

ISSR Primerleri ile Kültürü Yapılan Bazı Yonca (*Medicago sativa* L.) Ekotiplerinde Moleküler Farklılıkların Belirlenmesi

*Mehmet Macit ERTUŞ¹ Cafer Olcayto SABANCI² Suat ŞENSOY³

¹Hakkari Üniversitesi, Çölemerik MYO, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Hakkari

²Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Kırşehir

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Van

*Sorumlu yazar e-posta (Corresponding author e-mail): mehmetmacitertus@hakkari.edu.tr

Öz

Bu çalışma, Van ili ve çevre illerden toplanan 70 adet yonca (*Medicago sativa* L.) ekotipi ile 6 tescilli çeşit olmak üzere toplam 76 genotip arasındaki akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. 12 adet ISSR primeri kullanılmış ve 85 polimorfik bant elde edilmiştir. Ekotipler arasındaki genetik uzaklıklar Öklid katsayısı yardımıyla belirlenmiştir. Yonca ekotiplerinin toplandığı bölgelere göre, ayrıca yerel çeşit olarak ve tescilli çeşitler olmak üzere toplam 16 grup altında genetik varyasyonu incelenmiştir. En yüksek genetik çeşitlilik ($H = 0.245$ ve $I = 0.366$) ve polimorfizm (%70.59) olarak Gürpınar ekotiplerinde içerisinde gözlenmiştir. Yabancı döllenmiş *Medicago sativa*'nın ekotip ve çeşitler arasında yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yonca, *Medicago sativa*, ISSR, genetik çeşitlilik

Determination of Molecular Diversity with ISSR Markers in Some Cultivated Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Ecotypes

Abstract

The relationships among total 76 ecotypes of alfalfa (*Medicago sativa* L.), 70 landraces and 6 cultivars, collected in Van and neighboring provinces were investigated in the present study. In the molecular method, Twelve ISSR primers were used and 85 polymorphic bands were obtained. The genetic distances between the ecotypes were expressed by Euclidean coefficients. The genetic variation among alfalfa ecotypes was examined in 16 groups based on the localities, landraces and check cultivars. The highest genetic variations and polymorphisms ($H = 0.245$, $I = 0.366$, and 70.59%) were found in Gulpınar localities. As a result, a high genetic diversity was found out among the ecotypes and cultivars of allogamous *Medicago sativa* L.

Keywords: Alfalfa, *Medicago sativa*, ISSR, genetic diversity

Giriş

Ülkemizde toplam ekilen 16.581.603 ha alan içerisinde 1.585.681 ha yem bitkileri ekimi gerçekleştirilmektedir. Yem bitkileri içerisinde 555.722 ha yonca ekim alanı ile fiğden sonra gelmektedir. Doğu Anadolu Bölgesi 585.433 ha yem bitkileri ekim alanıyla ilk sırada yer alırken bu alanın yaklaşık %60'ında (348.407 ha) yonca tarımı yapılmaktadır (Sabancı ve ark. 2010). Çok yıllık olması, yıl içerisinde birden fazla biçim vermesi, besleyici olması özellikleri ile yonca (*Medicago sativa* L.) hayvan beslenmesinde vazgeçilmez bir yem bitkisidir. Dünya üzerinde 32 milyon hektar ekilen yonca'nın orijini Kafkasya, Kuzeydoğu Türkiye, Kuzeybatı İran ve Türkmenistan'dır (Michaud et

al. 1988). Bölgede yüzyıllardır tarımı yapılan yoncayı iyi tanıyan çiftçi elindeki tohumu sürekli muhafaza ettiği gibi çevre illerden de tohum temin yoluna gitmiştir. Doğu Anadolu Bölgesi'nin yoncanın gen merkezi olması yanında Van ili ve ilçelerinde çiftçinin elinde bulundurduğu tohumluğun çeşit geliştirmek ve gen kaynağı olarak kullanılması göz önüne alınmalıdır. Çeşitlerin karakterizasyonunda morfolojik ve biyokimyasal belirteçlerin yerine, son yıllarda DNA belirteçleri kullanılmaktadır. Ünverdi (2007)'nin bildirdiğine göre Tanksley et al. (1989), bitkilerde genetik ilişkileri ortaya çıkarmak için kullanılan ilk DNA işaretleyicisi RFLP'dir (Restricted Fragment Length

Polymorphism: Kesilmiş Parça Uzunlukları Polimorfizmi). RFLP yönteminin maliyetinin çok yüksek ve yavaş olması, PCR temelli moleküler işaretleyicilerin gelişmesine sebep olmuştur. Bu yöntemlerden bazıları, RAPD (Random Amplified PolimorphicDNAs), AFLP (Amplified Fragment Length Polimorphisms), SSR (Simple Sequence Repeats) ve ISSR'dir (Intersimple Sequence Repeats). Bu tekniklerden RAPD, AFLP, SSR ve ISSR DNA işaretleyicileri, kültür bitkilerinde genetik çeşitliliğin saptanmasında yoğun olarak kullanılmaktadır (Özcan ve ark. 2004). Bazı araştırmacılar ISSR yönteminin de yonca da akrabalık derecelerinin belirlenmesinde kullanılacağını bildirmişlerdir (Touil et al. 2008; Petolescu and Nedelea, 2009). Bu araştırma ile yoncanın gen merkezi içinde olan Van ilinde

ekimi yapılan ekotipler ve bazı tescilli çeşitler arasında akrabalık derecelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışma materyali olarak Van ilinin değişik yörelerinde kültürü yapılan yerel yonca (*Medicago sativa* L.) çeşitleri kullanılmış, ayrıca ülkemizde ekimi yapılan altı çeşit (Planet, MA324, Kalender, Alsancak, Elçi ve Bilensoy-80) denemede yer almıştır. Van ilinin Merkez, Çaldıran, Saray, Özalp, Muradiye, Erciş, Çatak, Başkale, Gürpınar, Gevaş ilçelerinde denizden yüksekliği 1680-2353 m yükseltiler arasında olan köylerden 62 yonca ekotipi (yerel çeşit) toplanmıştır. Ayrıca Bitlis ilinin Ahlat ve Hizan ilçelerinden sağlanan 4 ekotip, Siirt ilinden temin

Çizelge 1. Çalışmada Kullanılan Yonca Ekotiplerine Ait Bilgiler

Table 1. Information about Alfalfa ecotypes used in this study

No	İl	İlçe	Köy	No	İl	İlçe	Köy
1	Van	Özalp	Aksurguç	36	Van	Çatak	Kayaboğazı
2	Van	Özalp	Merkez	37	Van	Çatak	Uzuntekne
3	Van	Merkez	Kıratlı	38	Van	Çatak	Alacayar
4	Van	Merkez	Erçek	39	Van	Çatak	Alacayar
5	Van	Merkez	Değirmenarkı	40	Van	Çatak	Alacayar
6	Van	Merkez	Tohumcu*	41	Van	Çatak	Teknecik
7	Van	Merkez	Tohumcu*	42	Van	Çatak	Ağaçlık
8	Van	Çaldıran	Yukarıyanıktaş	43	Van	Gevaş	Yuva
9	Van	Çaldıran	Doyumalan	44	Van	Gevaş	Merkez
10	Van	Çaldıran	Kurtoğlan	45	Van	Gevaş	Koçak
11	Van	Çaldıran	Boğulukaynak	46	Van	Gevaş	Göründü
12	Van	Çaldıran	Salhane	47	Van	Gevaş	Yemişlik
13	Van	Çaldıran	Kılavuz	48	Van	Gevaş	Abalı
14	Van	Çaldıran	İncealan	49	Van	Gevaş	Balaban
15	Van	Başkale	Albayrak	50	Van	Saray	Çaybağı
16	Van	Başkale	Barış	51	Van	Saray	Değirmigöl
17	Van	Başkale	Merkez	52	Van	Saray	Sırımlı
18	Van	Başkale	Yolmaçayır	53	Van	Saray	Değirmigöl
19	Van	Muradiye	Merkez	54	Van	Gürpınar	Merkez
20	Van	Muradiye	Yenişehir mah.	55	Van	Gürpınar	Yukarıkaymaz
21	Van	Muradiye	Yumaklı	56	Van	Gürpınar	Koyunyatağı
22	Van	Muradiye	Yumaklı	57	Van	Gürpınar	Değirmendüzü
23	Van	Erciş	Taşlıçay	58	Van	Gürpınar	Bozyiğit
24	Van	Erciş	Merkez	59	Van	Gürpınar	Değirmendüzü
25	Van	Erciş	Merkez	60	Van	Gürpınar	Sakalar
26	Van	Erciş	Pay	61	Van	Gürpınar	Merkez
27	Van	Erciş	Keklikova	62	Van	Gürpınar	Bozyiğit
28	Van	Erciş	Kozluca	63	Bitlis	Ahlat	Güzelsu
29	Van	Erciş	Karlıyayla	64	Bitlis	Ahlat	Güzelsu
30	Van	Erciş	Merkez	65	Siirt	Merkez	Tarım İl Md.
31	Van	Erciş	Karlıyayla	66	Siirt	Merkez	Tarım İl Md.
32	Van	Erciş	Taşevler	67	Van	Merkez	Kampüs
33	Van	Erciş	Kocapınar	68	Van	Merkez	Kampüs
34	Van	Erciş	Merkez	69	Bitlis	Hizan	Hizan
35	Van	Erciş	Kocapınar	70	Bitlis	Hizan	Hizan

* İlçe merkezlerinde bulunan ve değişik köylerden gelen tohumları piyasaya süren ticarethaneler

* The firms sell seeds come from different villages to the pazar and these firms are located in central of districts

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan Yonca Çeşitleri
Table 2. Alfalfa genotypes used in this study

No	Adı	No	Adı	No	
71	Elçi	73	Kalender	75	MA-324
72	Alsancak	74	Bilensoy-80	76	Planet

edilen 2 ekotip ve Yüzüncü Yıl Üniversitesi Kampüs alanında kendiliğinden yetişen 2 ekotip denemeye alınmıştır. Tescilli çeşitlerle birlikte toplam 76 adet genotip incelenmiştir. Denemede kullanılan ekotiplere ilişkin bilgiler Çizelge 1’de verilmiştir.

Populasyonu temsil edecek şekilde (her popülasyondan 15 bitki), Doyle and Doyle (1987)’un bildirmiş olduğu metottaki küçük bir değişiklik ile CTAB (hexadecyltrimethylammoniumbromide) izolasyon yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Spektrofotometre ile DNA örnekleri, 1 µl DNA + 100 µl su şeklinde 100 kat sulandırılmış ve UV spektrofotometre cihazında 260 nm ve 280 nm dalga boylarında sırasıyla DNA için ve protein için absorbans değerleri ölçülmüştür. DNA ölçümleri sonucunda örnek konsantrasyonlarına ddH₂O ilave edilerek 50 ng olarak seyreltilmiştir (Anonim, 2010).

PCR reaksiyonu için her bir PCR tüpüne toplam 20 µl olarak ayarlanacak şekilde, 10Xbuffer (2.5 µl), 200 mM dNTP (2.0 µl), 50 mM MgCl₂ (0.75 µl), 5 mM of primer (1.0 µl), 1 U Taqpolimeraz (0.2 µl), 12.50 µl saf su ve 1 µl (50 ng) DNA ilave edilmiştir (Paredes et al., 2002). DNA ayrılma için 92°C’de 4 dakika, 35 döngü olmak üzere 92°C’de 1 dakika, primer bağlanması için sıcaklıklar Çizelge 3’de, uzama için 72°C’de 2 dakika ve 35 döngüden sonra son uzama için 72°C’de 6 dakika PCR reaksiyonu tamamlanmıştır (Paredes et al. 2002; Reddy et al. 2002; Belaid et al. 2006; Ünverdi 2007; Petolescu and Nedelea 2009).

PCR ürünleri, agaroz jel elektroforezinde (%1.5 agaroz jelde 90 V’da 1x TAE tamponu içerisinde 3 saat koşturularak) moleküler ağırlıklarına göre ayrılmış; ethidiumbromid ile boyandıktan sonra bantlar, UV altında görünür hale getirilip, genotiplerin oluşturduğu değişik bantlar, bant varlığı (1) veya yokluğu (0) şeklinde belirlenmiştir. Monomorfik bantlar analiz dışı bırakılmıştır (Şensoy 2005; Ünverdi 2007; Alınca 2008). Genotipler arasındaki genetik uzaklıklar ise değişik benzerlik indeksi katsayıları (Öklid katsayısı) yardımıyla belirlenmiş ve dendrogramlar, ağırlıklı olmayan aritmetik ortalama eş grup metoduna (UPGMA:

Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) göre hazır paket programı NTSYSpc-2.02k ile oluşturulmuştur (Rohlf, 1997). Yonca ekotip ve çeşitleri arasındaki genetik varyasyon, ekotipleri bölge ve çeşit tiplerine göre populasyonlara ayırarak ve POPGENE hazır paket programı kullanılarak belirlenmiştir (Yeh et al. 1997; Labate 2000). POPGENE programıyla Nei ve Shannon genetik çeşitlilik indeksleri ve polimorfizm oranları belirlenmiştir (Yeh et al., 1997).

Bulgular ve Tartışma

ISSR primerleri sonucu %28.57 ile %78.57 arasında polimorfizm elde edilmiştir. Toplam 126 adet olan bantların 85’i polimorfik olarak elde edilmiştir. Petolescu and Nedelea (2009) *Medicago sativa*’nın bazı hat ve çeşitlerinde genetik çeşitliliği belirlemek için ISSR primerlerini (A12, A13, A17, A21 ve UBC818) polimorfizm oranını %5.57 ile %66.79 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

ISSR primerleri kullanılarak akrabalık derecesinin belirlenmesinde Öklid katsayısı kullanılarak elde edilmiş matris sonucu genotipler arasındaki en yakın benzerlik (2.24E+00 öklid katsayısı) 20 ile 21 numaralı Muradiye ekotipleri arasında belirlenmiştir. Genotipler arasındaki en uzak benzerlik 6.00E+00 öklid katsayısı ile 50 numaralı Saray ekotipi ile 56 numaralı Gürpınar ve 70 numaralı Hizan ekotipleri arasında belirlenmiştir.

Genotipler arasında diğer genotiplere benzerliği ortalama olarak en yüksek olan genotip 4.21E+00 öklid katsayısı değeriyle 16 numaralı Başkale ekotipi iken en düşük olan genotip 5.14E+00 öklid katsayısı değeriyle 75 numaralı MA-324 çeşidi olarak belirlenmiştir.

ISSR verileri sonucu Öklid matrisi katsayısı ile elde edilen dendrogramın incelenmesiyle 8 ana ve 4 alt grup altında incelemek mümkün olmuştur. 2 ve 7 numaralı Van ekotipleri ile 73 numaralı Kalender ve 75 numaralı MA-324 çeşitleri diğerlerinden çok farklı bir dallanma göstermiştir. Siirt ve Hizan ekotiplerinin tümü ve 5 farklı ekotip A1 alt grubunda yer almıştır. Elçi (71), Alsancak (72) ve Planet (76) çeşitleri ile 6 ekotip A2 grubunda görülmektedir. Toplam 7

Çizelge 3. ISSR primerleri ve elde edilen bazı değerler
Table 3. ISSR primers and results

Kod	Dizilişi	Bağlanma Sıcaklığı(°C)	Polimorfik bant sayısı	Toplam bant sayısı	Polimorfik oranı (%)
A12	(GA) ₆ CC	44	2	7	28.57
UBC-818	(CA) ₇ G	45	7	12	58.33
3X	(AG) ₁₀ C	61	9	11	81.82
4X	(TC) ₁₀ A	57	12	13	92.30
5X	(AG) ₁₀	54	2	6	33.33
A2	(ACTG) ₅	56	16	16	100
A3	(GACA) ₅	55	9	12	75.00
A7	(AG) ₁₀ T	55	2	5	40.00
A10	(CT) ₁₀ T	55	5	9	55.56
A13	(GT) ₆ CC	44	11	14	78.57
A17	(GTG) ₃ GC	38	5	10	50.00
A21	(CA) ₆ AC	41	5	11	45.45
Toplam			85	126	

Çizelge 4. Yonca ekotipleri arasında gruplar bazında ölçülen bazı genetik varyasyon ölçütleri
Table 4. Genetic diversity parameters of alfalfa ecotype groups

Ekotipler/Çeşitler	N*	H	I	% Polimorfizm
Van/Özalp	2	0.117	0.170	28.24
Van/Merkez	5	0.171	0.255	47.06
Van/Çaldıran	7	0.194	0.290	55.29
Van/Başkale	4	0.109	0.162	29.41
Van/Muradiye	4	0.082	0.122	22.35
Van/Erciş	13	0.237	0.352	65.88
Van/Çatak	7	0.193	0.288	55.29
Van/Gevaş	7	0.215	0.317	57.65
Van/Saray	4	0.197	0.284	47.06
Van/Gürpınar	9	0.245	0.366	70.59
Bitlis/Ahlat	2	0.107	0.156	25.88
Siirt	2	0.058	0.085	14.12
Van/Kampüs	2	0.083	0.121	20.00
Bitlis/Hizan	2	0.073	0.107	17.65
Tescilli çeşit	6	0.237	0.348	61.18
Yerel çeşitler	70	0.305	0.463	95.92
Bütün Ekotipler	76	0.274	0.428	100

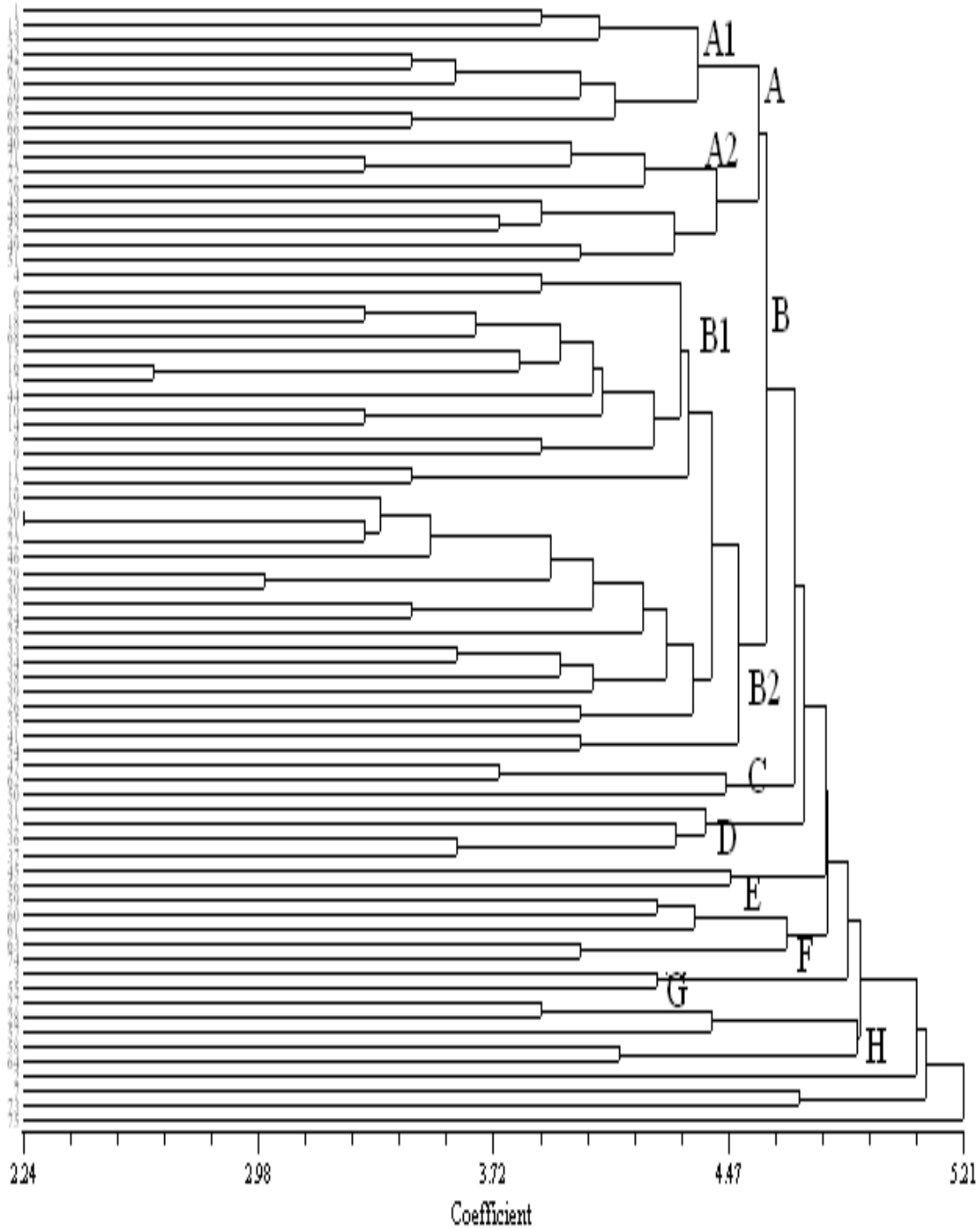
*N= Populasyondaki genotip sayısı; H= Nei'nin genetik çeşitlilik indeksi; I= Shannon'un genetik çeşitlilik indeksi

*N= Number of genotypes in population; H= Nei 's genetic diversity index; I= Shannon's genetic diversity index

adet olan Çaldıran ekotiplerinin 6'sı ve 5 adet olan Başkale ekotiplerinin 4'ü B1 alt grubunda konumlanmışlardır. Erciş ekotiplerinin 9 adedi, Muradiye ekotiplerinin 4 adedi ve Çatak ekotiplerinin 3 adedi B2 alt grubunda yer almıştır. Birbirine en yakın özellik gösteren 20 ve 21 numaralı Muradiye ekotiplerinin de B2 alt grubunda olduğu görülmektedir. Küçük gruplar oluşturan C'de 3, D'de 2 ve E'de 2 ekotip bulunmaktadır.

Gürpınar ekotiplerinden 3 ve bir adet Ahlat ekotipini içine alan F grubunda Bilensoy-80 çeşidinin de yer aldığı görülmektedir. Van ve Gürpınara ait 2 ekotipi G grubu oluşturmuş, H grubunun Erciş'in 2, Gürpınar'ın 2 ve bir Ahlat ekotipini içine aldığı görülmüştür (Şekil 1).

ISSR verilerine göre elde edilen istatistiksel varyasyon ölçütleri, değerlendirilen ekotiplerdeki populasyon yapısının bölgelere bağlı olarak farklılık içerdiklerini göstermiştir. En yüksek genetik çeşitlilik (H = 0.245 ve I = 0.366) ve polimorfizm (%70.59) olarak Gürpınar ekotiplerinde içerisinde gözlenmiştir. Erciş ekotipleri arasındaki genetik varyasyon değerleri (H = 0.237, I = 0.352, polimorfizm %65.88) de oldukça yüksek bulunmuştur. Yerel çeşitler arasında H = 0.305, I = 0.463 ve %95.92 polimorfizm oranı ile H = 0.327, I = 0.348 ve %61.18 polimorfizm oranına sahip tescilli çeşitlerden genetik farklılıkların oldukça yüksek olduğu, tüm ekotip ve tescilli çeşitler arasında H = 0.274, I = 0.428 ve %100



Şekil 1. ISSR belirteçleri ile akrabalık derecesinin belirlenmesinde öklid matrisi kullanılarak UPGMA ile elde edilmiş dendrogram.

Figure 1. Dendrogram of genetic distances with ISSR markers between ecotypes by euclidean coefficients, group average unweighted (UPGMA)

polimorfizm oranıyla genetik çeşitliliğin yüksek olduğu görülmüştür (Çizelge 4).

genetik varyasyonun yüksek olmasına neden olmaktadır.

Sonuç

Çalışma sonucunda birbirine çok yakın ekotip veya çeşit tespit edilememiştir. Yonca'nın (*Medicago sativa* L.) yabancı döllenmesi ve tetraploid kromozom setine sahip olması

Teşekkür

Bu yayın doktora tezinden alınmış ve Yüzüncü Yıl Üniversitesi BAPB tarafından, 2010-FBE-D037 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Anonim, 2010. Tür ve Irkların DNA İşaretleri ile Moleküler Tanımlanması Çalışma Paketi. TÜBİTAK TÜRKHAYGEN-1 Projesi. I. Çalıştay, 2-3 Nisan 2007, ODTÜ http://www.turkhaygen.gov.tr/doc/egitim_ODT_U.pdf. (Erişim tarihi: 06.03.2010)
- Alınca S., 2008. Güneydoğu Anadolu Bölgesinden toplanan buton yoncasının (*Medicago orbicularis*) morfolojik özellikleri ve moleküler karakterizasyonu. Yüksek Lisans tezi. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Basılmamış). Diyarbakır.
- Belaid Y., Chtourou-Ghorbel N., Marrakchi M. and Trifi-Farah N., 2006. Genetic diversity with in and between populations of *Lathyrus* genus (Fabaceae) revealed by ISSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 53: 1413-1418.
- Doyle J.J. and Doyle J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissues. *Phytochem. Bull.* 19: 11-15.
- Labate J.A., 2000. Software for population genetic analyses of molecular marker data. *Crop. Sci.*, 40:1521-1528.
- Michaud R., Lehman W.F. and Runbaugh M.D., 1988. World distribution and historical development. In Hanson AA, Barnes DK, Hill RR (eds) ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, *Agronomy, Series of Monographs* 29:25-91.
- Özcan S., Gürel E. ve Babaoğlu M., 2004. Bitki Biyoteknolojisi. S.Ü. Vakfı Yayınları. Konya. 456.
- Paredes M., Becerra V., Rojo C., Del Pozo A., Ovalle C. and Aronson J., 2002. Ecotypic differentiation in *Medicago polymorpha* L. along an environmental gradient in central Chile. RAPDs studies show little genetic divergence. *Euphytica*, 123:431-439.
- Petolescu C. and Nedelea G., 2009. Genetic diversity analysis of the *invitro* regenerated alfalfa plants using Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers. *Romanian Biotechnological Letters*, 14(6): 4882-4886.
- Reddy M.P., Sarla N. and Siddiq E.A., 2002. Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128:9-17.
- Rohlf F.J., 1997. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exeter Software, New York.
- Sabancı C.O., Baytekin H., Balabanlı C. ve Acar Z., 2010. Yem bitkileri üretiminin artırılması olanakları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi. 11-15 Ocak 2010. Ankara Cilt I. 343-360.
- Şensoy S., 2005. Türkiye Kavunlarındaki Genetik Varyasyonun ve Fusarium Solgunluğuna Dayanıklılığın Fenotipik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. Doktora tezi. YYÜ Fen Bilimleri Enstitüsü (Basılmamış). Van.
- Tanksley S.D., Young N.D., Paterson A.H. and Bonierbale M.W., 1989. RFLP mapping in plant breeding: new tools for old sciences. *Biotechnology*, 7:257-264.
- Touil L., Guesmi F., Fares K. and Ferchichi A., 2008. Genetic diversity of some Mediterranean populations of the cultivated alfalfa (*Medicago sativa* L.) using ISSR markers. *Biotechnology*, 7 (4): 808-812.
- Ünverdi M.A., 2007. Türkiye'de Tescil Ettirilmiş Bazı Fiğ (*Vicia sativa* L.) Çeşitleri Arasındaki Morfolojik Ve Moleküler Farklılıkların Saptanması Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans tezi. Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü (Basılmamış). Adana.
- Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T.B.J., Ye Z.H. and Mao, J.K., 1997. POPGENE, the User Friendly Shareware for Population Genetic Analysis. University of Alberta, Canada. Molecular Biology and Biotechnology Centre.