T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE *RORIPPA SCOP.* (BRASSICACEAE) TÜRLERİNİN TOHUM PROTEİN PROFİLLERİNİN SDS-PAGE İLE BELİRLENMESİ

Gülüzar ÖZBOLAT

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KONYA, 2010

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE *RORIPPA SCOP.* (BRASSICACEAE) TÜRLERİNİN TOHUM PROTEİN PROFİLLERİNİN SDS-PAGE İLE BELİRLENMESİ

Gülüzar ÖZBOLAT

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KONYA, 2010

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE *RORIPPA SCOP.* (BRASSICACEAE) TÜRLERİNİN TOHUM PROTEİN PROFİLLERİNİN SDS-PAGE İLE BELİRLENMESİ

Gülüzar ÖZBOLAT

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KONYA, 2010

Bu tez 31 / 05 / 2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Yavuz BAĞCI	**Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK**	**Doç. Dr. Muhittin DİNÇ**
(Danışman)	**(Üye)**	**(Üye)**

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TÜRKİYE *RORIPPA SCOP.* (BRASSICACEAE) TÜRLERİNİN TOHUM PROTEİN PROFİLLERİNİN SDS-PAGE İLE BELİRLENMESİ

Gülüzar ÖZBOLAT

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Yavuz BAĞCI

2010, 33 sayfa

Jüri: Doç. Dr. Yavuz BAĞCI
Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK
Doç. Dr. Muhittin DİNÇ

Bu çalışmada Türkiye'de doğal olarak yayılış gösteren 7 *Rorippa* Scop. türüne ait 9 popülasyonun fenetik ilişkileri tohum protein profillerinin SDS-PAGE yöntemi ile belirlenmesi sonucu açığa çıkarılmıştır. Ayrıca dış grup olarak *Rorippa* cinsine yakın akraba olan bir *Barbarea* R. Br. taksonu kullanılmıştır. Dış grup diğer *Rorippa* türlerinden oldukça düşük bir Jaccard Benzerlik Katsayısı ile farklı bir grupta yer almıştır. *Rorippa* türleri ise kendi aralarında 5 alt gruba ayrılmıştır. *Rorippa* cinsine ait aynı türün farklı popülasyonları birbirlerine çok yakın kümelenmiş ve aralarındaki yüksek homoloji SDS-PAGE tohum protein profillerinde açığa çıkarılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen fenogramda, türlerin morfolojik özellikleriyle tutarlı bir şekilde *Rorippa* türleri birbirinden ayrılmış ve bu türlerin fenetik ilişkileri ortaya koyulmuştur.

Anahtar kelimeler: Türkiye, *Rorippa*, SDS-PAGE

ABSTRACT

MSc THESIS

DETERMINATION OF SEED PROTEIN PROFILES OF *RORIPPA* SCOP. (BRASSICACEAE) SPECIES IN TURKEY BY SDS-PAGE

Gülüzar ÖZBOLAT

Selçuk University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Biology Branch

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Yavuz BAĞCI
2010, 33 Pages

Jury: Assoc. Prof. Dr. Yavuz BAĞCI

Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK

Assoc. Prof. Dr. Muhittin DİNÇ

In this study, phenetic relationships of 9 populations belongs to 7 *Rorippa* Scop. species growing wild in Turkey detected by determination of seed protein profiles based on SDS-PAGE. Furthermore, a taxon belongs to *Barbarea* R. Br., a close ally of the genus *Rorippa*, served as an out-group. The out group divided into the most different and farther group with a low Jaccard Similarity Coefficient. On the other hand, *Rorippa* species divided into 5 different subgroups. Different populations of the same *Rorippa* species closely clustered together to form a group, and the high homology between them revealed by means of seed protein profiles based on SDS-PAGE. In the obtained phenogram, *Rorippa* species was separated from each other with the consistency of their morphological characteristics, and phenetic relationships of these species revealed.

Key Words: Turkey, *Rorippa*, SDS-PAGE

ÖNSÖZ

Bu çalışmada, Türkiye'de doğal olarak yayılış gösteren 7 *Rorippa* Scop. türünün ve dış grup olarak kullanılan 1 *Barbarea* R. Br. taksonunun türler arası ve tür içi genetik benzerlikleri SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamit Jel Elektroforezi) yöntemi ile belirlenerek taksonlar arası fenetik ilişkilerin ve bu cinsteki bazı taksonomik problemlerin çözüme kavuşturulması amaçlanmıştır.

Tez çalışmam esnasında bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren ve danışmanlığımı yapan Doç. Dr. Yavuz Bağcı'ya teşekkürlerimi sunarım. Araştırmalar esnasında laboratuvarının bütün imkanlarını bana sunarak bilgi ve önerileriyle destek olan Doç. Dr. Yusuf TUTAR'a; çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Y. Biyolog Lütfi TUTAR ve Dr. Sevgi DURNA'ya; her türlü destekleri ile beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca bu tez çalışmamın yürütülmesinde araç-gereç ve maddi olanak sağlayan S.Ü. B.A.P Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET iii
ABSTRACT iv
ÖNSÖZ v
İÇİNDEKİLER vi
ŞEKİLLER DİZİNİ vii
ÇİZELGELER DİZİNİ viii
RESİMLER DİZİNİ ix
SİMGELER ve KISALTMALAR x
1. GİRİŞ ..... - 1 -
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI ..... - 2 -
2.1. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamit Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) ..... - 2 -
2.2. SDS-PAGE Tekniği ve Rorippa Scop. cinsi ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalar - 4 -
2.3. Rorippa Scopoli cinsinin özellikleri ..... - 6 -
2.3.1. *Rorippa austriaca* ..... - 8 -
2.3.2. *Rorippa amphibia* ..... - 8 -
2.3.3. *Rorippa thracica* ..... - 10 -
2.3.4. *Rorippa icarica* ..... - 11 -
2.3.5. *Rorippa islandica* ..... - 11 -
2.3.6. *Rorippa sylvestris* ..... - 12 -
2.3.7. *Rorippa aurea* ..... - 13 -
2.3.8. *Rorippa* x *armoracioides* (*Rorippa austriaca* x *sylvestris*) ..... - 14 -
3. MATERYAL ve METOD ..... - 15 -
3.1. Çalışma Materyali ..... - 15 -
3.2. SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat – Poliakrilamait Jel Elektroforezi) Çalışmaları ..... - 16 -
3.2.1. Tampon ve çözeltiler ..... - 16 -
3.2.2. Sterilizasyon ..... - 17 -
3.2.3. Tohumdan depo protein ekstraksiyonu (izolasyonu) ..... - 17 -
3.2.4. Protein derişiminin belirlenmesi ..... - 17 -
3.2.5. Jelin hazırlanması ..... - 18 -
3.2.6. Proteinlerin elektroforezi ..... - 19 -
3.2.7. Veri analizi ve istatistikler ..... - 20 -
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA ..... - 21 -
5. SONUÇ ve ÖNERİLER ..... - 29 -
6. KAYNAKLAR ..... - 31 -

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. 7 *Rorippa* taksonu ile dış grup olan 1 *Barbarea* taksonuna ait olan 10 örnekten UPGMA yöntemi vasıtasıyla SDS-PAGE ile elde edilen dendogram... - 24 -
Şekil 4.2. *Rorippa* ve dış grup olan *Barbarea* taksonlarının tohum proteinlerinin elektroforetik bantlanma profilleri ..... - 26 -

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. SDS-PAGE analizlerinde kullanılan bitki örnekleri ve lokaliteleri.. - 15 -
Çizelge 3.2. SDS-PAGE analizlerinde kullanılan tampon ve çözeltiler. ..... - 16 -
Çizelge 4.1. SDS-PAGE analizlerinde kullanılan örnekler ve lokaliteleri (stok no dahil). ..... - 21 -
Çizelge 4.2. SDS-PAGE analizlerinde oluşturulan ikili (binary;1/0) matris. ..... - 22 -
Çizelge 4.3. *Rorippa* ve dış grup olan *Barbarea* taksonlarının protein profilleri sonucu elde edilen Jaccard Genetik Benzerlik değerleri..... - 27 -

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1. Protein ekstraktlarının jele yüklenmesi..... - 18 -
Resim 3.2. Proteinlerin elektroforezi. ..... - 19 -

SİMGELER ve KISALTMALAR

Kısaltmalar	Açıklama
AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizimi
APS	Amonyum Persülfat
ISSR	Basit Dizi Tekrarları Arası
ITS	Transkribe Edilen Ara Bölgeler
kDa	Kilodalton
µl	Mikrolitre
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
rpm	devir/dakika
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi
TCA	Triklorasetik Asit
TEMED	N,N,N,N – Tetrametiletilendiamin
Tris	Tris (hidroksimetilaminometan)
UPGMA	Unwieghted Pair-Group Method Arithmetic Average
V	Volt
µ	Mikron

1. GİRİŞ

Çalışma materyalini oluşturan *Rorippa* Scopoli cinsi Brassicaceae familyası içinde yer almaktadır. Brassicaceae (Cruciferae) veya hardalgiller familyası, yaklaşık 338 cins ve 3709 tür ile Antarktika hariç bütün kıtalarda dünya çapında yayılış gösteren monofiletik bir gruptur (Al-Shehbaz ve ark., 2006; Koch ve Kiefer, 2006). Türkiye, Brassicaceae familyasına ait tür sayısı bakımından dünyadaki en zengin ülkelerden biridir. Ülkemiz (92 cinste 583 tür), Brassicaceae familyasının 61 cinste 653 türünün yayılış gösterdiği Amerika Birleşik Devletleri'nden sonra ikinci sıradadır (Al-Shehbaz ve ark., 2007). Brassicaceae familyası ekonomik açıdan önemli olan birçok bitki ihtiva etmektedir. Belki de son yıllarda, çiçekli bitkiler için model organizma olan *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh türü ile daha çok tanınmaktadır (Al-Shehbaz ve ark., 2006).

Rorippa Scopoli cinsinin tüm dünyada yaklaşık 87 türü olduğu bilinmektedir (Warwick ve ark., 2006). *Rorippa*, Brassicaceae familyasının Türkiye'de bulunan 92 cinsinden birisidir. Bu cinsin, Türkiye'den kaydedilen 7 türü mevcuttur (Coode ve Cullen, 1965).

Bu çalışmada, Türkiye'de yayılış gösteren 7 *Rorippa* türüne ait 9 popülasyonun ve dış grup olarak kullanılan 1 *Barbarea* taksonuna ait bir popülasyonun türler arası ve tür içi genetik benzerlikleri SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamit Jel Elektroforezi) yöntemi ile belirlenerek taksonlar arası fenetik ilişkilerin ve bu cinsteki bazı taksonomik problemlerin çözüme kavuşturulması hedeflenmiştir. Ayrıca, bu çalışma sonucunda Türkiye sınırları içinde doğal olarak yayılış gösteren tüm *Rorippa* Scopoli türlerinin SDS-PAGE yöntemi ile fenetik analizleri ilk kez araştırılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamit Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)

Doğada en çok bulunan ve en önemli makromolekül gruplarından biri proteinlerdir. Hücrede pek çok işlev binlerce farklı tipte protein molekülü tarafından yürütülür. Proteinler besin kaynağı olarak kullanılmasının yanı sıra organizmayı tanımlayıcı yapısal bilgileri sunan moleküllerdir. Bu bilgilere ulaşmak ise proteinlerin bir elektrik alana bırakıldığında, net bir yüke sahip olmalarından dolayı bir elektrota ya da diğerine doğru hareket etme prensibine dayanan ve elektroforez olarak bilinen yöntemle mümkündür. Bu yöntem proteinlerin analizinde ve ayrılmasında geniş çapta kullanılır. Proteinlerin elektroforetik ayrımında genelde en iyi ayrışımın sağlandığı poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) tekniği uygulanır (Temizkan ve Arda, 2004).

Pek çok türün tohum depo proteinleri moleküler sistematik çalışmalarında 1960'lardan beri kullanılmaktadır. Tohum protein profilleri genetik homolojinin moleküler seviyede araştırılmasında, taksonomik, fenetik ve filogenetik (soyoluş) problemlerin çözülmesinde kullanılan bir tekniktir (Singh ve ark., 1991).

Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) bitki koleksiyonlarının genetik yapısını tanımlamadaki kolaylığı ve geçerliliği nedeniyle oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir. Tohum depo proteinleri tür içi ve türler arası genetik çeşitliliğin analizinde, genetik kaynakların korunması ve ıslah çalışmalarında, genom ilişkilerinin belirlenmesinde, mahsullerin geliştirilmesinde genetik belirteç (marker) olarak kullanılmaktadır. Elektroforezle elde edilen tohum depo protein profilleri pek çok türün taksonomik ve evrimsel problemlerini çözmekte kullanılmaktadır. Çünkü elde edilen bant örüntüleri (desenleri) her tür için özel ve

doğrudan doğruya genotipe bağlıdır. Tohum depo proteinlerinin elektroforezinin geleneksel morfolojik yaklaşımlara göre avantajı, gelişme mevsimlerinden bağımsız olması, bitkilerin yetiştirilmesine gerek olmaması, materyalin tüm yıl boyunca elde edilebilir olması, hızlı analiz edilebilmesi, saklanmasındaki kolaylıklar ve ihtiyaç duyulan örneğin az olmasıdır (Babaoğlu ve ark., 2004).

SDS (Sodyum dodesil sülfat) anyonik bir deterjan olup iki amino asitte bir peptit zincirine bağlanarak protein moleküllerini oluşturan alt birimleri birbirinden ayırır. Ayrıca (-) yük taşıdığından peptitlere de yüksek oranda (-) yük kazandırır. Böylece elektrik yükü açısından karışım içerisindeki bütün protein molekülleri eşit duruma getirilir. Jel konsantrasyonu (derişimi) artırılarak protein moleküllerinin molekül ağırlıklarına göre ayrışmaları sağlanır. SDS-PAGE hızlı, duyarlı ve geniş çapta kullanılan bir tekniktir. Bu teknik bir protein örneğinin saflık derecesini belirlemek, bilinmeyen bir proteinin molekül kütlesini hesaplamak ve bir protein içindeki polipeptid alt birimlerinin sayısını ortaya çıkarmak üzere kullanılabilir (Tutar ve ark., 2010).

Poliakrilamid jel elektoroforez tekniğinde destek ortamı olan poliakrilamid, akrilamid monomerlerinin çapraz bağlayıcı moleküller (N,N'-metilen-bis-akrilamid) yardımıyla kovalent olarak bağlanmasından oluşan bir polimerdir. Polimerizasyon başlatıcı olarak amonyum persülfat kullanılırken TEMED (N,N,N',N'-tetrametilenetilendiamin) ise katalizör olarak görev yapar. Jeldeki porların büyüklüğü polimerizasyona giren akrilamid konsantrasyonuyla orantılıdır. Konsantrasyon arttıkça porların çapı daralmaktadır. Bu yüzden çalışılan protein molekülünün ağırlığına bağlı olarak jelin akrilamid konsantrasyonu ayarlanmaktadır. Bu teknikte proteinleri denatüre etmek için genellikle negatif yüklü sodyum dodesil sülfat kullanılmaktadır. SDS molekülleri proteinin tersiyer (üçüncül) ve kovalent yapısını belirleyen bütün kovalent bağları koparark proteinleri denatüre eder ve ayırım için bir faktör olan şekil elimine edilmiş olur. Proteine bağlanacak olan SDS moleküllerinin sayısı proteinin molekül ağırlığına bağlıdır. Sonuç olarak her protein şekli hesaba katılmaksızın eşit yük yoğunluğuna sahip olur ve jel üzerinde eşit güce maruz kalır. Bununla beraber akrilamid yüksek oranda polimerize olduğundan dolayı

büyük protein molekülleri küçük proteinlere göre jelde daha üst seviyede tutulurlar. Sonuç olarak proteinler moleküller ağırlıklarına göre ayrılmış olurlar (Aslan, 2004).

2.2. SDS-PAGE Tekniği ve *Rorippa* Scop. cinsi ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalar

Kamel *ve ark.* (2003), Mısır'da yayılış gösteren 10 cins ve 13 türü temsil eden 17 Brassicaceae familyası taksonunun arasındaki genetik uzaklığı SDS-PAGE ile belirlemişlerdir.

Babaoğlu *ve ark.* (2004), Türkiye'de yetişen ve nikel metalini yaprakta biriktirme özelliği nedeni ile ekolojik değeri olan bazı *Alyssum* L. (Brassicaceae) türleri arasındaki genetik uzaklıkları RAPD-PCR ve SDS-PAGE yöntemleri ile belirlemiştir.

Mukhlesur ve Hirata (2004), Bangladeş, Japonya, Çin ve Danimarkadan topladıkları *Brassica rapa, B. juncea, B. napus, B. carinata, B. oleracea* ve hekzaploid *Brassica*'nın 85 farklı kültürünün -genetik kaynakların değerlendirilmesi için polimorfik genetik belirteçleri (markerları; işaretleyicileri) tanımlamak üzere- SDS-PAGE vasıtasıyla tohum ve yaprak proteini varyasyonlarını incelemişlerdir.

Rorippa ilk olarak Joannes Scopoli tarafından kısa bir cins teşhisiyle 1760 yılında '*Flora Carniolica*' adlı eserin birinci cildinde yayınlanmıştır (Scopoli, 1760). Scopoli bu eserde ikili (binomial) adlandırma kullanmamış ve üç türü adlandırmıştır.

Jonsell (1964) İskandinavya'daki *Rorippa sylvestris* türünün kromozom sayıları hakkında araştırmalarda bulunulmuştur. Jonsell (1968) Kuzey-Batı Avrupa'da yayılış gösteren *Rorippa* türlerini morfolojik, sitolojik, anatomik, palinolojik yönden incelemiştir. Daha sonra ise yine Bengt Jonsell; Doğu Sibirya ve Uzak Doğu Sovyetler'deki *Rorippa* türlerini incelemiştir (Jonsell, 1971); Güney S.S.C.B'deki *Rorippa* türlerininin taksonomi ve yayılışı üzerine herbaryumlara bağlı

kalarak incelemelerde bulunmuştur (Jonsell, 1973); daha sonra ise Tropik Afrika ve Madagaskar'daki *Rorippa* türlerini revize etmiştir (Jonsell, 1974).

Stuckey (1966) Kuzey Amerika'da ki *Rorippa sylvestris* türünün yayılışı hakkında bir çalışma yapmıştır. Stuckey (1972) Kuzey Amerika'da çeşitlilik gösteren *Rorippa* türlerini taksonomi ve dağılış bakımından incelemiştir.

Jarolimova (1998) Çek Cumhuriyeti'ndeki bazı *Rorippa sylvestris* popülasyonlarında sitolojik çalışmalarda bulunmuştur. Yine Jarolimova (2005) *Rorippa* cinsi üzerinde deneysel melezleme çalışmalarında bulunarak cins içindeki interspesifik (türler arası) melezleşme hakkında katkılarda bulunmuştur.

Anchev ve Tomsovic (1999) Balkan Yarımadası'nda bulunan *Rorippa pyrenaica* grubu (*R. pyrenaica, R. lippizensis* ve *R. thracica*) üzerinde coğrafi yayılış, sitoloji, polinasyon ve tohum morfolojisi üzerinde çalışmalarda bulunmuşturlar.

Sheridan ve arkadaşları (2001) ülkemizde bulunmayan ve salata sebzesi olarak kullanılan *Rorippa nasturtium-aquaticum* ile bu türün akraba taksonları arasındaki genetik çeşitliliği RAPD-PCR tekniği ile araştırmıştır.

Alman bilim adamı Walter Bleeker bu güne kadar *Rorippa* cinsi üzerinde bir kaç makale yayınlamıştır: Bleeker ve Hurka (2001) *Rorippa amphibia*, *R. palustris* ve *R. sylvestris* türleri arasındaki introgressif melezleşme mekanizmalarını kloroplast DNA'sı ve izozimleri moleküler belirteç olarak kullanarak araştırmışlardır ve cins içindeki ekotopik farklılaşma, introgresyon ve evrimsel mekanizmalar hakkında yaklaşımlarda bulunmuşturlar; Bleeker ve arkadaşları (2002) *Rorippa* cinsi üzerinde kloroplast DNA varyasyonunu belirteç (marker) olarak kullanarak Afrika, Asya, Avustralya, Avrupa ve Kuzey Amerika'dan toplanan *Rorippa* türleri üzerinde biyocoğrafya ve filogenetik akrabalıklar açısından araştırma yapmışlardır; Bleeker (2003) Almanya'da ki *Rorippa austriaca* ve *Rorippa sylvestris* popülasyonlarını ve bahsedilen türler arasında melez bir tür olan *R.* x *armoracioides* popülasyonlarını

melezleşme mekanizmaları bakımından kloroplast DNA'sı ve AFLP belirteçleri ile incelemiştir. Bu çalışmada varılan en önemli sonuç ise ebeveyn türleri olmaksızın yayılış gösteren *R.* x *armoracioides* popülasyonlarının varlığının kanıtlanması ve *Rorippa austriaca* ve *Rorippa sylvestris* arasındaki melezleşmenin yeni bir istilacı tür olan *R.* x *armoracioides*'in evrimleşmesine yol açmış olabileceğidir; Bleeker (2004) *Rorippa amphibia* ve *Rorippa sylvestris* popülasyonları ile bunların arasında melez olan *R.* x *anceps* popülasyonları arasında melezleşme ve melez uyum mekanizmalarını izozimleri belirteç olarak kullanarak incelemiştir; Bleeker ve Matthies (2005) Almanya'daki istilacı *Rorippa austriaca* ve yerli *Rorippa sylvestris* türlerinin melez bölgelerdeki popülasyonlarını AFLP ve Kloroplast DNA'sı belirteçleri ile incelemiştirler ve doğal melezleşme mekanizmalarının evrimsel önemine vurgu yapmışlardır.

Klimesova ve arkadaşları (2004) ülkemizde bulunmayan *Rorippa palustris* türünün taksonomik durumunu, morfolojisini, ekolojisini, yayılışını, hayat döngüsünü, popülasyon biyolojisini ve genetiğini içeren çok kapsamlı bir derleme makale yayınlamıştır.

Stift ve arkadaşları (2006) *Rorippa amphibia* ve *Rorippa sylvestris* türlerinde 12 polimorfik mikrosatellit lokusu için yüksek derecede korunmuş primerler geliştirmişlerdir.

Luttikhuizen ve arkadaşları (2007) diploid ve tetraploid *Rorippa amphibia* popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği mikrosatellit DNA belirteçleri ile araştırmışlardır.

2.3. *Rorippa* Scopoli cinsinin özellikleri

Tek yıllık, iki yıllık veya çok yıllık, stolonlu veya stolonsuz otsu bitkiler. Bitki tüysüz veya basit tüylü. Gövde dik, yükselici, askending, sürünücü veya

sürünücü-uçta yükselici, basit veya dallanmış, düz, striat, hollow (içi boş) veya değil. Yapraklar değişik şekillerde, çok değişken, stipulsuz, basit, düz, dişli, loblu, pinnat, pinnatifit-pinnatisekt, taban yaprakları genellikle uzun veya kısa petiyollü, tüylü veya tüysüz, lamina basit veya parçalı, parçalı ise pinnatifit veya pinnatisekt, petiyol genellikle kanatlı değil, ancak bazen hafifçe kanatlı. Üst yapraklar genellikle petiyolsüz bazen petiyollü, küçük veya büyük kulaçlıklı, düz, dişli, pinnatifit veya pinnatisekt, kulakçıksız veya kulakçıklı, kulakçıkların uç kısmı tüylü. Çiçek durumu rasem (rasemoz), braktesiz. Gövde dallanmış veya dallanmamış, dallanmış ise tabandan veya üstten dallanmış şekilde. Sepaller 4, yeşilimsi veya açık sarımsı-yeşil, oblong, ovat-lanseolat, kenarları genellikle şeffaf zarsı, içteki iki tane tabanda hafifçe sakkat veya değil, dıştaki iki tane düz, genellikle tepede başçıklı. Petaller 4, sepaller ile alternat dizilişli, sarı, kuruduğu veya meyveye geçmeye başladığı anda bazen kremsi-beyazımsı, genellikle klavlı. Filamentler appendajsız, tabana doğru hafifçe genişler veya tabanda kanatlı. Stamenler 6, 2 halkada dizili, tetradinam; anterler sarı ve boyuna bir yarıkla açılır. Nektar bezleri reseptakular. Pistil iki karpelli, yalancı bir septumla bölünmüş sinkarp ovaryumlu. Meyve iki kapaklı kapsül, globoz'dan linear'a kadar, yani silikva veya silikula. Meyve genellikle silindirik, düz, pürüzsüz veya bazen hafifçe toruloz, olgunlaştığında açık veya koyu kahverengi. Stilus 1, belirgin, farklı uzunluklarda, stigma genellikle kapitat ve hafifçe iki loblu. Tohumlar elips, oblong, kordat, ovat, koyu kırmızı-kahverengimsi, kahverengi tonlarında veya kırmızımsı kahverengi, retikulat, tohumlar her bir lokulusta genellikle iki sıralı, bazen tek sıralı veya sub-biseriat.

Türkiye'de 7 taksonla temsil edilen bu cinsin türleri, genellikle sulu, nemli, yarı nemli ve akıntılı ortamlarda yetişmektedir. Genel yapı olarak sulu ve bol nemli ortamları tercih etmektedir.

2.3.1. *Rorippa austriaca* (Crantz) Besser, Enum. Pl. Volhyniae, 103 (1822). (Roripa olarak yayınlanmıştır).

Stolonlu çok yıllık otsu, bazen stolonlardan ek sürgünler çıkar. Gövde askending-suberekt (nadiren erekt), oluklu (furrowed), ± tüysüz, genellikle üst kısımlardan dallanmış, 1.2-7.0 mm çapında, 102 cm'ye kadar uzunlukta. Yapraklar hepsi basit, lobsuz, düz veya serrat dişli genellikle petiyolsüz, nadiren alt ve orta gövdede petiyollü, ± tüysüz, çoğunlukla kulakçıklı: Alt gövde yaprakları 3.5-14.0 cm x 0.9-3.0 cm, petiyoller 4.5 cm uzunluğa kadar; Orta gövde yaprakları 3.0-17 cm x 0.3-4.0 cm, petiyoller 7 cm uzunluğa kadar; Üst gövde yaprakları 1.5-4.0 cm x 0.2-1.1 cm, genellikle petiyolsüz veya nadiren çok kısa petiyollü. İnfloresens yukarıda ve üst yaprakların koltuklarında bir rasem, rasem çok sayıda, braktesiz, 1.0-11.0 cm boyunda, genellikle sıkı. Sepaller 2.53-3.47 mm x 1.37-2.08 mm, oblong, genellikle tabanda trunkat, tüysüz ve yeşil-sarımtırak yeşil. Petaller 3.44-4.73 mm x 1.75-2.52 mm, tüysüz, spatulat veya obovat, sarı veya parlak sarı, sepallerden daha uzun. Kısa filamentler 1.46-2.49 mm, uzun filamentler 1.83-2.93 mm, anterler 0.95-1.46 mm, pediseller 4.72-9.01 mm, ovaryum boyu 1.04-1.40 mm, küresel (globoz), stilus boyu 0.62-1.29 mm, stigma boyu 0.27-0.54 mm, genellikle kapitat. Silikula az tohumlu, küresel (globoz), olgun meyveler 2.10-4.31 mm x 1.50-3.00 mm, meyve pediselleri 7.12-15.11 mm, tüysüz, yatay-askending, mevyede stilus 0.81-1.30 mm uzunluğunda. Tohumlar her lokulusta genellikle iki sıralı veya tek sıralı, 0.6-0.8 x 0.7-0.9 mm, elips, kırmızımsı kahverengi.

2.3.2. *Rorippa amphibia* (L.) Besser, Enum. Pl. Volhyniae, 27 (1822). (Roripa olarak yayınlanmıştır).

Çok yıllık nadiren stolonlu otsu. Gövde prostrat-erekt, dallanmış, yüzeysel veya su altına batmış prostrat olan ve köklenen alt gövde kısımlarından yeni aksillar sürgünler çıkar, içi boş (hollow), oluklu (furrowed), sağlam yapılı, ± tüysüz, 3.11-22.03 mm çapında, 153 cm'ye kadar uzunlukta. Yapraklar farklılaşma göstermekte,

gövdenin üst kısmında lobsuz, eliptik-oblanseolat, nadiren lirat benzeri (liriform), basit, serrat veya dentat dişli, genellikle kulakçıksız, nadiren çok küçük kulakçıklı, tüysüz. Alt ve orta gövde de pinnat, pinnatisekt-pinnatifit, tüysüz: Alt ve orta gövde yaprakları 0.6-3.5 cm x 0.5-4.5 cm, petiyollü, petiyoller 14 cm uzunluğa kadar, 9-16 çift lateral loblu, lateral ve terminal loblar su içinde ve yüzeyinde çok fazla parçalanmış; Üst Gövde Yaprakları 0.3-1.3 cm x 2.1-8.0 cm, genellikle sesil, nadiren petiyollü, varsa petiyoller 0.8 cm uzunluğa kadar (ekolojik varyasyon gösterdiğinde petiyoller 4.5 cm uzunluğa kadar çıkabilmekte). İnfloresens yukarıda ve üst yaprakların koltuklarında bir rasem, rasem çok sayıda, braktesiz, 0.6-11 cm boyunda, genellikle uzamış ve dağınık. Sepaller 2.88-3.64 mm x 1.20-2.63 mm, oblong, genellikle tabanda turunkat, tüysüz ve yeşil-sarımtırak yeşil. Petaller 3.12-6.0 mm x 1.70-3.36 mm, tüysüz, spatulat veya obovat, sarı veya parlak sarı, sepallerden daha uzun. Kısa filamentler 1.86-2.84 mm, uzun filamentler 2.10-3.35 mm, anterler 0.75-2.10 mm, pediseller 0.9-11.72 mm, ovaryum boyu 1.2-2.3 mm, yumurtamsı (ovoid), stilus boyu 0.75-1.62 mm, stigma boyu 0.30-0.66 mm, genellikle kapitat. Silikula az tohumlu, yumurtamsı (ovoid), olgun meyveler 2.82-6.0 mm x 1.0-3.0 mm, meyve pediselleri 8.54-14.69 mm, tüysüz, mevyede stilus 1.20-2.25 mm uzunluğunda. Tohumlar her lokulusta genellikle iki sıralı veya tek sıralı, bazen sub-biseriat, boyutları ve şekilleri büyük farklılık göstermekte, elips olanlarda boyut 0.6-0.8 x 0.7-0.9 mm, kırmızımsı kahverengi, oblong olanlarda boyut 0.5-0.65 x 0.8-0.95 mm, kırmızımsı kahverengi.

Bu çalışmada *Rorippa behcetii* A. İlçim türü *R. amphibia*'nın sinonimi olarak değerlendirilmiştir. Çünkü İlçim (2008) tarafından yeni tür olarak tanımlanan *Rorippa behcetii* türünün morfolojik olarak incelenmesi sonucunda bu türün *R. amphibia*'nın ekolojik varyasyonlarıyla aynı özellikleri gösterdiği tespit edilmiştir (Bağcı ve Tutar, 2010). Ayrıca bu çalışmada SDS-PAGE ile tohum protein profillerinin elde edilmesi sonucunda da bahsedilen türün *R. amphibia*'dan farklı bir tür olmadığı ortaya çıkarılmıştır ve bu sonuçlar morfolojik sonuçlarla tutarlıdır (bkz. Bölüm 4).

2.3.3. *Rorippa thracica* (Griseb.) Fritsch in Verh. K. K. Zool. Bot. Ges. Wien, 44: 317 (1895).

Çok yıllık, zayıf yapılı ve genellikle stolonsuz, bazen stolonlu otsular. Gövde tabandan itibaren basit veya orta kısımdan itibaren dallanmış, genellikle erekt veya patent, genellikle tüylü, 0.47-2.13 mm çapında, 55 cm'ye kadar uzunlukta. Yapraklar değişken yapıda, rozet yapraklar basit ve dentat dişli, lirat, pinnat-pinnatifit, büyük terminal loblu ve dentat dişli, lateral loblar eliptik, düz veya nadiren dentat, piloz tüylü; gövde yaprakları çoğunlukla düzensizce pinnatisekt, nadiren pinnat, piloz tüylü, belirgin bir şekilde kulakçıklı, kulakçıklar tüylü, petiyollü, terminal ve lateral loblar linear, akut: Taban Yaprakları ± bariz bir rozet oluşturur, basit ve dentat dişli, lirat, pinnat-pinnatifit, 1.4-10.5 cm x 0.9-3.5 cm, genellikle petiyollü, petiyoller 3.8 cm uzunluğa kadar, terminal loblar 0.5-1.9 cm x 0.2-1.3 cm, 0-7 çift lateral loblu; Alt gövde yaprakları 2.0-12.0 cm x 0,7-4.0 cm, petiyoller 4.5 cm uzunluğa kadar, terminal loblar 0.5-2.0 cm x 0.1-1.2 cm, 0-6 çift lateral loblu; Orta gövde yaprakları 0.4-8.0 cm x 0.8-3.2 cm, petiyoller 6.0 cm uzunluğa kadar, 2-6 çift lateral loblu, terminal loblar 0.4-2.6 cm uzunluğunda ve 0.1 cm veya daha ince genişlikte; Üst gövde yaprakları 0.5-3.0 cm x 0.5-2.9 cm, petiyoller 0.9 cm uzunluğa kadar, 1-2 çift lateral loblu, terminal loblar 0.4-2.1 cm uzunluğunda ve 0.1 cm veya daha ince genişlikte. İnfloresens rasem, braktesiz, 0.4-10 cm boyunda. Sepaller 2.20-3.01 mm x 0.80-1.42 mm, eliptik-oblong, genellikle tabanda trunkat, tüysüz ve açık yeşil-sarımtırak yeşil. Petaller 3.13-4.06 mm x 1.24-2.10 mm, tüysüz, spatulat veya obovat, sarı-parlak sarı, sepallerden daha uzun. Kısa filamentler 0.90-2.61 mm, uzun filamentler 1.22-3.09 mm, anterler 0.82-1.34 mm, pediseller 2.75-7.25 mm, ovaryum boyu 1.51-2.93 mm, stilus boyu 0.56-1.59 mm, stigma boyu 0.26-0.45 mm, genellikle kapitat. Silikva genişçe veya darca elipsoid-linear, olgun meyveler 6.19-10.90 mm x 0.50-1.06 mm, meyve pediselleri 3.41-7.30 mm, tüysüz, mevyede stilus 0.61-1.06 mm uzunluğunda. Tohumlar her lokulusta genellikle iki sıralı veya tek sıralı, 0.8-1.0 x 0.8-1.0 mm, sferoidal, koyu kırmızı-kahverengi, retikulat.

2.3.4. *Rorippa icarica* Rech. fil. in Österr. Bot. Zeitschr. 85: 56 (1936).

Derlenen Literatür: Coode & Cullen (1965); Jonsell (2002).

Çok yıllık, stolonsuz otsular. Gövde basit veya tabandan itibaren dallanmış, sağlam yapılı, genellikle erekt veya az çok zig zag yapıp eğilmiş, tamamıyla tüysüz, 20 cm'ye kadar uzunlukta. Rozet Yapraklar az çok etli, eliptik veya lirat-pinnatisekt, hemen hemen dişsiz-krenulat veya dentat dişli, belirgince petiyollü, petiyoller ayaya eşit veya kısa. Gövde Yaprakları 1.5-3.0 cm uzunluğunda, kulakçıklı, 2-6 çift lateral loblu, loblar linear, obtus, düz. Meyve durumu rasemi oldukça gevşek, pediseller 5-15 mm. Sepaller 3.0-3.5 mm uzunluğunda, eliptik, soluk kahverengi-yeşil. Petaller 3.5-4.5 mm uzunluğunda. Silikva linear, 15-42 mm x 1.2 x 2.0 mm, stilus 1.0-1.8 mm uzunluğunda. Tohumlar 1.3-1.7 mm, koyu kırmızı-kahverengi, retikulat.

2.3.5. *Rorippa islandica* (Oeder) Borbas, A Balaton Floraja, 2: 392 (1900).

Genellikle bir yıllık veya iki yıllık otsu. Gövde içi boş (hollow), çiçeklenmiş gövde nadiren dik, genelde askending-dekumbens, basit veya dallanmış, 87 cm'ye kadar, genellikle tüysüz veya aşağıda seyrekçe piloz tüylü. Yapraklar lirat-pinnatifit'den pinnatisekte kadar, dar terminal loblu, 0-6 çift lateral loblu, loblar hafifçe dişli-düz, genellikle küçük kulakçıklı, kulakçıklar tabanda hafifçe tüylü veya tüysüz ve kısa: Alt gövde yaprakları 1.9-12.5 x 1.1-4 cm, petiyollü, petiyoller tüysüz, 3.8 cm uzunluğa kadar, derince pinnatisekt, 3-5 çift lateral loblu, terminal loblar 0.5-3.2 x 0.3-2.5 cm; Orta gövde yaprakları pinnatifit-pinnatisekt 2-10 x 1-3.5 cm, 0-6 çift lateral loblu, terminal loblar 0.9-3 x 0.6-1.6 cm; Üst gövde yaprakları genellikle lirat-pinnatifit veya lirat-pinnatisekt, 1.2-4.6 x 0.4-2.1 cm, 0-5 çift lateral loblu, terminal loblar 0.3-1.9 x 0.4-1.2 cm; yan sürgünlerden çıkan yapraklar genellikle basit. İnfloresens rasem, rasem az veya çok sayıda, meyvede iken genellikle belirgin bir düzlemde ve eksenden dikey derecede yayık konumda, 1.0-16.5 cm boyunda, braktesiz. Sepaller 1.33-2.14 mm x 0.44-0.72 mm, oblong, genellikle tabanda trunkat, tüysüz ve yeşil-koyu yeşil. Petaller 1.12-2.01 mm x 0.30-0.83 mm, tüysüz,

açık sarı-sarı, genellikle sepallerden kısa veya eşit. Kısa filamentler 1.15-1.30 mm, uzun filamentler 1.4-2.0 mm, anterler 0.25-0.53 mm, pediseller 1.35-2.80 mm, ovaryum boyu 1.08-1.45 mm, stilus boyu 0.16-0.35 mm, stigma boyu 0.15-0.30 mm, genellikle kapitat. Silikva çok tohumlu, oblong-ovoid, olgun meyveler 3.0-9.0 x 1.0-3.0 mm, olgunlaştığında koyu kahverengi, meyve pediselleri 3.07-7.26 mm, patent-askending, bazen geriye kıvrık, genellikle tüysüz, valfler çok ince, genellikle pediselin bağlanma yerinden açılır, replum genellikle kalıcı, mevye stilusu 0.15-0.63 mm uzunluğunda. Tohumlar her lokulusta (gözde) genellikle iki sıralı, 0.40-0.55 x 0.5-0.7 mm, elips veya kordat, açık kahverengi.

2.3.6. *Rorippa sylvestris* (L.) Besser, Enum. Pl. Volhyniae, 27 (1822). (Roripa olarak yayınlanmıştır).

Stolonlu çok yıllık otsu, çoğunlukla stolonlardan ek (adventif) sürgünler çıkar. Gövde dekumbens, askending, prostrat veya suberekt (nadiren erekt), oluklu (furrowed), ± tüysüz, hemen hemen tabandan itibaren dallanmış veya nadiren basit, 0.50-5.0 mm çapında, 80 cm'ye kadar uzunlukta. Yapraklar derince pinnatisekt, çok nadir olarak gövdenin alt ve üst kısımlarında basit ve düz, petiyollü, petiyoller tüysüz, yaprak lobları oblong, lanseolat, sublinear, veya nadiren eliptik veya ovat, genellikle dentat veya serrat dişli, nadiren düz, ± tüysüz, genellikle kulakçıksız veya varsa çok küçük kulakçıklı: Alt gövde yaprakları 1.5-10.5 cm x 0,5-4.5 cm cm, petiyoller 4.5 cm uzunluğa kadar, terminal loblar 0.5-4.0 cm x 0.2-2.0 cm, 0-7 çift lateral loblu; Orta gövde yaprakları derince pinnatisekt 0.4-13 cm x 0.5-6.0 cm, petiyoller 5.5 cm uzunluğa kadar, 0-7 çift lateral loblu, terminal loblar 0.5-4.0 cm x 0.1-2.1 cm; Üst Gövde Yaprakları genellikle derince pinnatisekt veya nadiren tam, 1.0-5.0 cm x 0.5-3.3 cm, petiyoller 1.1 cm uzunluğa kadar, 0-5 çift lateral loblu, terminal loblar 0.5-3.5 cm x 0.1-0.9 cm. İnfloresens rasem, rasem çok sayıda, braktesiz, 0.7-22 cm boyunda. Sepaller 1.71-3.46 mm x 0.58-2.17 mm, oblong, genellikle tabanda trunkat, tüysüz ve yeşil-sarımtırak yeşil. Petaller 2.16-5.0 mm x 0.53-2.32 mm, tüysüz, spatulat veya obovat, açık sarı veya parlak sarı, sepallerden

daha uzun. Kısa filamentler 0.72-2.51 mm, uzun filamentler 0.96-3.21 mm, anterler 0.47-1.6 mm, pediseller 2.06-14.04 mm, ovaryum boyu 1.3-3.1 mm, stilus boyu 0.25-0.90 mm, stigma boyu 0.11-0.65 mm, genellikle kapitat. Silikva genellikle az tohumlu, linear veya nadiren oblong-linear, çoğu zaman kıvrık, olgun meyveler 6.52-18.0 mm x 0.71-1.51 mm, bazen döllenmemiş steril ovaryum içerir, meyve pediselleri 4.50-12.0 mm, tüysüz, mevyede stilus 0.30-1.0 mm uzunluğunda. Tohumlar her lokulusta genellikle iki sıralı veya tek sıralı, boyutları ve şekilleri büyük farklılık göstermekte, kordat olanlarda boyut 0.35-0.50 mm x 0.45-0.60 mm, kırmızımsı kahverengi, oblong veya ovat olanlarda boyut 0.35-0.55 mm x 0.35-0.60 mm, kırmızımsı kahverengi.

2.3.7. *Rorippa aurea* (Boiss. & Heldr.) Hub.-Mor. in Feddes Rep. 52: 189 (1943).

Stolonlu çok yıllık otsu, çoğunlukla stolonlardan ek (adventif) sürgünler çıkar. Gövde dekumbens, askending, prostrat veya suberekt (nadiren erekt), oluklu (furrowed), ± tüysüz, hemen hemen tabandan itibaren dallanmış veya nadiren basit, 0.66-3.98 mm çapında, 63 cm'ye kadar uzunlukta. Yapraklar derince pinnatisekt, çok nadir olarak gövdenin alt ve üst kısımlarında basit ve düz, petiyollü, petiyoller tüysüz, yaprak lobları linear-lanseolat, genellikle düz (dişsiz) veya dalgalı, ± tüysüz, genellikle kulakçıksız: Alt gövde yaprakları 2.1-11 cm x 0,6-3.7 cm, petiyoller 4.0 cm uzunluğa kadar, terminal loblar 0.5-2.2 cm x 0.1-1.2 cm, 0-7 çift lateral loblu; Orta Gövde Yaprakları derince pinnatisekt 1.5-8.5 cm x 0.7-3.1 cm, petiyoller 3.8 cm uzunluğa kadar, 2-7 çift lateral loblu, terminal loblar 0.5-2.7 cm x 0.1-1.0 cm; Üst gövde yaprakları genellikle derince pinnatisekt veya nadiren basit ve düz, 1.0-4.8 cm x 0.3-2.2 cm, petiyoller 1.3 cm uzunluğa kadar, 1-4 çift lateral loblu, terminal loblar 0.5-2.5 cm x 0.1-0.4 cm. İnfloresens rasem, rasem çok sayıda, braktesiz, 0.8-15 cm boyunda. Sepaller 2.13-3.58 mm x 0.90-1.88 mm, oblong, genellikle tabanda trunkat, tüysüz ve sarı-sarımtırak yeşil. Petaller 3.05-6.45 mm x 1.40-2.80 mm, tüysüz, spatulat, obovat, altın sarısı veya koyu sarı, sepallerden daha uzun. Kısa filamentler

1.17-2.85 mm, uzun filamentler 1.55-3.61 mm, anterler 0.75-1.73 mm, pediseller 2.38-7.94 mm, ovaryum boyu 2.10-3.73 mm, stilus boyu 0.42-0.97 mm, stigma boyu 0.25-0.57 mm, genellikle kapitat. Silikva genellikle az tohumlu, linear veya nadiren oblong-linear, çoğu zaman kıvrık, olgun meyveler 4.04-7.96 mm x 0.87-1.60 mm, meyve pediselleri 3.61-8.79 mm, tüysüz, mevyede stilus 0.50-0.86 mm uzunluğunda. Tohumlar her lokulusta genellikle iki sıralı veya tek sıralı, 0.4-0.55 x 0.45-0.6 mm, ovat veya elips, kırmızımsı kahverengi.

2.3.8. *Rorippa* x *armoracioides* (*Rorippa austriaca* x *sylvestris*) (Tausch) Fuss, Fl. Transsilv. Exc., 47 (1866).

Stolonlu çok yıllık otsu, çoğunlukla stolonlardan ek (adventif) sürgünler çıkar. Gövde askending-suberekt, oluklu (furrowed), ± tüysüz, nadiren alt kısımlarda seyrek tüylü, genellikle tabandan itibaren dallanmış, 2.64-5.10 mm çapında, 84 cm'ye kadar uzunlukta. Yapraklar ebeveynlerinin karakteristikleri arasında çok değişken yapılar almakta, basit, lobsuz, derince serrat dişli veya pinnatifit-pinnatisekt, loblu, lateral loblar çok sayıda ve genellikle varsa 5 çiftten fazla, petiyollü veya petiyolsüz, genellikle gövdeyi saran kulakçıklı, nadiren kulakçıksız; Alt gövde yaprakları 3.0-8.0 cm x 0,6-2.1 cm, petiyoller 3 cm uzunluğa kadar; Orta gövde yaprakları 4.5-7.2 cm x 1.0-2.5 cm, petiyoller 2.2 cm uzunluğa kadar; Üst gövde yaprakları 2.3-3.5 cm x 0.4-1.2 cm, petiyoller 1.2 cm uzunluğa kadar. İnfloresens rasem, rasem çok sayıda, braktesiz, 2.5-8.0 cm boyunda. Sepaller 2.80-3.21 mm x 1.26-1.95 mm, oblong, genellikle tabanda trunkat, tüysüz ve yeşil-sarımtırak yeşil. Petaller 4.00-4.59 mm x 1.80-2.19 mm, tüysüz, spatulat veya obovat, sarı veya parlak sarı, sepallerden daha uzun. Kısa filamentler 2.07-2.39 mm, uzun filamentler 2.40-2.90 mm, anterler 01.30-1.39 mm, pediseller 4.04-6.08 mm, ovaryum boyu 1.86-1.88 mm, küresel-yumurtamsı, stilus boyu 0.87-1.11 mm, stigma boyu 0.40 mm, genellikle kapitat. Silikula küresel-yumurtamsı (globoz-ovoid), nadiren oblong, olgun meyveler 3.10-4.53 mm x 1.42-2.37 mm, meyve pediselleri 7.14-9.12 mm, tüysüz, yatay-askending, mevyede stilus 1.13-1.76 mm uzunluğunda.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Çalışma Materyali

Çalışma materyallerini aşağıda isim ve lokaliteleri belirtilen bitki örnekleri oluşturmaktadır (Çizelge 3.1). Örnekler özellikle bitkilerin çiçekli ve meyveli devrelerinde araziden elde edilmiştir. Her bitki örneğinin olgun tohumları bu çalışmada kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. SDS-PAGE analizlerinde kullanılan bitki örnekleri ve lokaliteleri.

Tür	Lokalite (adres)
Rorippa austriaca	A9 Kars: Sarıkamış, Karakurt Köyü, Mantaş Deresi, 40 10 203 K / 42 36 895 D, 1754 m, 10.07.2009, Bağcı 4071 & Tutar.
Rorippa austriaca	B7 Erzurum: Erzurum'a 15 km kala, Ilıca, Karasu deresi kenarları, nemli ve sulu yerler, 39 57 140 K / 41 04 355 D, 1752 m., 09.08.2009, Bağcı 4108 & Tutar.
Rorippa amphibia	C3 Konya: Beyşehir, Beyşehir Gölü kenarı, öğretmen evi karşısı, 1131 m, 37 40 143 K / 31 42 762 D, 18.07.2009, Bağcı 4094a & Tutar.
Rorippa amphibia	C6 Kahramanmaraş: Türkoğlu, Gavurgölü bataklığı, 24. 05. 2006, A. İlçim 1672, KNYA!
Rorippa thracica	A1:Lüleburgaz, Kuzulu yol sapımı, 41 51 595 K / 27 18 232 D, 534 m, 28.06.2009, Bağcı 4016 & Tutar;
Rorippa islandica	A7 Rize: Kalkandere, İyi deresi, Yeni Cezaevi karşısı, dere kenarları, kumlu, taşlı ve nemli yerler, 40 55 279 K / 40 24 918 D, 84-90 m, 12.07.2009, Bağcı 4091 & Tutar.
Rorippa sylvestris	C3 Konya: Seydişehir, Çatma kaya yolu, kuyu civarı, 1092 m, 37 17 342 K / 31 58 866 D, 18.07.2009, Bağcı 4093 & Tutar.
Rorippa aurea	C3:Eğirdir, Kovada Gölü, Nemli çayırlı yerler, Gölün batı kısmı, 38 05 347 K / 31 01 999 D, 1106 m, 18.07.2009, Bağcı 4095 & Tutar.
Rorippa x armoracioides	B7 Erzurum: Erzurum'a 15 km kala, Ilıca, Karasu deresi kenarları, nemli ve sulu yerler, 39 57 140 K / 41 04 355 D, 1752 m. 09.08.2009, Bağcı 4109 & Tutar.
Barbarea brachycarpa subsp. *brachycarpa* var. *ilicifolia*	C3 Konya: Seydişehir-Manavgat, Bozkır yol sapağı 4.km serpantin kayalı yerler karaçam açıklıkları, 1696-1700 m., 37° 13' 352" K – 31° 56' 160" D, 14.07.2009, Bağcı 4100, Savran ve Başköse

3.2. SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat – Poliakrilamait Jel Elektroforezi) Çalışmaları

3.2.1. Tampon ve çözeltiler

SDS-PAGE analizlerinde Çizelge 3.2'de belirtilen tampon ve çözeltiler kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. SDS-PAGE analizlerinde kullanılan tampon ve çözeltiler.

Tampon veya Çözeltinin İsmi	**İçeriği**	**Miktarı**
Ekstraksiyon tamponu:	1) 0.5 M Tris-HCI (pH:7,3), 2)%10 SDS, 3) 2-Merkaptoetanol, 4) %1 Üre, 5) 5 mM EDTA, 6) Ultra saf su.	1) 48.456 gr 2) 64.5 gr 3) 80 ml 4) 10 gr 5) 1.8712 gr 6) 700 ml
2X Örnek Uygulama Tamponu (pH: 6.8):	1) Tris, 2) SDS, 3) Gliserol, 4) 2-Merkaptoetanol, 5) Bromfenol mavisi, 6) Ultra saf su.	1) 2.5 ml 2) 4 ml 3) 2 ml 4) 1 ml 5) 0,02 gr 6) 10 ml'ye tamamlandı.
5X Tank Tamponu (pH: 8.3):	1) Tris, 2) SDS, 3) Glisin, 4) Ultra saf su.	1) 15 gr 2) 5 gr 3) 72 gr 4) 1000 ml'ye tamamlandı.
% 12 Poliakrilamid jel (Ayırma jeli):	1) Ultra saf su, 2) TEMED, 3) % 10 SDS, 4) Amonyum persülfat (% 10), 5) 1.5 M Tris-HCI (pH: 8.8), 6) Akrilamid / Bis (% 30).	1) 10.2 ml 2) 15 µl 3) 0.3 ml 4) 300 µl 5) 7.5 ml 6) 12 ml
% 5 Poliakrilamid jel (Yükleme jeli):	1) Ultra saf su, 2) TEMED, 3) % 10 SDS, 4) Amonyum persülfat (% 10), 5) 0.5 M Tris-HCI (pH: 6.8), 6) Akrilamid / Bisakrilamid (%30).	1) 5.63 ml 2) 5 µl 3) 0,1 ml 4) 100 µl 5) 2.5 ml 6) 1.6 ml
İzopropanollü fiksatif:	1) İzopropanol, 2) Glasial asetik asit, 3) Ultra saf su.	1) 250 ml 2) 100 ml 3) 650 ml
Hızlı Boyama Çözeltisi:	1) Glasiyel asetik asit, 2) Comassie Brillant Blue G-250, 3) Ultra saf su.	1) 100 ml 2) 0.06 gr 3) 900 ml
Hızlı Yıkama Çözeltisi:	1) Glasiyel asetik asit, 2) Ultra saf su.	1) 250 ml 2) 2250 ml

3.2.2. Sterilizasyon

Steril kullanılması gereken tüm tampon, çözelti ve malzemeler 121 °C'de otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuştur.

3.2.3. Tohumdan depo protein ekstraksiyonu (izolasyonu)

Tohumdan depo protein izolasyonu Saraswati ve arkadaşları (1993)'na göre ufak değişikliklerle yapılmıştır. Her bir örnek için yaklaşık 0.400 g tohum havanda toz haline getirilmiştir. Toz halindeki örnekler 15ml'lik falkon tüpleri içerisine koyulmuştur. Üzerlerine ekstraksiyon tamponu (Çizelge 3.2) ilave edilerek 37 °C'lik etüvde bir gece boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Her bir örnek 10.000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek oluşan üst fazlar (süpernatant) steril 50 ml falkon tüplerine alınmış ve yükleme yapılıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır.

3.2.4. Protein derişiminin belirlenmesi

Protein miktarı Bradford metoduna göre hazır reaktif çözelti (Merck, Bioguant) kullanılarak belirlenmiştir. Örnek çözetisinden 50 µL alınarak üzerine 2.5 ml bioguant reaktif çözeltisi eklenerek iki dakika beklenip köre karşı 595 nm'de soğurum ölçülmüştür (Shimadzu UV-1800 Spektrofotometre kullanılmıştır). Protein standart eğrisi bir seri albümin çözeltisi kullanılarak çizilmiştir ve protein derişimleri saptanmıştır (Bradford, 1976).

3.2.5. Jelin hazırlanması

Çizelge 3.2'deki gibi % 12 poliakrilamid jel (ayırma jeli) hazırlanmış ve üzerine % 5'lik poliakrilamid jel (yükleme jeli) hazırlanıp dökülmüştür. Daha sonra tarak yerleştirilmiş ve jel donduktan sonra tarak çıkarılmıştır (Laemli, 1970). 20 µl olacak şekilde eşit hacimde protein ekstraktı ve örnek uygulama tamponu (Çizelge 3.2) bir epondorf tüpünde karıştırılıp 8 dk 90 °C su banyosunda bekletilmiştir ve bu karışımdan 20 µl her bir kuyucuğa yüklenmiştir. Ayrıca marker (belirteç) olarak Fermentas (PageRuler unstained protein ladder) kullanılmıştır (Resim 3.1).



Resim 3.1. Protein ekstraktlarının jele yüklenmesi.

3.2.6. Proteinlerin elektroforezi

Taksonlara ait toplam protein ekstraktlarına SDS-PAGE uygulaması Laemli 1970'e göre ufak değişikliklerle uygulanmıştır. SDS-PAGE elektroforezinde 'Bio-Rad Mini-PROTEAN Tetra Cell Sistem' kullanılmıştır. Jele yüklenen örnekler, ilk olarak yükleme jelinde 70 V'da, daha sonra ayırma jeline geçince 90 V'da yürütülmüştür. Bu işlemlerden sonra hızlı Comassie boyama uygulanmıştır; ilk olarak izopropanollü fiksatifte 30 dk 20 rpm'de, sonra hızlı boyama çözeltisine alınarak 1 gece boyunca 20 rpm'de, ardından hızlı yıkama çözeltisine alınarak 30 dk 20 rpm'de çalkalayıcıda bekletilmiştir (Çizelge 3.2). Daha sonra jellerin fotoğrafları çekilmiştir. Ayrıca güvenilirlik ve tekrarlanabilirliği sınamak üzere her bir jel için 3 defa elektroforez işlemi uygulanmıştır (Resim 3.2).



Resim 3.2. Proteinlerin elektroforezi.

3.2.7. Veri analizi ve istatistikler

SDS-PAGE ile elde edilen protein bantlarının büyüklükleri (kDa) Bio-Rad Quantity One (Version 4.6.3) yazılımında belirlenmiştir ve .txt uzantılı dosyalara alınmıştır. Daha sonra elde edilen veriler Microsoft Excel yazılımı ile bantların varlığı (1) ve yokluğuna (0) göre 1/0 ikili (binary) matrisine dönüştürülmüştür. Microsoft Excel yazılımı ile elde edilen ikili matris NTedit yazılımı ile NTSYSpc (Version 2.1) yazılımına uygun hale getirilmiştir. Ardından bu matris NTSYSpc (Version 2.1) programında Similarity (benzerlik) modülünde yer alan Qualitative data (nitel veri) analizinde Jaccard (J) benzerlik katsayısı kullanılarak hesaplamaya tabi tutulmuştur. Daha sonra bu veri SAHN (sequential, agglomerative, hierarchical, and nested) kümeleme modülünde bulunan UPGMA (unwieghted pair-group method arithmetic average) analizine tabi tutulmuştur. Daha sonra tüm veri Graphics modülündeki TreePlot programı ile görselleştirilmiş ve dendogram haline getirilmiştir (Rohlf, 2000).

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu araştırmada, 6 *Rorippa* türüne ait 8 popülasyondan, 1 melez (hibrit) *Rorippa* türüne ait bir popülasyondan ve dış grup olarak kullandığımız 1 *Barbarea* taksonuna ait bir popülasyondan toplam 10 örneğin (Çizelge 4.1), Türkiye'de yayılış gösteren *Rorippa* cinsi türlerinin genetik benzerliğini ve genetik ilişkilerini analiz etmek üzere SDS-PAGE tekniği ile tohum protein profilleri çıkarılmıştır. 8 taksonun tohum protein profilleri Şekil 4.2'de verilmiştir. Çalışılan türler arasında toplamda 53 protein bandı gözlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. SDS-PAGE analizlerinde kullanılan örnekler ve lokaliteleri (stok no dahil).

Dendogram No	Tür	Lokalite (adres)
1A	*Rorippa austriaca*	A9 Kars: Sarıkamış, Karakurt Köyü, Mantaş Deresi, 40 10 203 K / 42 36 895 D, 1754 m, 10.07.2009, Bağcı 4071 & Tutar.
1B	*Rorippa austriaca*	B7 Erzurum: Erzurum'a 15 km kala, Ilıca, Karasu deresi kenarları, nemli ve sulu yerler, 39 57 140 K / 41 04 355 D, 1752 m., 09.08.2009, Bağcı 4108 & Tutar.
2A	*Rorippa amphibia*	C3 Konya: Beyşehir, Beyşehir Gölü kenarı, öğretmen evi karşısı, 1131 m, 37 40 143 K / 31 42 762 D, 18.07.2009, Bağcı 4094a & Tutar.
2B	*Rorippa amphibia*	C6 Kahramanmaraş: Türkoğlu, Gavurgölü bataklığı, 24. 05. 2006, A. İlçim 1672, KNYA!
3	*Rorippa thracica*	A1:Lüleburgaz, Kuzulu yol sapımı, 41 51 595 K / 27 18 232 D, 534 m, 28.06.2009, Bağcı 4016 & Tutar;
5	*Rorippa islandica*	A7 Rize: Kalkandere, İyi deresi, Yeni Cezaevi karşısı, dere kenarları, kumlu, taşlı ve nemli yerler, 40 55 279 K / 40 24 918 D, 84-90 m, 12.07.2009, Bağcı 4091 & Tutar.
6	*Rorippa sylvestris*	C3 Konya: Seydişehir, Çatma kaya yolu, kuyu civarı, 1092 m, 37 17 342 K / 31 58 866 D, 18.07.2009, Bağcı 4093 & Tutar.
7	*Rorippa aurea*	C3:Eğirdir, Kovada Gölü, Nemli çayırlı yerler, Gölün batı kısmı, 38 05 347 K / 31 01 999 D, 1106 m, 18.07.2009, Bağcı 4095 & Tutar.
8	*Rorippa x armoracioides*	B7 Erzurum: Erzurum'a 15 km kala, Ilıca, Karasu deresi kenarları, nemli ve sulu yerler, 39 57 140 K / 41 04 355 D, 1752 m. 09.08.2009, Bağcı 4109 & Tutar.
9	*Barbarea brachycarpa* subsp. *brachycarpa* var. *ilicifolia*	C3 Konya: Seydişehir-Manavgat, Bozkır yol sapağı 4.km serpantin kayalı yerler karaçam açıklıkları, 1696-1700 m., 37° 13' 352" K – 31° 56' 160" D, 14.07.2009, Bağcı 4100, Savran ve Başköse

Çizelge 4.2. SDS-PAGE analizlerinde oluşturulan ikili (binary;1/0) matris.

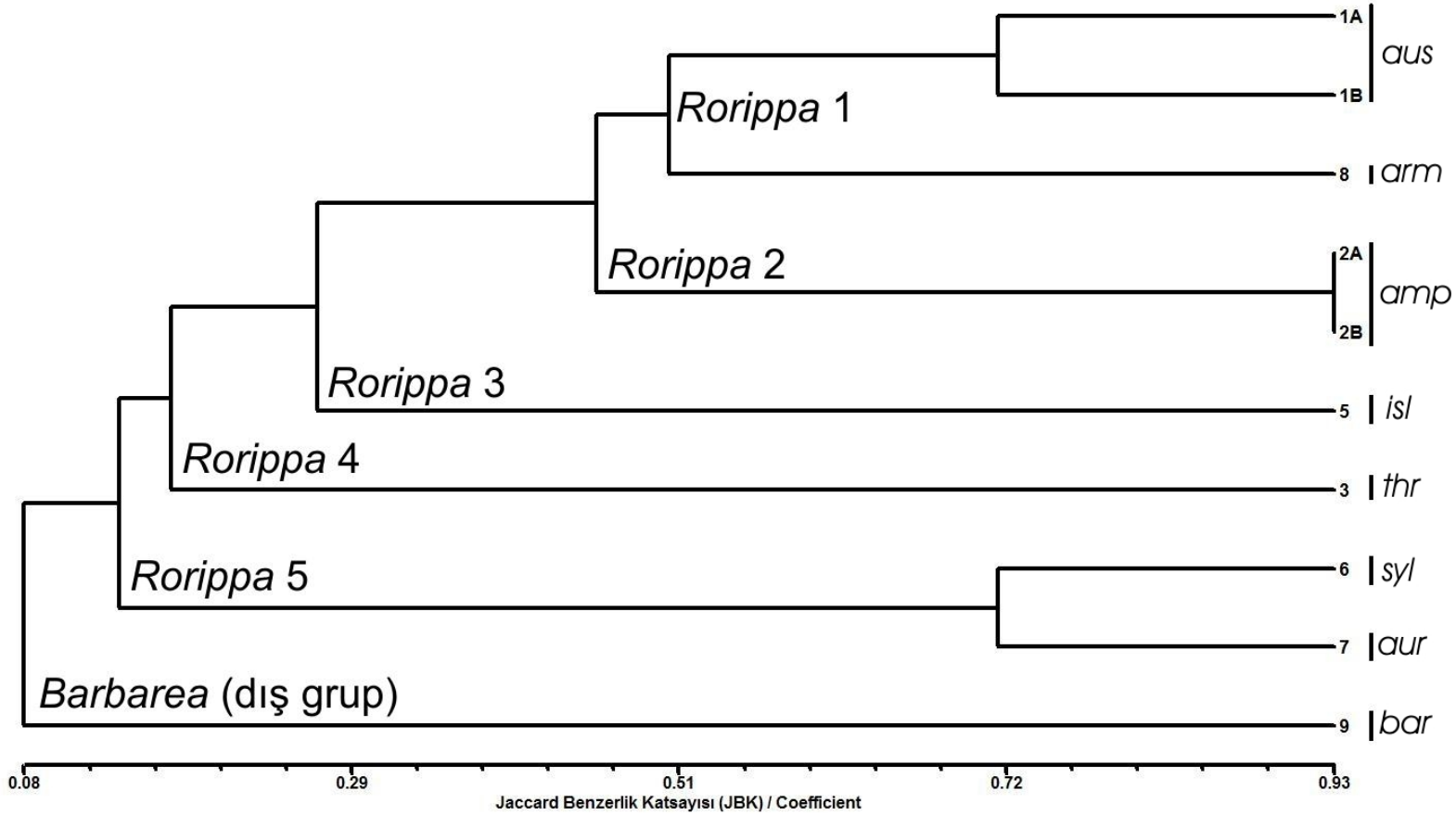
Molekül Ağırlığı (kDa)	1A	1B	2A	3	5	6	7	2B	8	9	Molekül Ağırlığı (kDa)	1A	1B	2A	3	5	6	7	2B	8	9
179,99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	27,84	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1
115,73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	26,59	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0
113,43	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	25,23	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
109,94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	24,42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
105,02	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	21,67	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
93,97	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	20	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0
92,29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	19,28	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
88,67	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	18,37	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
80,59	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	17,92	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
78,15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	17,81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
76,24	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	17,55	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
70,23	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	17,06	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
67,95	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	16,81	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
62,81	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	16,3	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1
58,11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	16,08	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0
56,56	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	12,02	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
55,34	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	11,61	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
53,89	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	10,46	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0
53,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	7,53	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
52,31	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0											
51,75	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0											
50,34	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0											
46,97	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0											
43,92	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0											
40,51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1											
39,69	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0											
37,82	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0											
35,54	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0											
33,51	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0											
31,32	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0											
30,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1											
30,1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0											
29,46	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0											
28,93	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0											

Şekil 4.1'deki dendogramda ve Çizelge 4.3'te görüldüğü üzere Jaccard Benzerlik Katsayısı (JBK) 0.08'de -oldukça düşük bir benzerlik katsayısı ile- iki büyük grup oluşmuştur; birinci büyük grupta *Rorippa* taksonları bir arada kümelenirken (*Rorippa* grubu), ikinci büyük grupta ise dış grup olarak hizmet eden *Barbarea* taksonu yer almıştır (*Barbarea* grubu). *R. amphiba*'nın iki popülasyonu arasındaki JBK değeri 0.93'te en büyük iken, *Barbarea* brachycarpa subsp. *brachycarpa* var. *ilicifolia* ile *R. amphibia*, *R. austriaca* ve *R.* x *armoraciodies* türleri arasındaki JBK değeri 0.107'de en düşük olarak hesaplanmıştır.

Rorippa grubu kendi içinde 5 alt gruba ayrılmıştır. '*Rorrippa* 1 grubu'nda JBK 0.50'de *R. austriaca*'nın 1A ve 1B olarak adlandırılan iki popülasyonu ve melez (hibrit) bir tür olan *R.* x *armoraciodies* (*R. sylvestris* x *R. austriaca*) diğer *Rorippa* alt gruplarından ayrılmıştır. Burada 1B olarak adlandırılan *R. austriaca* popülasyonu 8 olarak adlandırılan *R.* x *armoraciodies*'in ebeveyni olmakla beraber diğer ebeveyninin olgun tohumları elde edilemediği için bu çalışmada yer almamıştır. '*Rorrippa* 1 grubu'nda *R.* x *armoraciodies* JBK 0.50'de *R. austriaca* popülasyonlarından ayrılmıştır. *R. austriaca*'nın 1A ve 1B olarak adlandırılan iki popülasyonu arasındaki JBK değeri ise 0.714'te oldukça yüksek çıkmıştır.

'*Rorrippa* 2 grubu'nda JBK 0.46'da *R. amphibia*'nın 2A ve 2B olarak adlandırılan iki popülasyonu diğer *Rorippa* alt gruplarından ayrılmıştır. Burada 2B olarak adlandırılan *R. amphibia* popülasyonu, İlçim (2008) tarafından *R. behcetii* A. İlçim adıyla yeni tür olarak yayınlanmıştır; çalışmamızda morfolojik olarak ta bahsi geçen türün yeni tür olmadığı ve *R. amphibia*'nın ekolojik varyasyonu olduğu tespit edilmiştir (bkz. Bölüm 2.1.2). Burada iki *R. amphibia* popülasyonu JBK 0.93 değerinde benzer çıkmıştır ve buda bunların farklı tür olmadıklarını ve aralarındaki yüksek homolojiyi göstermektedir.

'*Rorrippa* 3 grubu'nda dendogramda 5 olarak adlandırılan *R. islandica* JBK 0.27'de diğer *Rorippa* alt gruplarından ayrılmıştır. '*Rorrippa* 4 grubu'nda ise JBK 0.17'de dendogramda 3 olarak adlandırılan *R. thracica* diğer *Rorippa* alt gruplarından ayrılmıştır.

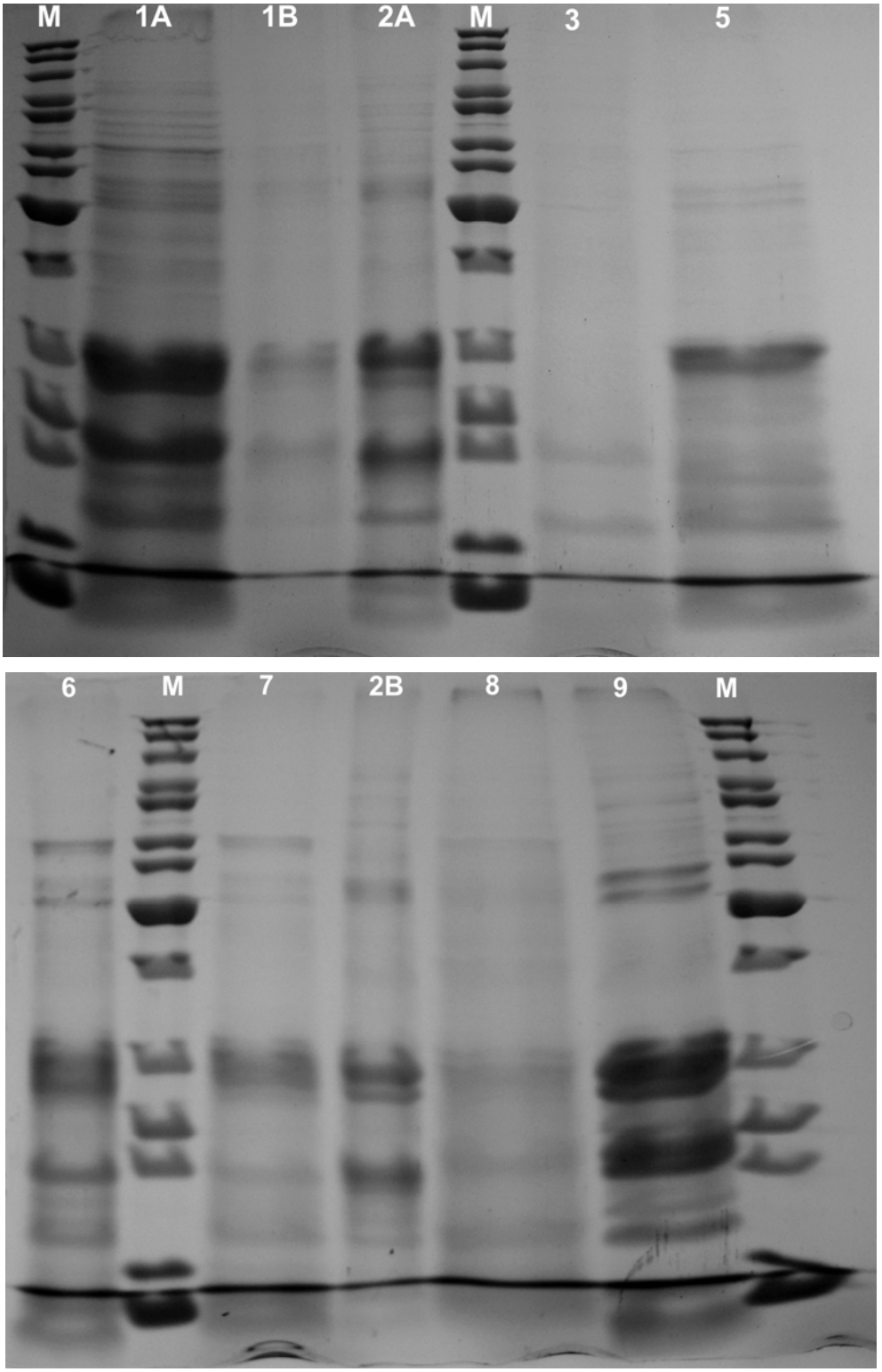


Şekil 4.1. 7 *Rorippa* taksonu ile dış grup olan 1 *Barbarea* taksonuna ait olan 10 örnekten UPGMA yöntemi vasıtasıyla SDS-PAGE ile elde edilen dendogram (***aus*****:** *R. austriaca*, ***amp*****:** *R. amphibia*, ***thr*****:** *R. thracica*, ***isl*****:** *R. islandica*, ***syl*****:** *R. sylvestris*, ***aur*****:** *R. aurea*, ***arm*****:** *R.* x *armoracioides*; ***bar*****:** *Barbarea brachycarpa* subsp. *brachycarpa* var. *ilicifolia*).

‘*Rorrippa* 5 grubu’nda JBK 0.14’de dendogramda 6 olarak adlandırılan *R. sylvestris* ve 7 olarak adlandırılan *R. aurea* diğer *Roripppa* alt gruplarından ayrılmıştır. *R. sylvestris* ve *R. aurea* türleri JBK 0.714’de birbirlerine oldukça yakın çıkmışlardır.

‘*Rorrippa* 1 ve 2 grupları’ndaki *R. austriaca*, *R. amphibia* ve *R.* x *armoraciodies* taksonları birbirlerine oldukça yakın çıkmışlardır. Bu taksonların meyve yapısının silikula olması, su kenarı ve içinde yaşamaya adaptasyon göstermeleri, üst gövde yapraklarının pinnatifit-pinnatisekt olması aralarındaki yakınlıkla tutarlıdır. Diğer taraftan *R. austriaca*’nın silikulasının küremsi (globoz), alt yapraklarının tam ve bariz kulakçıklı olması bu türü, silikulası yumurtamsı (ovoid), alt yaprakları pinnatifit-pinnatisekt ve genellikle kulakçıksız olan *R. amphibia*’dan ayırmaktadır; bu ise bunların iki farklı grupta kümelenmeleri ile tutarlılık göstermektedir. 1B olarak adlandırılan *R. austriaca*’nın, *R.* x *armoraciodies*’in ebeveyni olduğu için bu türlerin aynı grupta kümelenmeleri de morfoloji ve genetik ilişkileri ile doğru orantılıdır.

‘*Rorrippa* 3, 4 ve 5 grupları’ndaki *R. islandica*, *R. thracica, R. sylvestris* ve *R. aurea* birbirlerine daha yakın çıkmıştırlar. Bu türlerin hepsinde meyvenin silikva olması, üst yapraklarının pinnat, pinnatifit-pinnatisekt olması yakınlıklarıyla tutarlıdır. Bahsedilen bu üç grupta *R. islandica*’nın tek veya iki yıllık bitkilerden oluşması, bu türün diğer iki gruptaki çok yıllık bitkilerden daha uzak olmasıyla uygundur. ‘*Rorrippa* 4 grubu’ndaki *R. thracica*’nın çiçeklenmede tabanda rozet oluşturması ve alt gövde yapraklarının bariz kulakçıklı olması, ‘*Rorrippa* 5 grubu’ndaki *R. sylvestris* ve *R. aurea*’nın çiçeklenmede tabanda rozet oluşturmaması ve alt gövde yapraklarının genellikle kulakçıksız olması bu türlerin farklı gruplarda olmasıyla tutarlıdır. Diğer taraftan ‘*Rorippa* 5 grubu’nda birbirlerine çok yakın çıkan *R. sylvestris* ve *R. aurea* türleri ise morfolojik olarak en belirgin şekilde silikva olan meyvelerin *R. sylvestris*’te daha uzun olması ve petallerin *R. aurea*’da daha büyük olmasıyla ayrılmaktadırlar, ayrıca birbirlerine morfolojik olarak oldukça benzerdirler. Aralarındaki yüksek JBK’da bunların birbirlerine morfolojik benzerlikleriyle tutarlıdır.



Şekil 4.2. *Rorippa* ve dış grup olan *Barbarea* taksonlarının tohum proteinlerinin elektroforetik bantlanma profilleri (1A~9: Çizelge 4.1'de belirtilen örnekler; M: Marker: yukarıdan aşağıya 200, 150, 120, 100, 85, 70, 60, 50, 40, 30, 25, 20, 15, 10 kDa).

Çizelge 4.3. *Rorippa* ve dış grup olan *Barbarea* taksonlarının protein profilleri sonucu elde edilen Jaccard Genetik Benzerlik değerleri.

	1A	1B	2A	3	5	6	7	2B	8	9
1A	1.0000									
1B	0.7142	1.0000								
2A	0.5000	0.4285	1.0000							
3	0.1739	0.2352	0.2352	1.0000						
5	0.2857	0.3043	0.2500	0.1052	1.0000					
6	0.1290	0.1600	0.7407	0.1111	0.2608	1.0000				
7	0.1481	0.1904	0.8695	0.1428	0.2500	0.7142	1.0000			
2B	0.4583	0.4500	0.9333	0.2500	0.2608	0.7692	0.9090	1.0000		
8	0.5000	0.5000	0.4285	0.5000	0.2500	0.1153	0.1363	0.4500	1.0000	
9	0.8823	0.1071	0.1071	0.4761	0.6896	0.3448	0.4000	0.1111	0.1071	1.0000

Çalışma sonucunda *Rorippa* türlerine ait 9 popülasyon ve dış grup olarak hizmet eden *Barbarea* taksonuna ait bir popülasyon arasındaki fenetik ilişkiler SDS-PAGE yöntemi ile Jaccard Benzerlik Katsayısı (JBK)'na göre ortaya koyulmuştur. Çalışmamızda dış grup olarak *Barbarea* cinsinden bir taksonu seçmemizin nedeni ise *Barbarea* cinsinin *Cardamine*, *Nasturtium* ve *Armoracia* cinsleri ile birlikte DNA dizi analizlerine göre *Rorippa* cinsine yakın akraba olması (Bleeker ve ark., 2002) ve morfolojik olarak ta çok benzer olmasıdır. Gerçektende, bizim çalışmamızda dış grup olarak kullandığımız *Barbarea* taksonu diğer bütün *Rorippa* türleri ile beraber 1 bant paylaşmıştır ve buda her ne kadar farklı cinste olsalar da belli bir seviyeye kadar aralarındaki homolojiyi açığa vurmaktadır. Bununla birlikte, beklenildiği üzere dış grup olan *Barbarea* taksonu oldukça düşük bir JBK ile tüm *Rorippa* taksonlarından ayrılmıştır.

Bir arada kümelenen *Rorippa* türleri ise ilk olarak meyve yapılarıyla tutarlılık göstererek ayrılmışlardır. Meyve yapısı silikva olanlar birbirlerine daha yakın ve silikula olanlarda kendi aralarında daha yakın çıkmışlardır. Daha sonra meyve yapısı silikva olan türlerde çok yıllık olanlar, tek-iki yıllık olanlara göre daha yakın çıkmışlardır.

Ayrıca morfolojik olarak *R. amphibia*'nın ekolojik varyasyonu kabul edilen ve farklı bir tür olarak dikkate alınmayan (Bağcı ve Tutar, 2010) *R. behcetii* türünün

SDS-PAGE tohum protein profili analizi sonucunda da farklı bir tür olmadığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak, aynı türün farklı popülasyonları birbirlerine çok yakın çıkmış ve aralarındaki yüksek homoloji SDS-PAGE tohum protein profillerinde açığa vurulmuştur. Çalışma sonucunda elde edilen fenogram türlerin morfolojik benzerlikleri ile tutarlı bir şekilde fenetik ilişkilerini açığa çıkarmıştır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Türkiye'de doğal olarak yayılış gösteren 7 *Rorippa* Scop. türünün fenetik ilişkileri tohum protein profillerinin SDS-PAGE yöntemi ile belirlenmesi sonucu açığa çıkarılmıştır. Çalışılan taksonlar arasında toplamda 53 protein bandı gözlenmiştir ve bu bantlardan biri dış grup olan *Barbarea* taksonu dahil tüm taksonlar tarafından paylaşılmıştır. Bu ise belli bir dereceye kadar genetik arkaplandaki homolojiyi yansıtmaktadır.

Jaccar Benzerlik Katsayısı (JBK)'na göre oluşturulan dendogramda ilk olarak *Rorippa* türleri bir arada kümelenerek '*Rorippa* grubu'nu oluşturmuş ve dış grup olan *Barbarea* taksonu ise '*Barbarea* grubu'nu oluşturmuştur.

Rorippa grubu kendi içinde 5 alt gruba ayrılmıştır. '*Rorrippa* 1 grubu'nda *R. austriaca*'nın ve melez (hibrit) bir tür olan *R.* x *armoraciodies* (*R. sylvestris* x *R. austriaca*) diğer *Rorippa* alt gruplarından ayrılmıştır. '*Rorrippa* 2 grubu'nda *R. amphibia*'nın iki popülasyonu bir arada kümelenerek diğer *Rorippa* alt gruplarından ayrılmıştır. '*Rorrippa* 3 grubu'nda *R. islandica*; '*Rorrippa* 4 grubu'nda ise *R. thracica* diğer *Rorippa* alt gruplarından uzak çıkmıştır. '*Rorrippa* 5 grubu'nda *R. sylvestris* ve *R. aurea* diğer *Rorippa* alt gruplarından ayrı kümelenmiştir. Bölüm 4 ve 5'te tartışıldığı üzere çalışılan taksonlar arasındaki SDS-PAGE temelli fenetik ilişkiler taksonların morfolojileriyle tutarlı çıkmıştır ve bu cinsteki bazı taksonomik problemlerin çözümüne katkılar sağlanmıştır. Ayrıca, Türkiye'de doğal olarak yayılış gösteren tüm *Rorippa* Scop. türlerinin SDS-PAGE yöntemi ile fenetik analizleri ilk kez araştırılmıştır.

Bunların dışında *Rorippa* cinsi içindeki fenetik ve filogenetik ilişkiler halen tam anlamıyla açığa çıkarılamamıştır (Bleeker ve ark. 2002). *Rorippa* cinsinin fenetik ilişkilerine katkıda bulunmak amacıyla öncelikle AFLP olmak üzere RAPD ve ISSR gibi DNA parmak izi yöntemleri çok sayıda örnek kullanılarak

araştırılabilir. *Rorippa* taksonlarının filogenetik (soyoluş) ilişkilerini incelemek üzere ITS dizi analizi ve Kloroplast DNA'sı belirteçleri (markerları) kullanılarak bu cinsin türleri arasındaki filogenetik akrabalıklar çıkarsanabilir ve bu şekilde *Rorippa* türlerinin evrimi hakkında daha çok veri elde edilebilir. Türkiye gibi Brassicaceae türlerinin oldukça fazla yayılış gösterdiği ve bunlardan bazılarının gen merkezi olan bir coğrafyada *Rorippa* türlerinin filocoğrafyası ve biyocoğrafyası Klorplast DNA'sı temelli belirteçler ile araştırılabilir. Cins içinde yüksek seviyede melezleşme (hibritleşme) gösteren *Rorippa* türlerinin doğal (yerli) ve istilacı popülasyonları arasında melezleşme (hibridizasyon) çalışmaları AFLP ve Kloroplast DNA'sı belirteçleri ile moleküler ekoloji kapsamında analiz edilebilir.

6. KAYNAKLAR

Al-Shehbaz I. A., Beilstein M. A., Kellogg E. A., 2006, Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): an overview, Pl. Syst. Evol., 259: 89–120.

Al-Shehbaz I. A., Mutlu B., Donmez A. A., 2007, The Brassicaceae (Cruciferae) of Turkey, Updated, Turk. J. Bot, 31: 327-336.

Anchev, M. E., Tomsovic, P., 1999, The *Rorippa pyrenaica* Group (Brassicaceae) in the Balkan Peninsula, Folia Geobotanica, 34: 261-276.

Aslan, A., 2004, Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi ile proteinlerin analizi, Yüksek Lisans Semineri, F.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü.

Babaoğlu, S., Açık, L., Çelebi, A., Adıgüzel, N., 2004, Molecular Analysis of Turkish *Alyssum* L. (Brassicaceae) Species by RAPD-PCR and SDS-PAGE methods., G.U. Journal of Science, 17(3):25-33.

Bağcı, Y., Tutar, L., 2010, Türkiye *Rorippa* Scop. (Brassicaceae) Türlerinin Morfolojik, Karyolojik ve Moleküler Filogenetik Revizyonu, TUBİTAK projesi (108T264), 192 s.

Bleeker, W., 2003, Hybridization and *Rorippa austriaca* (Brassicaceae) invasion in Germany, Molec. Ecol. 12: 1831–1841.

Bleeker, W., 2004, Genetic variation and self-incompatibility within and outside *Rorippa* hybrid zone (Brassicaceae), Plant Syst. Evol., 246: 35-44.

Bleeker, W., Hurka H., 2001, Introgressive hybridization in *Rorippa* (Brassicaceae): gene flow and its consequences in natural and anthropogenic habitats. Molec. Ecol. 10: 2013–2022.

Bleeker, W., Matthies, A., 2005, Hybrid zones between invasive *Rorippa austriaca* and native *R. sylvestris* (Brassicaceae) in Germany: ploidy leveles and patterns of fitness in the field, Herdity, 94: 664-670.

Bleeker, W., Weber-Sparenberg, C., Hurka H., 2002, Chloroplast DNA variation and biogeography in the genus *Rorippa* Scop. (Brassicaceae). Pl. Biol. 4: 104–111.

Bradford, M.M., 1976, A Apid and Sensitive Method for the Quantation of Microgramquantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.* 72-248.

Coode M.J. E., Cullen J., 1965, Rorippa Scop. In: Davis P. H. (ed.). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, 1: 431-433.

Jarolimova, V., 1998, Chromosome Counts of *Rorippa sylvestris* in the Czech Republic, Preslia, Praha, 70: 69-71.

Jarolimova, V., 2005, Experimental Hybridization of Species in the Genus *Rorippa*, Preslia, Praha, 77: 277-296.

Jonsell, B., 1964, Chromosome Numbers of *Rorippa silvestris* (L.), Bess in Scandinavia, Svensk Botanisk Tidskrift, 58: 204-208.

Jonsell, B., 1968, Studies in the North-West European Species of *Rorippa* s. str., Vol: 19 (2), Symb. Bot. Upsal., Uppsala, Pp: 1-221 + 11 plate.

Jonsell, B., 1971, The Genus *Rorippa* (Cruciferae) in Eastern Siberia and the Soviet Far East, Svensk Botanisk Tidskrift, 65: 293-307.

Jonsell, B., 1973, Taxonomy and Distribution of *Rorippa* (Cruciferae) in the Southern U.S.S.R., Svensk Botanisk Tidskrift, 67: 281-302.

Jonsell, B., 1974, The Genus *Rorippa* (Cruciferae) in Tropical Africa and Madagascar, Svensk Botanisk Tidskrift, 68: 377-396.

Jonsell, B., 2002, *Rorippa* Scop., Flora Hellenica, in: Strid, A. & Tan, K. (ed.), Vol 2., Pp. 173-177.

Kamel E. A., Hassan H. Z., Ahmed S. M., 2003, Electrophoretic Characterization and the Relationship Between Some Egyptian Cruciferae., OnLine Journal of Biological Sciences, 3 (9): 834-842.

Klimešová J., Martinková J., Kočvarová, M., 2004, Biological flora of Central Europe: *Rorippa palustris* (L.) Besser, Flora 199: 453-463.

Koch M. A., Kiefer C., 2006, Molecules and migration: biogeographical studies in cruciferous plants, Pl. Syst. Evol., 259: 121–142.

Laemli, U.K., 1970, Cleavage of structural Proteins During the Assembly of Bacteriophage T4., Nature, 277, 680-684.

Luttikhuizen, P. C., Stift, M., Kuperus, P., Van Tienderen, P. H., 2007, Genetic diversity in diploid vs. tetraploid *Rorippa amphibia* (Brassicaceae), Mol. Ecol., 16: 3544-3553.

Mukhlesur R. Md., Hirata Y., 2004, Genetic Diversity in *Brassica* Species Using SDS-PAGE Analysis, Journal of Biological Sciences, 4 (2): 234-238.

Rohlf, F. J., 2000, NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.1 User Guide, Exeter Software.

Saraswati, R., Matoh T., Phupaibul P., Lumpkin T.A., Kobayashi M., 1993, Identification of Sesbania Species from Electrophoretic Patterns of Seed Protein, Trop. Agric. (Trinidad), 70(3): 282-285.

Scopoli, J., 1760, Flora Carniolica, Vol: 1, Vienna, 520 s.

Sheridan, G. E. C., Claxton, J. R., Clarkson, J. M., Blakesley, D., 2001, Genetic diversity within commercial populations of watercress (*Rorippa nasturtium-aquaticum*), and between allied Brassicaceae inferred from RAPD-PCR, Euphytica, 122: 319-325.

Singh, A.K., Mengesha, H.M., Ramaiah, C.D., 1991, Phylogenetic relations in section Arachis based on seed protein profile, Theoretical and Applied Genetics, 82: 593-597.

Stift, M., Kuperus, P., Tiienderen, P. H., 2006, Development of highly conserved primers for 12 new polymorphic microsatellite loci for the genus *Rorippa* Scop. (Brassicaceae), yellow-cress. Mol. Ecol. Notes 6: 1129–1131.

Stuckey, R. L., 1966, The Distribution of *Rorippa sylvestris* (Cruciferae) in North America, SIDA, 2: 361-376.

Stuckey, R. L., 1972, Taxonomy and Distribution of the Genus *Rorippa* (Cruciferae) in North America, SIDA, 4: 279-426.

Temizkan, G., Arda, N., 2004, Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, İstanbul, Üni., BİYOGEM Yayın No: 2, Nobel Tıp Kitabevi.

Tutar, Y., Geçkil, H., Karataş, A., 2010, Biyokimya, 3ncü baskıdan çeviri, Nobel Yayınevi, Ankara, 438 s.

Warwick S. I., Al-Shehbaz I. A., 2006, Brassicaceae: Chromosome number index and database on CD-Rom, Pl. Syst. Evol., 259: 237–248.

Warwick S. I., Francis A., Al-Shehbaz I. A., 2006, Brassicaceae: Species checklist and database on CD-Rom, Pl. Syst. Evol., 259: 249–258.