



www.ziraat.selcuk.edu.tr/dergi

Selçuk Üniversitesi
Ziraat Fakültesi Dergisi 22 (46): (2008) 1-5
ISSN:1300-5774



**ISSR MARKÖRLERİ KULLANARAK KONYA BÖLGESİNDEN TOPLANAN NOHUT (*Cicer arietinum L.*)
POPÜLASYONLARI ARASINDA GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ**

Mustafa YORGANCILAR^{1,2} Emine ATALAY¹ Hakan BAYRAK¹ Erdoğan Eşref HAKKI¹
Mustafa ÖNDER¹ Mehmet BABAÖĞLU¹

¹Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Konya / Türkiye

(Geliş Tarihi: 08.07.2008, Kabul Tarihi:12.08.2008)

ÖZET

Bu çalışma, nohut yetiştiriciliğinde büyük bir paya sahip olan Konya'daki farklı lokalitelerden toplanan nohut popülasyonlarının sahip olduğu genetik çeşitliliğin tespit edilmesi için yapılmıştır. Ülkemiz açısından ekonomik değeri olan, bölgeye uygun nohut çeşitleri geliştirmeye yönelik ıslah programlarına katkıda bulunmak hedeflenmiştir.

Çalışmada, Konya Bölgesi'nden toplanmış olan 23 nohut popülasyonu ve 2 nohut çeşidi (Gökçe, Er 99) kullanılmış ve basit dizi tekrarlar arası (ISSR) moleküler markör tekniği ile popülasyonların aralarındaki genetik uzaklıklar belirlenmiştir. Farklı yerlerden temin edilen tohumların ekimi saksılarda kontrollü sera şartlarında gerçekleştirilmiş, yetiştirilen fidelerden alınan genç yaprak örneklerinden 2x CTAB metoduna göre DNA'ları izole edilmiş ve seçilmiş ISSR primerleri ile yapılan PCR işlemleri sonucunda oluşan bantlardan popülasyonların ortalama polimorfizm oranı %88.23 olarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler NTSYS-pc 2.1 programı ile analiz edilmiş ve genetik ilişki dendogramı oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda Konya Bölgesine ait nohut gen kaynaklarının sahip olduğu genetik çeşitlilik moleküler markörler ile ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Nohut, Genetik çeşitlilik, ISSR, PCR

**DETERMINATION OF GENETIC DIVERSITY AMONG CHICKPEA (*Cicer arietinum L.*) POPULATIONS
COLLECTED FROM THE KONYA REGION USING ISSR MARKERS**

ABSTRACT

This study was conducted to determine the genetic diversity of the chickpea populations collected from different localities in Konya, an important region in chickpea production of Turkey. Support of breeding programs that target the development of chickpea varieties with economic value that are also appropriate to the region were also aimed.

In the present study, 23 chickpea populations collected from the Konya region were used together with two commercial varieties (Gökçe, Er 99) and genetic distance of the populations were determined via inter simple sequence repeats (ISSR) molecular markers system. Seeds that were collected from different localities were planted in a controlled glasshouse within pots, DNAs were isolated from young leaf samples of the seedlings using 2 x CTAB procedure and genotyping was conducted by selected ISSR primers. Data were analyzed with NTSYS-pc 2.1 package program and polymorphisms of the populations were determined as 88.23%. In the study, genetic diversity of the chickpea gene resources belonging to Konya region was determined.

Key Words: Chickpea, Genetic diversity, ISSR, PCR

GİRİŞ

Gen merkezi Güneydoğu Anadolu olan nohut; Türkiye'de özellikle kurak alanlarda olmak üzere yaklaşık 557.800 ha alanda yetiştirilen önemli bir yemeklik tane baklagil bitkisidir. Konya ili 47.699 ha'lık ekim alanı ile büyük bir paya sahiptir (Anonim, 2006). İnsan beslenmesindeki önemini yanında münavebedeki önemi de dikkate alındığında bu yemeklik tane baklagil bitkisinin değerini artırmaktadır. Ülkemiz nohut ekim alanlarında nohut ziraatının en büyük sorunlarından biri çiftçi elindeki tohumlukların istenilen kalitede olmaması ve mevcut tescilli çeşitlerin yeteri kadar yaygınlaşmamış olmasıdır. Çiftçinin elinde yöresel isimlerle adlandırılan çeşit özelliğinde olmayan çok sayıda popülasyon mevcut olup, bunların verim durumları hakkında sağlıklı bilgi mevcut değildir.

Çiftçinin elindeki tohumluğun tarımsal ve kalite özelliklerinin belirlenmesi ve bu doğrultuda bölgenin

ekolojik isteklerine uygun, kaliteli, yüksek verimli, hastalık ve zararlılara dayanabilen tescilli çeşitler ile popülasyonlar arasındaki farklar belirlenerek bölgedeki nohut tarımına katkıda bulunulması gerekliliği ortadadır. Bu amaçla, Önder ve Bayrak (2005) tarafından yürütülen "Konya Ekolojisinde Tarımı Yapılan Yerel Nohut Popülasyonları ve Çeşitlerinin Tarımsal, Teknolojik ve Besinsel Karakterlerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma" isimli proje kapsamında bölgede yetiştirilen popülasyonlar toplanmış ve tarla denemelerine alınmıştır. Son yıllarda ıslah çalışmalarında kullanılmaya başlanılan moleküler seleksiyonun yaygınlaştırılması yeni çeşitlerin geliştirilmesi açısından önemlidir. Bu anlamda verimi yüksek, stres faktörlerine ve hastalıklara dayanıklı nohut çeşitlerinin geliştirilmesinde uygun markör tekniklerinin erken test ve seleksiyonda kullanılması, ele alınması gereken konulardandır. Konuyla ilgili araştırmalarda; Chowdhury ve ark. (2002), Kuzey Amerika'da nohut

²Sorumlu Yazar: myorg@selcuk.edu.tr

çeşitleri ve ıslah hatlarında genetik ilişkinin belirlenmesi ve bunların ıslahta kullanımı amacıyla 22 rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) ve 22 basit dizi tekrarlar arası (ISSR) markörleriyle çalışmışlardır. Çalışmada ISSR primerlerinin RAPD primerlerine göre daha az bant oluşturmasına rağmen bantların daha polimorfik olduğu görülmüştür. Kültür çeşitlerinin kendi içinde büyük ölçüde homojen olduğu, aynı genetik tabandan gelen kültür çeşitleri/ıslah hatlarının da çok yakın benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Banerjee ve ark. (2001), ana bitki olarak *Cicer arietinum* (ICC 4918) ve baba bitki olarak da yabancı nohut türleri (*C. reticulatum*-JM 2100, JM 2106 ve *C. echinospermum*-ICCW 44) kullanılarak melezleme yapmışlar, *Cicer arietinum* (ICC 4918) x *C. reticulatum* (JM 2100) melezlemesiyle F₂ bitkilerinden çok sayıda üretilen RAPD primerleri kullanarak bağlantı haritalarını çıkarmışlardır.

Nguyen ve ark. (2004), çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP) tekniğini kullanarak yabancı nohutlar ile kültür çeşitleri arasındaki genetik çeşitliliği tespit etmek için yürüttükleri çalışmada 17 nohut türünün temsil edildiği 95 aksesyon içinde toplamda 214 lokasyondan 211'inde polimorfizm (%98.6) belirlemişlerdir.

Bu çalışma, nohut yetiştiriciliğinde büyük bir paya sahip olan Konya ve civarında yetiştirilen nohut popülasyonlarının sahip olduğu çeşitliliğin moleküler markör tekniklerinden ISSR ile tespiti ve ülkemiz açısından ekonomik değeri olan, bölgeye uygun nohut çeşitleri geliştirmeye yönelik ıslah programlarına katkıda bulunmak amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Araştırmada materyal olarak Konya Bölgesinden 23 farklı yerden toplanan nohut (*Cicer arietinum* L.) (2n=16) popülasyonlarına ait tohumlar ve 2 adet tescilli nohut çeşidi (Gökçe ve Er 99) kullanılmıştır. Tohumlar S.Ü. BAP 061201032 nolu proje (Önder ve Bayrak 2005) kapsamında Konya İlçe Tarım Müdürlükleri aracılığı ile temin edilmiştir. Materyalin temin edildiği bölgeler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. DNA izolasyonunda kullanılan nohut popülasyonlarının temin edildikleri bölgeler

No	Bölge	No	Bölge	No	Bölge
1	Ilgın	10	Seydişehir	19	Bozkır
2	Suğla	11	Beyşehir	20	Hadim
3	Doğanhisar	12	Akşehir 2	21	Gökçe
4	Ahırlı	13	Derebucak	22	Hüyük
5	Akşehir 1	14	Sarayönü	23	Hatunsaray
6	Ereğli	15	Derbent	24	Yunak
7	Akören	16	Güneysınır	25	Er 99
8	Kadınhanı	17	Karapınar		
9	Altınekin	18	Çumra		

Metot

DNA İzolasyonu

Nohut tohumları bilgisayar kontrollü otomatik serada saksılara ekilmiş, çıkıştan 20 gün sonra her popülasyonu temsilen 10 adet bitkinin genç yaprakları eşit miktarda alınarak karıştırılmış ve popülasyondaki bireylerin DNA'sı *bulk* olarak izole edilmiştir.

DNA izolasyonu 2x CTAB metoduna göre yapılmıştır (Saraçoğlu, 2007). RNA uzaklaştırma işlemi 4 µL RNase A (Qiagen 1 ng/µL) kullanılarak izolasyon sırasında gerçekleştirilmiştir. İzolasyon sonrasında DNA'lar 200 µL steril saf suda çözülmüş, biyofotometrede (Eppendorf) A₂₆₀ nm dalga boyunda okumaları yapılarak konsantrasyonları belirlenmiş ve PCR'da kullanılmak üzere 25 ng/µL'lik dilüsyonlar hazırlanmıştır. Dilüsyonlara ait örnekler %1'lik agaroz jelde yürütülerek görüntüleme cihazında görüntülenmiş ve PCR'da kullanılacak DNA miktarları eşitlenmiştir. DNA stok çözeltileri -80°C'de, dilüsyon çözeltileri ise -20°C'de muhafaza edilmiştir.

ISSR Moleküler Markör Tekniği İle PCR Amplifikasyonları

PCR amplifikasyonları seçilmiş ISSR primerleri ile gerçekleştirilmiştir (Tablo 2).

PCR uygulamaları Eppendorf Mastercycler Gradient cihazı ile yapılmıştır. Reaksiyonlarda 2 µL DNA (25 ng/µL) ve 23 µL reaksiyon karışımı [2.5 µL 10X PCR tampon çözeltisi (Bioron), 2.5 µL 25 mM Mg⁺²(Bioron), 0.4 µL dNTP (her bir nükleotidten 25 mM, Larova), 0.3 µL Taq DNA Polimeraz (5 ünite/µL Bioron), 0.5 µL (50 ng/µL) primer ve 16.8 µL PCR suyu] ile 40 döngü touchdown PCR yapılarak amplifikasyon gerçekleştirilmiştir. Kullanılan PCR programları referans makaleler temel alınarak çalışmalarda kullanılan primerlerin T_m değerlerine uygun olarak her bir primer için ayrı ayrı oluşturulmuştur. PCR ürünleri %2'lik agaroz (Prona Agaroz) jel elektroforez ile yürütülmüş, görüntüleme sistemiyle (Vilber Lourmat, Fransa) görüntülenmiş ve skorlamalar manuel olarak gerçekleştirilmiştir.

ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Çalışmada, güvenilirliği yüksek, uygulaması kolay ve maliyeti düşük olması dolayısıyla dominant moleküler belirleyicilerden ISSR kullanılmıştır. Kullanılan tüm primerlere ait elde edilen skorlanabilir bantlar ve bunların polimorfizm yüzdeleri (Tablo 2) incelendiğinde en fazla bant üretimi 16 bant ile M2 primerinde olmuştur. Polimorfizm oranı en yüksek olan primerler (%100) F2, F3, M2 ve M8 primerleridir. En düşük bant sayısı (4), en düşük polimorfik bant sayısı (2) ve polimorfizm yüzdesi (%50) de M11 primerinden elde edilmiştir. Çalışmada tekrarlı olarak toplam üretilen skorlanabilir 85 adet banttan 75'inin (%88.23) polimorfik olduğu gözlenmiştir. Üretilen bantların tekrarlanabilir olması (güvenilirlik) ve de yüksek polimorfizme sahip olması

(skorlanabilirlik) daha fazla farklı lokusların taranmasını gereksiz kılmıştır Chowdhury ve ark. (2002) nohutta yaptıkları çalışmada ISSR primerlerinin RAPD primerlerine göre daha polimorfik olduğunu ifade etmiştir.

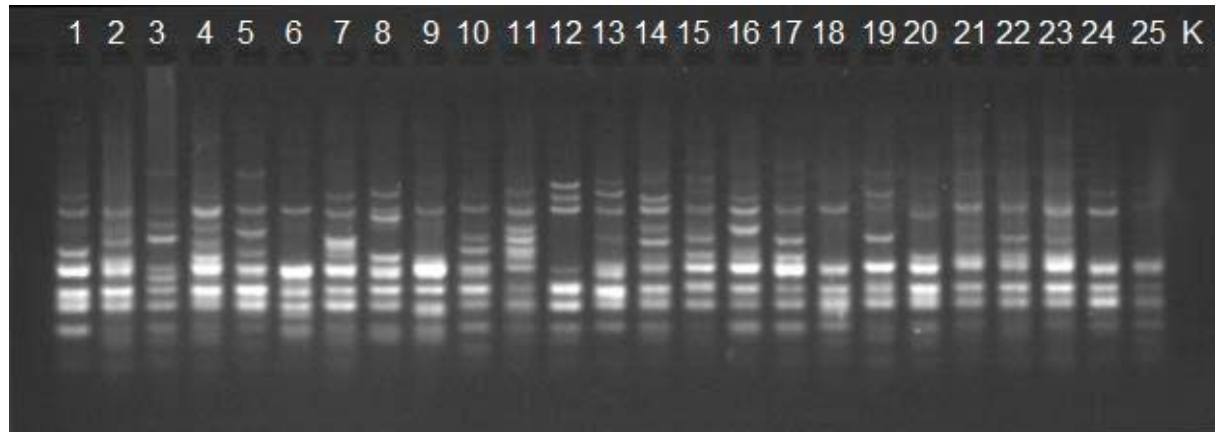
Seçilen primerlerin büyük çoğunluğu daha önce fasulye (Galvan ve ark. 2003) ve mısır (Domenyuk ve

ark. 2002; Osipova ve ark. 2003; Barcaccia ve ark. 2003) gen havuzunun genetik çeşitliliğinin belirlenmesinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Benzer laboratuvar imkanları ile gerçekleştirilebilen RAPD yöntemi, tekrarlanabilirliği genelde daha zayıf olması dolayısıyla bu çalışmada tercih edilmemiştir.

Tablo 2. PCR amplifikasyonlarında kullanılan ISSR primerleri ile elde edilen skorlanabilir bantlar ve bunların polimorfizm yüzdeleri

Primer Adı	DNA Dizisi	Tm (°C)	G/C (%)	Bant Sayısı	Polimorfik Bant Sayısı	Polimorfizm (%)
F2	CTC(GT) ₈	56.7	52.6	4	4	100
F3	(AG) ₈ CG	56.0	55.6	8	8	100
F5	(AG) ₈	49.2	50.0	6	4	66.7
M1	(AGC) ₆ G	63.1	68.4	12	9	75
M2	(ACC) ₆ G	63.1	68.4	16	16	100
M4	(CA) ₁₀ C	59.8	52.4	5	4	80
M7	(AG) ₉ C	56.7	52.6	7	6	85.7
M8	(AC) ₉ G	56.7	52.6	9	9	100
M11	(CAC) ₅	53.3	66.7	4	2	50
M15	(CA) ₈ AG	53.7	50.0	14	13	92.9
Toplam				85	75	88.23

F2, F3, F5 (Galvan ve ark. 2003); M1, M2, M4, M7, M8 (Domenyuk ve ark. 2002); M11 (Osipova ve ark. 2003); M15 (Barcaccia ve ark. 2003)



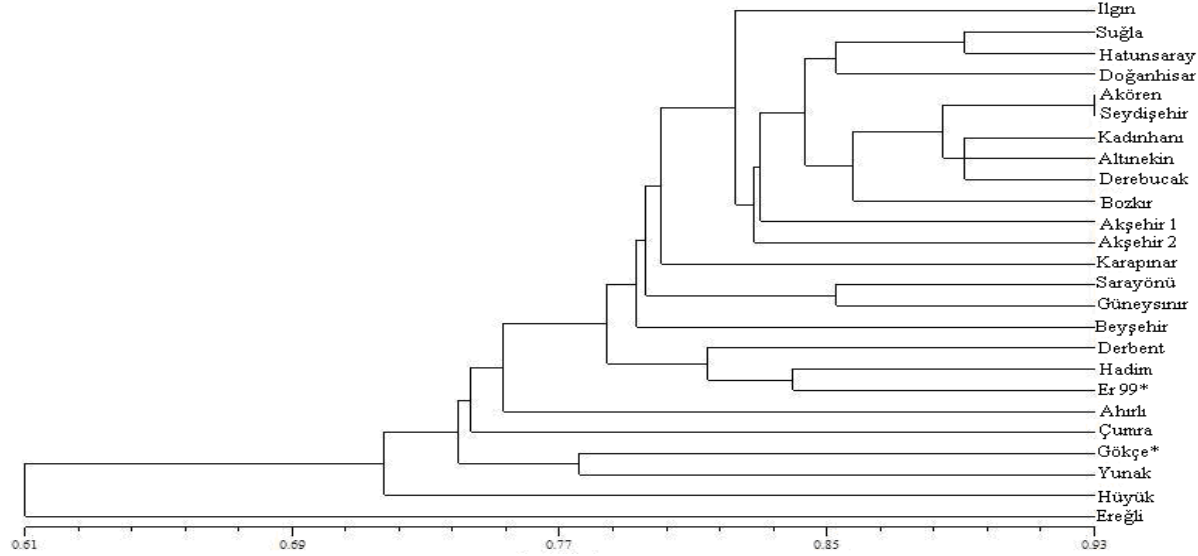
Şekil 1. M1 primeri kullanılarak yapılan PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü, K: Kontrol

Araştırma sonucunda, skorlanabilen bantlardan NTSYS-pc 2.1 ile genotipik varyasyonun sergilendiği genetik benzerlik dendogramı UPGMA yöntemine göre oluşturulmuştur (Şekil 2). Dendogramın *coefficient* aralığı 0.61 ile 0.89 arasında değişiklik göstermiştir. Çalışılan örneklerden Ereğli İspanyol popülasyonu diğer tüm örneklerden belirgin bir şekilde ayrılmıştır ve kendi başına bir kolda yer almıştır. Hüyük İspanyol örneği de en dış kolda yer almış diğer örnekler ise ayrı bir dallanma grubu oluşturmuştur. Bu grupta çeşit niteliği taşıyan Gökçe ise Yunak yerel popülasyonuna genetik açıdan en yakın örnek olmuştur. Ahırılı sıra nohut popülasyonu

geri kalan örneklerden ayrılarak Çumra yerel popülasyonuna yaklaşmıştır. Çalışılan örneklerden çeşit özelliğinde olan Er 99 ise Derbent ve Hadim yerel popülasyonları ile aynı grupta yer almıştır. Hadim yerel popülasyonuna yakınlığı daha fazladır. Sarayönü İspanyol popülasyonu ise Güneysınır yerel popülasyonu ile ilişkili bulunmuştur. Geri kalan, daha yakın genetik ilişki içinde bulunan örneklerin yer aldığı, grupta ise Karapınar İspanyol popülasyonu diğer örneklere olduğu kadar bu örneklerden ayrılan Ilgın yerel popülasyonu ile de eşit mesafede yer almıştır. Ilgın yerel popülasyonu ile en yakın ilişki içinde olan Akşehir-1 ve onu takip eden Akşehir-2

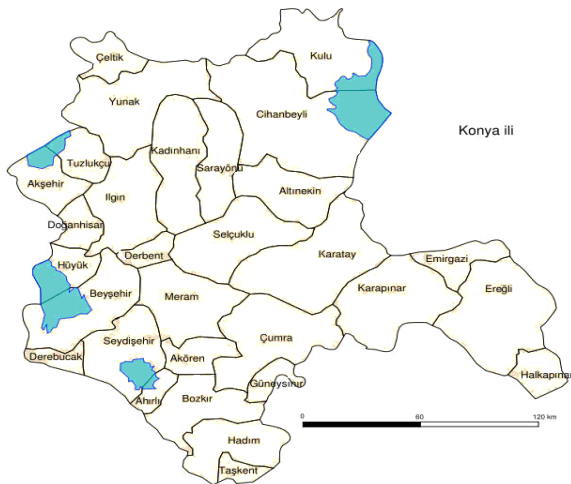
nohut popülasyonlarını bu gruplardan ayrılan ve iki ayrı seksiyona ayrılan alt gruplar takip etmiştir. Buradaki örnekler, Bozkır yerel popülasyonu ile ilişkili bulunan Akören, Kadınhanı ve Altınekin ile

Derebucak popülasyonlarının oluşturduğu homojen bir dallanma ile Suğla, Hatunsaray ve Doğanhisar popülasyonlarının oluşturduğu ikinci dallanma grubundan oluşmaktadır.



* Çalışmada kullanılan tescilli nohut çeşitleri

Şekil 2. Skorlanabilen bantlardan NTSYS-pc 2.1 ile genotipik varyasyonun sergilendiği genetik benzerlik dendrogramı



Şekil 3. Konya İl haritası

Konya İl haritasına bakıldığında (Şekil 3), yakın bölgeler arasındaki örneklerde genetik bir yakınlık olduğu dikkat çekicidir. Bunlardan birbirine sınır olan Seydişehir ile Akören bölgelerine ait örneklerin birbirinden ayırt edilemediği görülmektedir. Bu konuda yapılan benzer çalışmalara bakıldığında Iruela ve ark. (2002), RAPD ve ISSR moleküler markörlerini kullanarak nohut genusunun 14 türü ve 75 aksesyonunda filogenetik analiz çalışmaları yapmışlar ve filogenetik ilişkilerin *Cicer* sp'nin coğrafi dağılımını belirlemede iyi bir yöntem olduğunu ifade etmişlerdir. Bu nedenle çiftçilerimizin genellikle ellerindeki mevcut nohut tohumlarını tohumluk olarak

kullandığı ve bu tohumlukların aynı yörede yayılma gösterdiği sonucuna varılabilir. Türkiye'de nohut ile ilgili bu konudaki sınırlı literatürlerden birinde (Sudupak, 2004) ISSR-PCR teknolojisinin nohutta genetik varyasyonu ve akrabalık ilişkilerini tespit etmede ucuz, hızlı ve uygun bir sistem olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalarda, nohut yabancılarından oluşan 43 örnekte genetik ilişkilerin RAPD, ISSR ve AFLP markörleri ile ayrı ayrı incelenmesi ile büyük ölçüde birbirine benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Aynı çalışmalarda, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin nohudun mikro-gen merkezi ve tarıma alındığı ilk bölge olması dolayısıyla kültür formları ile birlikte özellikle yabani nohut akrabalarındaki zengin biyoçeşitlilikten yararlanılarak ekonomik değeri yüksek genotiplerin geliştirilmesi için eşsiz bir kaynak sunduğu, ancak bunun yapılabilmesi için popülasyon yapılarının incelendiği geniş çaplı genetik çeşitlilik ve koruma çalışmalarına ihtiyaç duyulduğu ifade edilmektedir (Sudupak 2004). Banerjee ve ark. (2001) nohutta RAPD tekniği kullanarak, Nguyen ve ark. (2004) AFLP tekniği kullanarak bağlantı haritalarını çıkarmışlardır. Reddy ve ark. (2002), ISSR markörlerinin genetik çeşitliliğin belirlenmesinde, filogenetik çalışmalarda, genom haritalarının oluşturulmasında ve evrim biyolojisinde birçok tarla bitkisinde uygulanabilecek yararlı bir teknik olduğunu bildirmişlerdir.

ISSR markörlerini kullandığımız çalışmamızda Konya bölgesinde yetiştirilen nohut popülasyonları arasında genetik bir varyasyon olduğu belirlenmiştir.

Bu varyasyonunda bölgeler arası gen geçişi ile meydana geldiği sonucuna varılmıştır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Konya bölgesinden toplanmış olan 23 nohut popülasyonu ve 2 nohut çeşidi ISSR moleküler markör tekniği ile karakterize edilmiş ve bu popülasyonların aralarındaki genetik çeşitlilikler ortaya konmuştur.

Kullanılan nohut tohumluklarının birbirine yakın olan bölgelerde yayılma gösterdiği ISSR markörleri kullanılarak moleküler düzeyde belirlenmiştir.

Nohut yetiştiriciliğinde büyük bir paya sahip olan Konya ve civarında yetiştirilen nohut popülasyonlarının sahip olduğu çeşitliliğin tespiti, bölgeye uygun nohut çeşitlerinin geliştirilmesi için yürütülecek ıslah programlarına katkıda bulunacaktır. Başarılı bir ıslah programının temeli doğru materyalle işe başlamak olduğuna göre bu anlamda yapılan çalışmanın örnek bir çalışma olduğu düşünülmektedir. Nohut kuru tarım alanlarında yoğun olarak yetiştirilmesi ve nadas alanlarının değerlendirilmesi nedeniyle ekonomik potansiyel taşıyan bir bitkidir. Bu nedenle tarımı yapılan alanlarda antraknoza dayanıklı, üstün besin kalitesine sahip çeşit geliştirme gerekliliği ortadadır. ıslah çalışmaları için zengin bir genetik taban oluşturması açısından popülasyonlarda polimorfizmin yüksek düzeyde bulunması arzu edilen bir durumdur. Özellikle nohut gibi genetik tabanı dar olan bir bitkide mevcut biyoçeşitlilikten maksimum düzeyde yararlanabilmek için bu varyasyonun doğru tespit edilmesi önemlidir. Yıllardır çiftçinin kullandığı tohumlardaki bu genetik çeşitlilik değerlendirilerek ülkemiz koşullarına uygun nohut çeşidi ıslah etmek mümkündür. Nohut bitkisinin antraknoz gibi fungal enfeksiyonlara çok hassas oluşu sebebiyle tarımı yapılan bölgelerde ciddi verim kayıpları oluşmaktadır. Bu yöndeki çalışmalar polimorfik farklılık gösteren bireylerin belirlenmesi ve buradan hareketle bölge şartlarında en iyi yetişebilen genotiplerin ortaya konması, hastalıklara dayanıklı bireylerin tespiti ve bunların çoğaltılarak kullanılması bakımından önem arz etmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında maddi destek sağlayan 1040547 nolu TÜBİTAK projesine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Anonim, 2006. FAO Statistics, Internet; <http://www.fao.org>.
 Barcaccia, G., Lucchin, M., Parrini, P. 2003. Characterization of a flint maize (*Zea mays* var. *indurata*) Italian landrace, II. Genetic diversity and relatedness assessed by SSR and Inter-SSR molecular markers. Genetic Resources and Crop Evolution 50: 253–271.

Banerjee, H., Pai R. A., Moss, J. P., Sharma, R. P. 2001. Use of random amplified polymorphic DNA markers for mapping the chickpea genome. *Biologia Plantarum* 44(2): 195-202.
 Chowdhury, M.A., Vandenberg, B., Warkentin, T. 2002. Cultivar identification and genetic relationship among selected breeding lines and cultivars in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Euphytica* 127: 317-325.
 Domenyuk, V. P., Verbitskaya, T. G., Belousov A. A., Sivolap, Y. M. 2002. Marker Analysis of Quantitative Traits in Maize by ISSR-PCR. *Russian Journal of Genetics*, Vol. 38, No. 10, pp. 1161–1168. Translated from *Genetika*, Vol. 38, No. 10, 2002, pp. 1370–1378.
 Galvan, M.Z., Bornet, B., Balatti, P.A. & Branchard, M., 2003. Inter simple sequence repeat (ISSR) markers as a tool for the assessment of both genetic diversity and gene pool origin in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica* 132: 297–301.
 Iruela, M., Rubio, J., Cubero, J. I., Gil, J., Millán, T. 2002. Phylogenetic analysis in the genus *Cicer* and cultivated chickpea using RAPD and ISSR markers. *Theor Appl Genet.* 104:643-651
 Nguyen, T.T., Taylor, P.W.J., Redden, R.J., Ford, R. 2004. Genetic diversity estimates in *Cicer* using AFLP analysis. *Plant Breeding* 123 (2): 173-179.
 Osipova, E. S., Koveza, O. V., Troitskij, A. V., Dolgikh, Yu. I., Shamina, Z. B., Gostimskij, S. A. 2003. Analysis of Specific RAPD and ISSR Fragments in Maize (*Zea mays* L.) Somaclones and Development of SCAR Markers on Their Basis. *Russian Journal of Genetics*, Vol. 39, No. 12, , pp. 1412–1419. Translated from *Genetika*, Vol. 39, No. 12, 2003, pp. 1664–1672.
 Önder, M., Bayrak, H. 2005. Konya Ekolojisinde Tarımı Yapılan Yerel Nohut Popülasyonları ve Çeşitlerinin Tarımsal, Teknolojik ve Besinsel Karakterlerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma, S.Ü. BAP 061201032 nolu projesi (Devam ediyor).
 Reddy, M.P., Sarla, N. & Siddiq, A., 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding *Euphytica* 128: 9-17.
 Saraçoğlu, D. 2007. Yabani ve Kültür Nohutlarının Moleküler Genetik Yöntemlerle Karakterizasyonu, S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Konya.
 Sudupak, M.A. 2004. Inter and intra-species Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) variations in the genus *Cicer*. *Euphytica* 135: 229–238.