoitus tuottaa paitsi tietoa lajikeaitoudesta, niin lisätä Helsingin yliopiston ja taimistoviljelijöiden välistä yhteistyötä ja kommunikaatiota.

Tutkimuksessa pyrittiin luomaan tarhaomenalle optimoitujen mikrosatelliittialukeparien avulla yksilölliset DNA-sormenjäljet kootuille koristeomenapuunäytteille. Rahoitusta tutkimuksen suorittamista varten saatiin Hyvinkään kaupungilta ja Taimistoviljelijät ry:ltä. Myös Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus (MTT) toimi yhtenä tutkimuksen yhteistyötahona ja näytteiden kapillaarisekvensointi suoritettiin MTT:ssa Jokioisilla. Lajikeaitouden selvittämisen lisäksi tutkimuksen tavoitteena oli luoda mahdollisuus kansallisen koristeomenapuukokoelman perustamiseen varmennetuista yksilöistä.

4 Aineisto ja menetelmät

4.1 Tutkimusaineisto: näytteet ja alukkeet

Tutkimuksessa mukana olevat koristeomenapuut ovat pääasiallisesti tarkoitettu koristekäyttöön, vaikka monilla niistä on myös talouskäyttöön soveltuvat hedelmät. Näytteet koottiin tutkimusta varten vuosien 2009 ja 2010 aikana. Ulkomailta näytteitä saatiin kasvitieteellisistä puutarhoista ja kokoelmista Euroopasta Iso-Britanniasta, Virosta, Liettuasta ja Puolasta sekä Pohjois-Amerikasta Yhdysvalloista ja Kanadasta. Kotimaisia tutkimusnäytteitä saatiin taimituottajilta, sekä muista lähteistä. Näytteitä saatiin tutkimukseen yhteensä 36 eri kohteesta ja näytteitä kertyi 201 kappaletta (taulukko 2). Tutkimusnäytteitä, joista suurin osa on suomalaisilta taimistoilta, kertyi 99 kappaletta. Verrannenäytteitä saatiin tutkimukseen 102 kappaletta. Tarkemmat tiedot näytteistä, niiden alkuperästä ja asemasta tutkimuksessa on koottu erilliseen taulukkoon (liite 1).

Taulukko 2. Vastaanotettujen koristeomenapuunäytteiden kokoelma-alkuperä aakkostettuna, sekä näytteiden lukumäärä ja saapumisvuosi.

Kokoelma/Collection	Näytteiden lukumäärä/ Number of samples	Näytteiden saapumisvuosi/Year of arrival
Ahosen taimisto	1	2010
Aino Mölderin kotipiha	1	2009
Arboretum Kornickie	1	2010
Arnold Arboretum	15	2009
Arnold Arboretum	15	2010
Barkholtin taimisto	3	2010
Dubrava Arboretum	4	2010
Elimäki	1	2009
HAMK, Lepaa	14	2010
Hongiston taimisto	1	2010
HY:n kasvitieteellinen puutarha	12	2009
HY:n kasvitieteellinen puutarha	1	2010
Hyvinkää (eri kohteita)	3	2009
Hyvinkää, Kirkkopuisto	1	2010
Karimaan puutarha	3	2010
Kellokosken arboretum	5	2009
Kuopion yliopiston kasvitieteellinen puutarha	1	2009

(jatkuu)

Taulukko 2. (jatkuu)		
Kuusiston kartanomuseo	1	2010
Montreal Botanic Garden	10	2009
Montreal Botanic Garden	4	2009
Montreal Botanic Garden	6	2010
Morton Arboretum	5	2010
MTT Laukaa	2	2009
MTT Piikkiö	9	2009
MTT, Jokioisten kartano	1	2010
MTT, Wendlan puutarha	1	2010
Oulun Yliopisto	7	2010
Porvoon sairaala	1	2009
Rajalan taimisto	1	2010
Royal Botanic Garden Edinburgh	4	2010
Ruissalo	5	2009
Saarioisten Taimistot Oy	6	2009
Sir Harold Hillier Gardens	11	2010
Suntin pihapalvelu ja taimitarha Ay	1	2010
Taimimoisio	20	2010
Taimiteutari	2	2010
Tallinn Botanic Garden	3	2009
The University of Oxford Botanic Garden	1	2010
Toijalan taimitarha	13	2010
Univesity of Reading, National Fruit Collection	4	2010
Uppsala, Sunnersta herrgård	1	2009
yht: 201		

Näytteiden numerointi oli tutkimustyön helpottamiseksi juokseva (taulukko 3), ja jatkui Juntheikki-Palovaaran (2008) maisterintutkielmassa käytetystä numeroinnista. Toisin kuin Juntheikki-Palovaaran (2008) tutkimuksessa, näytteet numeroitiin suuren määrän vuoksi saapumisjärjestyksessä, eikä tutkimus- ja verrannepuihin jaotellusti. Verrannenäytteitä tilattiin tutkimukseen ulkomailta kirjallisuudessa esiintyvien historiallisten tietojen perusteella, sillä valtaosa tutkimusnäytteistä saatiin taimistoilta vasta vuonna 2010. Postitse vastaanotetuista näytteistä valittiin mahdollisimman nuoria vioitusvapaita sekä hyväkuntoisia lehtiä tutkimusta varten. Näytteitä säilytettiin pakastimessa (-20 °C) merkityissä pienissä muovipusseissa.

Taulukko 3. Tutkimukseen näytteiden nimet, tutkimuskoodi sekä asema tutkimus- tai verrannenäytteenä.

Koodi/Code	T*/V**	Nimi jolla toimitettu/Submitted name	T*/V**		
56	V	<i>Malus coronaria</i>	114	T	<i>Malus</i> sp.
57	V	<i>Malus</i> 'Elise Rathke'	115	T	<i>Malus</i> sp.
58	V	<i>Malus</i> 'Hyvingiensis'	116	T	<i>Malus</i> sp.
59	V	<i>Malus prattii</i>	117	T	<i>Malus</i> sp.
60	V	<i>Malus</i> × <i>zumi</i> var. <i>calocarpa</i>	118	T	<i>Malus</i> sp.
61	T	<i>Malus</i> 'Hyvingiensis'	119	T	<i>Malus</i> sp.
62	T	<i>Malus</i> punertavakk, riippuva	120	V	<i>Malus</i> Prunifolia-ryhmä 'Erstaa'
63	T	<i>Malus</i> punakukkainen	121	T	<i>Malus prunifolia</i> f. <i>pendula</i>
64	V	<i>Malus floribunda</i> 'Rosea'	122	T	<i>Malus</i> sp.
65	V	<i>Malus toringo</i> (= <i>M. sieboldii</i> var. <i>arborescens</i>)	123	T	<i>Malus</i> cf. 'Makamik'
66	V	<i>M. × gloriosa</i> 'Oekonomierat Echtermeyer'	124	T	<i>Malus</i> 'Marjatta'
67	V	<i>Malus</i> 'Profusion'	125	V	<i>Malus baccata</i> 'Gracilis' <i>Malus pumila</i> 'Montreal Beauty'
68	V	<i>M. × purpurea</i> 'Lemoinei'	126	V	<i>Malus</i> 'Hyslop'
69	V	<i>M.</i> 'Dorothea'	127	V	<i>Malus sargentii</i>
70	V	<i>M. × soulardii</i>	128	V	<i>Malus</i> 'Oekonomierat Echtermeyer'
71	V	<i>M. sieboldii</i> (= <i>M. x zumi</i>)	129	T	<i>Malus × adstringiensis</i> 'Ramona'
72	V	<i>M. sieboldii</i> (=x <i>zumi</i>)'Professor Sprenger'	130	T	<i>Malus</i> 'Red Jade'
73	V	<i>M. × adstringens</i> 'Almey'	131	T	<i>Malus</i> 'Royal Beauty' ?
74	V	<i>Malus rockii</i>	132	T	<i>Malus</i> sp. (riippamuoto)
75	V	<i>Malus toringoides</i>	133	T	<i>Malus</i> sp. (riippamuoto)
76	V	<i>Malus × scheideckeri</i> 'Hillieri'	134	T	<i>Malus</i> 'Kobendza'
77	V	<i>Malus baccata</i> var. <i>mandshurica</i>	135	V	<i>Malus × purpurea</i> 'Jadwiga'
78	V	<i>Malus baccata</i> cf. 'Gracilis'	136	V	<i>Malus prunifolia</i> 'Pendula' <i>Malus pumila</i>
79	V	<i>Malus coronaria</i>	137	V	'Niedzwetzkyana'
80	V	<i>Malus prunifolia</i>	138	V	<i>Malus</i> 'Royal Beauty'
81	V	<i>Malus prunifolia</i>	139	V	<i>Malus baccata</i> var. <i>jackii</i>
82	V	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Royalty'	140	V	<i>Malus halliana</i> var. <i>spontanea</i>
83	V	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Wierdak'	141	V	<i>Malus prunifolia</i> 'Fastigiata'
84	V	<i>Malus</i> 'Hyvingiensis'	142	V	<i>Malus</i> 'Redflesh'
85	V	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Royal Beauty'	143	V	<i>Malus</i> 'Royalty'
86	V	<i>Malus</i> Prunifolia-ryhmä 'Scugog'	144	V	<i>Malus</i> Erstaa?
87	V	<i>Malus x robusta</i>	145	T	<i>Malus</i> Dolgo?
88	V	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Makamik'	146	T	<i>Malus</i> sp.
89	V	<i>Malus</i> 'Hillier' 23-NW	147	T	<i>Malus</i> 'Chestnut'
90	V	<i>Malus</i> 'Jay Darling' 29-SE	148	V	<i>Malus</i> 'Cowichan'
91	V	<i>Malus</i> 'John Downie' 50-SE	149	V	<i>Malus</i> 'Dolgo'
92	V	<i>Malus</i> 'Katherine' 23-NW	150	V	<i>Malus</i> 'Elise Rathke'
93	V	<i>Malus</i> 'Red Tip' 50-SW	151	V	<i>Malus</i> 'Evelyn'
94	V	<i>Malus</i> 'Whitney' 50-SE	152	V	<i>Malus</i> 'Pink Perfection'
95	V	<i>Malus hupehensis</i> 22-NE	153	V	<i>Malus</i> 'Red Jade'
96	V	<i>Malus prunifolia</i> var. <i>costata</i> 50-SE	154	V	<i>Malus</i> 'Veitch's Scarlet'
97	V	<i>Malus prunifolia</i> var. <i>rinkii</i> 32-NE	155	V	<i>Malus baccata</i> forma <i>jackii</i>
98	V	<i>Malus prunifolia</i> var. <i>xanthocarpa</i> 17-SW	156	V	<i>Malus baccata</i> var. <i>flavescens</i>
99	V	<i>Malus sargentii</i> 'Rosea' 17-SW	157	V	<i>Malus prunifolia</i> 'Microcarpa Lutea'
100	V	<i>Malus sikkimensis</i> 'Rockii' 55-SE	158	V	(jatkuu)

Taulukko 3. (jatkuu)

101	V	<i>Malus toringoides</i> 32-NE	159	V	<i>Malus prunifolia</i> var. <i>xanthocarpa</i>
102	V	<i>Malus</i> × <i>scheideckeri</i> 51-NW	160	V	<i>Malus spectabilis</i> var. <i>plena</i>
103	V	<i>Malus</i> × <i>soulardii</i> 51-NE	161	V	<i>Malus</i> × <i>purpurea</i> 'Kornicensis' <i>Malus</i> × <i>robusta</i> var. <i>xanthocarpa</i>
104	T	<i>Malus</i> sp.	162	V	<i>Malus</i> sp.
105	T	<i>Malus</i> Prunifolia-ryhmä 'Dolgo'	163	T	<i>Malus</i> sp.
106	T	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Martha' 2	164	V	<i>Malus</i> 'Makamik'
107	T	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Renown' 2	165	V	<i>Malus</i> 'Royal Beauty'
108	T	<i>Malus</i> 'Rosilda'	166	V	<i>Malus</i> 'Makamik'
109	T	<i>Malus domestica</i> 'Chestnut' 5	167	V	<i>Malus</i> 'Scugog'
110	T	<i>Malus</i> 'Hollola'	168	V	<i>Malus</i> 'Royal Beauty'
111	T	<i>Malus</i> 'Anisik'	169	V	<i>Malus</i> 'Royal Beauty'
112	T	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Ranetka' '7	170	T	<i>Malus</i> sp.
113	T	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Rescue' 2	171	T	<i>Malus</i> sp.
172	T	<i>Malus</i> sp.	215	V	<i>Malus</i> 'Elise Rathke' <i>Malus prunifolia</i> 'Cheal's Crimson'
173	T	<i>Malus</i> sp.	216	V	<i>Malus prunifolia</i> 'Pendula'
174	T	<i>Malus</i> sp.	217	V	<i>Malus</i> 'Simcoe'
175	T	<i>Malus</i> sp.	218	V	<i>Malus</i> 'Veitch's Scarlet'
176	T	<i>Malus</i> sp.	219	V	<i>Malus</i> 'Peräpohjola'
177	T	<i>Malus</i> sp.	220	T	<i>Malus</i> 'Erstaa'
178	T	<i>Malus</i> sp.	221	T	<i>Malus</i> 'Hyvingiensis'
179	T	<i>Malus</i> sp.	222	T	<i>Malus</i> Prunifolia-ryhmä
180	T	<i>Malus</i> sp.	223	T	<i>Malus</i> 'Marjatta'
181	T	<i>Malus</i> sp.	224	T	<i>Malus prunifolia</i> (?)
182	T	<i>Malus</i> sp.	225	T	<i>Malus</i> 'Ranetka Purpurovaja'
183	T	<i>Malus</i> Dolgo tai Erstaa?	226	T	<i>Malus</i> "Venla"
184	V	<i>Malus</i> 'Erstaa'	227	T	<i>Malus</i> "Kainuun Kaunotar"
185	T	<i>Malus</i> 'Aamurusko'	228	T	Rautatienomena
186	T	<i>Malus baccata</i>	229	T	Makamik
187	T	<i>Malus</i> 'Dolgo'	230	T	Royalty
188	T	<i>Malus</i> 'Erstaa' I	231	T	<i>Malus</i> sp.
189	T	<i>Malus</i> 'Hopa' (vaiko Makamik)	232	T	Kirjailija
190	T	<i>Malus</i> 'Kadetti'	233	T	Dolgo
191	T	<i>Malus</i> 'Kirjailija'	234	T	Linnanmäki
192	T	<i>Malus</i> 'Linnanmäki'	235	T	Kadetti
193	T	<i>Malus</i> 'Makamik' (vaiko Hopa)	236	T	Aamurusko
194	T	<i>Malus</i> 'Rixi'	237	T	Hopa
195	T	<i>Malus</i> 'Royalty'	238	T	Oppio
196	T	<i>Malus</i> 'Wabiscawa'	239	T	Rixi
197	T	<i>Malus</i> 'Erstaa' III	240	T	Makamik
198	T	<i>Malus</i> "Tammisaari"	241	T	Martha
199	T	<i>Malus</i> "Paavo"	242	T	Erstaa
200	T	<i>Malus</i> "Peräpohjola"	243	T	Tumma Kaunotar
201	T	<i>Malus sargentii</i> "Marleena"	244	T	marjaomenapuu
202	T	<i>Malus</i> 'Red River'	245	T	Aamurusko
203	T	<i>Malus</i> "Järvenpään Sylttyomena"	246	T	marjaomenapensas
204	T	<i>Malus</i> sp. (riippakoristeomena)	247	T	Hopa
205	V	<i>Malus pumila</i> 'Aldenhams Purple'	248	T	Makamik
206	V	<i>Malus</i> × <i>robusta</i> 'Red Siberian'	249	T	Hopa
207	V	<i>Malus</i> × <i>atrosanguinea</i>	250	T	tuntematon (valkoinen)
208	V	<i>Malus pumila</i> 'Dartmouth'	251	T	(jatkuu)

Taulukko 3.		(jatkuu)	
209	V	<i>Malus</i> × <i>atrosanguinea</i>	252 V <i>Malus</i> 'Golden Hornet'
210	V	<i>Malus</i> 'Cowichan'	253 V <i>Malus domestica</i> 'Newtown Pippin'
211	V	<i>Malus</i> 'Dartmouth'	254 V <i>Malus domestica</i> 'Renown'
212	V	<i>Malus</i> 'Dartmouth'	255 V <i>Malus domestica</i> 'Fairy'
213	V	<i>Malus</i> 'Dartmouth'	256 V <i>Malus prunifolia</i> 'Maruba'
214	V	<i>Malus</i> 'Dartmouth'	

* tutkimusnäyte/ study sample , **verrannenäyte/ reference sample

Tutkimuksessa käytettiin yhteensä yhdeksää eri mikrosatelliittialuketta (taulukko 4), jotka olivat samat kuin Juntheikki-Palovaaran (2008) pro gradu -työssään käyttämät alukkeet. Alukkeet on kuvattu tarkemmin niiden alkuperäisissä lähteissä (Liebhard ym. 2002, Gianfranceschi ym. 1998). Osa tutkimuksen alukkeista kopioi useampaa lokusta (alukkeet 3, 6 ja 8). Mikrosatelliittialukkeet tutkimukseen toimitti Kristiina Antonius MTT:lta Jokioisilta.

Taulukko 4. Mikrosatelliittialukkeiden tiedot, sekä alkuperäiset viitteet.

Alukkeen numero*	Alukkeen nimi	Lokuksia	Leima	Lähde
1	CH01d03	1	HEX	Liebhard ym. 2002
2	CH01g12	1	TET	Gianfranceschi ym. 1998
3	CH01h02	2	HEX	Gianfranceschi ym. 1998
5	CH02c09	1	FAM	Liebhard ym. 2002
6	CH02c11	2	FAM	Liebhard ym. 2002
7	CH02d08	1	FAM	Liebhard ym. 2002
8	CH04c06	2	TET	Liebhard ym. 2002
9	CH04e05	1	TET	Liebhard ym. 2002
10	COL	1	TET	Gianfranceschi ym. 1998

*numerointi sama kuin Juntheikki-Palovaaran pro gradu-työssä (2008)

Yhdeksän alukkeparin (taulukko 4) lisäksi tutkimukseen oli tarkoitus ottaa mukaan aluke CH02c06 (Gianfranceschi ym. 1998) numerolla 4 ja leimalla HEX. Aluketta ei kuitenkaan saatu toimimaan joten se jätettiin pois, kuten oli tehty myös Juntheikki-Palovaaran (2008) pro gradu-työssä. Kaikkia tutkimuksessa käytettyjä alukkeita on kokeiltu aikaisemmin MTT:ssa tarhaomenalla sekä Helsingin yliopistolla Juntheikki-Palovaaran (2008) toimesta koristeomenapuilla.

4.2 DNA:n eristys

Koristeomenapuunäytteistä eristettiin DNA:ta tutkimusta varten E.Z.N.A[®] Plant DNA kitillä (Omega Bio-tek, Inc., USA). Eristystä varten pakkasessa (-20 °C) säilytetyistä lehtinäytteistä otettiin mahdollisimman steriilisti alle 1 cm² pala nuoresta tauti- ja vioitusvapaasta lehdestä 2 ml eppendorf putkeen. Jokaisessa putkessa oli valmiiksi kaksi steriiliä metallikuulaa jauhatusta varten. Näytteet pidettiin enintään -20 °C lämpötilassa kuljetuksen ja jauhatuksen aikana. Jauhatus sekoitinmyllyllä (MM400, Retsch[®], Saksa) kesti kaikilla näytteillä 35 sekuntia ja jauhatusfrekvenssi oli 28/s. Suurin osa näytteistä säilytettiin jauhatuksen jälkeen -80 °C pakastimessa, mutta pieni osa näytteistä käsiteltiin heti jauhatuksen jälkeen DNA:n eristämiseksi. Heti jatkokäsittelyyn otettujen näytteiden ei annettu lämmetä yli -20 °C ennen kuin DNA:n eristäminen aloitettiin.

DNA:n eristys suoritettiin E.Z.N.A[®] Plant DNA kitin sisältämien ohjeiden mukaisesti. Ohjeesta poikettiin ainoastaan prosessin loppuun kun valmis eristetty DNA uutettiin talteen. Uuttamisessa noudatettiin muuten ohjeita, mutta uutto suoritettiin kaksi kertaa ja poikkeavalla nestetilavuudella (25 µl). Uutot suoritettiin steriilillä esilämmitetyllä (65 °C) MQ-vedellä. Lopullinen DNA:ta sisältävän veden saanto kahden uuton jälkeen vaihteli noin 40–50 µl välillä. Ensimmäiset eristetyt näytteet tarkastettiin agarosigeelielektroforeesijolla (0,8 %) DNA:n eristämisen onnistumisen ja konsentraation varmistamiseksi. DNA:n konsentraatiota yritettiin mitata myös spektrofotometrillä, mutta tulokset olivat epämääräisiä. Eristetyn DNA:n konsentraatio katsottiin riittävän korkeaksi PCR-ajoja varten. DNA:n konsentraatio oli kuitenkin niin alhainen, ettei näytteitä laimennettu. Ensimmäisten eristyssarjojen onnistuttua ja PCR-ajojen osoittaututtua onnistuneiksi, spektrofotometrillä tehdyistä mittauksista luovuttiin ja agarosigeelielektroforeesitarkistusten (0,8 %) määrää vähennettiin.

4.3 PCR

PCR-ajoja varten valmistettiin PCR-reaktioliuos. Kaikissa ajoissa käytettiin samaa reaktioliuoksen kaavaa, jonka lopputilavuus oli ilman DNA-templaattia yhtä tutkittavaa näytettä kohti 6 µl. Tätä yhden reaktioliuosannoksen kaavaa käytettiin pohjana, kun laskettiin tarvittavat määrät eri ajoja varten.

PCR reaktioliuos

MQ-vesi	1,46 µl
10×PCR reaktiopuskuri (Maxima HotStart)	0,8 µl
1,5 mM MgCl ₂ (25 mM)	0,48 µl
0,2mM dNTP-mix (2,0 mM)	0,8 µl
0,3u Taq-DNA-polymeraasi (Maxima HotStart, 5u/µl)	0,06 µl
0,3 µM forward-aluke (2,0 µM)	1,2 µl
0,3 µM reverse-aluke (2,0 µM)	1,2 µl

PCR-ajoa varten kaivoihin pipetoitiin 6µl reaktioliuosta sekä 2 µl DNA-templaattia, jolloin liuoksen lopputilavuus oli 8µl. Pipetoinnit suoritettiin näytteiden suuren määrän vuoksi tavallisilla 300 µl kärjillä, sekä eräillä levyillä 10 µl kärjillä, vaikka filtterikärkien käyttö olisi pienentänyt aerosolikontaminaation riskiä. Valtaosa DNA-templaattien pipetoinneista suoritettiin yksitellen (300 µl kärjet), muutaman levyn kohdalla käytettiin elektronista pipettiä (10 µl kärjet), jolla voitiin kerralla pipetoida 8 näytettä.

PCR-ajot suoritettiin kahdella ohjelmalla, joista alukkeille 1, 3, 5–10 ohjelma oli sama kuin Juntheikki-Palovaaran pro-gradu-työssä sekä Guarinon ym. (2006) artikkelissa. Alukkeelle 2 optimoitiin oma PCR-ohjelma gradientti PCR-ajon ja agarosigeelielektroforeesiajon (2 %) avulla. Kaikkien levyjen ajo suoritettiin samalla Mastercycler gradient -laitteella (Eppendorf, Saksa.). Molemmissa ohjelmissa oli toistojaksoja ennen 2 minuuttia 95 °C lämpötilassa, sekä lämpösylykien lopuksi vielä 5 minuuttia 65 °C lämpötilassa. Lämpösyklejä eli toistojaksoja oli ajossa 28. PCR-ohjelman lämpösyklit olivat alukkeille 1 ja 3 sekä 5–10 seuraavat: 94 °C 20s, 60 °C

40s, 65 °C 45s. Alukkeelle 2 (CH01g12) lämpösyklit olivat: 94 °C 20s, 55 °C 40s, 65 °C 45s.

PCR-ajon jälkeen näytteet säilytettiin folioon käärittynä pakkasessa (-20 °C). Foliolla estettiin valon pääsy näytteisiin, mikä olisi voinut vahingoittaa alukkeiden valoherkkiä leimoja ja tehdä mahdottomaksi niiden sekvensoinnin. Näytteet ja ajo-ohjelman soveltuvuus tarkastettiin alukkeella 3 (CH01h02) kaikilta näytteiltä. Tämän jälkeen yhdeltä 96 näytteen levytä analysoitiin 12 näytettä agarosigeelielektroforeesijolla (2,0 %) PCR-monistuksen onnistumisen tarkastamiseksi. Kaikki ajot vaikuttivat onnistuneilta.

4.4 Näytteiden analyysi kapillaarisekvensoinnilla

Näytteiden kapillaarisekvensointi, eli alleelipituuksien määrittäminen kapillaarielektroforeesilla, suoritettiin MTT:n toimipisteessä Jokioisilla, missä myös näytteiden laimennokset suoritettiin. Osa näytelevyistä toimitettiin MTT:lle postitse, mutta suurin osa kuljetettiin autolla suoraan paikanpäälle kylmälaukkuun pakattuina. Uusinta-ajojen levyt toimitettiin analysoitavaksi postitse (neljä levyä). Laimennokset vaihtelivat alukkeen leimasta ja levystä riippuen laimentamattomien ja laimennussuhteen 17:1 välillä, yleisimpien laimennussuhteiden ollessa 10:1 ja 5:1. Tarvittavan laimennoksen tarpeen ja suhteen määritteli kokenut laboratorionhenkilökunta. Sekvensointia varten kapillaarisekvensointi- koneeseen (MegaBACE 4000, Amersham Biosciences) injesoiitiin 1 µl näytettä. Sisäisenä kokostandardina ajoissa käytettiin ET400-R kokostandardia (Amersham Biosciences). Ajojen kanssa ilmeni jonkin verran vaikeuksia, johtuen enimmäkseen ongelmista laitteiston toiminnassa, erityisesti standardien toiminnan suhteen.

4.5 Kapillaarisekvenssoinnin tulosten analysointi

Mikrokapillaarisekvenssoinnin tulosten ensimmäinen analysointi suoritettiin käsin. Saadut tulokset tarkastettiin näyte kerrallaan lukusuoralta Genetic Profiler-

ohjelmistolla (Mega Base 2.2, Amersham Biosciences 2003) ja kirjattiin Word Excel-taulukkoon. Jo ilman uusintoja noin 2400 alleelitietoa tarkasteltiin yksitellen. Tutkimustuloksiin hyväksyttävien alleelitietojen tuli täyttää vähimmäisvaatimukset. Tulkittavien piikkien tuli ylittää 300–400 suhteellisen fluoresenssiyksikön (RFU, Relative Fluorescence Units) voimakkuus sekä vastata muodoltaan kohtuullisesti muita samalla alukkeella saatuja tuloksia ja sijaita jotakuinkin tunnetulla alleelipituuksien alueella. Tulosten pyöristäminen suoritettiin ottamatta esimerkkiä aikaisemmista tutkimuksista. Pyöristetyt tulokset, eli näytteiden DNA-sormenjäljet, muutettiin binääriseen muotoon käsin Word Excel -taulukon jatkoanalysointia varten. Myöhempiä analyysejä ei voitu tehdä suoraan alleelisesta aineistosta, sillä ohjelmistot on suunniteltu diploidille kromosomistolle, jolloin aineistosta olisi pitänyt jättää pois kaikki polyploidiaa osoittavat näytteet. Geneettiset etäisyydet laskettiin binäärisestä aineistosta GenAEx (Peakall ja Smouse 2006) ohjelmalla.

4.6 DNA-sormenjälkien analysointi

Hyväksyttävä geneettinen etäisyys määriteltiin selvittämällä nimiverrannenäytteiden avulla geneettisten etäisyyksien jakaumat, eli vertailemalla samalla lajikenimellä lähetettyjä tutkimus- ja verrannenäytteitä keskenään ja tulkitsemalla jakaumasta etäisyys jolla nimiverranteet todennäköisesti todella ovat samaa genotyyppiä ja millä etäisyydellä ne eivät ole. Geneettiset etäisyydet määriteltiin binäärisestä aineistosta ajetusta kolmiomatriisista, joka oli ajettu GenAEx-ohjelmistolla (Peakall ja Smouse 2006). Riittävän pienen geneettisen etäisyyden katsottiin merkitsevät näytteiden samanlaisuutta. Erilaiset virhelähteet saattoivat aiheuttaa eroja näytteiden välille, joita hyväksyttävän geneettisen etäisyyden määrittämisellä pyrittiin vähentämään. Binäärisestä aineistosta ajettiin pääkomponenttianalyysi (PCA) GenAlex-ohjelmistolla (Peakall ja Smouse 2006). Analyysistä ajettu kuva näyttää aineiston samankaltaisuuden tai eroavaisuuden ryhmittelemällä näytteet usealle eri akselille sekä näyttämällä kuvan kulmasta, jossa suurin eroavaisuus on nähtävissä, eli ottamalla huomioon vain kaksi pääkomponenttia jotka selittävät suurimman osan eroavuuksista. Hyväksyttävän geneettisen etäisyyden huomioivasta etäisyysaineistosta ajettiin UPGMA-sukupuu (Unweighted Pair Group

Method with Arithmetic Mean) ohjelmalla *MEGA* 4.0.2 (Tamura ym. 2007), joka perustuu aineiston etäisyyksien ryhmittelyyn. Vertailu muiden tutkimusten tulosten kanssa ei ole aukottomasti mahdollista mikrosatelliittialukkeilla luoduilla DNA-sormenjäljillä. Tutkimukseni DNA-sormenjälkiä vertailtiin kuitenkin Juntheikki-Palovaaran (2008) määrittämien sormenjälkien kanssa. Vertailu oli alleelipituuksissa esiintyvien erojen vuoksi suoritettava käsin, eikä analysointiohjelmistoja voitu hyödyntää.

5 Tulokset

5.1 Alleelit ja hyväksyttävän geneettisen etäisyyden määrittäminen

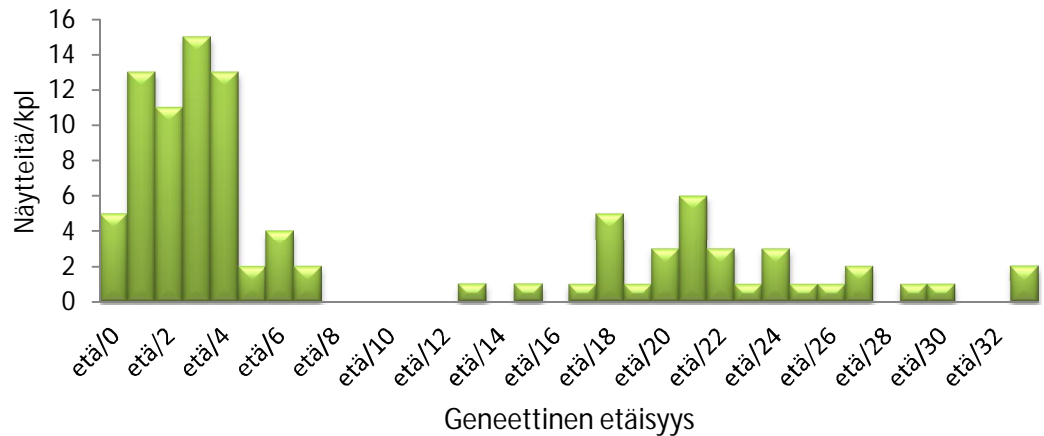
Tutkimuksessa saatiin luotua DNA-sormenjäljet kaikille tutkituille näytteille yhdeksän mikrosatelliittialukeparin avulla (liite 2). Alukkeet kopioivat yhteensä 12 lokusta. Useamman lokuksen kopioituessa samalla alukkeella ne nimettiin A ja B lokuksiksi, noudattaen samaa mallia jota Juntheikki-Palovaara (2008) käytti pro gradu -työssään. Kapillaarisekvenssijosta kertyi noin 2400 lokuskohtaista DNA-sormenjälkeä, jotka muodostavat näytteille niiden yksilölliset DNA-sormenjäljet. Eri alleeleja tutkimusaineistosta löytyi yhteensä 222, eli yhtä aluketta kohti 24,7 alleelia ja yhtä lokusta kohti noin 18,5 alleelia. Toisistaan eroavien alleellien suuri lukumäärä mahdollisti näytteiden identifioimisen toisistaan. Puuttuvia lokuskohtaisia sormenjälkiä, eli lokuksia joilla näyte ei kopioitunut lainkaan, oli tutkimuksessa 99 kappaletta, mikä tarkoittaa noin 4,1 % koko havaintoaineistosta (taulukko 5).

Joillakin näytteillä esiintyi useampi kuin kaksi alleelia yhdessä lokuksessa. Polyploidiaa ei esiintynyt kaikissa lokuksissa. Yhteensä 51 lokuskohtaisessa sormenjäljessä esiintyi polyploidiaa. 35 näytteellä esiintyi polyploidiaa, mutta vain kymmenellä useammassa kuin yhdessä lokuksessa. Aineistosta kyettiin erottamaan ainoastaan sellainen polyploidia, joka erottui kolmena tai useampana alleelina yhdessä lokuksessa samalla näytteellä. Polyploidiaa, joka olisi ollut erotettavissa voimakkaampina piikkeinä tulkintavaiheessa, ei kyetty aineistosta identifioimaan.

Taulukko 5. Alleelien kokojakauma, puuttuvat tiedot, sekä polyploidian esiintyminen lokuksittain 201 koristeomenapuunäytteen aineistossa.

Alukken nro.	Lokuksen nimi	Alleeleja	Tyhjiä	Kokojakauma	Polyplodiaa /kpl
1	CH01d03	28	1	120-223	16
2	CH01g12	33	4	98-194	2
3	CH01h02A	5	30	203-211	0
	CH01h02B	22	9	222-276	4
5	CH02c09	20	18	228-271	0
6	CH02c11A	1	1	196	0
	CH02c11B	22	3	202-246	11
7	CH02d08	25	0	202-258	5
8	CH04c06A	3	4	152,158, 171 166,168, 175-	0
	CH04c06B	19	2	204	7
9	CH04e05	24	15	103-249	4
10	COL	20	12	205-272	2

Saadusta aineistosta määriteltiin hyväksyttävä geneettinen etäisyys, jolloin näytteet voitaisiin vielä katsoa identtisiksi keskenään. Verrannenäytteiden ja tutkimusnäytteiden vertailussa tultiin siihen tulokseen, että hyväksyttävä laskennallinen geneettinen etäisyys kahden eri näytteen välillä voi olla neljä (kuva 2). Geneettiset etäisyydet viidestä seitsemään vaativat tarkempaa näytekohtaista tarkastelua. Seitsemää suurempien geneettisten etäisyyksien katsottiin osoittavan näytteiden olevan geneettisesti erilaiset. Tästä säännöstä poikettiin kuitenkin silloin, kun näyte kuului samaan ryhmään sellaisten näytteiden kanssa, joista osaan sen geneettinen etäisyys oli 0–4. Tällöin hyväksyttiin myös kahdeksan etäisyys joihinkin ryhmän näytteisiin. Eniten eroja samoihin tiiviisiin ryhmiin asettuneiden näytteiden välille aiheuttivat ennen hyväksyttävän geneettisen etäisyyden määrittelemistä nolla-alleelit sekä kopioitumattomat lokukset. joiden vaikutusta voitiin määrityksen avulla vähentää.



Kuva 2. Samalla nimellä tutkimukseen toimitettujen tutkimus- ja verrannenäytteiden geneettisten etäisyyksien vertailu. Frekvenssijakauman pylväät osoittavat eri etäisyysluokkiin sijoittuneiden näytteiden lukumäärät.

5.2 Sukupuus sekä pääkomponenttianalyysi

DNA-sormenjäljistä ajettiin geneettisiin etäisyyksiin perustuva sukupuoli. UPGMA-fylogeneettisestä sukupuusta (kuva 3, liite 3) oli erotettavissa 131 eri taksonia. Yhtä taksonia kohti aineistossa esiintyi 1,53 näytettä. Osa ryhmistä muodostui selvistä lajikeryhmistä. Isolle osalle näytteistä ei löytynyt vastaavaa identtistä näytettä tai näytteitä, eikä se ollut täysin odotettavissakaan. 38 näytteelle löytyi sukupuujossa täysin täsmävä toinen näyte tai näytteitä. Oikea lajikenimi valittiin verrannenäytteiden mukaan. Sukupuusta ilmeni, etteivät kaikki näytteet vastanneet niille ilmoitettua nimeä ja joillekin näytteille oli mahdotonta edes yrittää löytää paikkansapitävää nimeä sukupuun avulla. Näytteiden moninaisuus ilmeni osaltaan sukupuun monimutkaisena rakenteena, jossa eri pääryhmiä oli huomattava määrä. Ensimmäisenä sukupuoli hajosi kahteen pääryhmään, joista toisessa on vain yksi näyte, *Malus prattii* (59, Ruissalo), ja loput 200 näytettä asettuivat omaksi ryhmäkseen. Myös seuraavalla tasolla sukupuusta erosi yksi ainoa näyte, *Malus halliana* var. *spontanea* (141, Morton Arboretum).

Selkeitä lajikeryhmiä erottui sukupuusta useita. Geneettisesti ja nimensä puolesta selvien ryhmien lisäksi tutkimusaineistosta oli erotettavissa muitakin ryhmittymiä.

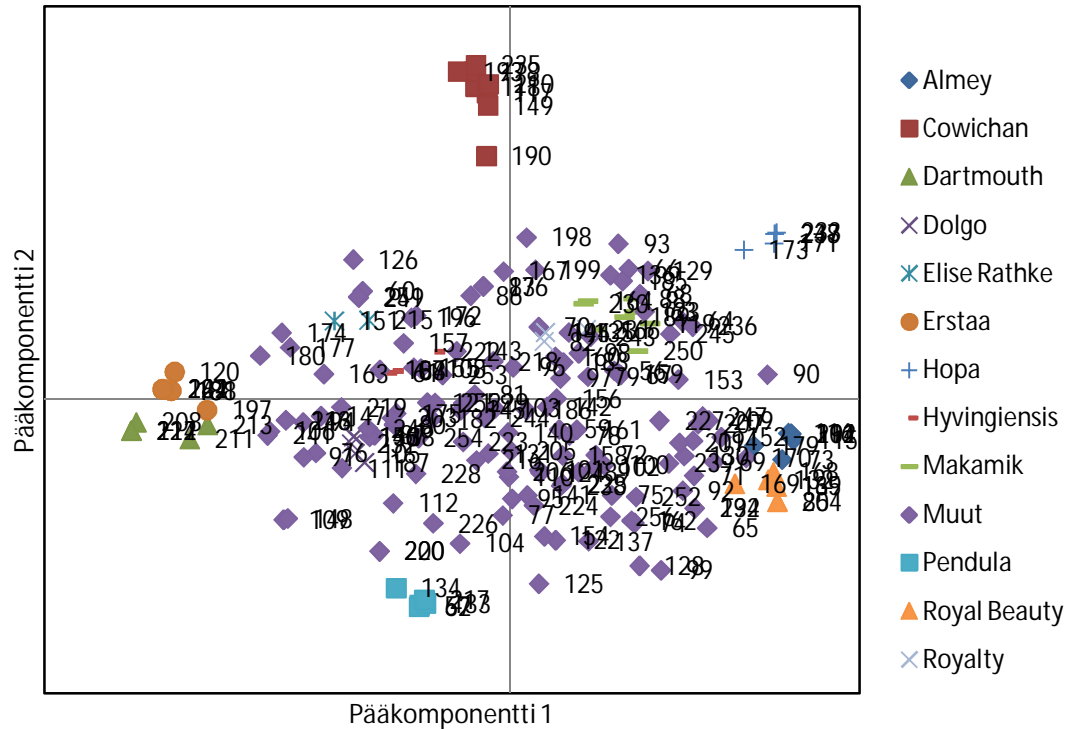
Näille ryhmille oli kuitenkin vaikea antaa edes osapuilleen luotettavaa nimeä. UPGMA-sukupuusta erottuvien identtisten näytteiden ryhmistä monet muodostuivat miltei identtisesti nimetyistä näytteistä, mutta joissakin ryhmissä esiintyi useita erilailla nimettyjä verrannenäytteitä. Useimmissa ryhmissä, joissa ongelma esiintyi, oli ainoastaan kaksi näytettä, eli kaksi eri nimillä saatua verrannenäytettä. Yhden ryhmän kohdalla taksonin nimi valittiin luotettavimmaksi katsotun verrannenäytteen mukaan, jotta muille ryhmän näytteille saatiin luotettava nimi. Ryhmän oikeaksi nimeksi katsottiin *Malus prunifolia* 'Pendula' (217, Sir Harold Hillier Gardens).

Osa nimetyistä tutkimusnäytteistä asettui ryhmiin varsin yhdenmukaisesti, eli samalla nimellä lähetetyt näytteet asettuivat samaan ryhmään. UPGMA-sukupuusta erottui kuitenkin myös samalla nimellä lähetettyjä näytteitä, jotka asettuivat eri puolille sukupuuta. Esimerkiksi KESKAS-lajikkeita esiintyi kaukanakin toisistaan. Nimellä 'Rixi' varustetut näytteet numeroilla 240 ja 194 sekä nimellä 'Linnanmäki' lähetetyt näytteet 192 ja 235, asettuivat sukupuussa kauaksi nimikaimoistaan, vaikka niiden olisi olettanut asettuvan samaan ryhmään, eli olevan identtisiä.

Identtisten näytteiden ryhmiä oli tutkimuksessa 26, joista 11:ssä oli enemmän kuin kaksi näytettä.



Kuva 3. Hyväksyttävän geneettisen etäisyyden huomioivasta etäisyyssaineistosta laskettu UPGMA-sukupuu tutkimuksen näytteistä. Vain verrannenäytteiden nimet on esitetty. Identtiset näytteet asettuvat saman pystyviivan kohdalle.



Kuva 4. Koristeomenapuiden DNA-sormenjäljissä esiintynyt muuntelu kahden pääkomponentin selittämänä.

Pääkomponenttianalysissä selittävimmän pääkomponentin ominaisarvo oli noin 16,110 ja seuraavan pääkomponentin noin 8,973. Kolmannen pääkomponentin ominaisarvo oli noin 7,798 ja neljännen noin 7,268. Tutkimusaineistosta ei erottunut muista poikkeavia ryhmiä lukuun ottamatta ryhmää 'Cowichan'. Lajike muodosti oman ryhmän kuvaajan ylälaitaa, joskaan ei kovin etäälle muusta aineistosta (kuva 4). Analyysin ja siitä tehdyn kuvan tarkoituksena on näyttää aineiston asettuminen suhteessa toisiinsa ja osoittaa erot mahdollisimman kattavasti ja tavalla joka parhaiten selittäisi ne. Kuva viittaa siihen, ettei tutkimuksen aineisto eronnut toisistaan geneettisesti tavalla, jossa näytteet jakautuisivat erityisen voimakkaasti. Toisistaan kaukana olevien näytteiden välimaastossa oli näytteitä, jotka muistuttivat kumpaa-kin ääripäätä.

5.3 Tutkimusaineiston lajikeaitous

Hyväksyttävän geneettisen etäisyyden määrittämisen jälkeen identtisiksi jonkin toisen näytteen kanssa hyväksyttiin yhteensä 96 näytettä, eli 47,8 % tutkimuksen

näytteistä. Tunnistettuja lajikkeita olivat 'Almey', 'Royal Beauty', 'Roaylty', 'Makamik', 'Oekonomierat Ehctermeyer', 'Cowichan', 'Hyvingiensis', 'Dolgo', 'Chestnut', 'Dartmouth', 'Erstaa', 'Wierdak' ja 'Elise Rathke'. Aineistosta löytyi seitsemän sellaista identtisiä näytepareja, joille ei voitu osoittaa luotettavaa lajike- tai lajinimeä.

47 tutkimusnäytteelle 99:stä, eli noin 47 %:lle tutkimusnäytteistä, löytyi tutkimuksessa verrannenäytteiden avulla varmistettu nimi, joista 21 näytteen nimi voitiin varmistaa samaksi kuin millä ne oli tutkimukseen lähetetty. Väärin nimettyjä tutkimusnäytteitä tutkimuksessa oli 23 kappaletta, eli noin 23 % tutkimusnäytteistä oli nimetty väärin. Väärinimityksi laskettiin sellaiset näytteet, joille oli annettu tunnettu lajikenimi, mutta ne osoittautuivat DNA-sormenjälkien perusteella virheellisiksi. Sen lisäksi väärinimityksi katsottiin näytteet joiden nimestä ei ollut varmuutta. Väärin nimetyistä näytteistä yhdeksälle kyettiin löytämään verrannenäytteen avulla varmistettu nimi. 14 väärin nimettyä näytettä jäi ilman nimeä.

Tutkimuksessa oli mukana 30 näytettä joille ei oltu annettu minkäänlaista lajikenimeä (taulukko 6). Nämä näytteet oli lähetetty vain merkinnällä *Malus* sp. tai suomenkielisellä kuvailevalla nimellä kuten *Malus* punakukkainen. Nimettömistä näytteistä 17 kyettiin luotettavasti nimeämään (taulukko 6). Yhdelle näytteelle (172) löydetyn nimen aitoutta ei voitu varmistaa, sillä sen kanssa identtinen näyte (196) oli myös tutkimusnäyte. Lajikkeesta 'Wabiscawa' ei tutkimuksessa ollut vertailunäytettä. Näytteen numero 172 lisäksi 12 tuntematonta näytettä jäi tutkimuksessa kokonaan ilman nimeä. 13 tuntemattoman näytteen lajikeidentiteettiä ei siis kyetty selvittämään. 25 näytteen kohdalla nimeä ei voitu varmistaa oikeaksi, muttei myöskään vääräksi. Siemensyntyisiksi tiedettyjä tutkimuspuita oli aineistossa kuusi kappaletta, joista kolme (247, 245, 186) oli toimitettu lajinimillä eikä niiden lajiaitoutta voitu selvittää. Loput kolme näytettä (124, 201, 227) edustivat kotimaisien uusien lajikkeiden emopuita, joille ei ollut vertailunäytteitä. Yhteensä 52 tutkimusnäytettä jäi siis joko nimettömiksi, niiden aitoutta ei voitu varmistaa tai ne oli väärin nimetty, mutta oikeaa lajikenimeä ei kyetty selvittämään.

Taulukko 6. Tutkimukseen nimettöminä lähetettyjen näytteiden lajikeidentiteetti.

Näytteen numero	Löydetty nimi	Nimeä ei löydetty
62	<i>M. prunifolia</i> 'Pendula'	
63		x
104		x
114	<i>M.</i> 'Almey'	
115	<i>M.</i> 'Almey'	
116	<i>M.</i> 'Almey'	
117	<i>M.</i> 'Cowichan'	
118	<i>M.</i> 'Cowichan'	
119	<i>M.</i> 'Makamik'	
122		x
133	<i>M. prunifolia</i> 'Pendula'	
134	<i>M. prunifolia</i> 'Pendula'	
147		x
163		x
170		x
171	<i>M.</i> 'Hopa'	
172	<i>M.</i> 'Wabiscawa'*	
173	<i>M.</i> 'Hopa'	
174		x
175		x
176	<i>M.</i> 'Wierdak'	
177		x
178	<i>M.</i> 'Cowichan'	
179	<i>M.</i> 'Almey'	
180		x
181	<i>M.</i> 'Erstaa'	
182		x
204	<i>M.</i> 'Royal Beauty'	
232	<i>M.</i> 'Dolgo'	
251		x

*Ei identtistä vertailunäytettä, mutta vastaa toista nimettyä tutkimusnäytettä.

KESKAS-lajikkeiksi oletettujen näytteiden DNA-sormenjälkiä verrattiin Juntheikki-Palovaaran KESKAS-lajikkeiden emopuille tekemiin sormenjälkiin (liite 4), vaikka tulosten välillä oli selviä pyöristämiseroja. Useita tutkimusnäytteitä saatiin varmistettua aidoiksi KESKAS-lajikkeiksi. Näitä olivat 'Kirjailija' (191), 'Kadetti' (190), 'Linnanmäki' (192), 'Aamurusko' (185) ja 'Rixi' (194).

Verrannenäytteiden oletettiin olevan oikein nimettyjä. Verrannenäytteissä esiintyi kuitenkin joitakin sellaisia identtisiä näytteitä, jotka eivät vastanneet nimeltään toisiaan. Näitä olivat näytteet *M. prunifolia* var *costata* (96, Arnold Arboretum) ja *M. prunifolia* 'Fastigiata'(142, Morton Arboretum), *M. × scheideckeri* 'Hillieri' (76, Tallinn Botanical Garden) ja *M. 'John Downie'* (91, Arnold Arboretum), *M. 'Dartmouth'* (208, Royal Botanic Garden Edinburgh, 211-214, Sir Harold Hillier Gardens) ja *M. 'Hyslop'*(127, Montreal Botanic Garden). Tutkimusnäytteiden kohdalla ongelman aiheutti yhdessä ryhmässä esiintyneet kaksi erinimistä verrannenäytettä. Niistä luotettavammaksi todettiin *M. prunifolia* 'Pendula' (217, Sir Harold Hillier Gardens). Näyte *M. 'Elise Rathke'* (57, Ruissalo) todettiin väärinimityksi aineistossa esiintyneiden kahden muun 'Elise Rathke' -verrannenäytteen avulla.

5.4 'Hyvingiensis' ja löytöomenapuut

Rautatienomenapuu *Malus 'Hyvingiensis'* asettui UPGMA-sukupuussa omaksi ryhmäkseen (kuva 3) ja siihen kuuluvat näytteet oli kaikki nimetty oikein. Rautatienomenapuu ei asettunut lähelle muiden riippuvaoksaisten lajikkeiden muodostamia ryhmiä, kuten lajikkeita 'Royal Beauty' tai *M. prunifolia* 'Pendula'. Rautatienomenapuulla esiintyi kahdessa lokuksessa alleelipituuksista havaittavaa polyploidiaa (taulukko 7). Lokuksessa CH02c11B polyploidiaa esiintyi kaikilla näytteillä.

Taulukko 7. Polyploidian esiintyminen lajikkeen 'Hyvingiensis' näytteillä.

Näyte/Sample	CH01d03	CH01g12	CH01h02A	CH01h02B	CH02c09	CH02c11A	CH02c11B	CH02d08	CH04c06A	CH04c06B	CH04e05	COL
58 <i>Malus Hyvingiensis</i>	140:144	112:112	205:205	237:237	233:250	196:196	224:229:233	214:220	158:171	175:191	175:191	233:233
61 <i>Malus Hyvingiensis</i>	140:144	112:112	205:205	237:237	233:250	196:196	224:229:233	214:220	158:158	175:191	175:191	233:233
84 <i>Malus Hyvingiensis</i>	140:144	112:112	205:205	237:237	233:250	196:196	224:229:233	214:220	158:171	175:191	175:191	233:233
222 <i>Malus Hyvingiensis</i>		112:112	205:205	237:237	233:250	196:196	224:229:233	214:220	158:171	175:187:191	175:191	233:233
229 Rautatienomena*	140:144	112:112	205:205	239:239	233:250	196:196	224:229:233	214:220	158:171	175:187:191		233:233

*Näyte asettui sukupuussa *Malus 'Hyvingiensis'* -ryhmän viereen.

Muut löytöomenapuut kuin KESKAS-lajikkeet osoittautuivat ennestään tuntemattomiksi lajikkeiksi tai niille ei ollut tutkimuksessa vertailunäytteitä. Niiden nimiä ei

voitu vahvistaa tai todeta vääriksi. Kotimaiset lajikkeet, muun muassa 'Peräpohjola' ja 'Marjatta', asettuivat erilleen kaikista verrannenäytteistä.

5.5 Vertailu aikaisempiin tutkimuksiin, KESKAS-lajikkeiden identiteetti

Tutkimuksessa onnistuttiin löytämään vertailun jälkeen kahdelle KESKAS-lajikkeelle alkuperäiset lajikenimet. Lajike 'Kadetti' vastasi DNA-sormenjäljiltään lajiketta *M. 'Cowichan'*. 'Kirjailija' vastasi sormenjäljiltään puolestaan lajiketta 'Almey'. Vertailtaessa DNA-sormenjälkiä Juntheikki-Palovaaran (2008) tuloksiin löydettiin aineistosta myös ryhmä, joka edusti lajiketta 'Hopa'.

Lajikkeen 'Kadetti' emopuun DNA-sormenjäljet vastasivat kuuden tutkimusnäytteen sormenjälkiä. 'Kadetin' DNA-sormenjäljet vastasivat myös kahden 'Cowichan' -näytteen sormenjälkiä (taulukko 8).

Taulukko 8. DNA-sormenjäljet lajikkeelle 'Cowichan' sekä KESKAS-lajikkeelle 'Kadetti'.

Näyte/Sample	CH01d03	CH01g12	CH01h02A	CH01h02B	CH02c09	CH02c11A	CH02c11B	CH02d08	CH04c06A	CH04c06B	CH04e05	COL
4. 'Kadetti KESKAS-878'	139:145	104:138	205:205	237:241	251:251	197:197	230:243	214:216	171:171	185:187	175:243	245:245
210 <i>Malus</i> Cowichan**	138:144	103:103	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:216	171:171	184:187	175:243	245:245
149 <i>Malus</i> Cowichan***	138:144	103:103	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:216	171:171	184:187	175:175	
190 <i>Malus</i> Kadetti	138:144	103:103	205:205	239:241	250:250	196:196	229:243	214:216	171:171	184:187	175:175	
193 <i>Malus</i> Makamik vaiko Hopa	138:144	103:110	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:214	171:171	184:187	175:175	245:245
235 Linnanmaki	138:144	103:103	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:214	171:171	184:187	175:243	245:245
178 <i>Malus</i> sp	138:144	98:103	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:214	171:171	184:187	175:175	245:245
118 <i>Malus</i> sp	138:144	103:103	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:214	171:171	184:187	175:175	
117 <i>Malus</i> sp	138:144	103:103	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:216	171:171	184:187	175:175	245:245

*Juntheikki-Palovaara 2008, **Sir Harold Hillier Garden, ***Arnold Arboretum

Kuusi tutkimusnäytettä vastasi DNA-sormenjäljiltään KESKAS-lajike 'Kirjailijan' emopuulle tehtyjä sormenjälkiä (taulukko 9). Myös vertailunäyte 'Almey' vastasi DNA-sormenjäljiltään 'Kirjailijaa'.

Taulukko 9. DNA-sormenjäljet lajikkeelle 'Almey' sekä KESKAS-lajikkeelle 'Kirjailija'.

Näyte/Sample	CH01d03	CH01g12	CH01h02A	CH01h02B	CH02c09	CH02c11A	CH02c11B	CH02d08	CH04c06A	CH04c06B	CH04e05	COL	
3. 'Kirjailija' KESKAS-879*		158:188	205:205	237:254	251:251	197:197	207:225	222:231	171:171	187:191	189:189	215:215	
191 <i>Malus</i> Kirjailija		155:217	187:187	205:205	237:254	250:250	196:196	206:224	221:231	171:171	186:191	189:189	215:215
73 <i>M x adstringens</i> Almey [⊖]		155:217	187:187	205:205	237:254		196:196	206:224	221:231	171:171	186:191	189:189	215:215
202 <i>Malus</i> 'Red River'		155:217	187:187	205:205	237:254	250:250	196:196	206:224	221:231	171:171	186:191	189:189	215:215
179 <i>Malus</i> sp.		155:217	187:187	205:205	237:253		196:196	206:224	221:231	171:171	186:191	189:189	215:215
116 <i>Malus</i> sp.		155:217	187:187	205:205	237:254	250:250	196:196	206:224	221:231	171:171	186:191	189:189	215:223
115 <i>Malus</i> sp.		155:217	157:187	205:205	237:254	250:250	196:196	206:224	221:231	171:171	186:191	189:189	215:215
114 <i>Malus</i> sp.		155:217	187:187	205:205	237:254	250:250	196:196	206:224	221:231	171:171	186:191	189:189	215:215

*Juntheikki-Palovaara 2008, [⊖] Montreal Botanic Garden

Vertailemalla DNA –sormenjälkiä Juntheikki-Palovaaran (2008) tuloksiin, voitiin tutkimusnäytteistä erottaa viisi näytettä jotka edustavat todennäköisesti lajiketta 'Hopa' (taulukko 10). Vertailemalla pelkästään tämän tutkimuksen näytteitä ei ollut erotettavissa aitoa 'Hopaa', sillä tutkimuksessa ei ollut mukana yhtäkään verrannenäytettä kyseiselle lajikkeelle. 'Hopaksi' luultuja näytteitä esiintyi UPGMA-sukupuuissa useissa eri ryhmissä ja laajalla alueella. 'Hopaksi' todetut tutkimusnäytteet olivat useiden eri nimien alla. Vääriä nimiä olivat 'Aamurusko' sekä 'Kirjailija'. Lisäksi samaan ryhmään kuului vielä kaksi täysin nimetöntä näytettä, jotka kyettiin nimeämään sekä yksi oikein nimetty 'Hopa'-näyte.

Taulukko 10. DNA-sormenjäljet lajikkeeksi 'Hopa' tunnistetuilta näytteiltä.

Näyte/Sample	CH01d03	CH01g12	CH01h02A	CH01h02B	CH02c09	CH02c11A	CH02c11B	CH02d08	CH04c06A	CH04c06B	CH04e05	COL
35. <i>M.</i> 'Hopa'*	120:120	104:104	205:205	237:254	251:251	197:197	225:243	214:222	171:171	187:187	189:234	215:215
248 Hopa	120:120	103:103	205:205	237:254	250:250	196:196	224:243	214:221	171:171	186:186	189:234	215:215
237 Aamurusko	120:120	103:103	205:205	237:254	250:250	196:196	224:243	214:221	171:171	186:186	189:234	215:215
233 Kirjailija	120:120	103:103	205:205	237:254	250:250	196:196	224:243	214:221	171:171	186:189	189:234	215:215
171 <i>Malus</i> sp.	120:120	103:141	205:205	237:254	250:250	196:196	224:243	214:221	171:171	186:186	189:189	215:237
173 <i>Malus</i> sp.	120:120	103:103	205:205	237:254	250:250	196:196	224:243	214:221	171:171	186:186		215:223

*Juntheikki-Palovaara 2008, Helsingin yliopiston kasvitieteellinen puutarha

6 Tulosten tarkastelu

6.1 Sormenjälkiaineisto

Tutkimuksessa käytetty menetelmä DNA-sormenjälkien tuottamiseksi todettiin toimivaksi. Tutkimuksessa kyettiin erottamaan räikeästi väärinnimetyt näytteet, löytämään näytteille oikeita nimiä sekä muodostamaan lajikkeille ryhmiä. Tämä täyttää mielestäni tutkimukselle asetetun päätavoitteen kohtuullisesti, eli näytteille saatiin luotua DNA-sormenjäljet ja näytteitä pystyttiin niiden avulla identifioimaan. Tiettyjä puutteita, kuten sopivien verrannäytteiden puuttumisia, oli havaittavissa, mutta pääpiirteittäin tavoitteeseen päästiin. Puuttuvien lokuskohtaisten sormenjälkien suhteellinen lukumäärä oli samassa mittaluokassa kuin esimerkiksi Juntheikki-Palovaaran (2008) tutkielmassa. Puuttuvien lokuskohtaisten sormenjälkien prosentti oli Juntheikki-Palovaaran (2008) tutkimuksessa 4,4 % kun se tässä tutkimuksessa oli 4,1 %.

Alleelipituudet noudattivat kohtuullisesti aikaisemmissa julkaisuissa esiintyneitä pituuksia (taulukko 11), mikä kasvattaa luottamusta saatuihin tuloksiin. Joillakin lokuksilla tutkimuksessani esiintyi alleeleja joiden ero oli aikaisemmissa tutkimuksissa esiintyneisiin alleelipituuksiin noin 50 emäsparia. Erot sormenjäljissä, muutamman emäsparin ja kymmenien emäsparien erot, antavat viitteitä siitä, että tulkintamenetelmien raportoinnin tulisi olla yksityiskohtaisempaa. Prosessin tarkempi kuvailu, kuten kynnsarvojen mainitseminen, saattaisi parantaa tutkimusten toistettavuutta, tulosten käyttökelpoisuus sekä vertailtavuutta. Eri laboratorioiden välillä esiintyy eroavaisuuksia alleelipituuksissa, vaikka vertailtavat näytteet olisivat samaa lajiketta (Bredemeijer ym. 2002, van Treuren ym. 2010, Galli ym. 2005). Syitä voivat olla muun muassa eri kynnsvoimakkuus piikkien tulkinnassa tai stutter bandien aiheuttama väärän piikin valinta (van Treuren ym. 2010). Jones ynnä muut (1997) havaitsivat, että piikkien tulkintaa vaikeutti stutter bandien määrä ja vääriä tuloksia tuli väärän piikin valinnasta. Suhteelliset alleelien kokoerot ovat viimekädessä luotettavampia kuin alleelien todettu pituus (Liebhadrd ym. 2002).

Taulukko 11. Tutkimuksessa esiintyneiden alleelien kokojakaumat verrattuna aikaisempien tutkimusten tuloksiin.

Lokuksen nimi	Kokojakauma	Kokojakauma, Guarino ym. 2006	Kokojakauma, Liebhard ym. 2002	Kokojakauma, Gianfranceschi ym. 1998	Kokojakauma, Treuren ym. 2010	Kokojakauma, Juntheikki-Palovaara 2008
CH01d03	120-223		136-160			120-162
CH01g12	98-194	104-188	112-186	107-186		104-188
CH01h02A	203-211	203-206			208-211	203,205
CH01h02B	222-276	235-254	236-256	226-252	238-280	227-276
CH02c09	228-271	226-259	233-257			232-259
CH02c11A	196	197				197
CH02c11B	202-246	209-240	219-239			205-243
CH02d08	202-258	210-256	210-254		212-266	208-231
CH04c06A	152,158, 171	157-171				157,171
CH04c06B	166,168, 175-204	167, 175-193	155-186			167, 175-201
CH04e05	103-249	175-224	174-227			175-243
COL	205-272	220-240	220-240	213-239		212-245

Koopman ynnä muut (2007) käyttivät tutkimuksessaan verrannenäytteitä kalibroidakseen alleelipituudet vastaamaan aikaisemmissa tutkimuksissa esiintyneitä alleeleja. Verrannenäytteet valittiin sen mukaan mistä lajikkeista oli saatavilla aikaisemmissa artikkeleissa julkaistut DNA-sormenjäljet (Koopman 2007). Van Treuren ynnä muut (2010) viittaa tekstissään suulliseen tiedonantoon 12 mikrosatelliittimarkkeria ja kahdeksan verrannenäytettä sisältävästä standardisoidusta, joka olisi käytössä *Maluksilla* ja *Pyruksilla* ECPGR-projektissa (European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources). Valitettavasti artikkelissa mainitaan vain kolme mikrosatelliittimerkkiä, eli merkit CH01h01, CH01h10 ja CH02d08, sekä yksi verranneomenapuulajike (tarhaomenapuu 'Prima') (van Treuren ym. 2010). Mikrosatelliittimerkeistä CH02d08 oli käytössä myös omassa tutkimuksessani, mutta alleelipituuksien kalibrointia aikaisempiin tutkimustuloksiin ei tehty, sillä itsenäinen pyöritys ja tulkinta katsottiin riittäväksi tutkimustani varten. Aineiston käsittely kahteen kertaan, eli näytteiden eristys sekä PCR -ajo ja kapillaarisekvensointi kahdesti, olisi lisännyt tulosten luotettavuutta sekä vähentänyt virheitä. Työmäärä sekä kustannukset olisivat kuitenkin kasvaneet selvästi. Uusinta-ajot osoittivat samankaltaisia tuloksia kuin ensimmäisetkin ajot, joten saadut

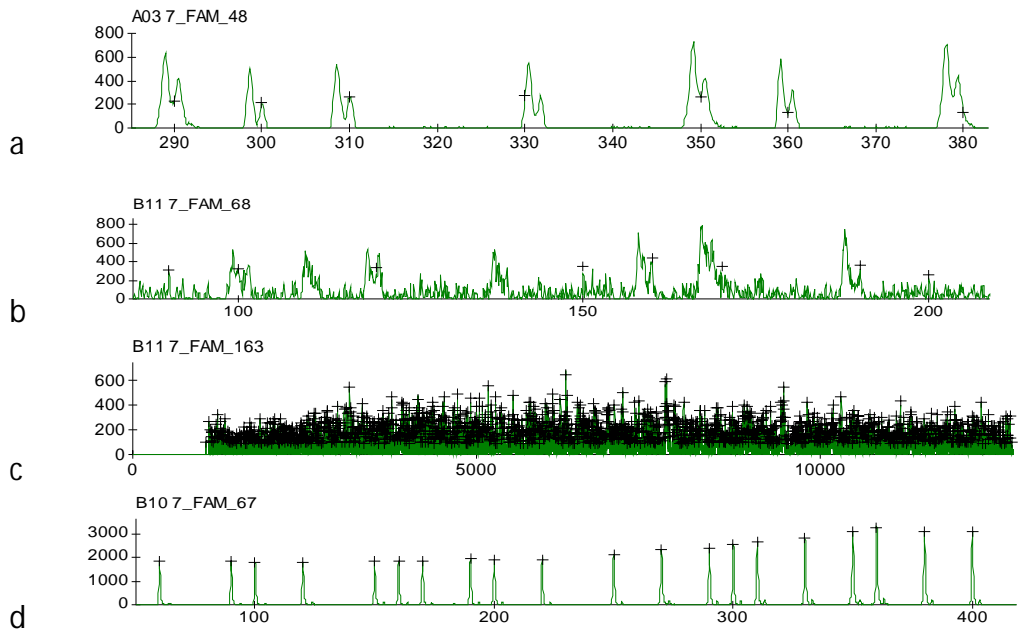
DNA-sormenjäljet ovat kohtuullisen luotettavat, vaikka aineistossa saattaa edelleen olla joitakin virheitä.

Hyväksyttävän geneettisen etäisyyden määrittelemisessä pyrin olemaan kohtuullisen varovainen. Täysin hyväksyttävä etäisyyden olisi mahdollisesti voinut nostaa etäisyyteen 5–7 valitusta neljästä. Katsoin kuitenkin, että varovaisempi lähestymistapa tuottaisi vähemmän virheitä kuin suuremman geneettisen etäisyyden valitseminen.

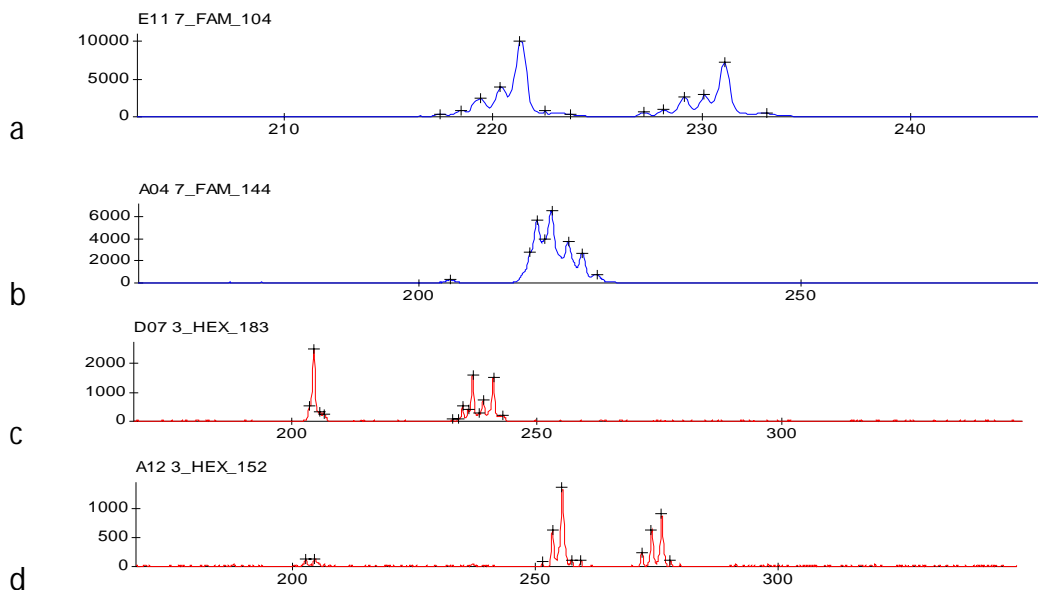
Hyväksyttävän geneettisen etäisyyden määrittämisen puolesta puhuu näytteiden 98 ja 159 alkuperäiset erot ennen määrittystä. Molemmat näytteet ovat samasta puusta, mutta niiden DNA-sormenjäljet poikkesivat muutamassa lokuksessa hieman toisistaan. Hyväksyttävän geneettisen etäisyyden määrittäminen poistaa tuloksista ylimääräistä kohinaa, vaikka ei olekaan täysin ongelmaton tai varma menetelmä.

6.1.2 DNA-sormenjälkien lukeminen Genetic Profiler ohjelmasta

Yhden lisävaikeuden tulosten tuottamiseen ja tulkitsemiseen aiheutti alleelitietojen poimiminen kapillaarisekvensointiaineistosta. Kuvat vaativat ihmisen tulkitsemaan oikean piikin ja hylkääminen ja hyväksyminen tehdään kaikki manuaalisesti lukuksuoria tarkastelemalla (kuva 5, kuva 6). Tutkimuksessa käytetyssä mikrokapillaarilaitteistossa oli ajojen aikana ongelmia standardien suhteen ja laitteistoa jouduttiin kalibroimaan useamman kerran.



Kuva 5. Esimerkkejä tutkimusaineistossa esiintyneistä standardeista. a) Standardit on mahdollista korjata manuaalisesti. b) Standardit on mahdotonta tai vaikea muuttaa käyttökelpoiseen muotoon. c) Standardit täysin mahdotonta tunnistaa tai korjata. d) Kunnolliset standardit, joiden avulla näytteen DNA-sormenjälki voidaan tulkitä.



Kuva 6. Esimerkkejä näytepiikeistä ja niiden tulkittavuudesta. a) Näytteen alleelipi-tuus on helposti luettavissa muodostuneesta piikistä, jossa ylin huippu erottuu sel-västi muusta piikin muodosta. b) Vaikeasti tulkittava näyte, jossa stutter bandi on miltei yhtä korkea kuin alleelin oikea huippu. c) Vaikeasti tulkittavat piikit, eli näyt-teellä esiintyy mahdollisesti kaksi alleelia, jotka ovat lähellä toisiaan noin 240 emäsparin pituuden kohdalla. d) Muodostuneen huipun korkeus lähellä 200 emäsparin pituutta ei riitä ylittämään annettua voimakkuusvaatimusta.

Aineistossa oli muun muassa lokuksessa CH01h02A useita näytteitä, joissa näkyi heikko piikki 203–211 emäsparin välimaastossa, mutta piikin voimakkuus ei vastannut asetettua vaatimustasoa. Myös senkaltaiset piikit, jotka täyttivät voimakkuusvaatimuksen, mutta olivat huomattavan kaukana muista alleelipituuksista (muun muassa yli 100 emäsparin ero lähimpään hyväksytyyn alleeliin) sekä selkeästi erimallisia (muun muassa piikin harjanteet epätavallisen terävät) hylättiin tutkimuksesta. PCR-liuoksen suolapitoisuus voi vaikuttaa syntyvien PCR-tuotteiden pituuksiin, eli alleelipituuksiin (Liebhard ym. 2002). Kun alleelipituuksia tulkitaan geeliltä, myös geelin lämpötila vaikuttaa kopioitumistuotteiden kulkeutumisenopeuteen geelissä, jolloin alleelipituudet voivat erota toisistaan muutamalla emäsparilla (Jones ym. 1997). Geeliltä luettaessa tulkintaa vaikeuttaa myös alleelin etäisyys standardien bandeista (Jones ym. 1997). Muun muassa Routson ynnä muut (2009) analysoivat alleelipituudet geeleiltä. On lohduttavaa, että aikaisemmissa tutkimuksissa on myös ollut vaikeuksia alleelien tulkinnessa. Muun muassa Liebhard ynnä muut (2002) mainitsivat artikkelissaan, ettei esimerkiksi tapauksissa joissa näytteelle kopioitui vain yksi alleeli lokuksessa voitu arvioida onko kyseessä homotsygotia vai nolla-alleeli.

6.2 UPGMA-sukupuu ja pääkomponenttianalyysin tulkitseminen

Tuottamani UPGMA-sukupuu soveltuu parhaiten yksittäisten ryhmien ja yksilöiden tarkasteluun. Tutkimuksessa oli mukana laaja määrä puita eri lähteistä ja taksonista, mikä tekee tarkasteltavasta sukupuusta monimutkaisen sekä vaikeasti tarkasteltavan. Sukulaisuussuhteita ei mielestäni voi tulosten perusteella määritellä, vaan UPGMA-sukupuu antaa enintään viitteitä siitä mitkä näytteet saattavat olla läheisempää tai kaukaisempaa sukua toisilleen. DNA-sormenjäljet eivät myöskään ole täydelliset, mikä vaikeuttaa sukupuun tulkintaa. Jotkin näytteet muodostavat kuitenkin kauniita lajikeryhmiä, eikä niiden sormenjäljissä ole suuria eroja, mikä lisää sukupuun luotettavuutta. Tulkintavirheiden mahdollisuus kasvaa mitä kauemmaksi näytteet asettuvat toisistaan sukupuussa ja mitä suurempi geneettinen etäisyys näytteiden välillä on. Mikrosatelliiteilla tehtyjä sormenjälkiä ei pidetä kovin hyvinä sukulaisuussuhteiden ja sukupuiden rakentamisessa. Sormenjäljet soveltuvat

paremmin yksilöiden tunnistamiseen ja geneettisen materiaalin monimuotoisuuden arvioimiseen.

Lajit tekevät sukuun tulkitsemisesta haastavaa, sillä samaa lajia edustavien näytteiden ei voi odottaa asettuvan lähelle toisiaan eikä varsinkaan olevan keskenään identtisiä. Lajien sisällä vallitsee geneettistä monimuotoisuutta, joten näytteiden voi olettaa asettuvan sen mukaisesti etäällekin toisistaan. Marjaomenapuuta (*M. baccata* (L.) Moench) käytettiin Rosybloomien jalostuksessa toisena vanhempana (Preston 1944). Sen voi olla yksi syy sille, että marjaomenapuita esiintyy sukupuussa useissa sen haaroissa. Lisäksi siemensyntyisiksi tiedetyt puut muodostavat yhden ryhmän näytteitä, joiden ei voi olettaa olevan identtisiä muiden näytteiden kanssa. Ainoastaan kasvullisesti lisättyjen näytteiden voi olettaa asettuvan samaan ryhmään samaa lajiketta edustavien näytteiden kanssa ja olevan niiden kanssa identtinen. Muissakin tutkimuksissa on haluttu ensisijaisesti vertailla kasvullisesti lisättyjen puiden genotyyppiä, mutta myös siemensyntyisiä on luultavasti ollut mukana. Routson ynnä muut (2009) epäilivät että siementaimia oli mukana aineistossa, vaikkei niitä pitänyt olla.

Pääkomponenttianalyysillä voidaan saada esiin aineiston monimuotoisuutta ja näytteet voivat asettua kauniisti eri ryhmittymiksi. Esimerkiksi Routsonin ynnä muiden (2009) aineisto jakautui pääkomponenttianalyysissä kahteen eri ryhmään. Erot kahden eri ryhmän välillä johtuivat ilmeisesti yhdessä kohtuullisen vakaassa lokuksessa esiintyneistä alleelipituuksien eroista (Routson ym. 2009). Toisessa ryhmässä näytteillä oli pidemmät alleelit kuin toisen ryhmän näytteillä (Routson ym. 2009).

Sukupuuta saattaa edelleen olla virheellinen johtuen varovaisesta geneettisten etäisyyksien tulkinnasta. Lähelle lajikeryhmiä asettuneet näytteet saattoivat olla genotyypiltään samanlaisia, mutta jonkin sormenjäljissä olevan virheen vuoksi ne asettuivat kauemmaksi muista kuin identtisyttä varten vaadittiin. Kontaminaatiot ja huono kopioituminen selittävät luultavasti suurimman osan mahdollisista virheistä.

6.3 Lajikeaitous

Vertailunäytteiden puutteellisuus oli yksi tutkimuksen suurimmista ongelmista. Valtaosa tutkimusnäytteistä saatiin vasta myöhään vuoden 2010 keväällä. Verrannenäytteiden tilaaminen ulkomaisista kokoelmista ei ollut tuolloin enää mahdollista, sillä tutkimuksessa käytettyjen lehtien haluttiin olevan nuoria ja koristeomenapuut tulevat muualla lehdelle aikaisemmin kuin Suomessa. Verrannenäytteitä tilattaessa jouduttiin tyytymään kirjallisuudessa esiintyviin mainintoihin Suomessa käytetyistä koristeomenapuista. Kaikkia tarvittavia verrannenäytteitä ei myöskään tilattu sen väärinkäsityksen vuoksi, että tutkimustulosten oletettiin olevan verrannollisia aikaisempiin tutkimuksiin samoilla mikrosatelliittialukkeilla.

Epäselviä tai sotkeutuneita nimistöjä on havaittu aiemmissakin tutkimuksissa. Synonyymejä tai väärin nimettyjä lajikkeita esiintyi Guarinon ynnä muiden (2006) tarhaomenapuiden geneettistä monimuotoisuutta tarkastelleessa tutkimuksessa. Muun muassa 'Ananassa' nimisen lajikkeen kanssa identtisiä olivat 'Melone', 'Morra' ja 'Zampa di cavallo' (Guarino ym. 2006). Hokansonin ynnä muiden (2001) tutkimuksessa *Malus 'Dolgo'* ja *Malus baccata 'Alexis'* olivat identtiset DNA-sormenjäljiltään. Tutkitusta kokoelmasta poistettiin lopulta 'Alexis', sillä se oli identtinen 'Dolgon' kanssa, joka katsottiin luotettavammaksi nimeksi (Hokanson ym. 2001). Muun muassa nämä tulokset tukevat omia havaintojani siitä, että taksonien nimet ovat joidenkin näytteiden kohdalla sekoittuneet.

Syynä sormenjälkien eroihin samalla lajikenimellä toimitettujen näytteiden välillä saattaa olla väärin nimeämisen lisäksi taimien lisääminen siemenistä tai mahdollisesti alkuperäisen puun ja sittemmin lisäyslähteenä käytetyn yksilön ostaminen väärin nimettynä. Ainoastaan jalompia laatuja kehoitettiin 1930-luvulla lisäämään kasvullisesti (Salonen ja Jaatinen 1933). Päätös siitä, mikä oli kunkin puun kohdalla oikea lisäysmenetelmä, jäi luonnollisesti aina taimituottajan itsensä päätettäväksi, mikä saattaa koristeomenapuiden kohdalla tarkoittaa suvullista lisäämistä sen helppouden ja vaivattomuuden vuoksi. Tämä takaa tietenkin geneettisen

vaihtelevuuden, mutta siemenestä kasvatetusta *Malus*-suvun yksilöstä ei voida varmuudella tulkita sen taksoni-identiteettiä ulkoisten ominaisuuksien perusteella. Tämä johtuu siitä, että *Malus*-suvun yksilöt risteytyvät helposti keskenään taksonista riippumatta (Korban 1986, Campbell ym. 1991). Nimien siirtyminen lajista ja jopa suvusta toiseen aiheuttaa ymmärrettävästi lisähaasteen taimistoille. Den Boerin (1959) listaus synonyymeistä osoittaa hyvin kuinka monimutkaisen nimistön kanssa taimituottajat ovat joutuneet toimimaan jo pitkään. Tieteellisistä nimistä ja lajimääristä ei ole vielä kukaan kattavaa yhteisymmärrystä (Fiala 1994, suullinen tiedonanto Alexander Sennikovilta Helsingissä 3.11.2011), mikä ei helpota tilannetta lainkaan. KESKAS-lajikkeiden kohdalla on huolestuttavaa se, että niitä osoitettiin väärin nimetyiksi jo nyt, vaikka lajikkeet laskettiin markkinoille vasta 1990-luvulla.

Hokanson ynnä muut (2001) totesivat artikkelissaan, että kokoelmassa on samojen lajinäytteiden klooneja, mikä heikentää kokoelmien monimuotoisuutta ja heikentää geneettisen monimuotoisuuden säilyttämistä. Lajinäytteillä ei esiintynyt päällekkäisyyksiä tutkimuksessani. Laji-identiteettiä ei voitu tutkimuksessa varmistaa tai todistaa vääräksi, sillä lajien sisällä pitäisi esiintyä geneettistä monimuotoisuutta. Kolme siemensyntyiseksi tiedettyä näytettä (247, 245, 186) saattavat hyvin edustaa niiden oletettuja lajeja, mutta sitä ei kyetty varmistamaan. On mahdollista, että siementaimet ovat geneetisesti sekoitus hyvin erilaisista taksoneista, niin laji- kuin lajikkeistakin, sillä omenapuilla ei ole geneettisiä esteitä risteytyä toistensa kanssa (muun muassa Campbell ym. 1991). Kolme muuta siemensyntyiseksi tiedettyä näytettä (124, 201, 227) ovat myös genotyypeiltään uniikkeja, joten niiden nimeämisellä lajikkeiksi ei ole estettä. Tutkimuksessa ei kuitenkaan ollut mukana erikseen kerättyjä verrannäytteitä emopuista, joilla tutkimusnäytteiden lajikeaitous olisi voitu täysin osoittaa, joten näytteiden aitous jouduttiin jättämään vahvistamattomaksi.

6.4 Löytöomenapuut ja 'Hyvingiensiksen' alkuperä

Löytöomenapuut KESKAS-lajikkeita lukuun ottamatta vaikuttavat kaikin puolin olevan geneettisesti yksilöllisiä. Kuitenkaan useille kotimaisille lajikkeille, kuten taimistojen omille lajikkeille, ei tutkimuksessa ollut vertailunäytteitä minkä vuoksi niiden aitoutta tai yksilöllisyyttä ei voitu täysin varmistaa. Poikkeuksena siemensyntysisiksi tiedetyt puut, jotka eivät ymmärrettävästi vastaa geneettisesti muita yksilöitä. Kotimaisia lajikkeita ei välttämättä ole kasvitieteellisissä puutarhoissa tai niitä ei osattu hankkia tutkimusta varten. Joillekin varmistamatta jääneille näytteille löytyi tutkimusaineistosta identtinen näyte. Näytteet vastasivat usein myös nimeltään toisiaan. Tällaisia olivat lajikkeet 'Marjatta' ja 'Peräpohjola'. Lisäksi lajikkeesta 'Wabiscava' ei ollut mukana vertailunäytettä. 'Wabiscavaksi' nimetyllä tutkimusnäytteelle löytyi toinen nimetön vastaava tutkimusnäyte, mutta niiden lajikeaitoutta ei pystytty täysin varmistamaan verrannäytteen puuttumisen vuoksi. *Malus*-suvun voimakkaan risteytymistäipumuksen vuoksi ei ole lainkaan epätodennäköistä, että löytöomenapuut tai uusien lajikkeiden emopuut ovat todella ainutlaatuisia yksilöitä. Siemenestä kasvatetut puut eroavat vanhemmistaan geneettisesti perimäaineksen ollessa usein peräisin kahdesta yksilöstä.

Rautatienomenapuun alkuperää ei kyetty varmistamaan kirjallisuudessa oletetuksi *Malus prunifolia* 'Pendulaksi'. Tutkimusaineistosta selvisi, ettei 'Hyvingiensis' vastaa DNA-sormenjäljiltään mitään muuta taksonia, joten se saattaa olla oma uniikki lajikkeensa. Sukulaisuussuhteita ei voitu suoraan tarkastella UPGMA-sukupuusta, joten rautatienomenapuun vanhempia ei kyetty selvittämään. Lajikkeen vanhemmat on mahdollista selvittää mikrosatelliittimerkkien avulla (Evan ym. 2011, Moriya ym. 2011), mutta analyysistä ei oltu tietoisia tutkimusta suoritettaessa. DNA-sormenjälkien perusteella vaikuttaa siltä, että rautatienomenapuu olisi triploidi. Polyploidiaa ei sormenjälkien perusteella voitu täysin varmistaa. 'Hyvingiensiksen' ulkonäkö, suuret kukat sekä hedelmät, viittaa kuitenkin sormenjälkien tapaan polyploidiaan.

6.5 KESKAS-lajikkeiden 'Kirjailija' ja 'Kadetti' lajikeidentiteetti

Kahdelle KESKAS-lajikkeelle kyettiin selvittämään todennäköinen alkuperäinen nimi. DNA-sormenjälkien perusteella vaikutti siltä, että KESKAS-lajike 'Kadetti' olisi oikealta nimeltään 'Cowichan'. 'Cowichan' on niin kutsuttu Rosybloom –lajike ja se on jalostettu 1920-luvulla Yhdysvalloissa (Preston, 1944). Verrannenäytteet Sir Harold Hillier Gardenista sekä Arnold Arboretumista antavat Juntheikki-Palovaaran tulosten kanssa vahvaa näyttöä siitä, että KESKAS-lajikkeena lisätty kanta olisi todellisuudessa lajike 'Cowichan'. Lajikkeesta 'Almey' oli tutkimusaineistossa yksi vertailunäyte Kanadasta Montreal Botanic Gardenista. Vertailunäytteen avulla kyettiin nimeämään oikein yhteensä kuusi tutkimusnäytettä sekä löytämään oikea nimi KESKAS-lajikkeelle 'Kirjailija'. Ryhmän tutkimusnäytteet ja alkuperäinen 'Kirjailija' –näyte vaikuttivat vastaavan toisiaan ja vertailunäytettä 'Almey' DNA-sormenjäljiltään. 'Almey' tuli markkinoille 1945 ja kehitettiin Kanadassa (den Boer 1959). Oman tutkimukseni ja Juntheikki-Palovaaran (2008) luomissa DNA-sormenjäljissä esiintyneet erot olivat johdonmukaisia, jolloin vertailu tulkittiin kohtuullisen luotettavaksi. Varmuutta lajikkeiden nimistä haettiin kirjallisuudessa esiintyvistä lajikekuvauksista.

Tegel ja Apajalahti (1994) kuvailevat artikkelissaan vaaleanpunakukkaista *Malus* 'Kadettia' seuraavasti: "Kadetin luoteenomaisia piirteitä ovat erittäin runsas hennon vaaleanpunainen kukinta ja pitkään säilyvät punaiset hedelmät. ... Oksat ovat sivulle sirottavat ja puut ovat leveitä. Nuput ovat vaaleanpunaiset ja kukat hyvin hennon vaaleanpunaiset. Kukkien halkaisija on 5 cm. Lehdistö on vihreä. Hedelmiä on erittäin runsaasti ja ne pysyvät pitkään puussa ja koristavat siten vielä talvellakin. Hedelmät tummanpunaiset, punamaltoiset, hiukan litteät ja halkaisijaltaan 3 cm."

Kirjallisuudessa lajiketta 'Cowichan' kuvaillaan muun muassa seuraavasti: "Nuput vaaleat vaaleanpunapinkit, avautuvat vaalean laventelinvärisiksi melkein valkoisiksi kukiksi, 4,5 cm läpimitta; hedelmät tummanpunaiset, 4,5 cm läpimitta. Kukki vuosittain, altis vakavalle ruvelle" (Fiala, 1994). Suomen puu- ja pensaskasviossa (Hämet-Ahti ym. 1992) lajiketta 'Cowichan' kuvaillaan lyhyesti: "Pensas tai puu; 3–4

m. Lehtilapa punavihreä. Teriö 4–4,5 cm leveä, yksinkertainen, aluksi ruusunpunainen, myöhemmin vaaleneva. Hedelmä 4 cm, punertava.". Piirretty hedelmä on hieman litteä (Hämet-Ahti ym. 1992). Alanko ja Lagerström (2004) kuvailevat 'Cowichania' seuraavasti: "'Cowichan' kasvaa yleensä 3–4 m korkeaksi puuksi, joskus korkeammaksikin. Lehdet ovat punavihreät. Kukka aluksi ruusunpunainen, myöhemmin vaaleneva, 4–4,5 cm leveä. Punertavan hedelmän läpimitta on 4 cm.".

Malus 'Kirjailija' on puolestaan kuvailtu seuraavasti: "Kirjailijanomena lienee suurikukkaisin omenapuu mitä Helsingistä löytyy. Kukkien halkaisija on peräti 6.5–7 cm. ... Kaikkien puiden kasvutapa on epätavallisen leveä ja hyvin koristeellinen. Valtavan suuret kukat ovat väriltään vaaleanpunaiset ja terälehdet ovat 2 sentin levyiset. Hedelmiä on vähän, tummanpunaisia, pitkänomaisia, 1,5 cm. Lehdistö on hieman punertava." (Tegel ja Apajalahti 1994).

Lajikkeen 'Almey' kuvaukset kirjallisuudessa ovat kattavuudeltaan hyvin eritasoisia. Fiala (1994) kuvailee lajiketta lyhyesti: "suosittu aikaisemmin sen syvän vaaleanpunapinkin keväisen kukkaloiston vuoksi. Lehdet putoavat usein kesällä ruven vuoksi; kukassa 5–7 vaalean punaista terälehteä. Herkkä monille taudeille.". Den Boer (1959) kuvailee 'Almeyta' hyvin yksityiskohtaisesti: "Nuput punaruskean purppuraiset tai syvän purppuraisen punaiset. Avoimet kukat ovat vaaleamman punaiset ja niiden keskellä on vaalean punainen tai miltei valkoinen tähti; ne muistuttavat hyvin tunnetun lajikkeen Hopa kukkia kooltaan ja terälehtien tyypiltä sekä tähden suhteen Almeyn väri on syvemmän punainen ja terälehdet taittavat taaksepäin erikoisella tavalla. Lisäksi pitkävartiset kukat ovat 5–7 kukan ryhminä, kun Hopalla lyhytvartiset kukat ovat 4–5 kukan ryhmissä. Hedelmät kypsyvät syyslokakuussa. Ne ovat oransseja, suurelta osin, joskus kokonaan, peittyneenä karmiininpunaisella tai verenpunaisella. Ne ovat huomattavan kohojuovaiset ja kolme neljäsosa tuumaa (n.1.9 cm) läpimitaltaan. ... Lehdet ovat purppuraiset avautuessaan, mutta pronssinvihreät ikääntyessään.". Suomen puu- ja pensaskasvi-ossa (Hämet-Ahti ym. 1992) lajike 'Almey kuvataan jälleen suppeasti: "Puu; 3–4 m. Lehtilapa aluksi tummanpunainen, myöhemmin punertava – pronssinvihreä. Teriö 4–5 cm leveä, puolikerrannainen, purppuranpunainen, keskeltä ristinmuotoisesti

vaaleampi, terälehdet taakänteisiä. Hedelmä 2 cm, tummanpunainen.". Piirretty hedelmä on hieman leveyttään pidempi sekä aavistuksen juonteinen (Hämet-Ahti ynnä muut 1992). Alanko ja Lagerström (2004) kuvailevat lajiketta 'Almey' samaan tapaan kuin Hämet-Ahti ynnä muut (1992): "'Almey' kasvaa 3–5 m korkeaksi puuksi. Lehdet ovat aluksi tummanpunaiset, myöhemmin punertavat tai pronssinvihreät. Purppuranpunaiset kukat ovat puolikerrannaiset, 4–5 cm leveät. Teriö on ylhäältä katsoen ristinmuotoisesti vaaleampi, melkein valkoinen. Terälehdet ovat taakänteiset. Kukinta alkaa hiukan aikaisemmin kuin muilla lajikkeilla. Tummanpunaiset hedelmät ovat 2 cm läpimitaltaan.".

Tegelin ja Apajalahden kuvaukset 'Kadetista' ja 'Kirjailijasta' eivät osu täysin yksin kirjallisuudessa esiintyvien 'Cowichanin' ja 'Almeyn' kuvausten kanssa. Lajikekuvausten vertailua vaikeuttaa suuresti oleellisten tuntomerkkien puuttuminen luetelluista piirteistä. Puutteita esiintyy niin KESKAS-lajikkeiden kuin oletettujen alkuperäislajikkeiden kuvauksissa. Muun muassa lajikkeesta 'Kirjailija' ei kuvata lainkaan nuppujen sekä avautuvien lehtien väriä. Hedelmien mahdollinen kohokuovaisuus jätetään myös mainitsematta. Molempien KESKAS-lajikkeiden kohdalla osa kuvatuista tuntomerkeistä osuu kuitenkin yksin kirjallisuuden kuvausten kanssa. Erityisesti hedelmien malli osuu yksin oletettujen alkuperäisnimilajikkeiden kanssa, lukuun ottamatta 'Kirjailijasta' puuttuvaa kohoumien mainintaa. Muun muassa Routson ynnä muut (2009) toteavat artikkelissaan, että vanhojen puiden tunnistaminen perinteisin keinoin on lähes mahdotonta kuvausten puutteellisuuden ja lajikkeiden suuren samankaltaisuuden vuoksi. Van Treuren ynnä muut (2003) totesivat myös artikkelissaan myös sen, että vanhojen tuntemattomien puiden nimeäminen pelkkien ulkoisten ominaisuuksien pohjalta on haastavaa. Molekyyliimerkit puolestaan tarjoavat luotettavan ja toimivan menetelmän monimuotoisuuden havaitsemiseen (Hammer ym. 2003).

6.6 Virhelähteiden arviointia

Mahdollisia virhelähteitä on tutkimuksessa useita. Sekaannuksia on voinut tapahtua aina näytteiden keruusta laboratoriotyön viimeisiin vaiheisiin saakka, sekä tuloksia kirjatessa ja käsiteltäessä. Selviksi ryhmiksi asettuneet ja identtiseksi todetut näytteet viittaavat kuitenkin siihen, ettei sukupuussa näytteiden asettuminen erilleen samalla nimellä toimitetuista näytteistä voi johtua ainoastaan sekaannuksista näytteitä kerättäessä tai käsittelyvirheistä laboratoriossa. Vaikuttaa hyvin selvältä, että lisäyksessä ja myynnissä on paljon puita, joiden myyntinimi on virheellinen. Tilanteen parantaminen vaatii yhteistyöhalukkuutta sekä tuottaja-, että tutkijapuolelta, jotta kuluttaja saa haluamansa tuotteen sekä arvokkaiden geenivarojen säilyttäminen onnistuu.

Tulosten tarkastelua vaikeuttaa entisestään epätietoisuus siitä millä motiivilla näytteet on lähetetty mukaan tutkimukseen. Mukaan pyydettiin näytteitä lisäyksessä käytettävistä emopuista, mutta ei ole varmaa onko mukana tai kuinka suuri osa tutkimusnäytteistä on tuotannon ulkopuolella olevista puista, joille on haluttu löytää lajikeidentiteetti tutkimuksen avulla. Teoriassa tämä tekee tutkimuksesta mielenkiintoisemman, mutta käytännössä vaikeuttaa tulosten tulkintaa huomattavasti.

Kasveihin suhtaudutaan helposti jopa välinpitämättömästi. Esimerkiksi Tegel (2000) mainitsee KESKAS-raporttinsa tulosten tarkastelussa kuinka osa koeistutuksista perustettiin huonosti ja esimerkiksi poppelit ja pajut istutettiin niille väärään vuodenaikaan. Tämä samankaltainen välinpitämättömyys vaikuttaa vallitsevan myös kun on kyse lajikeaitoudesta sekä tietojen arkistoinnista, mikä ilmenee alkuperätietojen hankalana selvittämisenä sekä väärin nimettyinä kasveina.

6.7 Jatkotutkimuksen aiheita

Jatkotutkimukselle on mielestäni aihetta sekä kansallisen lajikeaitouden sekä maailmanlaajuisen geenivarojen kartoittamisen suhteen. Kansallisen lajikeaitouden ongelma on ensisijaisesti kuluttajaa koskettava. Maksavan asiakkaan pitäisi voida luottaa siihen, että ostettu tuote vastaa haluttua. Maailmanlaajuisesti olisi oleellista kartoittaa jo säilössä olevat geenivarat *Malus*-suvun lajien osalta, sekä selvittää niiden monimuotoisuutta. Aikaisemmat tutkimukset ovat antaneet aihetta huoleen, sillä kasvitieteellisissä puutarhoissa ja kokoelmissa olevien puiden geeniperimä saattaa olla kapeampi kuin mitä on uskottu (muun muassa Hokanson ym. 2001).

Lajikeaitoutta olisi mahdollista valvoa ja selvittää DNA-sormenjälkitestein. Chuang ynnä muut (2011) katsoivat tutkimuksessaan mikrosatelliittien soveltuvan riisin lajikeaitouden varmistamiseen ja siten jalostajan oikeuksien valvontaan. Samanlaisen loppupäätelmään päätyivät myös Rao ynnä muut (2010) suojattujen aprikoosilajikkeiden valvonnasta. Van Treuren ynnä muut (2010) mainitsevat mikrosatelliittimerkkietokannan perustamisen olevan yksi mahdollisuus parantaa lajikkeiden aitoutta. Tomaatille sellainen kyettiin tuottamaan ja Bredemeijer ynnä muut (2002) piti samanlaisen tietokannan perustamista muillekin satokasveille täysin mahdollisena. Van Treuren ynnä muut (2010) perustivat tutkimuksen myötä alankomaisen tietopankin, johon on kerätty eri kokoelmissa olevien omenapuiden tietoja. Toistaiseksi tietokanta on ainoastaan hollanniksi osoitteessa www.appelcollecties.nl (van Treuren ym. 2010). Taimistoilla tuotettavien ja kokoelmissa olevien kasvien tiedot olisi hyvä kerätä tietokantaan tai dokumentoida suoje- lun ja lisäysmateriaalin saatavuuden edistämiseksi myös Suomessa.

Suomi on sitoutunut geenivarojen säilyttämiseen (MMM, 2001), minkä vuoksi on osaltaan oleellista, että myytävien kasvien nimet pitävät paikkansa. Väärien nimien vuoksi geenivarat saattavat vaarantua huomaamatta ja arvokkaita taksoneja saate- taan menettä.

7 Johtopäätökset

Tutkimukselle asetettiin tavoitteeksi tutkimusnäytteiden lajikeaitouden selvittäminen ja nimeäminen. Tässä onnistuttiin kohtuullisen hyvin, kun ottaa huomioon kuinka helposti omenapuut risteytyvät ja kuinka suuri määrä eri taksoneja on tarjolla. Suuri joukko näytteitä jäi ilman varmistettua nimeä tai kokonaan nimettömiksi, mutta oli odotettavaakin kun mukana oli siemensyntyisiä puita. Tulosten perusteella oli selvää, että nimistösekaannuksia on kotimaisessa taimituotannossa. Sitä ei voida arvioida missä, miten ja milloin sekaannukset ovat tapahtuneet, mutta KESKAS-lajikkeet osoittivat sekaannusten voivan tapahtua jo pian lajikkeen tultua markkinoille. Vanhojen lajikkeiden kohdalla sekaannukset voivat johtua esimerkiksi siitä, että lisäyksessä on vuosien varrella käytetty siemeniä tai taimiston alun perin hankkima emopuu on kasvatettu siemenestä tai on ollut eri lajiketta kuin minä se on hankittu.

Tutkimus osoitti mikrosatelliittien käyttökelpoisuuden koristeomenapuiden identifioimisessa laajastakin näytemäärästä. DNA-sormenjäljet, jotka on tuotettu mikrosatelliittimerkkien avulla, eivät ole täysin ongelmaton tai virheetön menetelmä vaan menetelmä vaatii myös tulkintaa mikä aiheuttaa toistaiseksi sen, ettei tuloksia voi eri tutkimusten välillä vertailla helposti. Menetelmää voitaisiin kuitenkin hyödyntää niin kasvien valvonnassa kuin tuotannossakin. Tuloksien antama viittaus tuotettujen kasvien nimisekaannuksista vaatisi laajempaa selvitystä ja toimintastrategian luomista jo pidempään jatkuneen ongelman ratkaisemiseksi. Koristeomenapuiden aitouden varmentaminen palvelisi paitsi tuottajia ja kuluttajia, myös geenivarojen säilyttämiseksi tehtävää työtä. Eri tahojen yhteistyöllä tilanne koristeomenapuiden aitouden suhteen olisi varmasti mahdollista selvittää ja korjata.

Sekaannukset eivät ole pelkästään Suomen ongelma, mutta ongelmaan on silti hyvä tarttua, jotta myytävät kasvit vastaisivat myyntinimeltään niiden genotyyppiä. Lisäselvityksiä siitä, kuinka suuri osa myytävistä tarha- ja koristeomenapuista, on väärin nimettyjä, tarvitaan jatkotoimenpiteitä varten, jotta ongelman laajuus saa-

daan selville sekä esille. Tutkimus antoi hyvän kuvan siitä, että mikrosatelliiteilla luodut DNA-sormenjäljet ovat toimiva keino lajikeaitouden selvittämisessä.

8 Kiitokset

Haluan kiittää pro gradu -työni ohjaajia Helsingin yliopiston puutarhatieteen yliopistonlehtori Leena Lindeniä, tutkija Inka Juntheikki-Palovaaraa sekä MTT:n erikoistutkija Kristiina Antoniusta. Tämän lisäksi erityisen kiitoksen ansaitsee MTT:n laboratorioinsinööri Anneli Virta, joka suoritti kapillaarisekvensoinnin ja siihen liittyvät työt MTT:lla, tutkimusteknikko Marja Huovila, joka opasti minua laboratoriotyöskentelyssä Helsingin yliopistolla ja kasvin- ja metsänjalostuksen sekä kasvi- ja metsäbiotekniikan professori Teemu Teeri, joka opasti minua tilastollisten menetelmien käytössä ja soveltamisessa.

Rahoitusta tutkimukselle lahjoittivat Hyvinkään kaupunki sekä Taimistoviljelijät ry. Ilman tätä rahallista tukea tutkimusta ei olisi voitu suorittaa. Kiitoksen ansaitsevat myös Helsingin yliopistolla minua avustaneet laboratoriohenkilökunnan jäsenet sekä muut laboratoriossa tutkimusta suorittaneet, jotka vastasivat tarvittaessa kysymyksiin ja opastivat laboratoriotyöskentelyssä. Lisäksi haluan myös esittää kiitoksen maatalous- metsätieteelliselle tiedekunnalle graduklinikasta, joka tarjosi tilan kirjoittaa pro gradu -tutkielmaa, ohjausta sekä mahdollisuuden vaihtaa kokemuksia ja saada henkistä tukea. Henkisen tuen tarjoamisesta haluan kiittää myös aviomiestäni.

Lähteet

- Akkaya, M. S., Bhagwat, A.A. & Cregan, P.B. 1992. Length Polymorphisms of Simple Sequence Repeat DNA in Soybean. *Genetics* 132: 1131-1139.
- Alanko, P. & Lagerström, M. 2004. *Kukkapuut*. Tammi. 243 s.
- Boer, A. F. den. 1959. *Ornamental Crab Apples*. Washington, D.C., U.S.A: The American Association of Nurserymen. 226s.
- Bonin, A., Bellemain, E., Bronken Eidesen, P., Pompanon, F., Brochmann, C. & Taberlet, P. 2004. How to track and assess genotyping errors in population genetics studies. *Molecular Ecology* 13: 3261-3273.
- Bredemeijer, G. M. M., Cooke, R. J., Ganai, M. W., Peeters, R., Isaac, P., Noordijk, Y., Rendell, S., Jackson, J., Röder, M. S., Wendehake, K., Dijcks, M., Amelaine, M., Wickaert, V., Bertrand, L. & Vosman, B. 2002. Construction and testing of a microsatellite database containing more than 500 tomato varieties. *Theoretical Applied Genetics* 105: 1019-1026.
- Campbell, C. S., Greene, C. W. & Dickinson, T. A. 1991. Reproductive biology in subfam. Maloideae (Rosaceae). *Systematic Botany* 16: 333-349.
- Chuang, H.-Y., Lur, H.-S., Hwu, K.-K. & Chang, M.-C. 2011. Authentication of domestic Taiwan rice varieties based on fingerprinting analysis of microsatellite DNA markers. *Botanical Studies* 52: 393-405.
- Coart, E., Vekemans, X., Smulders, M., J., M., Wagner, I., Huylbroeck, Van, J., Bockstaele, Van, E. & Roldán-Ruiz, I. 2003. Genetic variation in the endangered wild apple (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) in Belgium as revealed by amplified fragment length polymorphism and microsatellite markers. *Molecular Ecology* 12: 845-857.
- Dunemann, F., Kahnau, R. & Schmidt, H. 1994. Genetic relationships in *Malus* evaluated by RAPD "fingerprinting" of cultivars and wild species. *Plant Breeding* 113: 150-159.
- Ellegren, H. 2000. Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends in Genetics* 16: 551-558.
- Ellegren, H. 2004. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics* 5: 435-445.

- Evans, K. M., Patocchi, A., Rezzonico, F., Mathis, F., Durel, C. E., Fernández-Fernández, F., Boudichevskaia, A., Dunemann, F., Stankiewicz-Kosyl, Gianfranceschi, L., Komjanc, M., Lateur, M., Madduri, M., Noordijk, Y. & Weg, W. E. van de. 2011. Genotyping of pedigreed apple breeding material with a genome-covering set of SRRs: trueness to type of cultivars and their parentages. *Molecular Breeding* 28: 535-547.
- Fiala, J., L. 1994. Flowering crabapples the genus *Malus*. Oregon: Timber Press. 273 s.
- Forte, A. V., Ignatov, A. N., Ponomarenko, V. V., Dorokhov, D. B. & Savelyev, N. I. 2002. Phylogeny of the *Malus* (Apple Tree) Species, Inferred from the Morphological Traits and Molecular DNA Analysis. *Russian Journal of Genetics* 38: 1150-1160.
- Galli, Z., Halász, G., Kiss, E., Heszky, L. & Dobránszki, J. 2005. Molecular identification of commercial apple cultivars with microsatellite markers. *HortScience* 40: 1974-1977.
- Gharghani, A., Zamani, Z., Talaie, A., Oraguzie, N., C., Fatahi, R., Hajnajari, H., Wiedow, C. & Gardiner, S., E. 2009. Genetic identity and relationships of Iranian apple (*Malus × domestica* Borkh.) cultivars and landraces, wild *Malus* species and representative old apple cultivars based on simple sequence repeat (SSR) marker analysis. *Genet Resour Crop Evol* 56: 829-842.
- 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.
- Goldstein, D., B. & Pollock, D., D. 1997. Launching microsatellites: a review of mutation processes and methods of phylogenetic inference. *Journal of Heredity* 88: 335-342.
- Guarino, C., Santoro, S., Simone, De., L., Cipriani, G. & Testolin, R. 2006. Genetic diversity in a collection of ancient cultivars of apple (*Malus × domestica* Borkh.) as revealed by SSR-based fingerprinting. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 81: 39-44.
- Hammer, K., Arrowsmith, N. & Gladis, T. 2003. Agrobiodiversity with emphasis on plant genetic resources. *Naturwissenschaften* 90: 241-250.

- Harviala, 1963. Hinnasto. Kokoelma: Yrkeshögskola Novia Espoo. 60 s.
- Harviala plantskolor och växthus 1950. Katalog. Kokoelma: Yrkeshögskola Novia Espoo. 44 s.
- Heikel, B., W. 1913. Hedelmä- ja marjanviljelys. Otava. 235 s.
- Hokanson, S., C., Lamboy, W., F., Szewc-McFadden, A., K. & McFerson, J., R. 2001. Microsatellite (SSR) variation in a collection of *Malus* (apple) species and hybrids. *Euphytica* 118: 281-294.
- Jones, C. J., Edwards, K. J., Castaglione, S., Winfield, M. O., Sala, F., Wiel, C. van de., Bredemeijer, G., Vosman, B., Matthes, M., Daly, A., Bretteschneider, R., Bettini, P., Buiatti, M., Maestri, E., Malcschi, A., Marmiroli, N., Aert, R., Volckaert, G., Rueda, J., Linacero, R., Vazquez, A. & Karp, A. 1997. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Molecular breeding* 3: 381-390.
- Juntheikki-Palovaara, I. 2008. Helsingin kaupungin koristeomenakantojen (*Malus* Mill.) identifointi mikrosatelliittimerkkien avulla. Puutarhatieteen Pro Gradututkielma. Helsingin Yliopisto, soveltavan biologian laitos. 61 s.
- Kallio, T. K. 1984. Suomessa koristekasveina viljellyistä omenapuulajeista ja -lajikkeista. *Sorbifolia* 15: 9-17.
- Koopman, W. J. M., Li, Y., Coart, E., Weg, E. van de., Vosman, B., Roldán-Ruiz, I. & Smulders, M. J. M. 2007. Linked vs. unlinked markers: multilocus microsatellite haplotype-sharing as a tool to estimate gene flow and introgression. *Molecular Ecology* 16: 243-256.
- Korban, S., S. 1986. Interspecific hybridization in *Malus*. *HortScience* 21: 41-48.
- Laurila, E. 1995. Puutarhatalouden viisi kehityksen vuosikymmentä. s. 22-27 Puutarhaliiton julkaisu nro. 283. Helsinki: Puutarhaliitto. 354 s.
- Liebard, R., Gianfranceschi, L., Koller, B., Ryder, c., Tarchini, R., Weg, Van De, E. & Gessler, C. 2002. Development and characterisation of 140 new microsatellites in apple (*Malus x domestica* Borkh.) *Molecular Breeding* 10: 217-241.
- Linden, L., Hauta-aho, L., Juntheikki-Palovaara, I., Temmes, O. & Tegel, S. 2010a. Vanhoja pihasyreeni- ja koristeomenakantoja Helsingin puistoissa. Maataloustieteen päivät 2010. Suomen Maataloustieteellisen Seuran julkaisu

- no 26. Viitattu 2. 11.2011. Julkaistu 11.1.2010. Saatavilla Internetistä: <http://www.smts.fi>
- Linden, L. Hauta-aho, L., Temmes, O. & Tegel, S. 2010b. An Inventory of Old Lilac and Crab Apple Cultivars in the City of Helsinki, Finland. *Acta Horticulturae* 881: 1027-1030.
- Lindgren, E. 1903. *Kasvitarhakirja*. Porvoo: Werner Söderström. 255 s.
- Luby, J., J. 2003. Taxonomic classification and brief history. Teoksesta: Ferree, D., C. & Warrington, I., J. *Apples – botany, production and uses*. Wallingford: CABI Publishing. s. 1-14.
- Maa- ja metsätalousministeriö 2001. Suomen maa- ja metsätalouden kansallinen kasvigeenivaraohjelma. <http://www.mmm.fi/attachments/ymparisto/5zS2zZ2if/Kasvigeenivaraohjelma.pdf> Helsinki, Suomi: Maa- ja metsätalousministeriö. Julkaistu 2001, viitattu 27.7.2011.
- Moriya, S., Iwanami, H., Okada, K., Yamamoto, T. & Abe, K. 2011. A practical method for apple cultivar identification and parent-offspring analysis using simple sequence repeat markers. *Euphytica* 177: 135-150.
- Mustilan taimitarhat 1935. Hintaluettelo. Kokoelma: Kansalliskirjaston pienpainatekokoelma. 19 s.
- Peakall, R. & Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6, 288-295 Versio: GenAIEx 6.41. Ohjelmisto saatavilla osoitteesta: <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAIEx/>
- Phipps, J., B., Robertson, K., R., Smith P., G. & Rohrer, j., R. 1990. A checklist of the subfamily Maloideae (Rosaceae). *Canadian Journal of Botany* 68: 2209-2269.
- Preston, I. 1944. Rosybloom Crabapples for Northern Gardens. *Journal of the New York Botanical Garden* 45(536): 169-174.
- Rao, R., Bencivenni, M., la Mura, M., Araujo-Burgos, T. & Corrado, G. 2010. Molecular characterisation of Vesuvian apricot cultivars: Implications for the certification and authentication of protected plant material. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 85: 42-47.
- Rehder, A. 1977. *Manual of cultivated trees and shrubs hardy in North America*. Macmillan Publishing Co., Inc. 996 s.

- Ridelius, O. 2010. Järnvägsäpple en vacker hängapel. *Pomologen* 3: 24-26.
- Routson, K.J, Reilley, A.A, Henk, A.D. & Volk, G. M. 2009. Identification of historic apple trees in the Southwestern United States and implications for conservation. *HortScience* 44: 589-594.
- Räty, E & Alanko, P. 2004. Viljelykasvien nimistö. Puutarhaliiton julkaisu nro. 328. Helsinki: Puutarhaliitto. 200 s.
- Salonen, F. & Jaatinen, K. 1933. Kodin puutarha. Werner Söderström Osakeyhtiö. 407 s.
- Schalin, B. M. 1928. Hintaluettelo. Kokoelma: Kansalliskirjaston pienpainatekoelma. 15 s.
- Schalin, B. M. 1933. Hintaluettelo. Kokoelma: Lepaan puutarhamuseo. 29 s.
- Schlötterer, C. 2004. The evolution of molecular markers – just a matter of fashion? *Genetics* 5: 63-69
- Selkoe, K. A. & Toonen, R. J. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating mikrosatellite markers. *Ecology Letters* 9: 615-629.
- Smirnoff, A. 1894. Suomen pomologiian käsikirja. Porvoo:Werner Söderström. 105 s.
- Stenius, M. G. 1886. pris-kurant. Kokoelma: Kansalliskirjaston pienpainatekokoelma. 8 s.
- Tamura K., Dudley J., Nei M. & Kumar S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599.
- Tautz, D. & Renz, M. 1984. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research* 12: 4127-4138.
- Tegel, S. & Apajalahti, P. 1994. Helsingin vanhat koristeomenapuut. *Puutarha* 97: 10-12.
- Temmes, O. 2007. Koristeomenapuulajikkeita Helsingin kaupungin viheralueilla. Helsingin kaupungin rakennusviraston julkaisu 2007: 16. Helsinki: Helsingin kaupunki rakennusvirasto. 42 s.
- Treuren, R. van., Kemp, H., Ernsting, G., Jongejans, B., Houtman, H. & Visser, L. 2010. Microsatellite genotyping of apple (*Malus × domestica* Borkh.) genetic

resources in the Netherlands: application in collection management and variety identification. *Genetic Resources and Crop Evolution* 57: 853-865.

UPOV, 2003. Ornamental Apple (*Malus* Mill.). Geneva, Switzerland: International Union for the Protection of New Varieties of Plants. <http://www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg192.pdf> Julkaistu huhtikuussa 2003, tulostettu 13.1.2012.

Weber, J., L. 1990. Informativeness of Human (dC-dA)_n · (dG-dT)_n Polymorphism. *Genomics* 7: 524-530.

Weising, K., Weigand, F., Driesel, A.J., Kahl, G., Zischler, H & Epplen, J.T. 1989. Polymorphic simple GATA/GACA repeats in plant genomes. *Nucleic Acid Research* 17: 10128.

Weising, K., Nybom, H., Wolff, K. & Kahl, G. 2005. DNA Fingerprinting in Plants. 2. pianos. Boca Raton, USA: CRC Press Taylor & Francis Group. 444 s.

Wyman, D. 1950. The best of the crab apples ... for character and fragrance. *Plants & Gardens* 6 (1): 37-42.

LIITE 1. Tutkimusaineiston näytekohtaiset tiedot, joilla näyte on toimitettu tutkimukseen.

Malus-näytteet 2009 (V=verranne, T=tutkimuspuu)				
Koodi/ Code	Nimi jolla toimitettu/Submitted name	Kokoelma/Collection	Lisäysnumero/ Accession number	Alkuperä/Origin
56 V	<i>Malus coronaria</i>	Ruissalo	1977-3109	Northampton, Massachusetts 010: 229
57 V	<i>Malus</i> 'Elise Rathke'	Ruissalo	1990-0214	Tammela: Viksten: 565
58 V	<i>Malus</i> 'Hyvingiensis'	Ruissalo	1995-0217	Turku: Kauppila, Kaurakatu: 553
59 V	<i>Malus prattii</i>	Ruissalo	1984-0375	Wageningen: Botanical Gardens: 342
60 V	<i>Malus</i> × <i>zumi</i> var. <i>calocarpa</i>	Ruissalo	1956-0814	Kornik: Polish Academy of Sciences: 155
61 T	<i>Malus</i> 'Hyvingiensis'	Hyvinkää, Asemanpuisto	istutettu 1958	
62 T	<i>Malus</i> punertavakk, riippuva	Hyvinkää, Kauppilanaukio	istutettu 1990- luvulla	
63 T	<i>Malus</i> punakukkainen	Hyvinkää, Scherfbeckinpuistikko		
64 V	<i>Malus floribunda</i> 'Rosea'	Montreal Botanic Garden	1236-1996	
65 V	<i>Malus toringo</i> (= <i>M. sieboldii</i> var. <i>arborescens</i>)	Montreal Botanic Garden	3321-1937-1950	
66 V	<i>M. × gloriosa</i> 'Oekonomierat Echtermeyer'	Montreal Botanic Garden	9069-1937A	
67 V	<i>Malus</i> 'Profusion'	Montreal Botanic Garden	1704-1954A	
68 V	<i>M. × purpurea</i> 'Lemoinei'	Montreal Botanic Garden	3395-39-1970 A	
69 V	<i>M.</i> 'Dorothea'	Montreal Botanic Garden	2679-1975	
70 V	<i>M. × soulardii</i>	Montreal Botanic Garden	1781-1982A	
71 V	<i>M. sieboldii</i> (= <i>M. x zumi</i>)	Montreal Botanic Garden	7420-1937A	
72 V	<i>M. sieboldii</i> (= <i>x zumi</i>) 'Professor Sprenger'	Montreal Botanic Garden	1757-1961A	
73 V	<i>M. × adstringens</i> 'Almey'	Montreal Botanic Garden	1444-1979	
74 V	<i>Malus rockii</i>	Tallinn Botanical Garden		Ottawa, HB & Arb, 1959
75 V	<i>Malus toringoides</i>	Tallinn Botanical Garden		Pyongyang HBC, 1985
76 V	<i>Malus × scheideckeri</i> 'Hillieri'	Tallinn Botanical Garden		Salaspils HBN, 1990
77 V	<i>Malus baccata</i> var. <i>mandshurica</i>	HY:n kasvitieteellinen puutarha	1995-0157	Sakhalin Botanical Garden
78 V	<i>Malus baccata</i> cf. 'Gracilis'	HY:n kasvitieteellinen puutarha	00ZZ-0232	alkuperä ei tiedossa
79 V	<i>Malus coronaria</i>	HY:n kasvitieteellinen puutarha	1992-0043	Toronto Botanical Garden
80 V	<i>Malus prunifolia</i>	HY:n kasvitieteellinen puutarha	00XX-0149	Kumpula
81 V	<i>Malus prunifolia</i>	HY:n kasvitieteellinen puutarha	00ZZ-0235	alkuperä ei tiedossa
82 V	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Royalty'	HY:n kasvitieteellinen puutarha	1981-1597	Tolppolan taimisto
83 V	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Wierdak'	HY:n kasvitieteellinen puutarha	1994-0066	Taimitarha Pekka Viksten
84 V	<i>Malus</i> 'Hyvingiensis'	HY:n kasvitieteellinen puutarha	1975-0153	Harvialan taimitarha
85 V	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Royal Beauty'	HY:n kasvitieteellinen puutarha	1993-0469	Taimitarha Pekka Viksten

(jatkuu)

LIITE 1. (jatkuu)

86	V	<i>Malus</i> Prunifolia-ryhmä 'Scugog'	HY:n kasvitieteellinen puutarha	1994-0065	Taimitarha Pekka Viksten
87	V	<i>Malus x robusta</i>	HY:n kasvitieteellinen puutarha	00ZZ-0240	Alkuperä tuntematon
88	V	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Makamik'	HY:n kasvitieteellinen puutarha	1981-1596	Tolppolan taimisto Ky, Espoo
89	V	<i>Malus</i> 'Hillier' 23-NW	Arnold Arboretum	660-50*B	
90	V	<i>Malus</i> 'Jay Darling' 29-SE	Arnold Arboretum	314-50*C	
91	V	<i>Malus</i> 'John Downie' 50-SE	Arnold Arboretum	556-61*A	
92	V	<i>Malus</i> 'Katherine' 23-NW	Arnold Arboretum	23018*B	
93	V	<i>Malus</i> 'Red Tip' 50-SW	Arnold Arboretum	265-60*A	
94	V	<i>Malus</i> 'Whitney' 50-SE	Arnold Arboretum	416-68*A	
95	V	<i>Malus hupehensis</i> 22-NE	Arnold Arboretum	7241*A	
96	V	<i>Malus prunifolia</i> var. <i>costata</i> 50-SE	Arnold Arboretum	502-43*A	
97	V	<i>Malus prunifolia</i> var. <i>rinkii</i> 32-NE	Arnold Arboretum	10795*B	
98	V	<i>Malus prunifolia</i> var. <i>xanthocarpa</i> 17-SW	Arnold Arboretum	324-50*A	
99	V	<i>Malus sargentii</i> 'Rosea' 17-SW	Arnold Arboretum	129-40*A	
100	V	<i>Malus sikkimensis</i> 'Rockii' 55-SE	Arnold Arboretum	83-34*A	
101	V	<i>Malus toringoides</i> 32-NE	Arnold Arboretum	17475*A	
102	V	<i>Malus x scheideckeri</i> 51-NW	Arnold Arboretum	197-58*A	
103	V	<i>Malus x soulardii</i> 51-NE	Arnold Arboretum	545-57*A	
104	T	<i>Malus</i> sp.	Porvoon sairaala		
105	T	<i>Malus</i> Prunifolia-ryhmä 'Dolgo'	MTT Piikkiö	Ma96	I puu kasvihuoneen vieressä
106	T	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Martha' 2	MTT Piikkiö		YP, ist. 2002
107	T	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Renown' 2	MTT Piikkiö		YP, ist. 2002
108	T	<i>Malus</i> 'Rosilda'	MTT Piikkiö	XXIII:22	YP, ist. 2007
109	T	<i>Malus domestica</i> 'Chestnut' 5	MTT Piikkiö		YP, ist. 2002
110	T	<i>Malus</i> 'Hollola'	MTT Piikkiö	T3	YP, ist. 2007
111	T	<i>Malus</i> 'Anisik'	MTT Piikkiö	XXI:22	YP, ist. 2007
112	T	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Ranetka' 7	MTT Piikkiö		YP, ist. 2002
113	T	<i>Malus</i> Purpurea-ryhmä 'Rescue' 2	MTT Piikkiö		YP, ist. 2002
114	T	<i>Malus</i> sp.	Saarioisten Taimistot Oy	päärakennuksen puisto 1	iso puu, kk purppuranpun., ist. luultavasti 60-luvulla
115	T	<i>Malus</i> sp.	Saarioisten Taimistot Oy	päärakennuksen puisto 2	iso puu, kk purppuranpun., ist. luultavasti 60-luvulla
116	T	<i>Malus</i> sp.	Saarioisten Taimistot Oy	päärakennuksen puisto 3	iso puu, kk purppuranpun., ist. luultavasti 60-luvulla
117	T	<i>Malus</i> sp.	Saarioisten Taimistot Oy	päärakennuksen puisto 4	keskikok. puu, kk vaaleanpun.
118	T	<i>Malus</i> sp.	Saarioisten Taimistot Oy	päärakennuksen puisto 5	keskikok. puu, kk vaaleanpun.
119	T	<i>Malus</i> sp.	Saarioisten Taimistot Oy	sivurakennuksen piha	kk vaaleanpun., ist. luultavasti 60-luvulla
120	V	<i>Malus</i> Prunifolia-ryhmä 'Erstaa'	Kuopion yliopiston kasvitieteellinen puutarha Uppsala, Sunnersta herrgård	05-9	Puutarha-Tahvoset
121	T&V	<i>Malus prunifolia</i> f. <i>pendula</i>			
122	T	<i>Malus</i> sp.	Elimäki, Mettäläntie 14		Mustilan taimisto 1950-luvulla
123	T	<i>Malus</i> cf. 'Makamik'	MTT, Laukaa (?)		Harvialan taimisto 1971
124	T	<i>Malus</i> 'Marjatta'	MTT, Laukaa		L1:n ja L2:n risteymä

(jatkuu)

LIITE 1. (jatkuu)

125	V	<i>Malus baccata</i> 'Gracilis'	Montreal Botanic Garden	2111-1938*A	
126	V	<i>Malus pumila</i> 'Montreal Beauty'	Montreal Botanic Garden	1834-1975*A 5897-39-	
127	V	<i>Malus</i> 'Hyslop'	Montreal Botanic Garden	1950*A	
128	V	<i>Malus sargentii</i>	Montreal Botanic Garden	2677-1975*A	
129	T	<i>Malus</i> 'Oekonomierat Echtermeyer'	Kellokosken arboretum, Itämerikeskus		86
130	T	<i>Malus</i> × <i>adstringensis</i> 'Ramona'	Kellokosken arboretum, Itämerikeskus		89
131	T	<i>Malus</i> 'Red Jade'	Kellokosken arboretum, Itämerikeskus		280
132	T	<i>Malus</i> 'Royal Beauty' ?	Kellokosken arboretum, Itämerikeskus		291
133	T	<i>Malus</i> sp. (riippamuoto)	Kellokosken arboretum, Toimela, ruusutarha		
134	T&V	<i>Malus</i> sp. (riippamuoto)	Aino Mölderin kotipiha		Siimust, Jõgeva, Eesti noin v. 1990
Malus näytteet 2010 (V=verranne, T=tutkimuspuu)					
135	V	<i>Malus</i> 'Kobendza'	Arboretum Kornickie		
136	V	<i>Malus</i> × <i>purpurea</i> 'Jadwiga'	Dubrava Arboretum		
137	V	<i>Malus prunifolia</i> 'Pendula'	Dubrava Arboretum		
138	V	<i>Malus pumila</i> 'Niedzwetzkyana'	Dubrava Arboretum		
139	V	<i>Malus</i> 'Royal Beauty'	Dubrava Arboretum		
140	V	<i>Malus baccata</i> var. <i>jackii</i>	Morton Arboretum	361-50. X-30/90-60	Graft from A. den Boer.
141	V	<i>Malus halliana</i> var. <i>spontanea</i>	Morton Arboretum	276-93*2 D-71/32-35	graft from plant of known wild origin
142	V	<i>Malus prunifolia</i> 'Fastigiata'	Morton Arboretum	1178-56*4 C-71/15-35	Bud from Morton Arboretum
143	V	<i>Malus</i> 'Redflesh'	Morton Arboretum	1172-58	Bud from Morton Arboretum
144	V	<i>Malus</i> 'Royalty'	Morton Arboretum	103-90*2. A2-72/93-59	Plant from Morton Arboretum research program.
145	T	<i>Malus</i> Erstaa?	Jokioisten kartano, MTT	koristeomena	
146	T	<i>Malus</i> Dolgo?	Wendlan puutarha, MTT	koristeomena	
147	T	<i>Malus</i> sp.	Kuusiston kartanomuseo	koristeomena	
148	V	<i>Malus</i> 'Chestnut'	Arnold Arboretum	325-59	Bergeson Nursery, Fertile, MN
149	V	<i>Malus</i> 'Cowichan'	Arnold Arboretum	460-52	Dominion Arboretum Sax, K., Arnold Arboretum
150	V	<i>Malus</i> 'Dolgo'	Arnold Arboretum	160-52	Jac. Jurissen & Son, Holland
151	V	<i>Malus</i> 'Elise Rathke'	Arnold Arboretum	56-99	Des Moines Water Works;IA
152	V	<i>Malus</i> 'Evelyn'	Arnold Arboretum	223-54	
153	V	<i>Malus</i> 'Pink Perfection'	Arnold Arboretum	435-70	Princeton Nursery, NJ
154	V	<i>Malus</i> 'Red Jade'	Arnold Arboretum	532-75	Ruth Birkhoff, Cambridge, MA
155	V	<i>Malus</i> 'Veitch's Scarlet'	Arnold Arboretum	539-66	Hillier Nurseries, UK
156	V	<i>Malus baccata</i> forma <i>jackii</i>	Arnold Arboretum	923-53	J. G. Jack, Arnold Arboretum
157	V	<i>Malus baccata</i> var. <i>flavescens</i>	Arnold Arboretum	754-55	Hermann A. Hesse, Germany, through USDA, Washington, DC

(jatkuu)

LIITE 1. (jatkuu)

158	V	<i>Malus prunifolia</i> 'Microcarpa Lutea'	Arnold Arboretum	19297	Hillier Nurseries, UK
159	V	<i>Malus prunifolia</i> var. <i>xanthocarpa</i>	Arnold Arboretum	324-50	Des Moines Water Works;IA
160	V	<i>Malus spectabilis</i> var. <i>plena</i>	Arnold Arboretum	318-50	Des Moines Water Works;IA
161	V	<i>Malus</i> × <i>purpurea</i> 'Kornicensis'	Arnold Arboretum	221-39	Kornik Arboretum, Poland
162	V	<i>Malus</i> × <i>robusta</i> var. <i>xanthocarpa</i>	Arnold Arboretum	116-46	Arnold Arboretum
163	T	<i>Malus</i> sp.	Hyvinkää, Kirkkopuisto		
164	V	<i>Malus</i> 'Makamik'	Montreal Botanical Garden	1636-1951A	JARB-IML 254-E-18
165	V	<i>Malus</i> 'Royal Beauty'	Montreal Botanical Garden	1559-2003A	JCHI-B 3 44
166	V	<i>Malus</i> 'Makamik'	Montreal Botanical Garden	1401-1973-A	JARB-IML-2276-B-14
167	V	<i>Malus</i> 'Scugog'	Montreal Botanical Garden	1637-1951 A	JARB-IML- 254 E 20
168	V	<i>Malus</i> 'Royal Beauty'	Montreal Botanical Garden	2565-1988 B	JJAP-H3
169	V	<i>Malus</i> 'Royal Beauty'	Montreal Botanical Garden	2456-1983 B	JARB-IML 226 B 8
170	T	<i>Malus</i> sp.	HAMK, Lepaa		Hankkijan taimisto, Lieto, 1969
171	T	<i>Malus</i> sp.	HAMK, Lepaa		Hankkijan taimisto, Lieto, 1969
172	T	<i>Malus</i> sp.	HAMK, Lepaa		Hankkijan taimisto, Lieto, 1969
173	T	<i>Malus</i> sp.	HAMK, Lepaa		Hankkijan taimisto, Lieto, 1969
174	T	<i>Malus</i> sp.	HAMK, Lepaa		Hankkijan taimisto, Lieto, 1969
175	T	<i>Malus</i> sp.	HAMK, Lepaa		Hankkijan taimisto, Lieto, 1969
176	T	<i>Malus</i> sp.	HAMK, Lepaa		Hankkijan taimisto, Lieto, 1969
177	T	<i>Malus</i> sp.	HAMK, Lepaa		Hankkijan taimisto, Lieto, 1969
178	T	<i>Malus</i> sp.	HAMK, Lepaa		Hankkijan taimisto, Lieto, 1969
179	T	<i>Malus</i> sp.	HAMK, Lepaa		Hankkijan taimisto, Lieto, 1969
180	T	<i>Malus</i> sp.	HAMK, Lepaa		Hankkijan taimisto, Lieto, 1969
181	T	<i>Malus</i> sp.	HAMK, Lepaa		Hankkijan taimisto, Lieto, 1969
182	T	<i>Malus</i> sp.	HAMK, Lepaa		Hankkijan taimisto, Lieto, 1969
183	T	<i>Malus</i> Dolgo tai Erstaa?	HAMK, Lepaa HAMK, Lepaa, ison tammen lähellä, kujanteen päässä, vanha puu		
184	V	<i>Malus</i> 'Erstaa'	HY:n kasvitiet.puutarha, Kaisaniemi	00ZZ 0238	
185	T	<i>Malus</i> 'Aamurusko'	Toijalan taimitarha		Tahvonen
186	T	<i>Malus baccata</i>	Toijalan taimitarha		?
187	T	<i>Malus</i> 'Dolgo'	Toijalan taimitarha		?
188	T	<i>Malus</i> 'Erstaa' I	Toijalan taimitarha		?
189	T	<i>Malus</i> 'Hopa' (vaiko Makamik)	Toijalan taimitarha		?

(jatkuu)

LIITE 1 (jatkuu)

190	T	<i>Malus</i> 'Kadetti'	Toijalan taimitarha		Tahvonen
191	T	<i>Malus</i> 'Kirjailija'	Toijalan taimitarha		Tahvonen
192	T	<i>Malus</i> 'Linnanmäki'	Toijalan taimitarha		Tahvonen
193	T	<i>Malus</i> 'Makamik' (vaiko Hopa)	Toijalan taimitarha		?
194	T	<i>Malus</i> 'Rixi'	Toijalan taimitarha		Taimiteutari
195	T	<i>Malus</i> 'Royalty'	Toijalan taimitarha		?
196	T	<i>Malus</i> 'Wabiscawa'	Toijalan taimitarha		?
197	T	<i>Malus</i> 'Erstaa' III	Toijalan taimitarha		?
198	T	<i>Malus</i> "Tammisaari"	Taimiteutari ky		Tammisaari, löytöpuu noin vuodelta 1990
199	T	<i>Malus</i> "Paavo"	Taimiteutari ky		Karimaan puutarhan puistoalue, noin 1995; Paavo Tuominen lisännyt Makamikin jaloversojen seassa Lyyvaaralta tulleesta "sattumasta"
200	T	<i>Malus</i> "Peräpohjola"	Ahosen taimisto		
201	T	<i>Malus sargentii</i> "Marleena"	Hongiston taimisto		marjaomenapensaan siementaimi, pun. lh, kk ja hed.
202	T	<i>Malus</i> 'Red River'	Karimaan puutarha		V. Viitasaaren Amerikan- matkalta 1949
203	T	<i>Malus</i> "Järvenpään Syltymöna"	Karimaan puutarha		emopuu vanha, aivan ontto; kk valk., lh vihreä, hed iso punakelt
204	T	<i>Malus</i> sp. (riippakoristeomena)	Karimaan puutarha		lahja vierailijoilta; kk pinkki, hed pieni ja pun.
205	V	<i>Malus pumila</i> 'Aldenham's Purple'	Royal Botanic Garden Edinburgh	19578592	unknown
206	V	<i>Malus</i> × <i>robusta</i> 'Red Siberian'	Royal Botanic Garden Edinburgh	19644060	Hillier's Nursery
207	V	<i>Malus</i> × <i>atrosanguinea</i>	Royal Botanic Garden Edinburgh	19470166	Notcutts Nurseries
208	V	<i>Malus pumila</i> 'Dartmouth'	Royal Botanic Garden Edinburgh	19644057	Berkeley Milne, Adm. A.
209	V	<i>Malus</i> × <i>atrosanguinea</i>	Sir Harold Hillier Gardens	1978.5938*S	
210	V	<i>Malus</i> 'Cowichan'	Sir Harold Hillier Gardens	1988.1225*A	
211	V	<i>Malus</i> 'Dartmouth'	Sir Harold Hillier Gardens	1978.3141*Z	
212	V	<i>Malus</i> 'Dartmouth'	Sir Harold Hillier Gardens	1978.3144*W	
213	V	<i>Malus</i> 'Dartmouth'	Sir Harold Hillier Gardens	2007.0002*B	
214	V	<i>Malus</i> 'Dartmouth'	Sir Harold Hillier Gardens	2007.0002*C	
215	V	<i>Malus</i> 'Elise Rathke'	Sir Harold Hillier Gardens	1977.3941*Z	
216	V	<i>Malus prunifolia</i> 'Cheal's Crimson'	Sir Harold Hillier Gardens	1978.0570*Q	
217	V	<i>Malus prunifolia</i> 'Pendula'	Sir Harold Hillier Gardens	1982.0273*A	
218	V	<i>Malus</i> 'Simcoe'	Sir Harold Hillier Gardens	2009.0226*A	
219	V	<i>Malus</i> 'Veitch's Scarlet'	Sir Harold Hillier Gardens	1978.2712*Y	
220	T	<i>Malus</i> 'Peräpohjola'	Oulun yliopisto, biologian Its, kasvitiet. puutarha	05-536 PO-	Blomqvist
221	T	<i>Malus</i> 'Erstaa'	Oulun yliopisto, biologian Its, kasvitiet. puutarha	05-535 PO-	Blomqvist
222	T	<i>Malus</i> 'Hyvingiensis'	Oulun yliopisto, biologian Its, kasvitiet. puutarha	05-537 PO-	Blomqvist
223	T	<i>Malus</i> Prunifolia-ryhmä	Oulun yliopisto, biologian Its, kasvitiet. puutarha	90-3408 V-8	Rovaniemi

(jatkuu)

LIITE 1 (jatkuu)

224	T	<i>Malus</i> 'Marjatta'	Oulun yliopisto, biologian lts, kasvitiet. puutarha	91-3291 V-4	Laukaa
225	T	<i>Malus prunifolia</i> (?)	Oulun yliopisto, biologian lts, kasvitiet. puutarha	90-3908 V-8	Kempeleen puutarhaoppilaitos
226	T	<i>Malus</i> 'Ranetka Purpurovaja'	Oulun yliopisto, biologian lts, kasvitiet. puutarha	90-2491	Hilkka Ahola, Laukaa?
227	T	<i>Malus</i> "Venla"	Suntin pihapalvelu ja taimitarha Ay		marjaomenapensaan (?) siementaimi
228	T	<i>Malus</i> "Kainuun Kaunotar"	Rajalan taimisto		Kajaani, v. 2007; emopuu kasvaa Kajaanin linnan lähellä
229	T	Rautatienomena	Taimimoisio		ei tietoa
230	T	Makamik	Taimimoisio		ei tietoa
231	T	Royalty	Taimimoisio		ei tietoa
232	T	<i>Malus</i> sp.	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
233	T	Kirjailija	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
234	T	Dolgo	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
235	T	Linnanmäki	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
236	T	Kadetti	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
237	T	Aamurusko	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
238	T	Hopa	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
239	T	Oppio	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
240	T	Rixi	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
241	T	Makamik	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
242	T	Martha	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
243	T	Erstaa	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
244	T	Tumma Kaunotar	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
245	T	marjaomenapuu	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
246	T	Aamurusko	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
247	T	marjaomenapensas	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
248	T	Hopa	Taimimoisio		Saarioinen tai Puut.Tahvoset
249	T	Makamik	Barkholtin taimisto		
250	T	Hopa	Barkholtin taimisto		
251	T	tuntematon (valkoinen)	Barkholtin taimisto		
252	V	<i>Malus</i> 'Golden Hornet'	The University of Oxford Botanic Garden		
253	V	<i>Malus domestica</i> 'Newtown Pippin' (syn. Large Yellow)	University of Reading, National Fruit Collection	1963-025	
254	V	<i>Malus domestica</i> 'Renown'	University of Reading, National Fruit Collection	1968-061	
255	V	<i>Malus domestica</i> 'Fairy' (syn. Cormack)	University of Reading, National Fruit Collection	1967-069	Yugoslavia via Scotland
256	V	<i>Malus prunifolia</i> 'Maruba' (syn. Yellow Siberian)	University of Reading, National Fruit Collection	1981-116	Japan

LIITE 2. Tutkimusaineiston DNA-sormenjäljet.

Näyte/Sample	CH0#03	CH0#02	CH0#02A	CH0#02B	CH02c09	CH02c1A	CH02c1B	CH02d08	CH04c06A	CH04c06B	CH04e05	COL
56 Malus coronaria	130:142	151:157	205:205	237:237	250:250	196:196	224:233	214:214	171:171	191:191	175:205	215:233
57 Malus Elise Rathke	152:152	138:157	205:205	239:254	233:250	196:196	216:233	216:216	158:158	175:191	191:191	231:241
58 Malus Hyvingiensis	140:144	112:112	205:205	237:237	233:250	196:196	224:229:233	214:220	158:171	175:191	175:191	233:233
59 Malus prattii	140:150:158	115:115		241:245	245:245	196:196	215:231	204:212	152:171	182:182	201:214	
60 Malus x zumi var calocarpa	138:146	103:115:184	205:205	237:237	250:250	196:196	216:243	220:258	171:171	175:184	191:203	231:231
61 Malus Hyvingiensis	140:144	112:112	205:205	237:237	233:250	196:196	224:229:233	214:220	158:158	175:191	175:191	233:233
62 Malus punertavakk riippuva	152:152	138:157	205:205	222:239:254	233:250	196:196	216:233	216:216	158:158	175:191	191:191	231:241
63 Malus punakukkainen	132:138	103:120	205:205	237:276	252:252	196:196	224:243	216:216	171:171	186:186		212:212
64 Malus floribunda Rosea	138:138	103:137		237:237	256:256	196:196	206:224	214:221	171:171	186:191	189:189	215:243
65 Malus toringo M sieboldii var arborescens	155:217	107:107	205:205	237:254	233:233	196:196	202:206	216:221	171:171	191:191	184:195	215:215
66 M x gloriosa Oekonomierat Echtermeyer	191:191	103:112		237:254	245:245	196:196	216:243	214:214	171:171	186:186	189:189	241:241
67 Malus Profusion	132:138	103:103	205:205	237:276	252:252	196:196	224:243	216:216	171:171	186:186	195:199	219:219
68 M x purpurea Lemoinei	138:138	103:103		227:237		196:196	224:243	216:216	171:171	187:187	199:199	
69 M Dorothea	130:140	107:133		227:235	252:252	196:196	229:235	218:226	171:171	186:186	189:210	215:215
70 M xsoulardii	138:144	133:133		227:241	252:252	196:196	229:235	214:221	171:171	186:191	199:199	243:243
71 M sieboldii M x zumi	132:132	118:129	205:205	241:256	252:252	196:196	222:224	218:226	171:171	186:186	184:195	215:235
72 M sieboldii x zumi Professor Sprenger	120:132	110:110	205:205	237:276	243:243	196:196	224:235	216:216	171:171	179:185	195:203	215:231
73 M x adstringens Almey	155:217	187:187	205:205	237:254		196:196	206:224	221:231	171:171	186:191	189:189	215:215
74 Malus rockii	140:140	136:156	205:205	241:254	252:252	196:196	206:206	216:233	171:171	168:191	185:191	215:215
75 Malus toringoides	130:132	129:145	205:205	249:260	245:245	196:196	202:202	231:245	171:171	191:196	191:197	215:215
76 Malus x scheideckeri Hillieri	144:144	133:159	205:205	237:241	258:258	196:196	206:235	220:231	158:158	175:191	175:191	231:231
77 Malus baccata var mandshurica	150:213	140:151	205:205	239:239		196:196	213:237	216:220	171:171	193:193	184:184	231:231
78 Malus baccata cf Gracilis	138:138		205:205	231:239		196:196	206:243	210:216	171:171	179:182:189	184:184	217:235
79 Malus coronaria	158:162:171:184		205:209	243:243	234:245	196:196	227:237	214:214	171:171	180:186:203	154:154	
80 Malus prunifolia	140:155:202:217	139:139	205:205		233:258	196:196	216:243	214:214	171:171	175:193	175:191	221:231
81 Malus prunifolia	140:140	110:110	205:205	237:237	250:250	196:196	218:222	214:216	171:171	175:191	175:184	229:233
82 Malus Purpurea-ryhma Royalty	144:144	145:145		237:237	258:258	196:196	206:206	214:249	171:171	180:185	189:189	231:231
83 Malus Purpurea-ryhma Wierdak	138:138	145:145	205:205	237:241	252:256	196:196	216:229	214:220	171:171	187:191	184:189	215:243
84 Malus Hyvingiensis	140:144	112:112	205:205	237:237	233:250	196:196	224:229:233	214:220	158:171	175:191	175:191	233:233
85 Malus Purpurea-ryhma Royal Beauty	130:130	138:151		237:254	232:232	196:196	206:224	216:216	171:171	187:187	184:199	215:215
86 Malus Prunifolia-ryhma Scugog	150:150	138:145		237:247	250:250	196:196	216:243	214:256	171:171	186:191	175:234	231:235
87 Malus x robusta	138:138	139:139	205:205	233:237	234:234	196:196	206:216	214:226	171:171	175:191	185:224	231:231
88 Malus Purpurea-ryhma Makamik	223:223	145:145	205:205	237:237	245:245	196:196	206:243	214:214	171:171	187:191	191:234	215:215
89 Malus Hillier 23 NW	138:138	107:107	205:205		234:234	196:196	224:235	218:226	171:171	175:186	199:210	221:221
90 Malus Jay Darling 29 SE	130:130	133:145		237:254	245:245	196:196	224:243	218:218	171:171	186:186	199:243	215:215
91 Malus John Downie 50 SE	144:144	133:133	205:205	237:241	256:256	196:196	206:235	220:231	158:171	175:191	175:191	231:231
92 Malus Katherine 23 NW	130:140	133:133	205:205	235:239	252:256	196:196	224:241	221:226	171:171	186:186	189:199	239:239
93 Malus Red Tip 50 SW	191:191	145:145	205:205	237:245	240:250	196:196	227:231:243	214:214	171:171	186:186	154:243	237:237
94 Malus Whitney 50 SE	138:144	151:151	205:205	237:249	233:256	196:196	206:237	220:254	171:171	175:181	175:191	231:231
95 Malus hupehensis 22 NE	130:144:162	125:125	205:205	239:239		196:196	202:204:211	216:220:227	171:171	191:191	179:179	233:233
96 Malus prunifolia var costata 50 SE	138:138	151:151	205:205	233:237		196:196	206:206	214:227	171:171	191:191	175:184	233:233
97 Malus prunifolia var rinkii 32 NE	134:152:168	133:147	205:205	237:237	252:252	196:196	208:218	214:214	158:171	181:189	189:195	229:229
98 Malus prunifolia var xanthocarpa 17 SW	138:138	151:151	205:205	227:260:266	250:250	196:196	229:235	210:221	158:171	184:186	175:175	215:233
99 Malus sargentii Rosea 17 SW	130:132:136	129:141:151	205:205	227:260:266	256:256	196:196	204:213:224	221:224	171:171	175:191	185:195:199	215:215
100 Malus sikkimensis Rockii 55 SE	146:164		205:205	247:247	248:248	196:196	206:213:233	210:218	171:171	168:184:203	189:189	225:241

(jatkuu)

LIITE 2. (jatkuu)

101 Malus to ringoides 32 NE	144:144	140:140		247:247	254:254	196:196	218:235:246	218:218	171:171	166:203	191:193:199	225:239
102 Malus xscheideckeri 51NW	138:140	107:107		235:254	233:233	196:196	229:235	218:226	171:171	175:186	189:210	22:1233
103 Malus xsoulandii 51NE	138:138	133:133	205:205	245:245	245:245	196:196	233:233	208:208	171:171	184:184	199:199	23:1231
104 Malus sp	140:158	125:139	205:205	239:245	240:240	196:196	206:224	22:1256	158:171	175:175	175:184	233:233
105 Malus P runifolia-ryhma Dolgo	142:142	139:139	205:205	249:249	245:245	196:196	216:235	214:216	158:171	175:175	175:185	223:235
106 Malus Purpurea-ryhma Martha 2	142:150	139:187	205:205	237:241	239:256	196:196	216:239	214:256	171:171	175:191	191:191	23:1243
107 Malus Purpurea-ryhma Renown 2	144:152	138:139	205:205	237:241	250:250	196:196	206:216	214:231	171:171	175:179	175:184	
108 Malus Rosilda	138:144	133:133	205:205	241:249	233:250	196:196	206:229	214:231	158:158	175:175	184:210	233:233
109 Malus domestica Chestnut 5	150:158	110:139	205:205	239:257	258:258	196:196	239:239	220:256	158:171	175:179	175:199	22:1231
110 Malus Hoolola	140:140	135:139	205:205	241:241		196:196	206:216	210:221	171:171	184:191	184:210	229:237
111 Malus Anisik	138:140:144	139:139	205:205	237:241	256:256	196:196	206:218	216:226	171:171	175:191	191:191	23:1231
112 Malus Purpurea-ryhma Ranetka 7	152:158:215	139:139	205:205	237:241	250:250	196:196	206:216	216:220	158:171	175:191	184:224	229:229
113 Malus Purpurea-ryhma Rescue 2	138:144	110:139	205:205	237:241	243:258	196:196	216:233	208:231	171:171	175:191	184:224	22:1243
114 Malus sp	155:217	187:187	205:205	237:254	250:250	196:196	206:224	22:1231	171:171	186:191	189:189	215:215
115 Malus sp	155:217	157:187	205:205	237:254	250:250	196:196	206:224	22:1231	171:171	186:191	189:189	215:215
116 Malus sp	155:217	187:187	205:205	237:254	250:250	196:196	206:224	22:1231	171:171	186:191	189:189	215:223
117 Malus sp	138:144	103:103	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:216	171:171	184:187	175:175	245:245
118 Malus sp	138:144	103:103	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:214	171:171	184:187	175:175	
119 Malus sp	223:223	145:157	205:205	237:237	245:245	196:196	206:243	202:214:216	171:171	187:191	191:234	215:215
120 Malus prunifolia-ryhma Erstaa	138:144	110:139	205:205	237:237	243:256	196:196	216:216	220:256	171:171		175:191	23:1243
121 Malus prunifolia f pendula	144:144	187:187	205:205	254:254	243:243	196:196	218:229	214:249	171:171	175:191	175:199	23:1231
122 Malus sp	140:144	138:155	205:205	239:239		196:196	206:235	216:216	171:171	191:191	184:184	219:219
123 Malus cf Makamik	152:223	145:157	205:205	237:237	245:245	196:196	206:243	214:214	171:171	187:191	191:234	215:215
124 Malus Marjatta	144:144	138:145	205:205	237:237	245:245	196:196	206:235	216:216	171:171	191:191	184:191	219:229
125 Malus baccata Gracilis	152:162	138:157	205:205	239:254	256:256	196:196	206:206	218:226	171:171	175:182	185:191	239:239
126 Malus pumila Montreal Beauty	138:144	103:184	205:205	237:237	233:256	196:196	216:243	214:256	171:171	177:186	191:203	23:1231
127 Malus Hyslop	138:144	139:184	205:205	237:249	256:256	196:196	216:235	220:256	158:171	175:175	175:191	23:1231
128 Malus sargentii	132:136:140	129:141	205:205	239:260	245:248	196:196	202:211	218:224:228	171:171	191:191	185:191:195:199	215:215
129 Malus Oekonomierat Echtermeyer	191:191	103:151		237:254	245:245	196:196	216:243	214:214	171:171	186:186	189:234	24:1241
130 Malus xadstringiensis Ramona	132:132	138:145		237:264	258:258	196:196	202:206	224:249	171:171	180:191	189:210	215:215
131 Malus Red Jade	138:138	151:157	205:205	227:239	250:250	196:196	216:229	216:216	171:171	175:186	191:191	24:1241
132 Malus Royal Beauty	130:130	138:151		237:254		196:196	206:224	216:216	171:171	187:187	199:199	215:215
133 Malus sp riipamuoto	152:152	138:157	205:205	239:254	233:250	196:196	216:233	216:216	158:171	175:191	191:191	23:1241
134 Malus sp riipamuoto	140:144	138:157	205:205	239:254	233:250	196:196	216:233	216:216	158:171	175:191	191:191	23:1241
135 Malus Kobendza	191:191	151:151	205:205		250:250	196:196	206:229	214:214	171:171	187:191	175:249	239:239
136 Malus xpurplea Jadwiga	191:191	103:135		237:254	245:271	196:196	216:243	214:214	171:171	186:186		24:1259:272
137 Malus prunifolia Pendula	130:130	138:151	205:205	254:254	233:233	196:196	216:229	216:218	171:171	186:191	191:191	24:1241
138 Malus pumila Niedzwetzkyana	150:191	139:139	205:205		245:252	196:196	216:239	220:256	171:171	175:187		233:243
139 Malus Royal Beauty	130:130	138:151		237:254	232:232	196:196	206:224	216:216	171:171	187:187	199:199	215:215
140 Malus baccata var jackii	157:171	107:107	205:205	227:239		196:196	208:231	214:218	171:171	189:189	191:191	23:1245
141 Malus halliana var spontanea	130:134:150	129:131	205:205	237:237	245:245	196:196	204:210	216:233:235	171:171	175:179:185	184:191	233:233
142 Malus prunifolia Fastigiata	140:140	151:151	205:205	233:237		196:196	206:206	214:227	171:171	191:191	175:184	233:233
143 Malus Redflesh	144:144	103:133	205:205	237:241	250:258	196:196		216:231	158:171	187:191	191:191	23:1231
144 Malus Royalty	144:144	145:145		237:237	258:258	196:196	206:206	214:249	171:171	180:185	189:243	23:1231
145 Malus Erstaa	138:138	133:139	205:205	241:247	245:245	196:196	206:224	214:216	171:171	175:175	175:184	22:1229
146 Malus Dolgo	142:142	139:139	205:205	229:247	245:245	196:196	216:235	214:214	158:171	175:175	175:185	223:235
147 Malus sp	138:158	139:143	205:205	237:237	233:233	196:196	216:216	249:256	171:171	175:175	175:175	205:241
148 Malus Chestnut	150:158	110:139	205:205	239:239	258:258			220:256	158:171	175:179	175:199	22:1231

(jatkuu)

LIITE 2. (jatkuu)

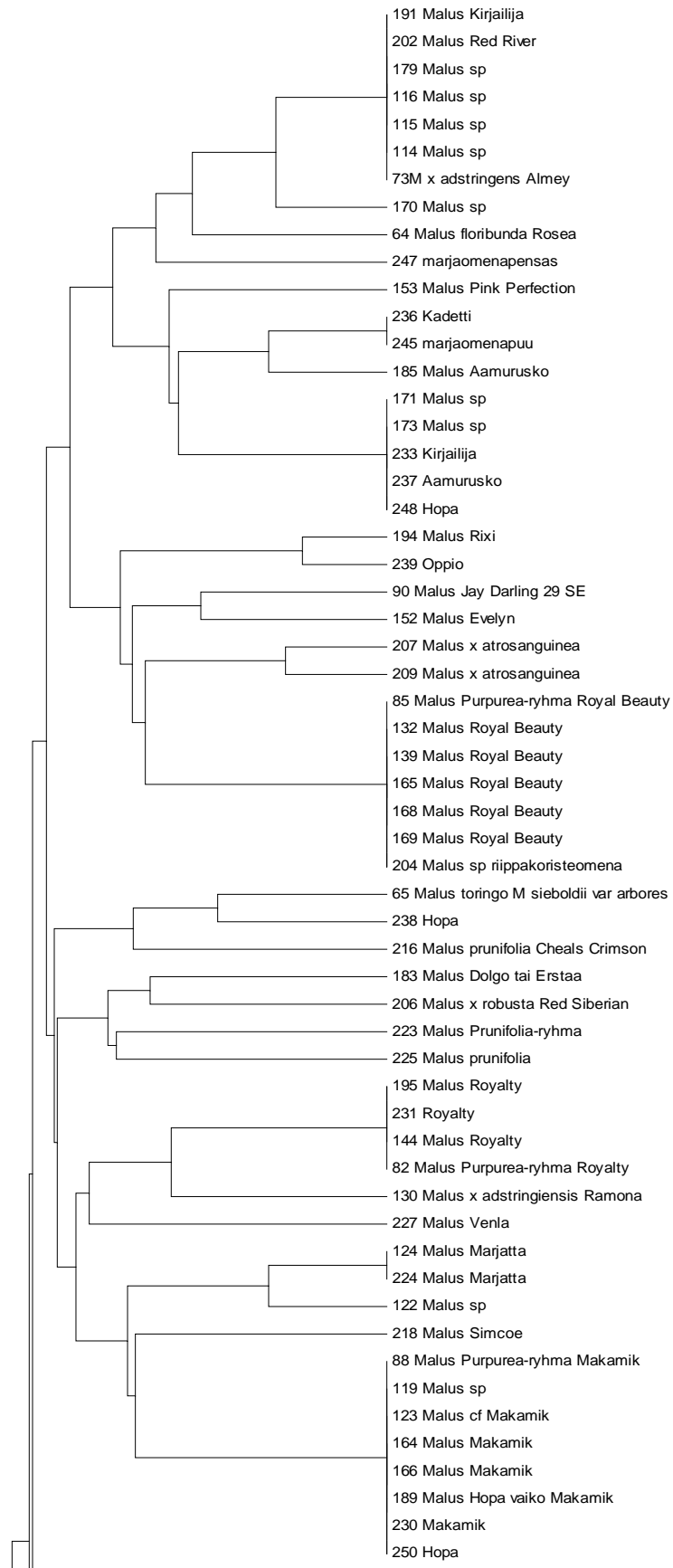
149 Malus Cowichan	138:144	103:103	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:216	171:171	184:187	175:175	
150 Malus Dolgo	142:142	139:139	205:205	247:247	245:245	196:196	216:235	214:214	158:171	175:175	175:185	223:235
151 Malus Elise Rathke	138:142:144	105:109	205:205	237:241	245:258	196:196	208:218	227:256			175:207	221:235
152 Malus Evelyn	171:171	145:145	205:205	245:254	245:245	196:196	224:224	202:216	171:171	186:186	243:243	215:215
153 Malus Pink Perfection	120:140	103:130	205:205	235:254	250:256	196:196	224:241	214:226	171:171	185:191		215:215
154 Malus Red Jade	130:130	125:151	205:205	231:254	232:232	196:196	222:229	218:218	158:171	175:175	191:197	235:241
155 Malus Veitchs Scarlet	138:138	151:151	205:205	241:249		196:196	216:216	214:231	171:171	185:195		231:243
156 Malus baccata forma jackii	158:158	125:136	205:205	237:241		196:196	206:243	216:221	171:171	175:184	184:184	223:223
157 Malus baccata var flavescens	138:144	143:151	205:205	249:257	243:250	196:196	231:237	214:227	158:171	186:191	175:210	231:231
158 Malus prunifolia Microcarpa Lutea	130:144	133:133	205:205	237:254	256:256	196:196	224:235	218:218	158:171	184:186	191:191	215:231
159 Malus prunifolia var xanthocarpa	138:138	151:151	205:205	227:254	250:250	196:196	229:235	210:221	158:171	184:186	175:199	215:233
160 Malus spectabilis var plena	138:140	133:133	205:205	235:241	252:252	196:196	218:241	214:226	171:171	189:189	189:195	239:239
161 Malus x purpurea Kormicensis	191:191	151:151	205:205	237:241	252:256	196:196	206:229	218:218	171:171	175:196		215:215
162 Malus x robusta var xanthocarpa	132:132	151:151		256:276	232:232	196:196		216:256	171:171	175:186	184:195	215:215
163 Malus sp	138:144	187:194	205:205	237:241	256:262	196:196	206:216	214:220	171:171	175:191	191:210	205:229:243
164 Malus Makamik	223:223	145:149	205:205	237:237	247:247	196:196	206:243	214:214	171:171	187:191	191:234	
165 Malus Royal Beauty	130:130	138:151		237:254	232:232	196:196	206:224	216:216	171:171	187:187	199:199	215:215
166 Malus Makamik	152:223	145:145	205:205	237:237	245:245	196:196	206:243	214:216	171:171	187:191	191:191	
167 Malus Scugog	150:150	136:145	203:203	237:247	250:250	196:196	216:243	214:256	171:171	186:191	175:175	
168 Malus Royal Beauty	130:130	140:151		237:254	232:232	196:196	206:224	216:216	171:171	187:187	199:199	215:215
169 Malus Royal Beauty	130:130	139:151		237:254	232:232	196:196	206:224	216:228	171:171	187:187	199:199	215:215
170 Malus sp	155:217	187:187	205:211		250:267	196:196	206:224	221:231	171:171	186:191		215:237
171 Malus sp	120:120	103:141	205:205	237:254	250:250	196:196	224:243	214:221	171:171	186:186	189:189	215:237
172 Malus sp	144:155	133:133	205:205		245:245	196:196	216:243	214:220	171:171	175:186	175:175	223:223
173 Malus sp	120:120	103:103	205:205	237:254	250:250	196:196	224:243	214:221	171:171	186:186		215:223
174 Malus sp	138:138	110:139	205:205	237:241	233:250	196:196	216:216	214:214	158:171	168:191	175:224	231:243
175 Malus sp	140:140	139:139		237:249	239:245	196:196	216:216	214:249	158:158	175:175		231:231
176 Malus sp	138:138	145:145	205:205	237:241	252:256	196:196	216:229	214:220	171:171	187:191	184:189	215:243
177 Malus sp	138:144	110:139		237:237	233:256	196:196	218:224	214:256	171:171	175:175	175:203	223:231
178 Malus sp	138:144	98:103	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:214	171:171	184:187	175:175	245:245
179 Malus sp	155:217	187:187	205:205	237:253		196:196	206:224	221:231	171:171	186:191	189:189	215:215
180 Malus sp	138:144:158	136:139	205:205	237:237	233:239	196:196	216:216	214:214		175:175	175:203	231:231
181 Malus sp	138:144	110:139	205:205	237:237	243:256	196:196	216:216	220:256	171:171	191:191	175:191	231:243
182 Malus sp	142:158	133:139	205:205	237:249	233:239	196:196	229:229	231:256	171:171	179:184	103:224	221:241
183 Malus Dolgo tai Erstaa	138:138	133:133	205:205	237:237	247:247	196:196	206:224	214:221	171:171	184:191	191:203	221:221
184 Malus Erstaa	138:144	110:139	205:205	237:237	243:256	196:196	216:218	220:256	171:171	191:191	175:191	231:243
185 Malus Amurusko	120:140	103:110	205:205	237:237	250:250	196:196	224:235	214:220	171:171	187:187		215:229
186 Malus baccata	142:142	105:105	205:205	241:247	256:256	196:196	206:233	214:214	171:171	187:191	184:205	221:221
187 Malus Dolgo	142:142	139:139	205:205	247:247	247:247	196:196	216:235	214:216	158:171	175:175	175:185	223:235
188 Malus Erstaa I	138:144	110:139	205:205	237:237	243:256	196:196	216:216	220:256	171:171	191:191	175:191	231:243
189 Malus Hopa vaiko Makamik	150:223	145:157	205:205	237:237	245:245	196:196	206:243	214:214	171:171	187:191	191:191	215:215
190 Malus Kadetti	138:144	103:103	205:205	239:241	250:250	196:196	229:243	214:216	171:171	184:187	175:175	
191 Malus Kirjalija	155:217	187:187	205:205	237:254	250:250	196:196	206:224	221:231	171:171	186:191	189:189	215:215
192 Malus Linnanmaki	132:140	107:129	205:205	237:254	233:252	196:196	224:235	216:218	171:171	186:186	195:210	221:221
193 Malus Makamik vaiko Hopa	138:144	103:110	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:214	171:171	184:187	175:175	245:245
194 Malus Rixi	140:140	145:154	205:205	237:254	231:231	196:196	206:224	216:218	171:171	185:187		229:229
195 Malus Royalty	144:144	145:145		237:237	258:258	196:196	206:206	214:249	171:171	180:185	189:243	231:231
196 Malus Wabiscawa	144:144	133:145	205:205	239:239	245:245	196:196	216:243	214:220	171:171	175:186	175:175	223:223
197 Malus Erstaa III	138:138	110:139	205:205	237:237	243:256	196:196	216:216	220:256	171:171	191:191	175:191	231:243
198 Malus Tammisaari	138:138	103:145	205:205	237:237	243:245	196:196	237:243	216:216	171:171	179:187	175:175	
199 Malus Paavo	138:138	103:110	205:205	237:237	245:250	196:196	218:243	218:221	171:171	175:186	205:205	243:243
200 Malus Perapohjola	158:158	139:139	205:205	239:247	256:256	196:196	206:216	214:216	171:171	175:191	184:224	231:231
201 Malus sargentii Marleena	130:132	129:129		237:264	232:245	196:196	202:243	216:243	171:171	186:191	184:199:203	225:225
202 Malus Red River	155:217	187:187	205:205	237:254	250:250	196:196	206:224	221:231	171:171	186:191	189:189	215:215

(jatkuu)

LIITE 2. (jatkuu)

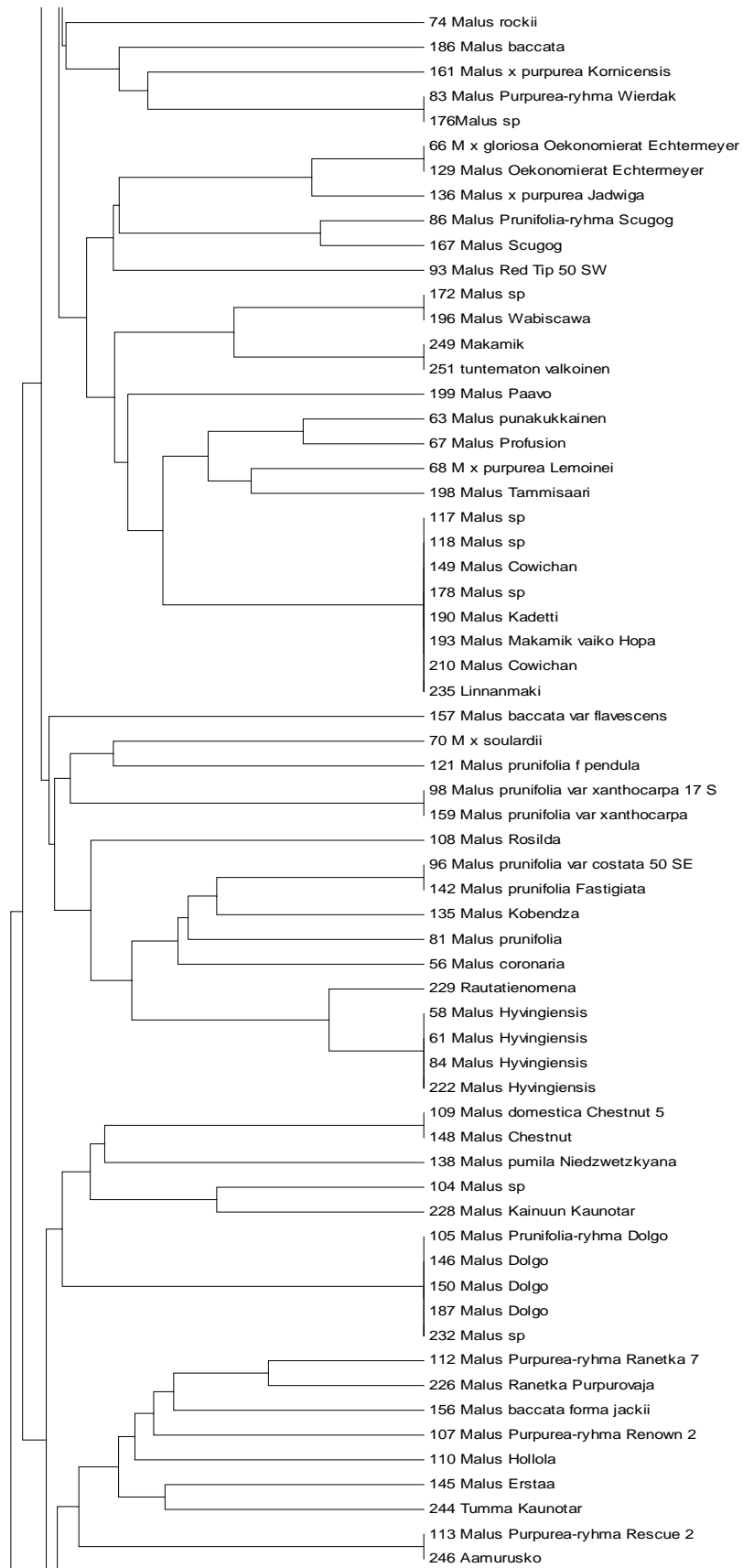
203 Malus Jarvenpaan Syttymena	138:140	136:136	205:205	237:249	233:245	196:196	216:216	216:216	171:171	184:191	175:185	231241
204 Malus sp riippakoristeomena	130:130	138:151		237:254	232:232	196:196	206:224	216:216	171:171	187:187	184:199	215:215
205 Malus pumila Aldenhams Purple	157:162		205:205	233:237	245:245	196:196	202:208:215	218:222:226	171:171	195:195	191:191	231235
206 Malus x robusta Red Siberian	138:138	184:184	205:205	239:239	247:247	196:196	206:224	221227	171:171	191:196	175:184	231231
207 Malus x atrosanguinea	138:138	151:151			252:252	196:196	224:229	216:216	171:171	186:196	187:199	215:215
208 Malus pumila Dartmouth	138:144	139:184	205:205	237:249	256:256	196:196	216:235	220:256	158:171	175:175	175:191	231231
209 Malus x atrosanguinea	138:138	151:151	205:205	227:233	252:252	196:196	224:229	216:216	171:171	186:196	189:199	215:215
210 Malus Cowichan	138:144	103:103	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:216	171:171	184:187	175:243	245:245
211 Malus Dartmouth	138:144	139:184	205:205	237:249	256:256	196:196	216:235	220:256	158:171	175:177		231231
212 Malus Dartmouth	138:144	139:184	205:205	237:249	256:256	196:196	216:235	220:256	158:171	175:175	175:191	231231
213 Malus Dartmouth	138:144	139:184	205:205	237:249	256:256	196:196	216:235	220:256		175:175		231231
214 Malus Dartmouth	138:144	139:184	205:205	237:249	256:256	196:196	216:235	220:256	158:171	175:175	175:191	231231
215 Malus Elise Rathke	138:142	105:139	205:205	237:241	245:258	196:196	208:218	227:256		179:184	175:207	221221
216 Malus prunifolia Cheals Crimson	144:155:217	184:184	205:205	237:237	250:250	196:196	206:216	216:227	171:171	168:191	184:224	231231
217 Malus prunifolia Pendula	152:152	138:156	205:205	239:254	233:250	196:196	216:233	216:216	158:171	175:191	191:191	231241
218 Malus Simcoe	223:223	103:139	205:205		250:250	196:196	216:243	216:216	171:171	187:191	184:234	231231
219 Malus Veitchs Scarlet	138:138	151:151	205:205	241:249		196:196	216:218	214:231	158:171	175:175	203:210	231243
220 Malus Peraphjola	158:158	139:139	205:205	239:247	256:256	196:196	206:216	214:216	171:171	175:191	184:224	231231
221 Malus Erstaa	138:144	110:139	205:205	237:237	243:256	196:196	216:218	220:256	171:171	191:191	175:191	231243
222 Malus Hyvingiensis		112:112	205:205	237:237	233:250	196:196	224:229:233	214:220	158:171	175:187:191	175:191	233:233
223 Malus Prunifolia-ryhma	150:150	187:187	205:205	225:231:237	243:243	196:196	206:216	221227	171:171	191:191	175:193	231231
224 Malus Marjatta	144:144	145:145	205:205	239:239	245:245	196:196	206:235	216:216	171:171	191:191	184:191	219:219
225 Malus prunifolia	140:140	138:154	205:205	239:239		196:196	206:206	214:221	171:171	185:191	193:193	231256
226 Malus Ranetka Purpurovaja	144:158	133:139	205:205	241:241		196:196	206:206	216:216	158:171	175:191	184:184	229:229
227 Malus Venla	132:132	141:156		237:260	228:228	196:196	206:227	214:218	171:171	191:191		215:215
228 Malus Kainuun Kaunotar	140:158	110:139	205:205	237:237	240:240	196:196	216:224	218:221	158:171	175:179	175:193	233:233
229 Rautatieno mena	140:144	112:112	205:205	239:239	233:250	196:196	224:229:233	214:220	158:171	175:187:191		233:233
230 Makamik	223:223	145:145	205:205	237:237	245:245	196:196	206:243	214:214	171:171	187:191	191:191	
231 Royalty	144:144	145:145	203:203	237:237	258:258	196:196	206:206	214:249	171:171	180:185	189:189	229:229
232 Malus sp	142:142	139:139	205:205	247:247	246:246	196:196	216:235	214:214	158:171	175:175	175:185	223:235
233 Kirjailija	120:120	103:103	205:205	237:254	250:250	196:196	224:243	214:221	171:171	186:189	189:234	215:215
234 Dolgo	132:140	107:129	205:205	237:254	233:252	196:196	224:235	216:218	171:171	186:186	195:210	221221
235 Linnanmaki	138:144	103:103	205:205	237:241	250:250	196:196	229:243	214:214	171:171	184:187	175:243	245:245
236 Kadetti	120:140	103:131	205:205	239:239	250:250	196:196	224:235	214:214	171:171	187:187	189:193	215:215
237 Aamurusko	120:120	103:103	205:205	237:254	250:250	196:196	224:243	214:221	171:171	186:186	189:234	215:215
238 Hopa	155:217	100:107	205:205	237:237	233:233	196:196	206:235	208:216	171:171	191:191	175:184	219:219
239 Oppio	140:140	145:145	205:205	237:254		196:196	206:224	218:218	171:171	185:185	184:184	229:229
240 Rixi	144:150	105:105	205:205	237:237	256:256	196:196	216:216	214:221	171:171	175:191	184:224	221231
241 Makamik	150:150	139:187	205:205	237:241	239:256	196:196	216:239	214:256	171:171	175:191	191:224	231243
242 Martha	138:144	110:139	205:205	237:237	243:256	196:196	216:218	220:256	171:171	191:191	175:191	231243
243 Erstaa	138:140	103:103	205:205	237:237	233:233	196:196	235:243	216:218	171:171	186:186	199:210	221221
244 Tumma Kaunotar	138:140:144	133:133	205:205	241:241	243:243	196:196	218:224	216:221	171:171	191:191	175:184	241:241
245 marjaomenapuu	120:140	103:103	205:205	239:239	250:250	196:196	224:235	214:214	171:171	187:187	193:193	215:215
246 Aamurusko	138:144	110:139	205:205	237:241	243:258	196:196	216:233	208:231	171:171	175:191	184:224	221243
247 marjaomenapensas	134:155:196:217	129:187	205:205	237:237	250:250	196:196	208:224	228:228	171:171	191:203	189:216	215:215
248 Hopa	120:120	103:103	205:205	237:254	250:250	196:196	224:243	214:221	171:171	186:186	189:234	215:215
249 Makamik	144:144	133:145	205:205	237:241	245:245	196:196	216:243	216:220	171:171	175:187	175:243	231231
250 Hopa	223:223	145:157	205:205	237:237	245:245	196:196	206:243	214:216	171:171	191:191	191:234	215:215
251 tuntemato n valkoinen	144:144	133:145	205:205	237:241	245:245	196:196	216:243	216:220	171:171	175:187:199	175:243	231231
252 Malus Golden Home	132:140	133:151	205:205	237:276	256:256	196:196	202:237	216:226	171:171	179:179	195:199	215:221
253 Malus domestica Newtown Pippin	136:144	151:151	205:205	237:249	245:245	196:196	231:231	231:256	171:171	179:179	175:203	221:233
254 Malus domestica Renown	136:140:146	110:151	205:205	245:249	233:239	196:196	218:224	220:256	171:171	187:187	175:224	231:231
255 Malus domestica Fairy	140:144	110:149	204:204		234:240	196:196	229:229	220:231	171:171	177:184	203:224	221:231
256 Malus prunifolia Maruba	132:132	133:133		233:247	248:248	196:196	202:218	216:216	158:171	191:191	210:210	215:215

LIITE 3. UPGMA-fylogeneettinen sukupuu tutkimusaineistosta.



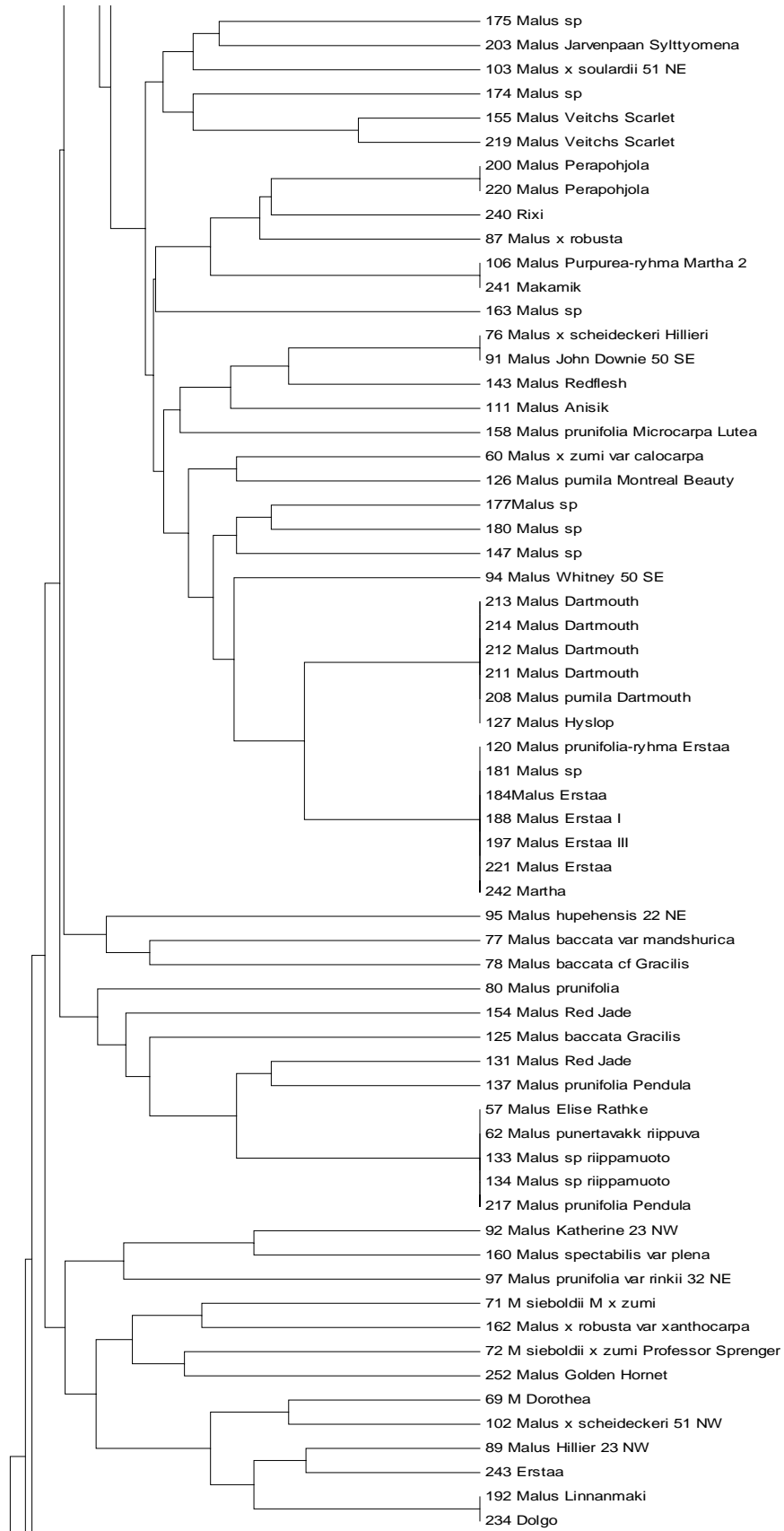
(jatkuu)

LIITE 3. (jatkuu)



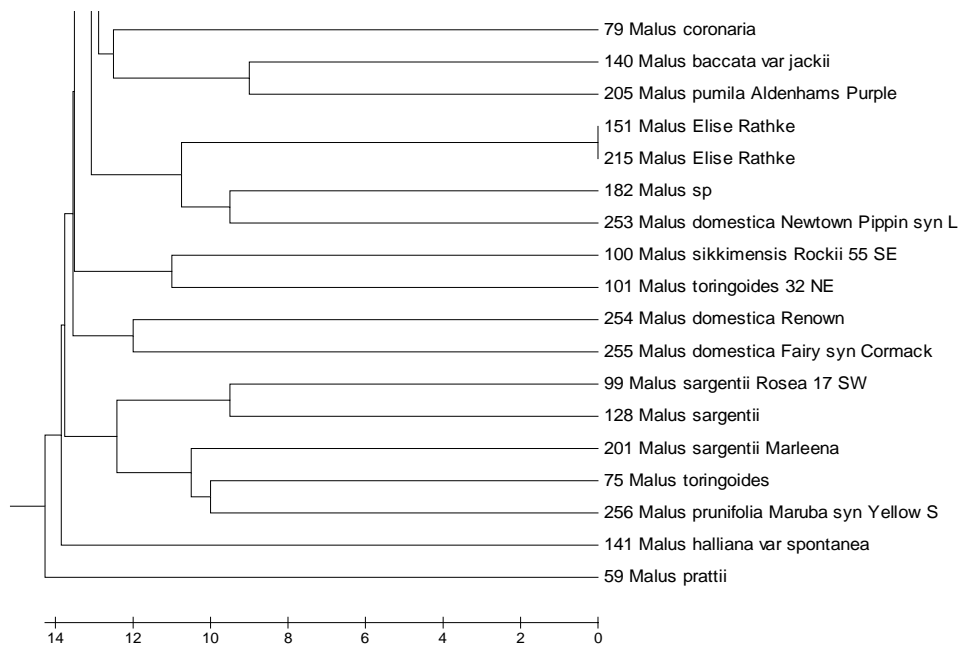
(jatkuu)

LIITE 3. (jatkuu)



(jatkuu)

LIITE 3. (jatkuu)



LIITE 4. Inka Juntheikki-Palovaaran (2008) pro gradu -työssä luodut DNA-sormenjäljet.

Taulukko 5. Tutkimus- ja verrannepuiden DNA-sormenjäljet.

Tutkimuspuut	CH01d03	CH01g12	CH01h02A	CH01h02B	CH02c09	CH02c11A	CH02c11B	CH02d08	CH04c06A	CH04c06B	CH004e05	COL
1. "Kaupungin puutarha"	141:145	134:134	205:205	239:239	247:247	197:197	207:243	216:222	171:171	185:187	205:243	237:237
2. Kuohu KESKAS-880	156:156	111:111	205:205	237:237	247:247	197:197	207:219	222:222	171:171	185:185	183:224	229:229
3. "Kijalla" KESKAS-879	158:188	104:138	205:205	237:254	251:251	197:197	207:225	222:231	171:171	187:191	189:189	215:215
4. "Kadetti" KESKAS-878	139:145	104:136	205:205	237:241	251:251	197:197	230:243	214:216	171:171	185:187	175:243	245:245
5. "Kivittöppä 1"	145:160	138:147	205:205	237:248	257:257	197:197	219:243	214:216	171:171	167:187	175:175	231:231
6. "Sohna"	156:158	111:155	205:205	231:239	247:247	197:197	207:219	216:222	171:171	167:185	175:193	229:243
7. "Töölön kirjasto"	145:145	134:147	205:205	237:241	247:247	197:197	217:243	216:220	171:171	175:187	175:243	231:231
8. "Jasmine"	145:156	127:138	205:205	231:237	253:257	197:197	207:207	222:222	171:171	187:191	183:183	237:237
9. "Rixin vieremän"	134:153	103:105	203:205	237:241	232:232	197:197	207:225	216:216	171:171	187:187	183:199	229:229
10. "Roi" KESKAS-882	141:141	147:155	203:205	237:254	232:232	197:197	207:225	216:216	171:171	187:187	183:243	229:229
11. "Lumituulie"	140:156	134:140	205:205	237:241	247:247	197:197	225:225	216:216	171:171	175:179	183:210	231:237
12. "Isokari 59"	134:140	134:140	205:205	237:248	243:243	197:197	217:217	220:220	171:171	167:187	175:224	233:233
13. "Runeberg"	145:145	134:147	205:205	237:241	247:247	197:197	217:243	216:220	171:171	175:187	175:243	231:231
14. "Poikagris"	160:160	104:156	203:203	239:239	251:251	197:197	225:225	214:216	171:171	175:187	185:234	215:231
15. "Punertava helm"	150:150	104:156	205:205	231:237	251:251	197:197	207:225	210:214	171:171	187:191	183:234	215:215
16. "Mikko"	139:139	147:147	205:205	231:237	259:259	197:197	207:243	216:220	171:171	187:187	183:243	235:235
17. "Isokari 5"	145:152	140:158	203:205	241:254	251:257	197:197	207:243	208:222	171:171	175:187	175:189	215:231
18. "Long River"	104:155	104:155	205:205	237:241	251:257	197:197	219:243	214:216	171:171	187:191	193:234	229:229
19. "Fasligata"	120:139	104:111	203:203	237:250	245:245	197:197	217:225	214:222	171:171	187:191	175:234	215:243
20. "Kivittöppä 2"	120:139	111:111	205:205	241:254	247:247	197:197	225:225	214:218	171:171	175:187	189:210	215:221
21. "Kramer 1"	120:120	104:104	205:205	237:254	251:251	197:197	225:243	214:222	171:171	187:187	189:234	215:215
22. "Mäyräpuisto"	145:145	134:147	205:205	237:241	247:247	197:197	217:243	216:220	171:171	175:187	175:243	231:231
23. "Hesperia"	120:120	104:156	205:205	237:254	251:251	197:197	225:243	214:222	171:171	187:187	189:234	215:215
24. "Tempelaukko"	131:131	134:134	203:203	237:254	232:247	197:197	225:243	216:218	171:171	187:187	199:243	216:215
25. "Elinmuseo"	133:139	104:130	205:205	232:276	232:253	197:197	225:243	216:216	171:171	187:187	195:199	212:237
26. "Linnaumäki" KESKAS-881	133:141	109:130	205:205	237:254	234:253	197:197	225:236	216:216	171:171	187:187	195:210	221:221
27. "Tumma kaurtar" KESKAS-883	141:141	104:153	205:205	237:237	232:234	197:197	236:243	216:218	171:171	187:187	199:210	221:237
28. "Poutapilvi"	141:141	104:109	205:205	235:258	232:247	197:197	225:236	216:226	171:171	187:187	189:195	212:221
29. "Kramer 2"	131:141	153:156	205:205	227:239	253:257	197:197	225:234	222:222	171:171	175:187	199:224	231:231
30. "Aamurauko" KESKAS-877	120:141	104:104	205:205	227:241	257:257	197:197	219:225	214:214	171:171	187:187	189:193	215:215
Verrannepuut												
31. "Majus" "Niedwetsikiana"	141:141	140:147	205:205	237:237	234:247	197:197	217:243	214:216	171:171	187:191	175:234	243:243
33. "M." "Elyi"	120:120	134:147	203:203	237:254	251:251	197:197	225:243	216:218	171:171	187:187	199:243	215:215
35. "M." "Hopa"	139:139	127:127	205:205	237:254	251:251	197:197	225:243	214:222	171:171	187:187	189:234	216:215
37. "M. baccata"	145:152	111:153	205:205	239:239	234:257	197:197	217:225	216:216	171:171	179:191	183:215	215:237
39. "M. baccata" "Yp"			205:205	241:241	234:257	197:197	217:225	214:214	171:171	175:185	203:224	233:243
40. "M. baccata mandshurica"			205:205	241:241	232:247	197:197	207:217	216:220	157:171	181:201	183:195	237:237
41. "M. baccata mandshurica"	133:162		205:205	252:258				216:224	171:171	185:191	183:187	
43. "M. baccata mandshurica"	133:162	127:145:153	205:205	231:239:252	253:253	197:197	207:217:223	214:218:222	171:171	179:185:191	185:187:191	215:221:231:239
46. "M. prunifolia (Willd.) Borkh."	156:156	109:140	205:205	237:237	234:255	197:197	207:236	208:216	171:171	181:195	175:183	215:219
47. "M. prunifolia (Willd.) Borkh."	141:156	140:155	205:205	241:241	257:257	197:197	207:207	214:222	171:171	185:191	193:193	231:231
49. "M. floribunda"	131:147	107:130	203:203	250:264	234:259	197:197	205:219	214:222	171:171	177:191	203:203	215:231
50. "M. "Aldenhamsensis"	139:147	134:140	205:205	237:237	251:257	197:197	236:238	214:214	171:171	175:183	191:243	221:231
51. "M. spectabilis"	133:145	138:153	205:205	237:241	232:247	197:197	207:230	216:226	171:171	175:187	191:195	231:241
52. "M. arnoldiana"	131:141	153:158	205:205	227:239	257:257	197:197	225:234	222:222	171:171	175:187	199:224	231:231
53. "M. "Nipomei"	145:145	134:147	205:205	237:241	247:247	197:197	217:243	216:220	171:171	175:187	199:224	231:231
54. "M. "Lemohel"	139:139	104:153	203:203	227:237	247:253	197:197	225:243	216:216	171:171	187:187	199:234	237:237
55. "M. "Van esseltine"	141:141	134:151	203:203	227:241	257:257	197:197	219:225	214:222	171:171	175:189	189:224	231:231