

**ENDEMİK *BUPLEURUM ANATOLICUM* Hub.-Mor.et Reese
VE *BUPLEURUM EUBOEUM* Beauverd
TÜRLERİNİN TAKSONOMİK VE
FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Yüksek Lisans Tezi

Nurçin ALTINEL

Eskişehir 2023

**ENDEMİK BUPLEURUM ANATOLICUM Hub.-Mor.et Reese VE BUPLEURUM
EUBOEUM Beauverd TÜRLERİNİN TAKSONOMİK VE FİTOKİMYASAL
ÖZELLİKLERİ**

Nurçin ALTINEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Farmasötik Botanik Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE

Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ocak 2023

Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 2104S021 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

ÖZET

ENDEMİK *BUPLEURUM ANATOLICUM* Hub.-Mor.et&Reese ve *BUPLEURUM EUBOEUM* Beauverd&Topali TÜRLERİNİN TAKSONOMİK VE FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

NURÇİN ALTINEL

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı
Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak 2023

Danışman: Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE

Bu çalışmada endemik *Bupleurum anatolicum* Hub.-Mor.et&Reese ve *Bupleurum euboicum* Beauverd türlerinin doğal yayılış alanlarındaki 6 farklı popülasyondan toplanarak Türkiye Florası ile karşılaştırmalı olarak morfolojik, anatomik, mikromorfolojik, moleküler taksonomik özellikleri ve uçucu yağ bileşenleri ortaya konulmuştur. Morfolojik çalışmalarda doğal ortamında fotoğraflanmış 6 farklı lokaliteden toplanan sayısı değişken örneklerle ışın, brakte, petal, anter, stilopodyum, stilus, meyve boy ölçümleri ve istatistiksel analizleri tablolştırılmış, Türkiye Florası deskripsiyonu ile karşılaştırılmıştır. Anatomik çalışmalarda kök, gövde ve yapraklardan mikrotomla kesit alınarak fotoğraflanmış, iç yapıları aydınlatılmıştır.

Mikromorfolojik çalışmalarda meyve ve polen yüzeyleri SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu)' de fotoğraflanmıştır. Kimyasal çalışmalar için 6 farklı lokasyon için kurutulup parçalanmış örneklerden mikrodistilasyon yöntemiyle uçucu yağ eldesi sağlanmıştır. Elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimleri GK/KS ve GK ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *B. euboicum* türü 3 lokasyon için undekan ve heptanal, uçucu yağ ana bileşenleri olarak belirlenmiştir. *B. anatolicum* türü 3 lokasyon için tridekan ve tetradekan ana bileşen olarak belirlenmiştir.

Moleküler çalışmalarda ITS1-ITS4 gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmış, bu bölgelerin baz dizilimleri DNA sekanslama ile belirlenmiştir. Baz dizilimleri dünya gen bankasındaki veriler ile karşılaştırılmış ve filogenetik ağaç çıkarılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Bupleurum*, Morfoloji, ITS, Uçucu Yağ, SEM.

ABSTRACT

TAXONOMIC AND PHYTOCHEMICAL PROPERTIES ON ENDEMIC
BUPLEURUM ANATOLICUM Hub.-Mor.et Reese and *BUPLEURUM EUBOEUM*
Beauverd SPECIES

Nurçin ALTINEL

Department of Pharmaceutical Botany
Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, January 2023

Supervisor: Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE

In this study, the morphological, anatomical, micromorphological, molecular taxonomic characteristics and essential oil components collected from 6 different populations in their natural distribution areas endemic *Bupleurum anatolicum* Hub.-Mor.et&Reese and *Bupleurum euboicum* Beauverd species which were comparatively investigated with Flora of Turkey. In morphological studies, ray, bract, petal, anther, stylopodium, stylus, fruit height measurements and statistical analyzes were tabulated with samples collected from 6 different localities photographed in their natural environment, compared with the Flora of Turkey description. In anatomical Studies, roots, stems and leaves were cross-sectioned with a microtome and photographed, and their internal structures were illuminated. In morphological studies, fruit and pollen surfaces were photographed in SEM (Scanning Electron Microscopy). For chemical studies, essential oil was obtained by microdistillation method from dried and crushed samples for 6 different locations. The chemical compositions of the essential oils obtained were determined by GC/MS and GC. According to the results obtained, undecane and heptanal were determined as the main components of essential oil for *B.euboicum* species for 3 locations. Tridecane and tetradecane were determined as the main components for the 3 locations of *B. anatolicum*. In molecular studies, ITS1-ITS4 gene regions were amplified by PCR, and the base sequences of these regions were determined by DNA sequencing. The base sequences were compared with the data in the world gene bank and a phylogenetic tree was drawn up.

Keywords: *Bupleurum*, Morphology, ITS, Essential oil, SEM.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde ve çalışma sırasında bilgi, birikim ve tecrübeleriyle, arazi çalışmalarında yol gösterici olan değerli danışmanım Prof. Dr. Yavuz Bülent KÖSE' ye,

Anatomik çalışmalarım için laboratuvarlarını kullanmama izin veren Konya Selçuk Üniversitesi'ne, bu çalışmalarda büyük emeği olan, bilgilerini paylaşmaktan çekinmeyen değerli Arş. Gör. Esengül KARAHİSAR ÖZKAYMAKOĞLU'na,

Çalışmamın uçucu yağ aşamasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Mine KÜRKÇÜOĞLU'na, Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ve bünyesinde Öğr. Gör. Şenay ESER'e ve SEM fotoğraflarının çekilmesinde yardımcı Uzm. Biyolog Arzu İşcan'a,

Her türlü akademik bilgisiyle ve çalışma laboratuvarında yardımcı olan sevgili Araş. Gör. Zeynep GÜLCAN'a,

Arazi çalışmam sırasında deneyimiyle bitkilerimi toplamama yardımcı olan, güleryüzlü, Yazar Riyat GÜL'e, yine bitki toplama çalışması esnasında seve seve yardımlarını gördüğüm amcam Turgay ASLAN'a, yengem Selvihan ASLAN'a,

Beni her daim cesaretlendiren, emeğini ve sabrını esirgemeyen, varlığıyla destek olan Mustafa ÖNER'e,

En değerlilerim sadece varlıklarının bile yettiği, maddi manevi ve her konuda arkamda olduklarını bildiğim annem Fatma ALTINEL'e, babam Sabri ALTINEL'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Nurçin ALTINEL

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgi	3
1.1.1. Apiaceae (Umbelliferae) familyası temel özellikleri	3
1.1.2. <i>Bupleurum</i> L. cinsinin temel özellikleri	8
1.1.3. <i>Bupleurum</i> L. cinsinin taksonomide yeri	9
1.1.4. Çalışmada kullanılan <i>Bupleurum</i> L. türlerinin temel özellikleri	9
2. KAYNAK ÖZETLERİ	12
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	18
3.1. Bitki Materyali	18
3.2. Taksonomik Çalışmalar	19
3.3. Morfolojik Çalışmalar	19
3.4. Anatomik Çalışmalar	19
3.5. Mikromorfolojik Çalışmalar	20
3.6. Moleküler Çalışmalar	21
3.7. Mikrodistilasyon İşlemi	22
3.8. Analitik Çalışmalar	24
4. BULGULAR	25

	<u>Sayfa</u>
4.1. Morfolojik Bulgular.....	25
4.1.1. <i>Bupleurum anatolicum</i> Hub.mor&Reese.....	25
4.1.2. <i>Bupleurum euboicum</i> Beauverd&Topali.....	27
4.2. Anatomik Bulgular.....	32
4.2.1. <i>Bupleurum anatolicum</i> Hub.mor&Reese.....	32
4.2.2. <i>Bupleurum euboicum</i> Beauverd&Topali	35
4.3. Mikromorfolojik Bulgular	38
4.3.1. <i>Bupleurum anatolicum</i> Hub.mor&Reese	38
4.3.2. <i>Bupleurum euboicum</i> Beauverd&Topali	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	48
5.1. Morfolojik Sonuç ve Tartışma	48
5.2. Anatomik Sonuç ve Tartışma	49
5.3. Mikromorfolojik Sonuç ve Tartışma	50
5.4. Uçucu Yağ Analiz Sonuç ve Tartışma	51
5.5. Moleküler Sonuç ve Tartışma.....	52
KAYNAKÇA.....	54
ÖZGEÇMİŞ	

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 3.1. Tez materyali lokalite bilgileri.....	18
Tablo 3.2. Anatomik kesit uygulama koşulları	19
Tablo 3.3. Safranin-fast green uygulama koşulları	19
Tablo 3.4. PCR reaksiyon içeriği	20
Tablo 4.1. 4 No'lu Lokalite Ölçüm Bulguları.....	25
Tablo 4.2. 5 No'lu Lokalite Ölçüm Bulguları.....	25
Tablo 4.3. 6 No'lu Lokalite Ölçüm Bulguları.....	25
Tablo 4.4. 1 No'lu Lokalite Ölçüm Bulguları.....	29
Tablo 4.5. 2 No'lu Lokalite Ölçüm Bulguları.....	29
Tablo 4.6. 3 No'lu Lokalite Ölçüm Bulguları.....	29
Tablo 4.7. <i>B. anatolicum</i> uçucu yağ bileşenleri (BA4: <i>B. anatolicum</i> No 4, BA5: <i>B. anatolicum</i> No 5, BA6: <i>B. anatolicum</i> No 6)	40
Tablo 4.8. <i>B. euboicum</i> uçucu yağ bileşenleri (BE1: <i>B. euboicum</i> No 1, BE2: <i>B. euboicum</i> No 2, BE3: <i>B. euboicum</i> No 3)	42
Tablo 4.9. <i>B. euboicum</i> ITS1-ITS4 primerleri sekansı	45
Tablo 4.10. <i>B. anatolicum</i> ITS1-ITS4 primerleri sekansı	46
Tablo 4.11. <i>B. euboicum</i> türünün NCBI veri bankasındaki türler ile kıyaslanma sonuçları	45
Tablo 4.12. <i>B. anatolicum</i> türünün NCBI veri bankasındaki türler ile kıyaslanma sonuçları.....	46
Tablo 5.1. <i>B. euboicum</i> ve <i>B. anatolicum</i> türlerinin morfolojik karakterlerinin istatistiksel anlamlılık sonuçları	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Apiaceae çiçek meyve görünümü.....	4
Şekil 1.2. Apiaceae familyasında etnobotanik amaçlı kullanılan farklı bitki parçalarının oranı.....	5
Şekil 1.3. <i>B. euboicum</i> ve <i>B. anatolicum</i> 'un Türkiye'deki yayılışı.....	11
Şekil 3.1. Eppendorf Micro Distiller®	22
Şekil 3.2. Mikrodistilasyon çalışma prensibi.....	23
Şekil 4.1. <i>B. anatolicum</i> genel görünüm, çiçekli görünüm, meyveli görünüm	24
Şekil 4.2. <i>B. euboicum</i> genel görünüm, çiçekli görünüm.....	27
Şekil 4.3. <i>B. euboicum</i> stereo mikroskop görünümü	28
Şekil 4.4. <i>B. anatolicum</i> kök enine kesit; x10; pe: periderma; ko: korteks; f: floem; ks: ksilem	31
Şekil 4.5. <i>B. anatolicum</i> gövde enine kesit; x10; e: epidermis; ko: korteks; s: salgı kanalı; f: floem; ks: ksilem	32
Şekil 4.6. <i>B. anatolicum</i> yaprak enine ve boyuna kesiti; x10; üe: üst epidermis; pp: palizat parankimasi; sp: sünger parankimasi; f: floem; ks: ksilem; ae: alt epidermis; ku: kutikula; t: trake; kb: kalburlu boru	33
Şekil 4.7. <i>B. euboicum</i> kök enine kesit; x10; ep: epidermis; ko: korteks; ks: ksilem; sk: salgı kanalı; f: floem	34
Şekil 4.8. <i>B. euboicum</i> gövde enine kesit; x10; ep: epidermis; ko: korteks; t: trake; ks: ksilem	35
Şekil 4.9. <i>B. euboicum</i> yaprak enine ve boyuna kesit; x10; ae: alt epidermis; üe: üst epidermis; pp: palizat parankimasi; sp: sünger parankimasi; mb: merdivenli borular; sp: spiralli odun borusu; t: trake	36
Şekil 4.10. <i>B. anatolicum</i> SEM polen görünümü	37
Şekil 4.11. <i>B. anatolicum</i> SEM meyve görünümü	38
Şekil 4.12. <i>B. anatolicum</i> SEM petal görünümü	38
Şekil 4.13. <i>B. euboicum</i> SEM polen görünümü.....	39
Şekil 4.14. <i>B. euboicum</i> SEM meyve görünümü.....	40
Şekil 5.1. NCBI GenBank'ta daha önce bilinen taksonlarla bu çalışma ile oluşturulan ITS dizilerinin ilişkisini gösteren <i>B. anatolicum</i> filogenetik ağacı	51

Şekil 5.2. NCBI GenBank'ta daha önce bilinen taksonlarla bu çalışma ile oluşturulan
ITS dizilerinin ilişkisini gösteren *B. euboicum* filogenetik ağacı52

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AÜBİBAM	: Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama Ve Araştırma Merkezi
BR	: Meise Botanic Garden Herbarium
Cm	: Santimetre
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
GC	: Gaz Kromatografi
GC/MS	: Gaz kromatografi/ Kütle Spektrometre
GC/FID	: Gaz kromatografi/ Alev İyonizasyon detektörü
GAZI	: Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu
HPLC	:Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
ITS	: İnternal Transcribed Spacer
IUCN	: İnternational Union for Conservation of Nature
MW	: Moscow University Herbarium
MNHN	: Museum National d'Histoire Naturelle
Mm	: Milimetre
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
NT	: Neredeyse Tehdit Altında
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
P	: Polar Eksen
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
SEM	: Scanning Elektron Microscope
Trna	: TransferRNA

1. GİRİŞ

Dünya üzerinde günümüzde kabul edilmiş olarak yaklaşık 400.000 tohumlu bitki türü olduğu tahmin edilmektedir. Angiosperm sayısı 13.553 cins ve 258.650 tür olarak kabul görmüştür (Thorne, 2002).

Türkiye, bitki çeşitliliği açısından dünyada ılıman iklime sahip ülkeler arasında en zengini, fazla sayıda bulunan endemik tür açısından da en ilginçidir (Ekim, 2005; Şirin ve Ertuğrul, 2015).

Türkiye’de yetişmekte olan yaklaşık 12.000’den fazla bitki taksonununun 3/1’lik oranı endemik bitki taksonlarından oluşmaktadır (Güner vd., 2012; Şenkul ve Kaya, 2017).

Asya ve Avrupa kıtalarının ve Vavilov gen merkezlerinden ikisi olan Akdeniz ve Yakın Doğu kesişimlerinde bulunması, üç tarafı denizlerle çevrili Türkiye’nin bitkisel zenginliği iklimsel değişiklikler, morfolojik farklılıklar ve toprak tiplerinin farklılığı gibi coğrafi özelliklerden gelir ve flora bölgeleri açısından sahip olduğu bu özellikler bitki çeşitliliği açısından büyük önem taşımaktadır (Avcı, 2005; Uyanık vd., 2013; Yıldırım, 2016).

Türkiye florası ile ilgili ilk çalışmalar, Türkiye’den topladığı örneklerin Paris Herbaryumunda muhafaza edilen Fransız botanikçi J. Pitton de Tournefort (1656-1758) tarafından 18. yüzyılın başlarında gerçekleştirilmiştir. Türkiye florasının hazırlanmasında büyük katkıları olan bir diğer botanikçi İsviçreli Arthur Huber-Morath, 1935-1969 yılları arasında Anadolu’dan topladığı bitkilerden bir koleksiyon oluşturmuştur (İpek, 2018). Türkiye florası hakkında ilk ve uzun yıllar en bilgilendirici sayılacak eser İsviçreli botanikçi P.E. Boissier tarafından yazılan 5+1 ciltlik *Flora Orientalis*’tir. Zaman içinde keşfedilen türlerle yeniden bir flora yazma gerekliliği ortaya çıkmasıyla P.H. Davis editörlüğünde 9+2 ciltlik *Flora of Turkey and the East Aegean* yayımlanmıştır (Erik ve Tarıkahya, 2004). Günümüz teknolojisiyle yapılan ve gelecekte yapılacak olan çalışmaların keşfedilen yeni bitki türleriyle beraber flora ve revizyon çalışmalarına ihtiyacı vardır.

İlerleyen teknolojiyle birlikte modern cihazlar geliştirilmiş ve geliştirilen modern cihazların revizyon çalışmalarına dahil edilmesiyle biyokimyasal, sitogenetik ve moleküler yöntemler kullanılmaya başlanmıştır (Karahisar, 2021). Özellikle taksonomik sorunlarla ilgili çalışmalar gerçekleştiren botanikçilerin yaptıkları revizyonlarda morfolojik karakterlere ek olarak çalıştıkları grupların sistematığına katkı sağlayacak

anatomik, palinolojik ve DNA dizi analizi yöntemleri kullanmaya başlamışlardır (Karakaya, 2018).

Ülkemizde 455 tür, 130 endemik türü bulunan Apiaceae (Umbelliferae) familyası 102 cins ile takson sıralamasında 3. Sırada gelir (Erik ve Tarıkahya, 2004). Çiçek yapraklarının yapısı bileşik şemsiye (umbel) olarak nitelendirildiği için Umbelliferae ismini buradan alır ve şizokarp tipte meyve özelliğiyle karakteristiktir (Davis, 1970).

Familyaya ait bazı bitkiler, halk tarafından farklı şekillerde yaygın olarak tüketilen ekonomik öneme sahip bitkilerdir. Reçine, zamk veya müsilaj içeriğinden dolayı kendine has bir kokuya sahip olmasıyla yiyeceklerde baharat olarak ve parfümeride kullanılmakta, üyelerin içerdiği alkaloidlerle ilaç endüstride kullanılmaktadır (Tanker vd., 1998; Shamsavari vd., 2008).

Düşük taksonomik kategorideki bitki taksonlarının teşhisinde morfolojik ve anatomik analizler kullanılabilirken, yüksek kategorideki taksonların soylarının ve filogenetik ilişkilerinin belirlenmesi moleküler sistematiğe mümkündür. Çalışmada kullanılan iki bitki türü için literatürde moleküler çalışma ve uçucu yağ bileşenleri analizi ile ilgili veri bulunmadığı göz önüne alınarak, bu çalışmada *Bupleurum euboicum* ve endemik *Bupleurum anatolicum* türlerinin doğal yayılış alanlarından toplanarak Türkiye florasındaki deskripsiyonu ile karşılaştırılmak amacıyla morfolojik ölçümler yapıp genişletilmiş bir deskripsiyon yazılması, anatomik özelliklerinin belirlenmesi, moleküler çalışmalar ile türlerin kendi aralarında ve diğer *Bupleurum* L. türleri arasındaki ilişkilerin ortaya çıkarılması ve uçucu yağ bileşenlerinin belirlenerek çeşitli biyolojik etki çalışmalarında kaynak oluşturması hedeflenmiştir.

1.1. Genel Bilgi

1.1.1. Apiaceae (Umbelliferae) familyası temel özellikleri

Apiaceae (Maydanozgiller), ismini Pliny tarafından kereviz bitkisi için kullanılan *Apium* L. cinsinden alır. Dünyada 3.780 tür ve 434 cinse sahiptir (Simpson, 2019).

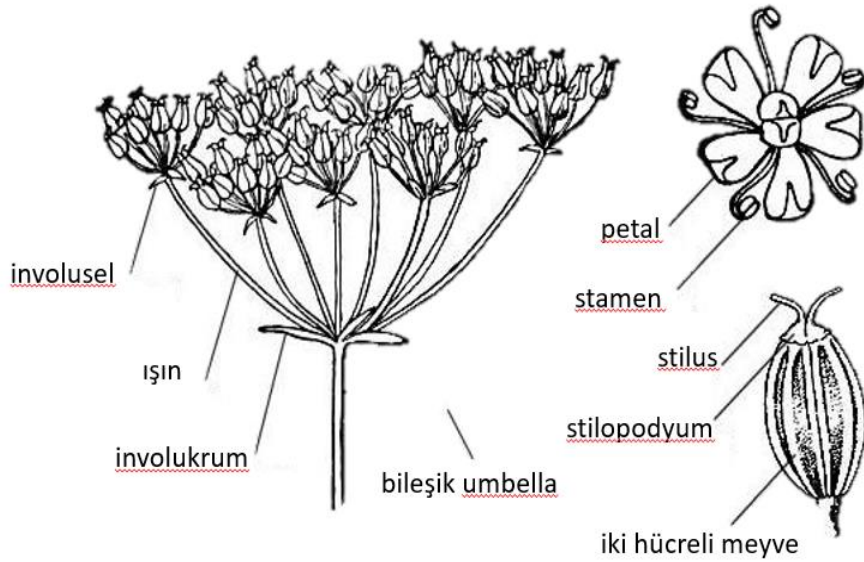
Dünyada tür sayısı en fazla bulunan cins Apiaceae cinsidir. Bunlar *Eryngium* L., *Bupleurum* L. (185-195 tür), *Ferula* L., *Pimpinella* L., *Heracleum* L. Ve *Seseli* L. 'dir (Güner, 2006). Ülkemizde ise bu sayı *Bupleurum* L., 49, *Ferulago* L., 28, *Pimpinella* L., 24, *Heracleum* L., 23, *Eryngium* L., 22, *Ferula* L., 17 tür ile sayılıdır. En fazla biyolojik çeşitliliğe sahip Asya ülkeleri arasında yer alan Türkiye ikinci sırada yer alır. İlk sırada Çin daha sonra İran, Rusya ve Kazakistan gelir. Çin'e göre Türkiye'nin yüzölçümü oldukça küçük olmasına rağmen listede ikinci sırayı çekmesinin anlamı ise şudur; Asya kıtasında ve muhtemelen Dünya'da Umbelliferae familyasının çeşitliliğinin en yüksek konsantrasyona sahip olduğu anlamına gelmektedir (Pimenov ve Leonov, 2004).

Dünya çapında çöller dahil, bataklıklar, bazaltik kayalıklar, ormanlar, subalpin tundraları olmak üzere çok çeşitli habitatlarda bulunabilir (Berenbaum, 2001).

Ülkemizde yayılış alanı geniş olup, ılıman dağlık bölgelerde yayılış göstermektedir. Çok soğuk bölgelerde bulunabileceği gibi nadiren de tropikal bölgelerde bulunabilir, çoğunluğu Akdeniz bölgesinden köken alır (Güner, 2006; Emmanuel ve Philipp, 2020).

Apiaceae familyasının tanımlayıcı özelliğinden biri çiçeklenmedir. Basit veya bileşik şemsiye (umbella), çiçekler küçük, hermafrodit, epigin (ovaryum alt durumlu) ve aktinomorftur (ışınsal simetridir). Familya üyeleri nadiren çalılardan veya ağaçlardan oluşur, bir yıllık, iki ve çok yıllık bitkilerdir. Yaprakları değişken büyüklüktedir, palmat ya da pinnat, tabana doğru toplanmıştır. Genellikle karakteristik bir özellik olan anacın tepesinde bulunan lifli yaprak sapı kalıntıları lifli yaka olarak adlandırılır ve bu yaka bazen ağ liflidir. Brakte ve brakteol var veya yoktur, brakte var ise umbel ışınlarının tabanında meydana gelir, bileşik umbella involukrum, brakteol var ise pedisellerin tabanında meydana gelir ve involusel oluşturur. Kaliks indirgenmiş ama indirgenmemişse serbest ya da bileşik durumlu, 5 loblu, aposepal (çanak yapraklar ayrı). Sepaller yok veya küçük, korolla serbest, apopetal (taç yapraklar ayrı), 5 petalli ve bazen uçları kıvrık, beyaz, sarı, sarımsı- yeşil, pembe veya mor renkte olabilir. *Andrekeum* 5 stamenli ve uzun filamentli, tek bir çiçeklenme içinde işlevselliğinde

farklılıklar vardır. Bir pistilin mevcut olabileceği ancak döllenecek ovüllerin olmadığı durumlarda bazı çiçekler işlevsel olarak pistillidir. Aynı bitkinin farklı bir çiçeğinin poleni ile bir çiçeğin tozlaşması (Geitonogamy) yaygındır. Ginekeum ovaryum alt durumlu olan iki karpelden oluşur. Stilus tabanı stilopodyumludur. Stiluslar ovaryumun üst kısmını saran nektaryum adlı organ meydana getirir, sinek, böcek ve arı gibi tozlayıcıları kendine çeker. Apiaceae familyasında anatomi ve morfoloji taksonomik olarak çok önemlidir ve familyanın neredeyse tüm geleneksel sınıflandırma sistemleri bilhassa meyve özelliğine dayandırılmıştır (Saltan ve Kaya, 2020). Meyveler her biri tek bir tohuma sahip iki merikarptan oluşan etli olmayan şizokarptır; olgunlukta ayrılırlar ve rüzgarla dağılırlar. Merikarplar birbirine karpofor adı verilmiş ince bir sapla bağlıdır. Her merikarp genellikle 5 birincil çıkıntı ve sıklıkla bunların arasında bazen kanatlı veya tepeli 4 ikincil uzunlamasına çıkıntıya (valekül) sahiptir. Çıkıntılar arasındaki girintilerde vitta adı verilen reçine kanalları neredeyse her zaman mevcuttur. Tohumlar yağlı bir endosperme sahiptir. Familyanın genel çiçek formülü $K_5 C_5 A_5 G_{(2)}$ dir (Davis, 1970; Lariushin, 2012; Simpson, 2019). (Şekil 1.1.).

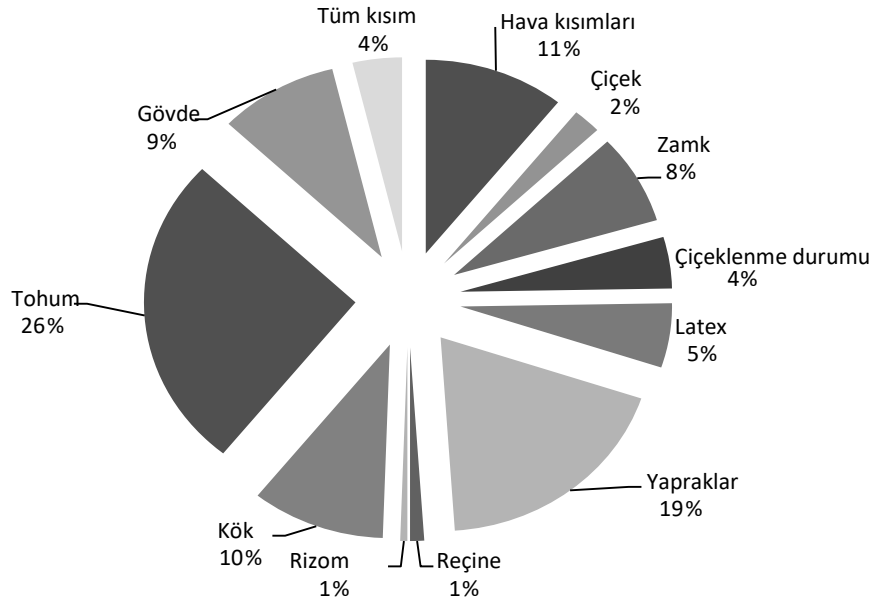


Şekil 1.1. *Apiaceae* çiçek meyve görünümü (<https://www.mountainherbalism.com/wp-content/uploads/2020/02/apiaceae.jpg>)

Familyaya ait ayırt edici taksonomik karakterleri saymak gerekirse; umbellerin sayısı ve uzunluğu, yaprak uzunluğu, brakte ve brakteolün varlığı ya da yokluğu, meyve tipi ve meyvedeki salgı kanalı, gövdenin altında kalan fibrilli kısım olarak ayrılmaktadır (Davis, 1972; Lariushin, 2012).

Bitkiler aleminde bulunan 17.500 aromatik bitki türünden yaklaşık 270'inin ticari uçucu yağlar üretmek için kullanıldığı tahmin edilmektedir. Bu ticari uçucu yağların da %40'ı kültür bitkilerinden elde edilir. Geri kalan %60'ı ise doğadan toplanılarak elde edilmektedir. Ekonomik açıdan en önemli uçucu yağların çoğunluğunu veren türlere sahip bitki ailesinin başında Apiaceae (Umbelliferae) gelir (Goodman, 2004). Meyvelerde, çiçeklerde, yapraklarda, köklerde ve gövdede uçucu yağlar içerirler. Kimyasal çeşitlilik çok fazla olduğu için toprak altı ve toprak üstü kısımlarındaki uçucu yağ bileşenleri önemli ölçüde değişiklik gösterir. Meyve uçucu yağı vitta adı verilen yağ kanallarında bulunur (Başer ve Kırimer, 2014).

Kullanım kategorisine bağlı olarak en çok Apiaceae familyasının farklı bitki kısımları kullanılmıştır. En sık kullanılan kısımlar tohumlar %26, onu takip eden yapraklar %19, toprak üstü kısımları %11 ve kökler %10 olmuştur (Şekil 1.2). (Farida vd., 2018).



Şekil 1.2. Apiaceae familyasında etnobotanik amaçlı kullanılan farklı bitki parçalarının oranı

Apiaceae dñnyanın birçok yerinde yemeklerde çeşni ve baharat olarak yaygın kullanılan önemli sayıda tür içerir. Dereotu (*Anethum graveolens*), Maydanoz (*Petroselinum crispum*), Kışniş (*Coriandrum sativum*), Melekotu (*Angelica archangelica*), Frenk maydanozu (*Anthriscus cerefolium*), Kereviz (*Apium graveolens*), Kimyon (*Carum carvi*) bunlardan bazılarıdır.

Sokrates'i öldüren Baldıran otundaki (*Conium maculatum*) zehirli alkaloid koniinin kaynağı olmasıyla ün salmış Apiaceae, Benekli baldıran otu (*Cicuta maculata*) ve Köpek maydanozu (*Aetusa cynapium*) gibi sarsıcı zehirler içeren bir dizi zehirli tür içerir. Yabani havuç (*Pastinaca sativa*), Yabani Frenk maydanozu (*Anthriscus sylvestris*), Dev tavşancılotu (*Heracleum mantegazzianum*) gibi birkaç tür daha bu tip etkilere sahiptir.

Hint kerevizi (*Heracleum maximum*) ile ayır tavşancılotu (*Heracleum sphondylium*) içerdiği Furanokumarinler ile UV ışığıyla aktive edildiğinde ciltte tahriş ve iltihaplanma nedeni olarak ortaya çıkmaktadır. *Centella asiatica* (Gotu kola) Hindistan, Çin ve Endonezya'da binlerce yıldır birçok hastalığı tedavi etmek için kullanılan tıbbi bitkidir. Aktif bileşenleri pentasiklik triterpen türevleri asiatikosit, asiatik asit, madekassosit ve madekassik asit içerir. Tarihte Gotu kola sifilis, hepatit, mide ülseri, epilepsi, ishal, ateş ve astım tedavisinde kullanılmıştır ve halen günümüzde geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Bugün ABD ve Avrupa'da en çok varisli damarları ve kronik venöz yetmezliğini tedavi etmek için kullanılır (Heywood, 2014).

Apiaceae familyasına ait *Ammi majus*'un (Diş otu) meyve kısımları ağız ve diş eti ağrısı giderici olarak, *Coriandrum sativum* L. (Kışniş) meyvesi iştah açıcı ve hazmettirici olarak, *Ferula eleaocytris* Kor. (Şeytan teresi) kök kısımları kısırlığa karşı, *Foeniculum vulgare* Mill. (Rezene) meyvesi gaz söktürücü ve süt arttırıcı olarak, *Eryngium* L. (Boğadiken) öksürüğe karşı, diüretik, iştah arttırıcı ve afrodisyak etki gibi tedavi yöntemlerinde kullanılmaktadır (Ayanoğlu, Mert, Kaya, 1999).

Prangos cinsi yaklaşık 30 türden oluşur ve bunlardan bazıları halk hekimliğinde gaz giderici, tonik, şişkinlik önleyici, antihelmintik ve antifungal ajanlar olarak kullanılmıştır (Ceylan, 1987; Çoruh, Celep, Özgökçe, 2007). Antioksidan etkiye de sahip *Chaerophyllum macropodium* (Koca hılakotu) ise Doğu Anadolu'da çiçeklenme döneminden önce peynir yapımında ot olarak kullanılan yaygın bir bitkidir (Çoruh, Celep, Özgökçe, 2007).

Umbelliferae familyası kemotaksonomik açıdan Hydrocotyloideae, Saniculoideae ve Apioideae olarak üç alt familya olarak düzenlenmiş, 3000'den fazla türe sahip büyük bir familyadır. Buna ek olarak sekonder metabolitler furanokumarinler, terpenoidler ve poliasetilenler açısından oldukça zengindir. Aynı zamanda flavonoidler, fenilpropanoidler, asetilenler, terpenoidler ve kumarinler karakteristik kimyasal bileşenleridir. Apiaceae bitkilerinin flavonoidleri esas olarak flavonoller ve flavonlar şeklinde biriktirdiği bilinmektedir (Crowden vd., 1969; Saleh vd., 1983; Abdulmanee vd., 2012).

1.1.2. *Bupleurum* L. cinsinin temel özellikleri

Bupleurum cinsi Kuzey Yarı Kürenin ılıman bölgelerinde yaygındır. Türkiye florasında bu cins çok sayıda tür içermesi ve endemik oranının yüksek olması nedeniyle önemlidir (Özcan, 2002). Yaklaşık 150 türü bulunan *Bupleurum* L., Apiaceae (Umbelliferae) familyasının en büyük cinslerinden biridir. Cins birkaç santimetre boyutundaki küçük bitkilerden 3 metre yüksekliğe ulaşan çalılara kadar yıllık ve çok yıllık türleri içerir. *Bupleurum* morfolojik olarak çeşitlidir ancak basit ve bütün olan yaprakların neredeyse benzersiz özellikleri nedeniyle familya içinde kolaylıkla ayırt edilir (Neves ve Watson, 2004).

Bupleurum'daki tüm türler tamamen tüysüzdür, bazılarının tüylü damarlı yaprakları vardır, yapraklar tam veya ince tırtıklı, çoğu paralel damarlı yapraklara sahiptir. Yapraklar sarı, beyaz veya morumsu, iyi gelişmiş bükülmüş apikal loblu, bükülme noktası 'petal kıvrım' olarak adlandırılır. İnvolutral brakte genellikle mevcuttur, involusel brakteol her zaman mevcuttur. Meyve silindirik ve çok değişken, yüzeyi pürüzsüzdür, merikarp izodiametrik veya hafif yandan sıkıştırılmıştır, sırttaki salgı kanalları 1 ile 5 adet arasındadır. Merikarp komissüründe (birleşme bölgesinde) 2-10 adet arası salgı kanalı bulunur. Olgun meyvelerde belirgin değildir (Davis, 1970; Neves ve Watson, 2004).

Bupleurum L. türlerinin teşhisinde kullanılan taksonomik karakterler; tek veya çok yıllık oluşu, gövdenin genel şekli ve dallanma özelliği, yapraklarının perfoliat (sarıcı) ya da linear olması, brakteole ait özellikler, umbelladaki ışın adedi, umbellüldeki çiçek adedi, petalin yapısı, meyve boyutları ve meyve yüzey özellikleridir (Özcan, 1999).

Geleneksel Doğu tıbbında önemli bir yeri olan *Bupleurum* cinsi son 2000 yıldır Asya'da birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. *Bupleurum* cinsine ait bitkiler antipiretik özellikler, sıçanlarda antioksidan aktivite ve immün uyarıcı aktivite bildirilen çeşitli farmakolojik fonksiyonlara sahiptir (Cheng vd., 2018). *Bupleurum* cinsinde yaklaşık dörtte biri fitokimyasal araştırmalara tabi tutulan 150'den fazla tür vardır. Cinsin ana bileşenleri oleanane serisinin triterpen glikozitleridir. Ek olarak uçucu yağlar, lignanlar, flavanoidler, kumarinler, polisakkaritler, poliasetilenler, fitosteroller ve fenilpropanoidler bulunmaktadır. Uçucu yağların ve bunların bileşenlerinin tıbbi uygulamalarda antimikrobiyal ajan olarak potansiyel gösterdiği,

bitki özleri ve uçucu yağların da antiinflamatuvar ve antiseptik aktiviteleri ilaç olarak büyük ölçüde kullanılmaktadır (Saraccedil vd., 2012).

Bupleurum adı bitkinin yaygın olarak kullanılan kısım köklerinin şeklini tanımlayan Latince Boupleuron (bous= ox ve pleura/on=rib/s) kelimesinden gelmektedir. *Bupleurum* türü, soğuk algınlığı, inflamatuvar bozukluklar, hepatit, kanser ve ateş düşürmede tek başına veya diğer bileşenlerle kombinasyon halinde, reçetesiz satılan bitki çayları halinde kullanılmıştır. Göğüs hipokondriyak bölgesindeki şişkinliklerin ve ağrıların tedavisinde ve amenoreye karşı analjezik olarak kullanılmıştır. Birçok *Bupleurum* özütü kronik hepatit, nefrotik sendrom ve otoimmün hastalıklara karşı iyileştirme ve koruma için kullanılmıştır. Ayrıca *Bupleurum*'un Ginseng ve *Astragalus* ile kombinasyonları hemoroidde, anal ve uterus komplikasyonları ve ishale karşı kullanılmaktadır (Ashour ve Wink, 2011).

Çin farmakopesine göre Radix Bupleuri ilacı (Çin'deki adı) *Bupleurum Chinense* DC ve *Bupleurum scorzonerfolium* WILD' ın kurutulmuş köklerinden elde edilir. Üç ana saikosaponin -a (1), -c (2), -d (3) adlı oleanane saponinler ve birçok küçük saponin bu bitki köklerinden izole edilmiştir. Saikosaponin -a ve -d'nin anti kanser aktivite, hemolitik aktivite ve karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisi bulunmaktadır (Li vd., 2005).

Ülkemizde Gökçeada'da Erken Tunç Çağı tabakalarından ele geçirilen 5000 yıl önce yaşayanlar tarafından kullanım alanlarında *Bupleurum*'un bir sürahi içinde bulunan tohumlarının bitkinin toprak altı ve üstü kısımlarını elde etmek için depolandığı, bitkisel ilaç hazırlama, hayvan yemi takviyesi, yağını çıkarma ya da yiyecek hazırlanması için saklandığı varsayılmaktadır (Dönmez ve Hüryılmaz, 2022).

1.1.3. *Bupleurum* L. cinsinin taksonomide yeri

Bupleurum cinsi taksonomik olarak aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır (Davis, 1972; Tanker, 1998);

Kingdom (Alem): Plantae

Divisio (Bölüm): Spermatophyta

Subdivisio (Altbölüm): Angiospermae

Classis (Sınıf): Magnoliopsida

Ordo (Takım): Apiales

Familya (Aile): Apiaceae (Umbelliferae)

Genus (Cins): *Bupleurum*

1.1.4. Çalışmada kullanılan *Bupleurum* L. türlerinin genel özellikleri

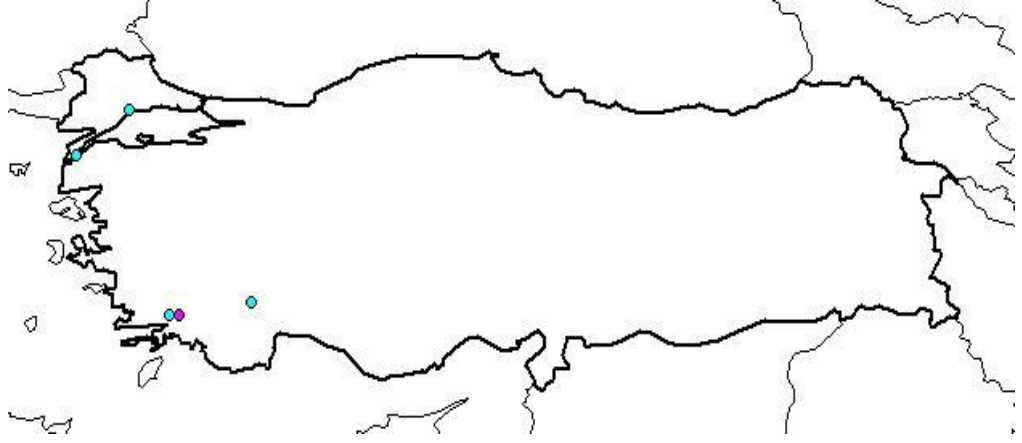
1.1.4.1. *Bupleurum anatolicum* Hub.-Mor. et.Reese

Tavşankulağı (Göle vd., 2007). Anadolu şeytanayağı (Fener ve Aykurt, 2019). Tek yıllık, 20-35 cm boyunda, dallar zayıf ve dik, üst kısımda eğik, 15 cm'den küçüktür. Işın sayısı 1 veya 2, eğer iki ise eşit değil, pedikül eşit, 8-15 mm boyunda. Brakte 2-3 adet eşit değil ve 2-3 mm boyunda. Brakteoller 4-5 adet çiçeklerden daha kısa, eliptikten ovale gider ve 1,5-2 mm boyunda. Brakteoller, ışınlar, yapraklar ve meyve üst kısmı düşük büyütmede pürüzsüz görüntüye sahiptir. Umbellerdeki çiçek sayısı 3-5 adettir. Petaller 0,65 mm boyunda, bükülmüş lob kısmı uzun ve değişken genişliktedir. Anterler 0,4 mm boyutundadır. Stilopodyum 0,65-0,8 mm boyunda geniş, stiller 0,3-0,4 mm boyunda. Meyve pürüzsüz, çok geniş, 3 mm boyundadır. Çiçeklenme zamanı Mayıs-Haziran ayı arasındadır. Yetiştirme ortamı; açık *Pinus brutia* ormanı, kısmen serpantin üzerinde, 70-1100 m (Davis, 1972). Muğla iline özgü endemik bitkidir, IUCN (International Union for Conservation of Nature) tehlike kategorisine göre NT (Neredeyse Tehdit Altında) kategorisindedir (Yeşilyurt ve Akaydın, 2012).

1.1.4.2. *Bupleurum euboicum* Beauverd

Kum şeytanayağı (Fener ve Aykurt, 2019). *B. tenuissimum* ile benzerdir ancak aslında *B. tenuissimum* subsp. *Gracile*, *B. marschallianum* C. A. Mey'in homotipik eş anlamlısıdır (\equiv *B. gracile* (M.Bieb.) DC., nom. illeg., non *B. gracile* d'Urv.). *B. euboicum*, *B. tenuissimum* L. ile karıştırılır çünkü her iki türün de merikarp yüzeylerinde papilla benzeri yapılar bulunur, tuzlu habitatlarda bir arada bulunurlar, büyüyen halofitlerdir (Stoyanov ve Goranova, 2009; Straube ve Raus, 2021). *B. euboicum*; tek yıllık, 15-63 cm boyunda, ışınlar 3-30 mm. Brakte 3 1,5-6 mm uzunlukta. Brakteoller 2,5-4 mm uzunlukta. Petaller sarı, 0,4-0,65 mm uzunlukta hafif bifid. Anterler 0,35-0,4 mm uzunlukta. Stilopodyum 0,5-0,7 mm uzunlukta, stiller 0,4- 0,5 mm uzunlukta. Merikarp 1,5-1,8(-2) mm boyunda, enine yuvarlak beşgen, karın tarafında dar bir oluk ve beyazımsı papilla benzeri rugulalar mevcuttur. Çiçeklenme Haziran-Ağustos ayları arasında, Ağustos- Ekim ayları arasında ise meyve verir. Yetiştirme ortamı; kum tepeleri, tuz bataklıkları, nadiren denize yakın dağ yamaçları, 0-500 m (Davis, 1972; Snogerup ve Snogerup, 2001).

Çalışmada kullanılan iki türün lokalite kayıtları Davis'in Grid/Kareleme sistemine göre hazırladığı yayılış haritasından alınmıştır (Davis, 1972). *B. euboicum* için mavi renk, *B. anatolicum* için mor renk harita üzerinde işaretli lokalitelerdir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. B. euboicum ve B. anaticum'un Türkiye'deki yayılışı
(<http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=karsilastir>)

2. KAYNAK ÖZETLERİ

B. frutescens'in uçucu yağı, 1993 yılında GC ve GC-MS analizleri ile kalitatif ve kantitatif olarak incelenmiştir. Tüm uçucu yağın ve temel bileşenlerinin anti-enflamatuar aktivitesi, karajenin veya PGE 1 tarafından indüklenen sıçan arka pençe ödem modelinde de araştırılmıştır. Uçucu yağın gösterdiği anti-enflamatuar aktivite, iki ana bileşene, α -pinen ve β -karyofilene bağlanmıştır. Uçucu yağın iki ana bileşeni tarafından uygulanan anti-enflamatuar aktivitede adrenal bezlerin rolünü bilmek için, adrenolektomi uygulanmış sıçanlarda carrageenin kaynaklı arka pençe ödemeine karşı çıkılmıştır. Adrenolektomi uygulanmış hayvanlarda da aktif olan β -karyofilenden farklı olarak α -pinenin anti-enflamatuar aktivitesini sergilemek için adrenal bezlerin bütünlüğüne ihtiyaç duyduğu sonucuna varılmıştır (Martin vd.,1993).

İki kesiti temsil eden dört *Bupleurum* türü (*B. rotundifolium* L., *B. croceum* Fenzl, *B. flavum* Forssk. and *B. gracile* d'Urv.) doğal yaşam alanlarından toplanmış ve meyve yağlarının yağ asidi ve sterol bileşimleri ve α -tokoferol içerikleri incelenmiştir. Tüm türlerde majör yağ asitleri oleik, linoleik ve palmitik asitlerdir (sırasıyla %41.13- 79.12, %11.07-23.21 ve %3.52-7.60). Δ -5-Avenasterol, stigmasterol, β -sitosterol, Δ -5.24-stigmastadienol ve kampesterol tüm türlerde önemli konsantrasyonlarda sergilenmiştir (%9.63-48.79, %15.42-33.44, %16.11-25.35, %12.67-22.97 ve 3.10 - %4.86). Her iki türde de Eubupleura bölümünden (2.55-2.70 mg/100g) Perfoliata bölümüne göre daha yüksek α -tokoferol konsantrasyonları ölçülmüştür. Yağ asidi ve fitosterol miktarları arasında önemli korelasyonlar bulunmuştur (Özcan, 2016).

Altı saikosaponin, yani saikosaponin a, saikosaponin c, saikosaponin d, 6''- O-acetylsaikosaponin a, 3'' – O-asetilsaikosaponin d ve 6''- olmak üzere altı saikosaponin eşzamanlı tespiti için 2009 yılında evaporatif ışık saçılımı algılama yöntemi ile birleştirilen hızlı çözünürlüklü bir sıvı kromatografisi oluşturulmuştur. *Bupleurum*'un farklı türlerden veya konumlardan alınan toplam 23 kök örneği bu analitik yöntemle incelenmiş ve bunların kimyasal profilleri kemotaksonomik araştırma için bilgi sağlamıştır. Sonuçlar, analitik yöntemin *Bupleurum* türlerinin kalite değerlendirmesinde oldukça etkili olduğunu göstermiştir (Zhang vd., 2019).

Çin'in güneybatı bölgesinde tıbbi olarak kullanılan *Bupleurum* cinsinin altı türünün (*B. kummingense*, *B. poyclonum*, *B. wenchuanense*, *B. longicaule* var. *Franchetti*, *B. rockii* ve *B. chaishou*) hava kısımlarının kimyasal bileşenleri 1991

yılında sekiz flavanoid bileşiği ve altı triterpenoid saponin elde etme sonuçlarıyla araştırılmıştır. Bu sekiz flavanoid bileşiğin aglikonları, Çin Farmakopesindeki resmi tür olan *B. chinense*'nin hava kısımlarından izole edilen flavanoid bileşiklerinin aglikonlarından farklı olan kuersetin isorhamnetin'dir. İkinci durumda, aglikon kaempferoldür. Bu fark, *Bupleurum* cinsinde kemotaksonomik değere sahip olabilir (Tan vd., 2007).

B. chinense DC'deki vejetatif organlarda saponinlerin ve flavanoidlerin lokalizasyonu ve içerik değişikliklerinin çalışmasında parafin kesit, histokimya ve fitokimya yöntemleri uygulanmıştır. Sonuçlar saponinlerin vasküler kambium ve kökün ikincil floemine dağıldığını göstermiştir; gövdede epiderm, kollensim ve korteks ve özde uzanan salgı kanallarının epitel hücrelerinde dağılırlar; yaprakta, epidermde dağılmışlardır. Bununla birlikte, gövdenin epiderm, kollensim, korteks, öz yolu ve miyelin hücrelerinde dağılan flavonoidler; yaprakta esas olarak epiderm ve kollensimde bulunmuştur. Vejetatif organlardaki saponin içeriği değişen bir yapı göstermiştir, bunların kökte birikimi ilk sırada yer alır, yaprak onu takip eder ve gövde en sonda yer alır. Ancak yapraktaki flavonoid içeriği gövdeden daha yüksek bulunmuştur ve bunların gövdedeki içeriği kökteki içeriğinden daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, yapraktaki flavanoid içeriği oldukça yüksektir bu nedenle *B. chinense* DC'nin kapsamlı kullanımı için temel oluşturabilir (Ashour ve Wink, 2011).

B. montanum'un (Coss. & Dur.) (Apiaceae) hava kısımlarının kimyasal bir araştırması, beş bileşiği; kuersetin 1, tamareketin 2, isorhamnetin-3-rutinosid 3, kaempferol-3- O –rutinosid 4 ve 3'ü vermiştir, 4-dihidroksibenzoik asit (Protokatekuik Asit) 5. Yapısal açıklama esas olarak MS, 1D ve 2D NMR spektrum verileri ile gerçekleştirilmiştir (Benahmed vd., 2014).

B. spinosum köklerinin etanol ekstresinin bütanolik fraksiyonunda iki yeni saikosaponin tanımlanmıştır: 3 β , 16 α , 23,28- tetrahidrokannabinol-11,13 (18) – dien-30- oic asit 3- O - β - D- glukopiranosil- (1 \rightarrow 2) - β - D- glukopiranosil- (1 \rightarrow 3) - β - D- frukopiranosid ve 3 β , 16 α , 23,28,30- pentahidroksiolen-11,13 (18)- dien 3 – O - β - D – glukopiranosil- (1 \rightarrow 2) - β - D – glukopiranosil- (1 \rightarrow 3) - β - D- fukopiranosit. 3 β , 16 β , 23- trihidroksi-13,28-epokiyolenan-11-en 3- O - β – D- glukopiranosil- (1 \rightarrow 2) – β - D- glukopiranosil- (1 \rightarrow 3) - β - D- fukopiranosid de izole edilmiştir ve bu yapı, *Bupleuroside* L. ile uyumludur ancak spektroskopik verileri şimdiye kadar açıklanmamıştır. *B. gibraltarium* köklerinin aynı fraksiyonundan, bilinen bileşik buddleja saponin IV,

baskın bileşen (%90) olarak izole edilmiştir. Yapılar spektroskopik analiz, özellikle 2D-NMR deneyleri kullanılarak aydınlatılmıştır (Barrero vd., 2000).

Cezayir'e özgü üç *Bupleurum* (Apiaceae) türünde (*B. plantagineum* Desf, *B. fruticosum* L., *B. spinosum* L.) flavanoid dağılımı araştırılmıştır. Endemik *B.* türlerinde kuersetin, kuersetin 3-rutinosid ve isorhamnetin 3-rutinosid bulunmuştur. *Plantagineum* Desf. Üç kaempferol glikozit, kaempferol 3-glukozit, kaempferol 3-galaktosid, kaempferol 3-rutinosid ve üç kuersetin glikozit, kuersetin 3-rutinosid, kuersetin 3-glukozit ve kuersetin 3-galaktosid, *B. fruticosum* L'den izole edilirken, isorhamnetin, isorhamnetin *B. spinosum* L 'de 3-galaktosid ve izorhamnetin 3-galaktorhamnosid bulunmuştur. Burada yedi flavanol ilk kez cins düzeyinden rapor edilmiştir (Bencheraiet vd., 2012).

B. falcatum'un kurutulmuş köklerinden üç yeni saponin ve bilinen dokuz saponin izole edilmiştir. Kimyasal ve spektral analizlere dayanarak, 4'' – O-asetilsaikosaponin d ve hidroksisikosaponinlere a ve c adlı yeni bileşiklerin yapıları oluşturulmuştur. Sulu asidik koşullarda, saikosaponinler a ve d sadece bilinen bileşiklere, saikosaponinler b 1 ve b 2'ye değil, aynı zamanda sırasıyla hidroksisikosaponinlere a ve d'ye de dönüştürülmüştür. Ayrıca HPLC tarafından *Bupleuri Radix*'in kaynatılmasının kantitatif analizi, saikosaponinler a, c ve d ile hidroksisikosaponinleri a,c ve d içerdiğini göstermiştir (Ebata vd., 1996).

Bupleurum L. (Apiaceae) türleri, Çin geleneksel tıbbında bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır. Amaç, *B. baldense*, *B. affine* ve *B. flavum* dahil olmak üzere üç yıllık Avrupa *Bupleurum* türündeki flavanoidleri araştırmak ve bunların antioksidan ve olası hepatoprotektif etkilerini test etmektir. Metanol sulu ekstraktlardan elde edilen flavanoidler, katı faz ekstraksiyonu yüksek performanslı sıvı kromatografisiyle nicelendirilmiştir. *Bupleurum* ekstreleri (1-220 mg/ ml), DPPH ve ABTS testlerinde ve ayrıca izole karaciğer sıçan mikrozomlarında antioksidan aktiviteleri açısından test edilmiştir. *B. flavum* flavanoid (BFF) karışımı ile rutin ve aynı karışımdan izole edilen narsisin in vitro hepatoprotektif aktivitesi, izole sıçan hepatositlerinde karbon tetraklorür (CCl₄) ve tert-butil hidroperoksit (t-BuOOH) toksisite modellerinde değerlendirilmiştir. BFF'de rutin ve narsisin sinerjizmi, mitokondriyal kaynaklı oksidatif strese karşı daha güçlü korumadan sorumlu olabilir (Gevrenova vd., 2015).

B. frutescens'in hava kısımlarının metanol ekstraktı, 3- O- (O - α -L ramnopiranosil- (1 \rightarrow 4) – O - [β -D-glukopiranosil- (1 \rightarrow 6) olarak tanımlanan üç yeni

saponin vermiştir. – O - β -D-glukopiranosil) 3 β -hidroksi-lup -20 (29) -en -23,28-dioik asit (2), 3- O – (O- α -L- ramnopiranosil- (1 \rightarrow 4)- O—D-glukopiranosil) 3 β -hidroksi-lup-20 (29)-en- 23,28-dioik asit 28- O –D-glukopiranosil ester (3) ve 3- O- (O- α -L-ramnopiranosil- (1 \rightarrow 4)- O [β -D-glukopiranosil-(1 \rightarrow 6)] – O- β -D-glukopiranosil) 3p-hidroksi-lup-20 (29) -en-23.28-dioik asit 28- O – D-glukopiranosil ester (4). Bu bileşikler sırasıyla fruticesaponin A, fruticesaponin B ve fruticesaponin C olarak adlandırılmış ve yapılarının aydınlatılması esas olarak NMR spektroskopisine dayalı olarak sağlanmıştır. Ayrıca betulin (1), isorhamnetin-3-O-rutinosid (5) ve rutin (6) tespit edilmiştir (Just vd., 1997).

Yeni bir triterpenoid saponin, 23-asetoksi, 16 α -hidroksi-13,28-epoksiolean-11-en-3 β -yl- [β -d- glukopiranosil- (1 \rightarrow 2)] - [β - d- glukopiranosil (1 \leftarrow 3)]- β - d-fukopiranosid, *B. fruticosum* köklerinden, sekiz kumarin, skopoletin, skoparon, preniletin, capensin, fraxetin, aeskuletin, 7- (3-metil-2-buteniloksi-6- ile birlikte izole edilmiştir. Metoksikumarin, 7- (2-hidroksi-3-metil-3-buteniloksi) -6- metoksikumarin ve 5,7-dihidroksi-6-metoksi-8-(3-metil-2-butenil) kumarin yapılar iki boyutlu teknikler de dahil olmak üzere NMR spektral verilerinin analizi ile belirlenmiştir (Pistelli vd., 1996).

Cezayir dahil Kuzey Afrika'ya endemik olan *B. montanum* ve *B. plantagineum*'un hava kısımlarından elde edilen hidro damıtılmış yağlar, gaz kromatografisi- kütle spektrometresi (GC-MS) ile analiz edilmiştir. *B. montanum* yağında toplam yağın %98.6'sını temsil eden ve *B. plantagineum* yağında 68 tane, toplamın %99.8'ini temsil eden doksan sekiz bileşik tespit edildi. Megastigma-4,6- ϵ , 8 (2) -trien, *B. montana* yağının (%25.3) ana bileşenydi. Tersine, *B. plantagineum* yağının ana bileşenleri α -pinen (%31.9), cis-krizantenil asetat (%28.2) ve mirsen (%24.8), ardından monoterpen hidrokarbon limonen (%5.1) olmuştur. Mutajenik, uçucu yağların antiplasmodial ve antimikrobiyal aktiviteleri, MIC değerleri belirlenerek agar difüzyon yöntemi kullanılarak on bir mikroorganizmaya karşı ayrı ayrı değerlendirilmiştir. İncelenen yağlar orta düzeyde antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Yağların maksimum aktivitesi *Nocardia asteroides*, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı gözlemlenmiştir. Her iki yağ için de *Candida albicans*'a karşı fungisidal aktivite bulunmuştur (Laouer vd., 2009).

Doğu Akdeniz bölgesinde bir yerli bitki olan *B. flavum*'un hava kısımlarından iki yeni triterpenoid, lup-20 (29)-en-3 α , 28-diol (1) ve lup-20 (29) -en-3 α , 28,30-triol

(2) izole edilmiştir. Yapıları spektral analiz ile açıklanmıştır. Bilinen bileşikler betulin, betulinik asit, jasmolinol, lignan nemerosin ve sekiz flavonoid (kaempferol, isokaempferid, gossipetin, kuercetin, luteolin, isorhamnetin 3-O- β -D-glukopiranosid, isorhamnetin 3-rutinosid ve rutin) ile birlikte karakterizedir (Pistelli vd., 2005).

İran'ın kuzeybatısından toplanan *B. lancifolium* Hornem'in yaprak ve tohumunun hekzan ekstraktları Soxhlet cihazı ile elde edilmiştir. Yağ asitleri metil esterlerden türetilmiş ve gaz kromatografisi/ alev iyonizasyon detektörü (GC/FID) ve gaz kromatografisi / kütle spektrometresi (GC/MS) sistemleri ile belirlenmiştir. Yaprak ve tohumdan elde edilen heksanik özüt, P-3 içeriyordu (sırasıyla % 17.1 ve 48.1). *B. lancifolium*'dan yaprak ve tohumun hekzan ekstraktları, birkaç *Bupleurum* arasında ω -3 ve ω -6 bileşiklerinin önemli bir kaynağı olarak tespit edildi. Türler her iki heksan ekstraktının antioksidan aktivitesi 1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar, *B. lancifolium*'un farklı kısımlarından elde edilen heksan özlerinin önemli antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Bu numunelerin ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi yedi Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriye (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faelis*, *Staphylococcus aureus*, *S. Epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae*) karşı belirlenmiştir. Ayrıca üç mantar (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Aspergillus niger*) dahildir. Biyolojik tahlil, yağın orta düzeyde antimikrobiyal aktivite sergilediğini göstermiştir. Bu çalışma, bu bitkinin tüm kısımlarının, özellikle gerekli olan yağ asidi bileşenlerinin çekici kaynakları ve etkili doğal antioksidanlar olduğunu ortaya koymuştur (Shafaghat, 2011).

B. chinense ve *B. commelynoideum*'un plastid genomları sekanslanmış ve gen içerikleri, düzeni ve yapıları sayılmış ve analiz edilmiştir. Yayımlanan yalnızca üç *Bupleurum* türü (*B. boissieuanum*, *B. falcatum* ve *B. latissimum*) ve diğer on beş bağlaşik tür, bir dizi karşılaştırmalı ve filogenetik analiz yapmak için seçilmiştir. Filogenetik analiz, tüm *Bupleurum* türlerinin yüksek ön yükleme desteğine sahip monofiletik bir grupta kümelendiğini ve Chamaesium sınıfından sonra ayrıldığını ortaya çıkarmıştır (Huang vd., 2009).

Yang ve diğerleri, *Bupleurum* cinsinin 32 türü 35 takson arasındaki filogenetik ilişkiler, 1826S nükleer ribozomal DNA tekrarının ITS bölgesinin karşılaştırmalı sekanslamasıyla araştırmıştır. Cinsin halihazırda kabul edilen tüm bölümleri ve alt bölümlerinden örnek taksonları, diğer dört erken dallanan Apoidae cinsinin (Anginon,

Heteromorpha, Physospermum ve Pleurospermum) dış gruplarıyla birlikte dahil edilmiştir. Bu filogenetik sonuçlar, cinsin önceki sınıflandırmalarıyla uyuşmamıştır. Moleküler veriler ayrıca, endemik Macaronesian türü *B. salicifolium*'un, Madeira ve Kanarya Adaları'ndaki popülasyonlar ile kuzeybatı Afrika'daki daha yakın anakara akrabaları arasındaki sekans farklılığı küçük olduğu için neoendemik olduğunu göstermiştir. Tüm endemik kuzey-batı Afrika taksonları, tek bir çözümlenmemiş ancak iyi desteklenen bir kümeye dahil edilmiştir ve ITS'nin düşük nükleotid varyasyonu, bu grup içinde yeni bir radyasyon olduğunu düşündürmüştür. Tek güney yarımküre türü olan *B. mundii* (Güney Afrika), bir Avrasya türü olan *B. falcatum* ile yakın akraba olan neoendemik olduğunu belirlemiştir (Yang vd., 2020).

B. chinense DC. Çin'in çoğu ilinde yaygın olarak dağıtılan geleneksel bir şifalı bitki türüdür. 2019 yılında, bu çalışmada, *B. chinense*'nin tam bir dairesel kloroplast (cp) genomu oluşturulmuştur. Bir maksimum olasılık filogenomik analizi, *Bupleurum*'un monofiletik bir grup oluşturduğunu ve diğer Apiaceae gruplarının kardeş olduğunu göstermiştir (Neves, 2004).

Luo ve Jin, 2020 yılında, *B. longicaule* var. için tam kloroplast genom dizileri belirlemiştir. Kloroplast genomu, 15 protein kodlayan gen ve 36 tRNA dahil olmak üzere toplam 51 fonksiyonel gen içerir. Yedi tRNA ve üç protein kodlayan gen dahil olmak üzere IR bölgelerinde toplam 10 gen kopyalanmıştır. Filogenetik analiz, *B. longicaule* var. Katum, monofiletik bir sınıf oluşturmuştur (Luo ve Jin, 1991).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Bitki Materyali

Bupleurum cinsine ait türler 2021 yılı Mayıs-Haziran ayında toplanmıştır. Her lokaliteden popülasyon durumuna göre 10-20 arasında örnek alınmış ve herbaryum örneği haline getirilmiştir. Anatomik incelemeler için alkol örnekleri hazırlanmıştır. Bitkilerin toplandığı lokalite bilgileri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Tez materyali lokalite bilgileri

Tür Adı	Lokalite	Tarih
<i>Bupleurum euboicum</i>	C2 Muğla: Beyobası- Köyceğiz 36°56'41" K 28° 49' 19" D 330 m	31.05.2021
<i>Bupleurum euboicum</i>	C2 Muğla: Döğüşbelen Köyü- Köyceğiz 36° 58' 49" K 28° 35' 4" D 40 m	01.06.2021
<i>Bupleurum euboicum</i>	C3 Antalya:Kaş 36°12'46" K 29° 46' 7" D 520 m	02.06.2021
<i>Bupleurum anatolicum</i>	C2 Muğla: Datça- Emecik Köyü mevki 36° 45' 47" K 27° 49' 16" D 20 m	05.06.2021
<i>Bupleurum anatolicum</i>	C2 Muğla: Yeşilçam Köyü 36° 59' 28" K 28° 25' 6" D 170 m	05.06.2021
<i>Bupleurum anatolicum</i>	C2 Muğla: Çörüş Köyü mevki 36° 59' 23" K 28° 29' 21" D 110 m	05.06.2021

3.2. Taksonomik Çalışmalar

Toplanan bitki materyali tayini Davis'in Flora Of Turkey and the East Aegean Islands adlı eserinden yararlanılarak gerçekleştirilmiştir (Davis, 1972). Tayinleri yapılan örneklerin karşılaştırması Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Herbariumu (GAZI)'ndaki fotoğraf ile yapılmıştır. Museum National d'Histoire Naturelle (MNHN), Botanic Garden and Botanical Museum Berlin, Meise Botanic Garden Herbarium (BR), US National Herbarium, Natural History Museum Vienna, Royal Botanic Garden Edinburgh, Herbarium of Université de Montpellier, Moscow University Herbarium (MW), National Herbarium Nederland'de bulunan fotoğraflardan da yararlanılmıştır.

3.3. Morfolojik Çalışmalar

Çalışma, her bir lokaliteden sayıları 12-16 arasında değişen örnekler üzerinden yapılmıştır. Kantitatif özellikler; bitki boy, brakte-brakteol boy, petal boy, anter boy, stilus, stilopodyum, meyve, ışın boyları belirlenmiştir. Tür ölçümleri suda ıslatılmış örneklerden yapılmıştır. Yapılan tür ölçümlerinin maksimum ve minimum değerleri tablo haline getirilmiştir. Bitkilerin genel görünüşü gibi kalitatif özellikleri ile de

birlikte Türkiye Florasındaki verilerle karşılaştırılarak benzerlik ve farklılıklar ortaya konmuştur.

3.4. Anatomik Çalışmalar

Arazi çalışması sırasında bitki materyalinin bir kısmı anatomik çalışmalar için ayrılmış, içerisinde %70'lik etil alkol (EtOH) bulunan kavanozlara konulmuştur. Anatomik çalışma, Metcalfe ve Chalk (1950) tarafından belirlenmiş, tez çalışması için biraz değiştirilmiş standart protokol uygulanmıştır (Metcalfe ve Chalk, 1965). Bupleurum cinsine ait türlerin anatomik yapı özelliklerinin tespit edilmesi için çalışılacak olan organlardan 7-10 mm kalınlığında olabildiğince dik kesitler alınmıştır. Alınan kesitler %70 lik etanol içinde 1 saat bekletildikten sonra aşağıdaki koşullar uygulanmıştır (Tablo 3.2.).

Tablo 3.2. Anatomik kesit uygulama koşulları

% 85 lik EtOH	1 saat
%95 lik EtOH	1 saat
%100 EtOH	1 saat
2 EtOH + 1 ksilol	30 dakika
1 EtOH + 1 ksilol	30 dakika
1 EtOH + 2 ksilol	30 dakika
%100 ksilol	1 saat

Tüm uygulama koşullarından sonra 18-23 boncuk parafin atılmış, 1 gün boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Üzerine biraz daha boncuk parafin eklenerek 60° C lik etüvde ksilol kokusu çıkana kadar bekletilmiş ve kesit alma işlemi için kaldırılmıştır. Parafine doyurulan çalışılacak bitki kısımları bloklar haline getirilmiş Leica RM2125RT rotary mikrotom ile 5-8 µm enine ve boyuna kesitler alınmıştır. 1 gün 60° C lik etüvde bekletilmiştir. Bekleme süresi ardından safranin-fast green boyama işlemine geçilmiştir. Safranin- fast green boyama koşulları aşağıdaki gibidir (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Safranin-fast green uygulama koşulları

Safranin	Fast green
% 100 ksilol 15- 30 dakika	% 50 alkol 10 dakika
2 ksilol + 1 alkol 2 dakika	% 70 alkol 10 dakika
1 ksilol +1 alkol 2 dakika	% 90 alkol 10 dakika
1 ksilol + 2 alkol 2 dakika	% 96 alkol 10 dakika
% 100 alkol 2 dakika	% 100 alkol 5 dakika
% 96 alkol 2 dakika	Fast green 1 dakika
% 90 alkol 2 dakika	% 96 alkol 5 dakika

% 80 alkol 2 dakika	% 100 alkol 5 dakika
% 70 alkol 2 dakika	1 ksilol + 1 alkol 5 dakika
Safranin 15 dakika	% 100 ksilol 5 dakika
Saf su 10 dakika	

Boyama işleminden sonra örnekler entellan kullanılarak kapatılmış, mikroskop altında fotoğraflanmıştır.

3.5. Mikromorfolojik Çalışmalar

B. euboicum ve *B. anatolicum* türlerinin polen, yaprak yüzeyleri, tohum ve tohum yüzeyleri incelenmek için çift taraflı yapışkan karbon bantlı staplar üzerine alınarak Scanning Electron Microscope (SEM) ile fotoğraflanmıştır. Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (AÜBİBAM) 'nde gerçekleştirilmiştir.

3.6. Moleküler Çalışmalar

1) Bitki DNA izolasyonu için EurX GeneMATRIX Plant & Fungi DNA izolasyon kiti (Polonya) kullanılmıştır.

2) DNA izolasyonundan sonra elde ettiğimiz DNA'ların miktar ve saflığını kontrol etmek için Thermo Scientific Nanodrop 2000 (USA) cihazında spektrofotometrik ölçüm gerçekleştirilmiştir.

3) PCR çalışmasında universal primer olarak ITS1- ITS4 primerleriyle, tür tayini için hedeflenen gen bölgeleri çoğaltılmıştır. Kullanılan primer dizileri ve PCR koşulları aşağıda verilmiştir (Tablo 3.4.).

ITS1 5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'

ITS4 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'

Tablo 3.4. PCR reaksiyon içeriği

Bileşen	Stok Kons.	Reak. Kon.
PCR Buffer	10X	1X
MgCl ₂	25mM	1,5mM
dNTP mix	20mM	0,2 mM
F. Primer	10 µM	0,3 µM
R. Primer	10 µM	0,3 µM
Taq DNA Polymerase	5U/ µl	2 U
DNA template	3µl	3 µl
PCR grade su ile 35 µl'ye tamamlanır		

- 95°C 5 dakika initial denaturation
30 döngü: 95°C for 45 saniye denatürasyon
57°C for 45 saniye primer bağlanması (annealing)
72°C for 60 saniye uzama (extension)
72°C for 5 dakika final extension
- Sıcaklık 4°C 'ye düşürülüp PCR tamamlanmıştır.

PCR (kyratec thermocycler) ile elde edilen amplifikasyon sonuçları 1x TAE tampon ile hazırlanan %1.5 agaroz jelde 100 volt akımda 90 dakika elektroforezde yürütülmüştür ve ethidium bromide boyası kullanılarak UV ışığında görüntüsü alınmıştır.

Yaklaşık 700 bazlık bölgeyi çoğaltmak için tek aşamalı PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonu Solis Biodyne (Estonya) FIREPol ® DNA Polymerase Taq polimeraz enzimiyle gerçekleştirilmiştir. Örnekler için PCR sonrasında agaroz jelde tek bant elde edilerek PCR işleminin başarılı olduğu görülmüştür.

- 1) PCR ürünü saflaştırma aşamasında, elde edilen tek bant örnekler için MAGBIO “HighPrep™ PCR Clean- up System ” (AC-60005) saflaştırma kiti kullanılmış, kitin prosedürlerine uygun saflaştırılmıştır.
- 2) Sanger dizileme örnekleri için, Macrogen Hollanda laboratuvarında, ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye Terminator v3.1 Cycle Dizileme Kiti kullanılmıştır (Applied Biosystems, Foster City, CA).

ITS1 ve ITS4 primerleriyle elde edilen okumalar, bir konsensus dizi oluşturmak amacıyla kontig haline getirilmiştir. Bu işlemin gerçekleşmesinde BioEdit yazılımı içinde CAP contig assembly algoritması kullanılmıştır.

Sekans analizi için hizmet alımı BM Labosis firmasından gerçekleştirilmiştir.

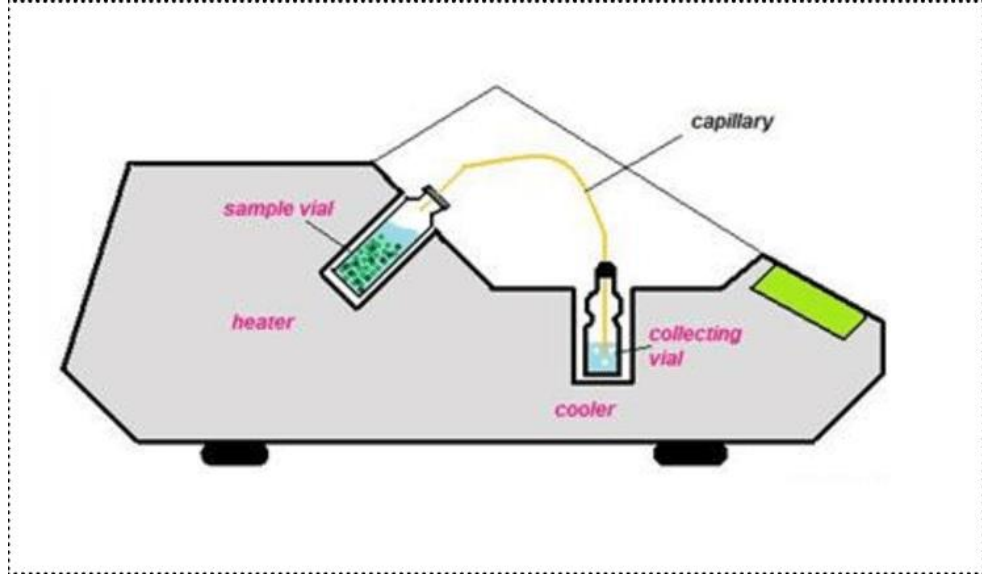
3.7. Mikrodistilasyon İşlemi

Tez materyalinden uçucu yağ elde etmek için Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (AÜBİBAM)' da Eppendorf Micro Distiller® cihazı kullanılarak mikrodistilasyon işlemi uygulanmıştır (Şekil 3.1). (Şekil 3.2.). 6 lokasyon için; 6 adet 1 gr lık kurutulmuş ve dövülmüş örnekler kullanılmıştır. Bitkisel materyal mikrodistilasyon işleminin gerçekleştirileceği özel tüplere konup üzerine 10 ml distile su ve kaynama taşı ilave edildi. Daha rahat akış

sağlanması için kapaklar çok sıkılmadan ısıtma işleminin gerçekleştirileceği bölüme yerleştirildi. Toplama şişelerine 2,5 gr NaCl-tuz, 1 ml distile su ve uçucu bileşenleri tutabilmek için 350 µl hekzan ilave edilip soğutma bölümüne yerleştirildi. Isıtıcı bölüme konulan bitkisel materyalin bulunduğu kap soğutucu bölümdeki toplama kabıyla içi boş kapiler kolon ile birleştirilmiş ve örnek uçucu yağ eldesi için uygun programla 1 saat süreli mikrodistilasyon işlemi görmüştür. İşlem tamamlandıktan sonra toplama kabındaki organik faz su fazından ayrılarak GK (Gaz Kromatografisi) ve GK/KS (Gaz Kromatografisi/ Kütle Spektrometrisi) analizleri yapılmıştır.



Şekil 3.1. Eppendorf Micro Distiller®



Şekil 3.2. Mikrodistilasyon çalışma prensibi

3.8. Analitik çalışmalar

Mikrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağ örneklerinin rölatif yüzdesinin belirlenmesi GK (Gaz Kromatografi), kütle spektrumlarının belirlenmesi için GK/KS (Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometrisi) analizi yapılmıştır.

GK/KS Analiz Koşulları

Agilent 5975 GK/KS sistemi, HP- Innovax (60m x 0.25 mm Ø, 0.25 µm film kalınlığı) polar kolon, taşıyıcı gaz olarak helyum (0.8 mL/dk akış hızı) enjeksiyon port sıcaklığı 250°C kullanılmıştır. 70 eV elektron enerjisi, kütle aralığı 35-450 m/z madde analizi gerçekleştirilmiştir. GK fırın sıcaklığı 60° C de 10 dk tutulmuş, 4 °C /dk artış 220° C, 220° C 10 dk sabit tutulmuş ardından 1° C/dk artış 240° C yükselen toplam 80 dakikalık program uygulanmıştır.

GK Analiz Koşulları

Agilent 6890N GK sistemi, FID dedektör sıcaklığı 300° C. GK/KS ile aynı elüsyon sırasını elde etmek için aynı çalışma koşulları uygulandı. Ayrılan bileşiklerin nispi yüzde miktarları FID kromatogramlarından hesaplandı.

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik Bulgular

4.1.1. *Bupleurum anatolicum* Hub.-Mor. & Reese

Bitki tek yıllık, tüysüz, 7-40 cm uzunluğunda, üst kısımlar eğik ve dalları zayıf, ışınlar 1-2 adet, 5-20 mm uzunluğunda, pedinküller eşit. Gövde dik ve esnek, yapraklar stipülsüz, lineer-oblanseolat, alternat dizilişli, yaprak kenarı entire. Yapraklar kıvrımda papillidir. Çiçek hermafrodit, umbeller kısa pedinküllü ve eşit büyüklükte, umbellalar 3-5 çiçekli, petal 5, sarı renkte 0.65-0.7 mm uzunluğunda. Brakteler lanseolat (mızrak şeklinde), 1-2 adet ve eşit değıller, 1.5-3 mm uzunluğunda, brakteol eliptik-mızrak şeklinde, çiçeklerden daha kısa, bazen var veya yok 1-2 mm uzunluğunda. Stamen 5, anterler 0,3-0,4 mm uzunluğunda. Stilus 0.3-0.4 mm uzunlukta, stilopodyum 0.65-0.8 mm uzunluğunda. Meyve şizokarp, hafif basık şişkince, 5 dar oluk, pürüzsüz 2-3 mm (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. *B. anatolicum* genel görünüm, çiçekli görünüm, meyveli görünüm

4.1.1.1. *Bupleurum anatolicum* Hub.-Mor.&Reese Lokalitelerine Göre Morfolojik Ölçüm Bulguları

Tablo 4.1. 4 No'lu Lokalite Ölçüm Bulguları

<i>B. anatolicum</i> Lok. No: 4	Işın (mm)	Boy (cm)	Brakteol (mm)	Brakte (mm)	Petal (mm)	Stilipodyum (mm)	Stilus (mm)	Meyve (mm)
1	15	30	2	1.5	0.65	0.65	0.3	3
2	15	20	2	2	0.65	0.7	0.4	3
3	8	17	1.5	2	0.65	0.8	0.3	2.8
4	8	22	2.5	2	0.65	0.75	0.4	2.5
5	13	22	1	2	0.65	0.75	0.3	3
6	10	23	1.5	3	0.65	0.8	0.3	3
7	15	40	1.5	3	0.65	0.8	0.4	2.5

Tablo 4.2. 5 No'lu Lokalite Ölçüm Bulguları

<i>B. anatolicum</i> Lok. No: 5	Işın (mm)	Boy (cm)	Brakteol (mm)	Brakte (mm)	Petal (mm)	Anter (mm)	Stilipodyum (mm)	Stilus (mm)	Meyve (mm)
1	5	7	1.5	2	0.65	0.3	0.8	0.4	2.5
2	6	12	2	3	0.65	0.4	0.65	0.4	2
3	5	7	2	2	0.65	0.4	0.65	0.4	2.5
4	8	13	1.5	2	0.65	0.4	0.65	0.4	2
5	7	16	1.5	1.5	0.65	0.4	0.7	0.4	2.5
6	7	14	2	2	0.7	0.4	0.7	0.4	2
7	7	14	2	2	0.65	0.4	0.7	0.4	2
8	6	16	2	2	0.65	0.3	0.6	0.4	2
9	6	17	1.5	2	0.65	0.3	0.7	0.4	2
10	10	18	2	2	0.7	0.3	0.7	0.4	2

Tablo 4.3. 6 No'lu Lokalite Ölçüm Bulguları

<i>B. anatolicum</i> Lok. No:6	Işın (mm)	Boy (cm)	Brakteol (mm)	Brakte (mm)	Petal (mm)	Anter (mm)	Stilipodyum (mm)	Stilus (mm)	Meyve (mm)
1	8	13	2	3	0.65	0.4	0.6	0.4	1.8
2	9	13	2	2	0.65	0.4	0.65	0.4	1.8
3	11	20	2	2	0.65	0.4	0.65	0.4	2.5
4	9	19	2	2	0.65	0.4	0.6	0.4	2.5
5	8	13	2	2	0.65	0.4	0.65	0.4	1.8
6	14	18	1.5	3	0.65	0.4	0.8	0.4	2
7	13	20	2	2	0.7	0.45	0.7	0.4	2

Tablo 4.3. (Devamı) 6 No' lu Lokalite Ölçüm Bulguları

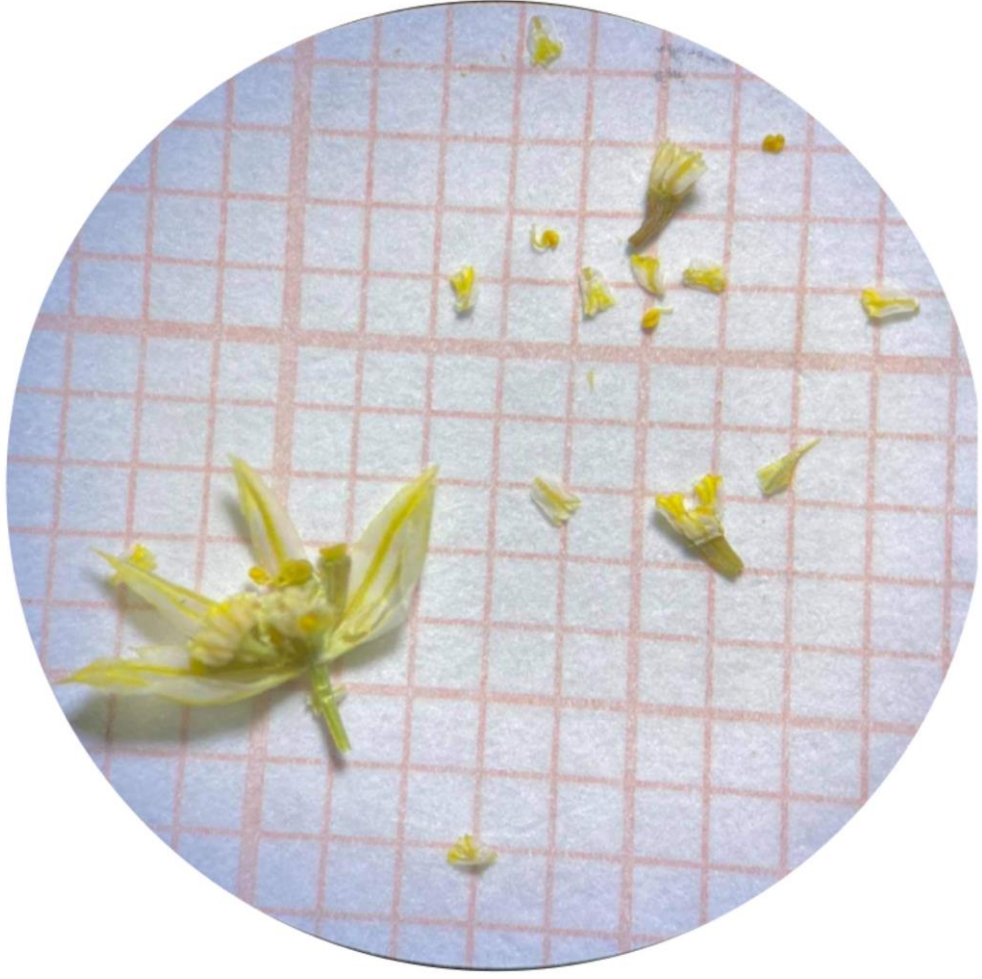
8	13	19	2	3	0.65	0.45	0.65	0.4	2
9	11	28	2	2	0.65	0.4	0.7	0.4	2
10	20	33	2	2	0.65	0.4	0.7	0.4	2
11	9	24	2	3	0.65	0.4	0.8	0.4	2
12	16	24	2	3	0.65	0.4	0.8	0.4	2

4.1.2. *Bupleurum euboicum* Beauverd&Topali

Bitki tek yıllık, 12-56 cm uzunluğunda, gövde dik ve bükülgen, kotiledonlar solmuş ve çizgisel, ışınlar 1-5 adet 10-30 mm uzunluğunda ve eşit değil, ikincil brakteler soluk, apikulat, 3 damarlı, kauline (sap) yapraklar oblanseolat ve lineer, umbellerin pedinkülleri 5 ve 40-45 mm uzunlukta, brakteol 5 ve mızrak şeklinde, eşit değil var veya yok 3-6 mm uzunluğunda, brakte 3 mızrak şeklinde 2-5 mm uzunluğunda, petaller sarı renkte kıvrımlı bükülmüş loblu ve lob üzeri beyazımsı damarlı 0.50-0.65 mm uzunluğunda, anterler 0.3-0.4 mm uzunluğunda, stilopodyum 0.3-0.55 mm uzunluğunda, stiluslar 0.2-0.4 mm uzunluğunda, meyve ince uzun yuvarlak, 5 dar oluklu, 1-1.3 mm uzunlukta, sırtlarda belli belirsiz beyaz renk papilla benzeri dalgalı çıkıntılar mevcut (Şekil 4.2, Şekil 4.3).



Şekil 4.2. *B. euboicum* genel görünüm, çiçekli görünüm



Şekil 4.3. *B. euboicum* stereo mikroskop görünümü

4.1.2.1. *Bupleurum euboicum* Beauverd&Topali Lokalitelerine Göre Morfolojik Ölçüm Bulguları

Tablo 4.4. 1 No'lu Lokalite Ölçüm Bulguları

<i>B. euboicum</i> Lok.1	Işın (mm)	Boy (cm)	Brakteol (mm)	Brakte (mm)	Petal (mm)	Anter (mm)	Stilipodyum (mm)	Stilus (mm)	Meyve (mm)
1	30	54	5	4	0.55	0.35	0.55	0.2	1
2	10	15	3	2	0.5	0.3	0.3	0.1	1
3	20	44	3	2	0.55	0.35	0.5	0.3	1.2
4	25	18	4	3	0.5	0.3	0.3	0.1	1
5	10	16	4	3	0.5	0.3	0.3	0.1	1
6	25	56	4.7	2.5	0.65	0.4	0.55	0.2	1.3
7	22	32	5	4	0.55	0.3	0.5	0.1	1.2
8	20	30	5	4	0.55	0.3	0.5	0.4	1
9	21	25	4	2.5	0.55	0.35	0.5	0.4	1.2
10	20	25	4	3	0.5	0.3	0.5	0.3	1.2
11	22	43	5	4	0.5	0.3	0.5	0.3	1.2
12	25	47	5	4	0.55	0.35	0.5	0.3	1.3

Tablo 4.5. 2 No'lu Lokalite Ölçüm Bulguları

<i>B. euboicum</i> Lok. No: 2	Işın (mm)	Boy (cm)	Brakteol (mm)	Brakte (mm)	Petal (mm)	Anter (mm)	Stilipodyum (mm)	Stilus (mm)	Meyve (mm)
1	7	14	5	4	0.65	0.35	0.35	0.2	1.3
2	6	12	3	4	0.55	0.3	0.3	0.2	1
3	7	14	3	4	0.55	0.3	0.5	0.3	1.3
4	15	17	4	3	0.5	0.3	0.4	0.3	1
5	11	17	4	4	0.55	0.35	0.4	0.3	1.2
6	10	12	4.7	3	0.6	0.3	0.4	0.3	1.4
7	20	25	5	4	0.55	0.3	0.5	0.3	1
8	20	22	5	5	0.5	0.4	0.5	0.3	1
9	25	21	4	4	0.5	0.3	0.4	0.3	1
10	30	30	4	4	0.55	0.3	0.3	0.2	1
11	21	32	5	5	0.6	0.3	0.4	0.2	1
12	30	52	5	5	0.65	0.35	0.55	0.3	1.2

Tablo 4.6. 3 No'lu Lokalite Ölçüm Bulguları

<i>B. euboicum</i> Lok. No:3	Işın (mm)	Boy (cm)	Brakteol (mm)	Brakte (mm)	Petal (mm)	Anter (mm)	Stilipodyum (mm)	Stilus (mm)	Meyve (mm)
1	25	27	4	6	0.65	0.35	0.5	0.3	1.2

Tablo 4.6. (Devamı) 3 No'lu Lokalite Ölçüm Bulguları

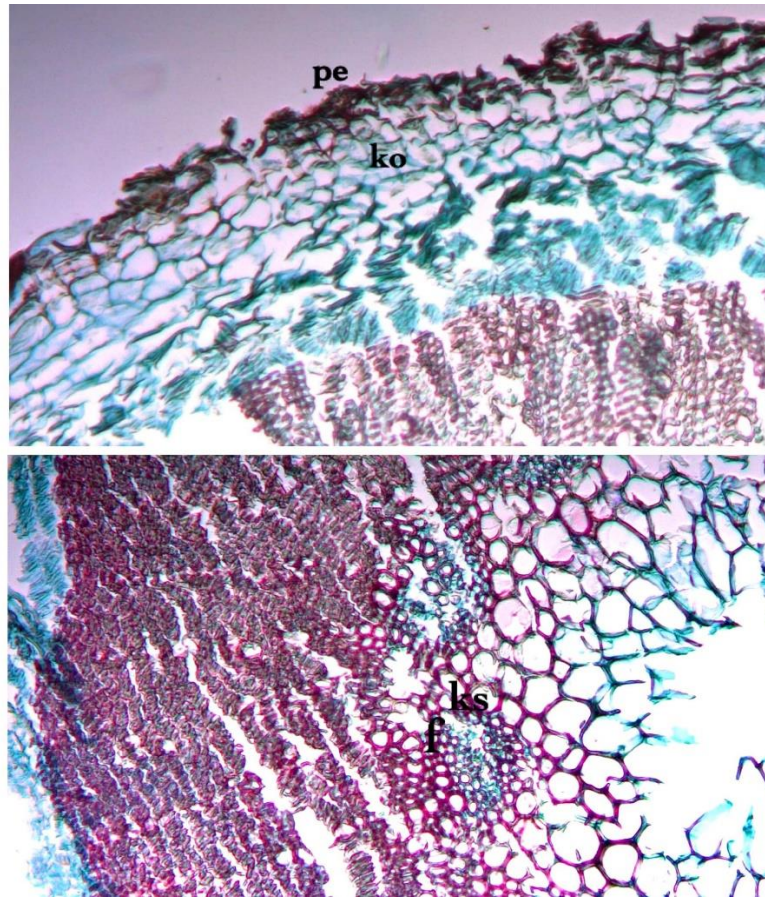
2	20	24	4	5	0.65	0.3	0.5	0.4	1
3	20	17	5	6	0.65	0.4	0.5	0.3	1.2
4	15	18	4	5	0.65	0.35	0.5	0.4	1
5	22	17	3	3	0.65	0.3	0.5	0.4	1
6	20	17	5	3	0.65	0.35	0.5	0.3	1
7	10	14	3	4	0.55	0.3	0.5	0.4	1
8	15	13	3	4	0.55	0.3	0.5	0.3	1.2
9	20	14	3	3	0.65	0.3	0.4	0.2	1
10	13	16	5	6	0.55	0.35	0.4	0.3	1
11	20	19	4	4	0.65	0.3	0.4	0.2	1
12	15	14	3	3	0.6	0.3	0.4	0.2	1
13	15	15	3	5	0.55	0.35	0.4	0.3	1
14	21	23	4	4	0.6	0.3	0.5	0.3	1.2
15	20	22	3	3	0.6	0.3	0.4	0.3	1
16	23	25	3	3	0.65	0.35	0.5	0.3	1

4.2. Anatomik Bulgular

4.2.1. Bupleurum anatolicum Hub.-Mor. & Reese

4.2.1.1. Kök Anatomisi

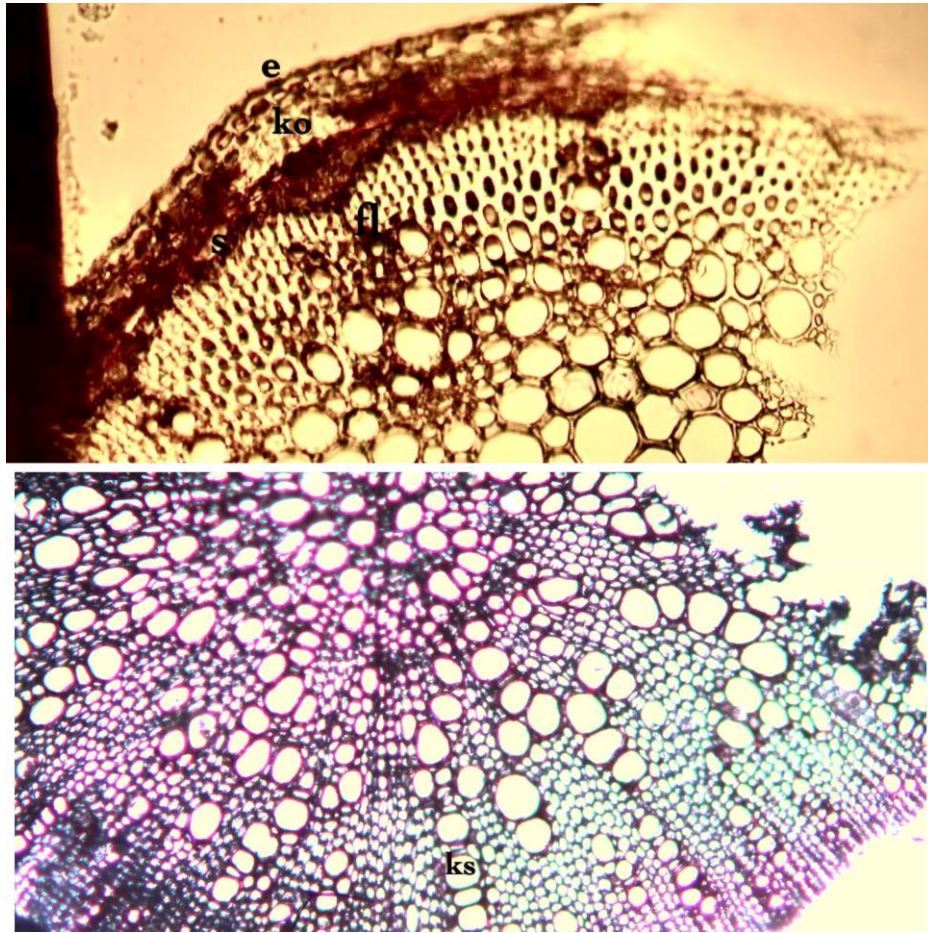
Kök enine kesitte genel itibariyle dıştan merkeze doğru periderma, korteks, iletim dokusu olmak üzere 3 kısımdan oluşmaktadır. En dışta periderma dokusu mevcut, altta ince çeperli ve düzensiz şekilli korteks tabakası bulunmaktadır. Vasküler silindirde floem korteks arasındaki dokular iyi seçilememektedir. Ksilem ve floem yuvarlak veya ovalimsidir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. *B. anatolicum* kök enine kesit; x10; pe: periderma; ko: korteks; f: floem; ks: ksilem

4.2.1.2. Gövde Anatomisi

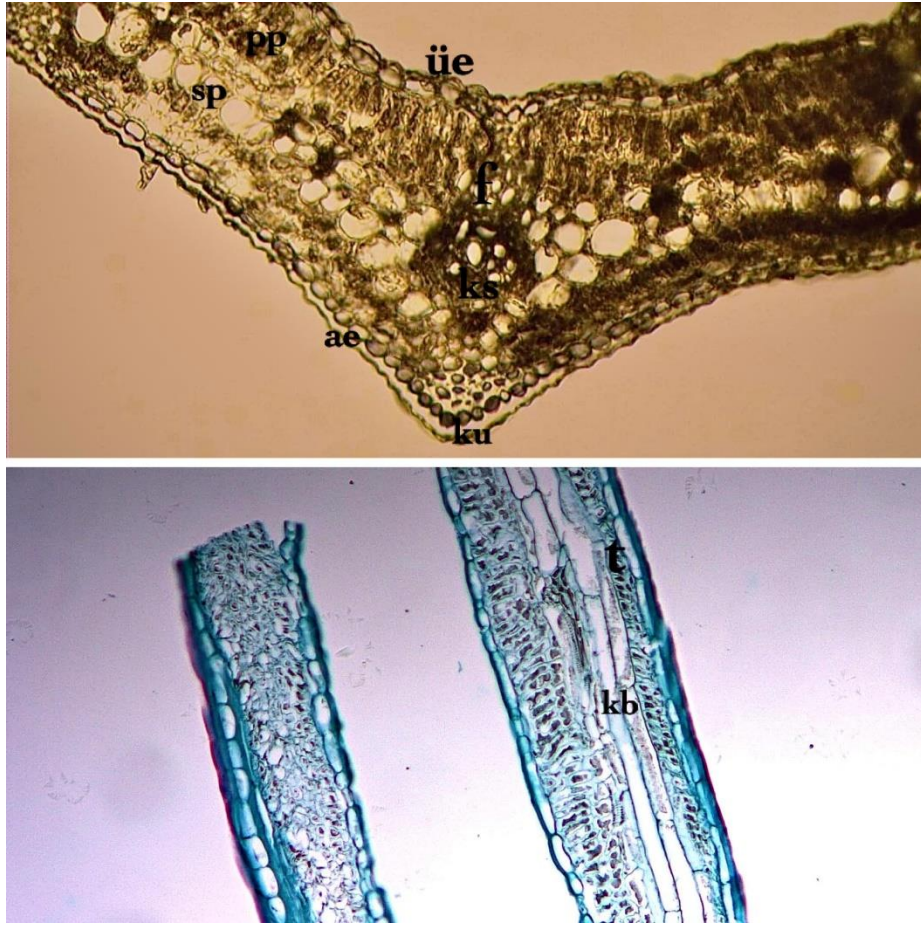
Gövde dışta elipsoid epidermis hücrelerden oluşmakta, altta korteks ovalimsi yuvarlak 3-4 sıralı hücrelerden oluşmaktadır. Korteksin altında iç kısma doğru cep oluşturan floem bulunmaktadır. Floem ile korteks arasında kalan bölgelerde elipsoid biçimli salgı kanalı mevcuttur. Vasküler silindirin geniş bir bölümünü hücrelerarası boşluklar da barındıran parenkimatik doku kaplamaktadır. Sklerankima hücrelerinin arasında ksilemi oluşturan küçük trakeler mevcuttur. Öz kısmı tamamen ksilem hücreleriyle doludur (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. *B. anaticum* gövde enine kesiti; $\times 10$; e: epidermis; ko: korteks; s: salgı kanalı; f: floem; ks: ksilem

4.2.1.3. Yaprak Anatomisi

Enine kesitte yaprak dorsoventraldir. Her iki yüzeyi de ince bir kutikula ile sarılı ve dikdörtgeni-elipsoid epidermis hücrelerine sahiptir. Üst epidermisin altında mezofil 2-3 hücre sıralı ince uzun palizat parankimasından, alt epidermisin üzerinde 1-2 sıralı sünger parankimasından oluşmaktadır. Yaprığın alt yüzeyine denk gelen kısımda kubbe biçimli çıkıntı mevcuttur. Diğer yan damarların alt veya üst yüzeyinde böyle bir çıkıntı bulunmamaktadır (Şekil 4.6).

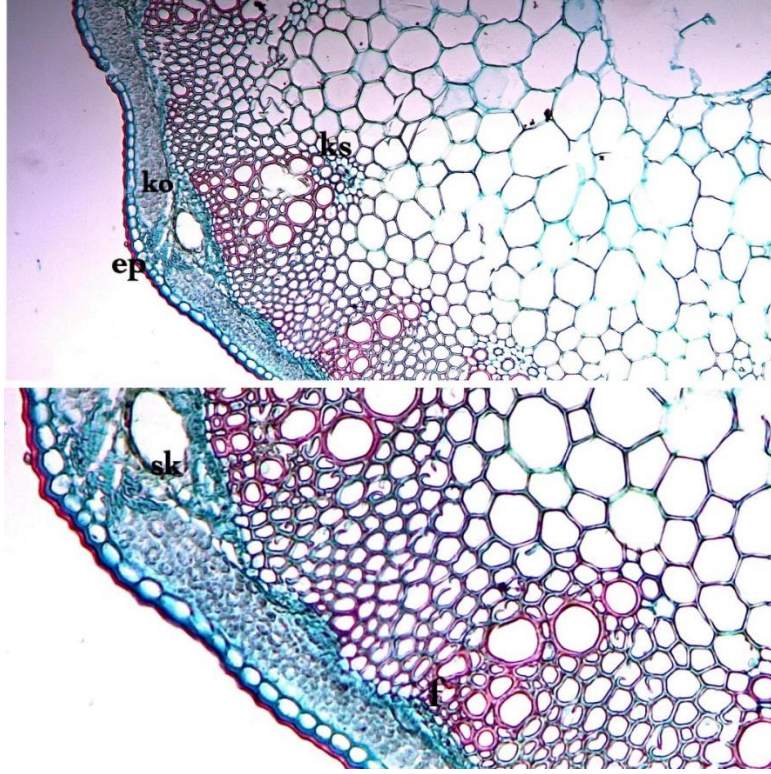


Şekil 4.6. *B. anatolicum* yaprak enine ve boyuna kesiti; x10; üe: üst epidermis; pp: palizat parankiması; sp: sünger parankiması; f: floem; ks: ksilem; ae: alt epidermis; ku: kutikula; t: trake; kb: kalburlu boru

4.2.2. *Bupleurum euboicum* Beauverd&Topali

4.2.2.1. Kök Anatomisi

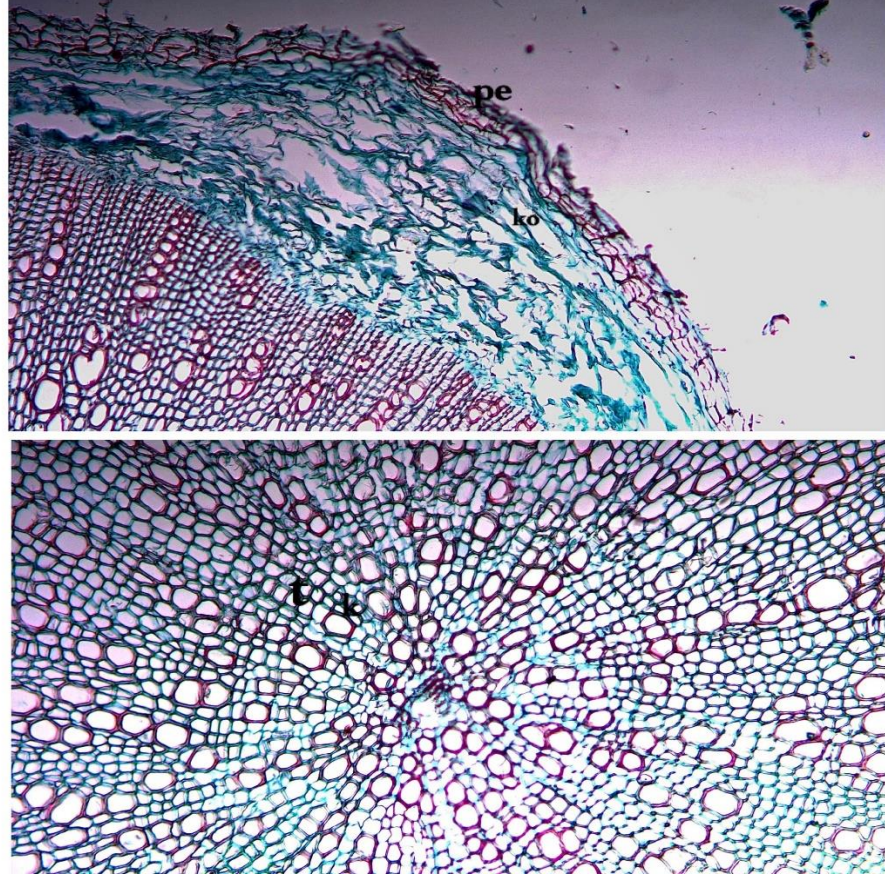
Kök enine kesitte en dışta oval şekilli sıkı dizilişli epiderma hücreleri bulunmaktadır. Merkez kısma gidildikçe epiderma hücreleri altında düzenli şekilli korteks tabakası mevcuttur. Korteks tabakasının altında geniş salgı kanalları mevcuttur. Floem ve ksilemi mevcuttur. İletim demetleri iyi gelişmiştir. Merkezi silindir çok sayıda parankimatik hücreden oluşmaktadır. Öz boşluğu bulunmaktadır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. *B. euboicum* kök enine kesiti; x10; ep: epidermis; ko:korteks; ks:ksilem; sk:salgı kanalı; f:floem

4.2.2.2. Gövde Anatomisi

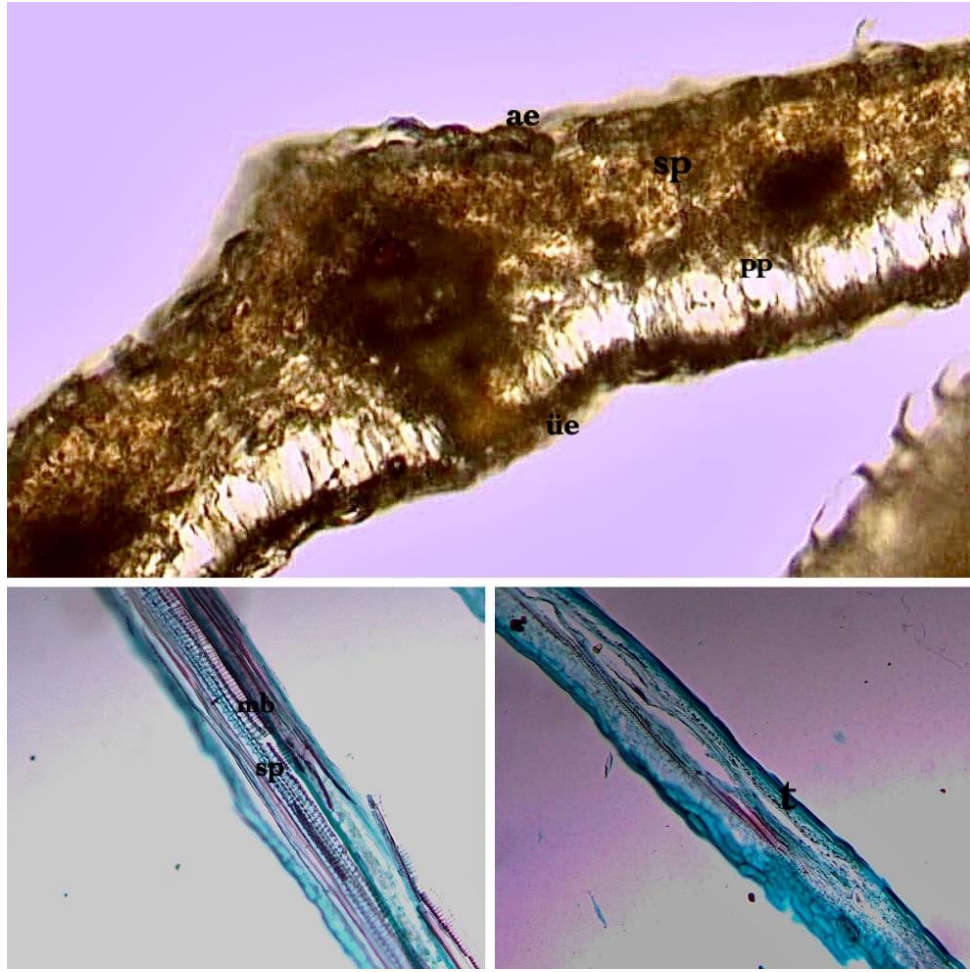
En dışta dikdörtgen-elipsoid Şekli periderma hücresi bulunmakta, altta düzensiz Şekli ve parçalanmış hücrelerden oluşan korteks tabakası yer almaktadır. Salgı kanalı floem üzerinde çevrede bulunmakta, ksilem merkeze doğru yer almaktadır (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. *B. euboicum* gövde enine kesiti; x10; ep:epidermis; ko: korteks; t:trake; ks: ksilem

4.2.2.3. Yaprak Anatomisi

Yaprak enine kesit dorsoventraldir.Dışta her iki yüzeyi de elipsoid epidermis hücrelerine sahiptir. Üst epidermis sıralı ince uzun palizat parankimasından oluşmaktadır. Alt epidermis sünger parankiması mevcuttur. Boyuna kesitte spiralli odun boruları ve merdivenli borular göze çarpmaktadır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. *B. euboicum* yaprak enine ve boyuna kesit; x10, ae: alt epidermis; üe: üst epidermis; pp: palizat parankiması; sp: sünger parankiması; mb: merdivenli borular; sp:spiralli odun borusu; t: trake

4.3. Mikromorfolojik Bulgular

4.3.1. *Bupleurum anatolicum* Hub.-mor et. Reese

1) *Bupleurum anatolicum* türüne ait polen morfolojisi aşağıdaki gibidir;

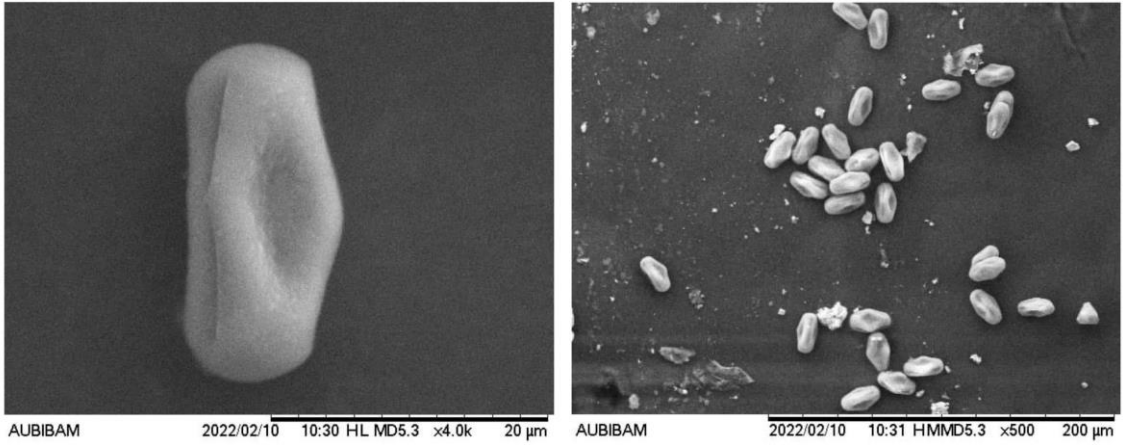
Polen şekli: Perprolat, P/E= 2.18 μm

Polar Eksen (P): 24.5 μm

Ekvatorial Eksen: 11.2 μm

Polen Apertür Karakteri: Kolpat

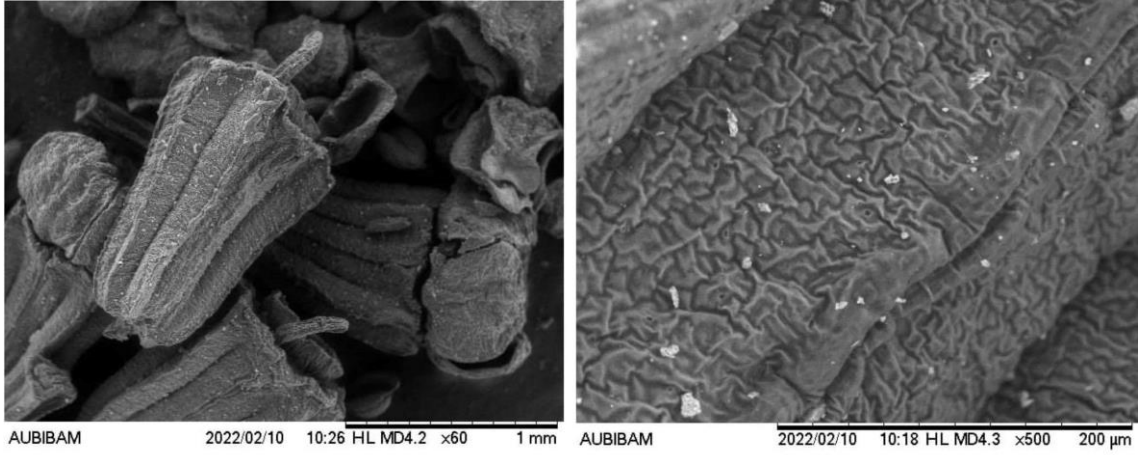
Polen tipi monad, kolpus dar ve uzun sınırları belirgin, apertür sayısı kolporat, polen yüzey ornamentasyonu psilat, ekvatorial görünüm eliptik, polar görünüm triangular (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. *B. anatolicum* SEM polen görünümü

2) *Bupleurum anatolicum* türüne ait meyve mikromorfolojisi;

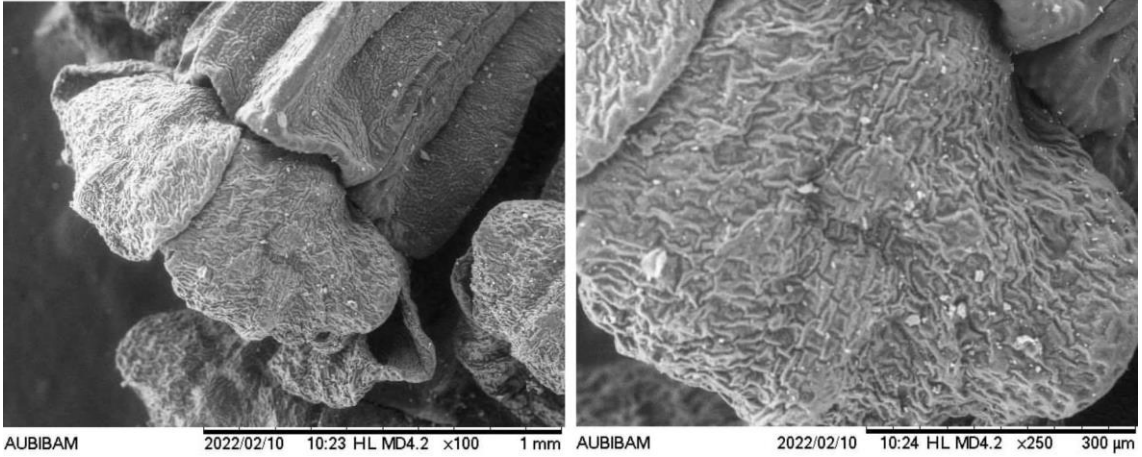
Meyve eliptik, boyu min.-max. 1-3 mm. Yüzey ornamentasyonu rugose-ruminate. Morfolojik olarak pürüzsüz ancak SEM görüntülemesinde buruşuklar göze çarpmaktadır. 5 birincil çıkıntıya sahip kostalar, valekulum ve sekonder valekulum düzensiz kıvrımlı, az buruşuk-rugulose (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. *B. anatolicum* SEM meyve görünümü

3) *Bupleurum anatolicum* türüne ait yaprak mikromorfolojisi;

Bitki petal yüzeyi rugulose, çiğnenmiş izlenimi veren düzensiz dizilimli-ruminate, küçük çukurlarla bezeli yüzeye sahip-foveolate (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. *B. anatolicum* SEM petal görünümü

4.3.2. *Bupleurum euboicum* Beauverd&Topali

1) *Bupleurum euboicum* türüne ait polen morfolojisi aşağıdaki gibidir;

Polen Şekli: Prolate, P/E= 1.45 µm

Polar Eksen: 64.6 µm

Ekvatorial Eksen: 44.5 µm

Polen Apertür Karakteri: Kolpat

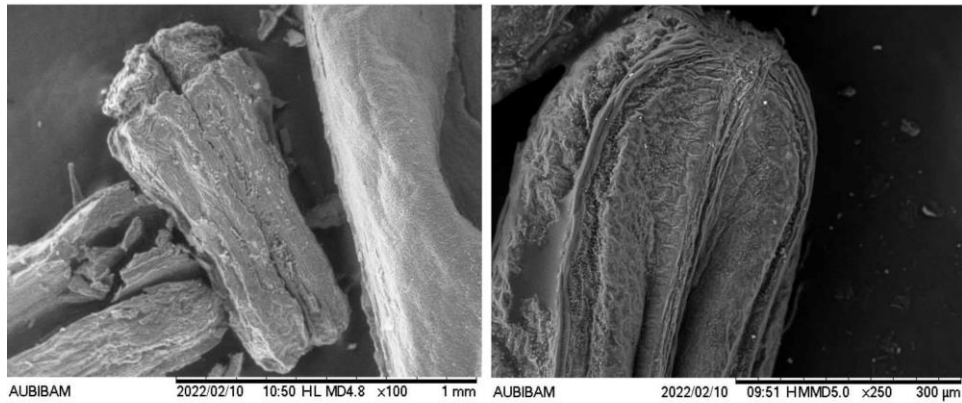
Polen tipi monad, polen yüzey ornamentasyonu psilat, kolpuslar ince, uzun, sınırları belirgin-sinkolpus, apertür sayısı trikolpat, ekvatorial görünüm eliptik, polar görünüm triangular (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. *B. euboicum* SEM polen görünümü

2) *Bupleurum euboicum* türüne ait meyve morfolojisi;

Meyve az eliptik ve oblong, boyu min.- max. 1-3 mm, morfolojik olarak pürüzsüz, sırt kıvrımları düzensiz, sırt yüzey ornamentasyonu yivli- striat, meyve yüzey ornamentasyonu pustulat (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. *B. euboicum* SEM meyve görünümü

4.4. Uçucu Yağ Bileşimleri

B. anaticum ve *B. euboicum* türlerinden mikrodistilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu bileşenlerin analizi Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi/ Kütle Spektrometresi (GC/MS) sistemiyle gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin relatif yüzde miktarları Tablo 4.7 ve 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.7. *B. anaticum* uçucu yağ bileşenleri (BA4: *B. anaticum* No 4, BA5: *B. anaticum* No 5, BA6: *B. anaticum* No 6)

<i>Bupleurum anaticum</i>						
RRI- Relatif Tutulma İndeks	Bileşenler%	BA4 %	BA5 %	BA6 %		Tanımlama Yöntemi
1032	α -Pinen	4.3	11.6	2.8	MT	t _R , MS
1093	Heksanal	5.3	4.5	5.2	D	t _R , MS
1100	Undekan	3.1	4.4	4.1	D	t _R , MS
1194	Heptanal	4.1	1.6	0.8	D	MS
1203	Limonen	6.7	4.1	4.4	MT	t _R , MS
1244	Amyl furan	2.0	1.9	2.6	D	MS
1280	P-Simen	1.2	-	-	MT	t _R , MS
1300	Tridekan	32.3	42.8	30.5	D	t _R , MS
1399	Nonanal	1.0	0.6	0.4	D	MS
1400	Tetradekan	11.0	10.3	9.3	D	MS
1483	1-Oktil asetat	1.5	-	-	D	MS
1612	β -Karyofilen	-	2.5	4.1	ST	t _R , MS
1726	Germakren D	-	-	6.8	ST	MS

Tablo 4.7. (Devamı) *B. anatolicum* uçucu yağ bileşenleri (BA4: *B. anatolicum* No 4, BA5: *B. anatolicum* No 5, BA6: *B. anatolicum* No 6)

1945	1,5-Epoksi-salvial(4)14-ene	2.8	1.1	1.7	OST	MS
1958	(E)- β -İyonon	-	-	0.5	D	MS
2008	Karyofilen oksit	-	8.9	10.8	OST	t _R , MS
2029	Perilil Alkol	-	0.8	0.8	OMT	MS
2037	Salvial-4(14)-en-1-one	1.3	0.8	1.5	OST	MS
2071	Humulen Epoksit-II	0.8	0.5	0.8	OST	MS
2104	Viridiflorol	6.3	-	-	OST	MS
2130	Salviadienol	-	-	0.8	OST	MS
2131	Heksahidrofarneasil aseton	0.9	0.5	0.7	D	t _R , MS
2144	Spathulenol	2.3	1.8	6.0	OST	t _R , MS
2255	α -Kadinol	-	-	0.7	OST	t _R , MS
2278	Torilenol	1.1	-	1.2	OST	MS
2296	Miristisin	-	-	-	D	MS
2316	Karyofiladienol I	-	0.3	tr	OST	MS
2369	Eudesma-4(15), 7-dien-1 β -ol	1.1	-	tr	OST	MS
2622	Fitol	3.9	-	2.3	D	MS
	Monoterpen hidrokarbonlar – MT	12.2	15.7	7.2		
	Oksijenli monoterpenler - OMT	-	0.8	0.8		
	Seskiterpen hidrokarbonlar - ST	-	2.5	10.9		
	Oksijenli seskiterpenler - OST	15.7	13.4	23.5		
	Diğer - D	65.1	66.6	56.4		
	Belirlenmiş Bileşenler					
	Toplam %	93	99	98.8		

RRI: Alkan serisi kullanılarak hesaplanan Relatif Tutulma İndeksi, %: FID kromatogramından hesaplanan, *tr*: Trace, standart limitin altında (<0.1 %). (IM): Tanımlama yöntemi, *tr*: Orijinal bileşiklerin HP Innovax sütununda alıkonma sürelerine dayalı tanımlama, MS: Baser Uçucu Yağ Bileşimleri Kitaplığı, Adams, MassFinder ve Wiley Kütüphanesindekilerle kütle spektrumun bilgisayar eşleşmesi temeline dayanan tanımlama

Tablo 4.8. *B. euboicum* uçucu yağ bileşimi (BE1: *B. euboicum* No 1, BE2: *B. euboicum* No 2, BE3: *B. euboicum* No 3)

<i>Bupleurum euboicum</i>						
RRI- Relatif Tutulma İndeks	Bileşenler%	BE1 %	BE2 %	BE3 %		Tanımlama Yöntemi
1032	α -Pinen	2.6	1.4	4.0	MT	t _R , MS
1100	Undekan	35.0	42.8	13.5	D	t _R , MS
1194	Heptanal	32.8	25.7	21.3	D	MS
1300	Tridekan	6.3	10.6	15.1	D	t _R , MS
1399	Nonanal	0.4	-		D	MS
1452	Oktenol	tr	-	-	D	t _R , MS
1466	α -Kubeben	-	-	tr	ST	MS
1497	α -Kopaen	0.6	0.8	1.5	ST	MS
1500	Pentadekan	0.3	0.6	1.4	D	t _R , MS
1506	Dekanal	0.1	-	-	D	MS
1544	β -Kubeben	0.1	-	0.4	ST	MS
1548	(E)-2-Nonenal	0.6	-	-	D	MS
1589	β -Ylangene	-	-	1.4	ST	MS
1591	β -Funebrene	0.5	0.8	1.0	ST	t _R , MS
1612	β -Karyofilen	1.1	1.0	3.4	ST	t _R , MS
1645	Thujopsene	1.5	2.4	3.5	ST	MS
1726	Germakren D	1.3	0.6	9.8	ST	MS
1762	α -Kamigren	-	-	0.2	ST	MS
1773	δ -Kadinen	-	-	0.7	ST	t _R , MS
1849	Cuparene	0.5	0.6	0.6	ST	MS
1945	1,5-Epoksi-salvial(4)14-ene	0.3	-	-	OST	MS
2008	Karyofilen Oksit	4.8	3.1	5.3	OST	t _R , MS
2029	Perilla alkol	-	tr	0.2	OMT	MS

Tablo 4.8. (Devamı) *B. euboicum* uçucu yağ bileşimi (BE1: *B. euboicum* No 1, BE2: *B. euboicum* No 2, BE3: *B. euboicum* No 3)

2037	Salvial-4(14)-en-1-one	0.9	1.0	1.4	OST	MS
2130	Salviadienol	0.5	0.3	0.8	OST	MS
2131	Heksahidrofarneşil aseton	0.2	0.2	-	D	t _R , MS
2144	Spathulenol	0.9	0.6	2.1	OST	t _R , MS
2162	Muurola-4,10(14)-dien-1-ol	0.3	-	-	OST	MS
2278	Torilenol	0.8	0.8	1.5	OST	MS
2296	Miristisin				D	MS
2316	Karyofiladienol I	-	0.3	0.2	OST	MS
2324	Karyofiladienol II	0.5	-	-	OST	MS
2369	Eudesma-4(15), 7-dien-1β-ol	1.3	1.1	1.9	OST	MS
2389	Karyofilenol I	0.2	-	0.1	OST	MS
2392	Karyofilenol II	0.6	0.4	0.7	OST	MS
	Monoterpen hidrokarbonlar – MT	2.6	1.4	4.0		
	Oksijenli monoterpenler - OMT	-	tr	0.2		
	Seskiterpen hidrokarbonlar - ST	5.6	6.2	22.5		
	Oksijenli seskiterpenler – OST	11.1	7.6	14		
	Diğer - D	75.7	79.9	51.3		
	Belirlenmiş Bileşenler					
	Toplam%	95	95.1	92		

RRI: Alkan serisi kullanılarak hesaplanan Relatif Tutulma İndeksi, %: FID kromatogramından hesaplanan, tr: Trace, standart limitin altında (<0.1 %). (IM): Tanımlama yöntemi, tr: Orijinal bileşiklerin HP Innovax sütununda alıkonma sürelerine dayalı tanımlama, MS: Baser Uçucu Yağ Bileşimleri Kitaplığı, Adams, MassFinder ve Wiley Kütüphanesindekilerle kütle spektrumun bilgisayar eşleşmesi temeline dayanan tanımlama

4.5. Moleküler Bulgular

B. anatolicum ve *B. euboicum* türlerinin ITS1 ve ITS4 gen bölgesine ait dizi analizlerinin NCBI veri bankasındaki türleri ile kıyaslama sonuçları her iki takson için en yakın Blast sonuçlarına ait veriler sekans tablosunda verilmiştir (Tablo 4.9), (Tablo 4.10.), (Tablo 4.11.), (Tablo 4.12.). Her iki türe ait dendogram oluşturulmuştur.

Tablo 4.9. *B. euboicum* ITS1-ITS4 primerleri sekansı

```
AACCTGCGGAAGGATCATTGTGCGAACCCCTGAATCCTAGAACGACCCGAGAACATGTTTCA
ATGCA
GGCCGGGGGCGCATCGATCCGATGCGCACGTCGTCCGAAAAAACTAACCGGGCGCGGA
AT
GCGCCAAGGAAACGTAAACTGAATGGGATGTCTCCCCCTCGTCCGAGGGGGCCGACAGC
CTTC
TGAGAAACCAACGACTCTCGGCAACGGATATCCCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTA
GCGA
AATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTTTTTGAACGCAAGT
TGCGCCC
GATGCCATTAGGCTGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTCACGTATAGCTTTGCCCTCCGCT
GCTCGT
TCAAAATGAGACGTTGCTGCTCGGGGGACGGAATGTGACCTCCCGTGCCTCGTTGCGCGG
CTGG
TTTAAAAACAATCGCCGGAGACCGGAAAATGCAACATTGGTGGTGGGCACTCCAAACC
TCTTGC
CATGCTGCGCTGGTTCCGTTTGCTCCGTGCGCGTAAGTGACCCCTTTGGCGCCGCCCCAGG
CGC
GCGCTCGAACTGTGACCCCAGGTCAGGCGGGACTACCCGCTGAATTTAAGCATAT
```

Tablo 4.10. *B. anatolicum* ITS1-ITS4 primerleri sekansı

AATATTAACCGGGCGCGAAATGCGCCAAGGAAACTGAAAGTGAATAGGATGTCTCCTCTCC GTTTG
ACGGGTGGCGTCATCCTTCTGAGAAACCAATGACTCTCGGCAACGGATATCCCGGCTCTCG CATC
GATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCG AGTTTTT
GAACGCAAGTTGCGCCCGATGCCATTTGGTTGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTCACGTAAA GCTTT
TCCCATACTCTGCTCGCTCATTTTCGAGTTGTTGCAGTTTGGGGGGATGGAAAGTGACCTCCC GTGCCT
CGTTGTGCGGCTGGTTTAAAAGAGAGTCCCCGGTGAACAGAAAACGCAACATTGGTGAA GGCA
TTACTAACCTCTTGCCATATTGTGTCTAATCCGATCAACTGTGAGTGACAGAGACCCTATGG TGCCGC
CTCAGGTGCGCGCTCAAATTGTGACCCAGGTCAGGCGGGACTACCCGCTGAGTTTAAAGCA TATC
AATAA

Tablo 4.11. *B. euboicum* türünün NCBI veri bankasındaki türler ile kıyaslanma sonuçları

NCBI Gen Bankasındaki En Yakın Karşılığı	Benzerlik Oranı	Eşleşen Baz Sayısı	GenBank Numarası
<i>B. stenophyllum</i>	% 91	480/530	LC489164.1
<i>B. falcatum</i>	% 91	480/530	KP058322.1
<i>B. chinense</i>	% 91	480/530	OL472906.1
<i>B. commelynoideum</i>	%90	480/531	KR902799.1
<i>B. scorzonifolium</i>	% 90	474/524	HM114235.1
<i>B. smithii</i>	% 90	479/532	KR902823.1

Tablo 4.12. *B. anatolicum* türünün NCBI veri bankasındaki türler ile kıyaslanma sonuçları

NCBI Gen Bankasındaki En Yakın Karşılığı	Benzerlik Oranı	Eşleşen Baz Sayısı	GenBank Numarası
<i>B. gerardii</i>	% 92	460/500	AF479849.1
<i>B. gracillimum</i>	% 91	487/534	LC489178.1
<i>B. candollei</i>	% 91	486/536	LC489177.1
<i>B. hamiltonii</i>	% 91	485/535	KR902804.1
<i>B. scorzonerifolium</i>	% 91	484/534	AY551294.1
<i>B. marginatum</i>	% 91	483/533	KR902809.1
<i>B. amplexicaule</i>	% 90	484/536	KR063569.1
<i>B. falcatum</i>	% 90	479/531	KR902800.1
<i>B. commelynoideum</i>	% 90	479/531	KR902799.1
<i>B. smithii</i>	% 90	479/532	KR902826.1
<i>B. praealtum</i>	% 91	456/499	AF481390.1
<i>B. wenchuanense</i>	% 90	479/532	KR133200.1

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Morfolojik Sonuç ve Tartışma

Davis'in Türkiye Florasındaki *B. euboicum* türüne ait morfolojik bulgular ile bu tez çalışması için yapılan ölçümler birkaç fark dışında birbiriyle uyushmaktadır. Davis'in Türkiye Florasında bitki boyu 15-63 cm, ışın boy 3-30 mm, petal boy 0.4-0.65 mm, brakteol 2.5-5 mm, meyve boy 1.5-1.8 mm belirtilmiştir. Tez çalışması gözlemlerimize göre *B. euboicum* bitki boy 13-56 cm, ışın boy 6-30 mm, petal boy 0.5-0.65 mm, brakteol boy 3-6 mm, meyve boy 1-1.4 mm olarak ölçülmüştür.

Stoyanov *B. euboicum*' un ayırt edici morfolojik karakteri için meyve üzerinde beyaz renkte papilla benzeri yapı varlığından bahsetmiştir (Stoyanov ve Goranova, 2009). Tez çalışması gözlemlerimize göre beyaz renk belli belirsiz ancak sırtlar üzerinde papilla benzeri çıkıntılar mevcuttur.

Endemik *B. anatolicum* gözlemlerimize göre Türkiye Florasına ait bitki boy ve meyve boy verileri dışında farklılık göstermemiştir. Buna göre Türkiye Florasında bitki boy 20-35 cm, meyve boy 3 mm verilmiştir. Tez çalışmamızdaki morfolojik ölçümlere göre bitki boy 7-40 cm, meyve boy 1.8-3 mm olarak ölçülmüştür.

B. euboicum türünün toplandığı 3 lokasyon ve endemik *B. anatolicum* türünün toplandığı 3 lokasyona ait morfolojik ölçümlerine ait sayısal veriler IBM SPSS Statistics 29.0.0.0 paket programında Repeated Measures- ANOVA testi ile anlamlılık dereceleri belirlenmiş, çoklu karşılaştırma testleri (Bonferroni) ile de grup içi anlamlılık incelenmiştir. *B. euboicum* türü için incelenen bitki organı adı ile birlikte 1e, 2e, 3e kodu, *B. anatolicum* türü için 4a, 5a, 6a kod adları sonuna eklenmiş ve 3'er lokasyona ait bitki boy, ışın boy, petal boy, brakte boy, brakteol boy, stilus boy, stilopodyum boy, anter boy, meyve boyları değerlendirilmiştir.

Elde edilen sonuçlarda *B. euboicum* ve *B. anatolicum* türlerinin ayırt edilmesinde kullanılan morfolojik karakterler arasında *B. anatolicum* için ışın, boy, stilus, anter ve meyve, *B. euboicum* türü için boy, petal, brakte, anter için anlamlı farklılığa sahip olduğu sonucuna varılmıştır. ($p < 0,05$) (Tablo 5.1).

Tablo 5.1. *B. euboicum* ve *B. anatolicum* türlerinin morfolojik karakterlerinin istatistiksel anlamlılık sonuçları

	<i>B. euboicum</i>			<i>B. anatolicum</i>		
	Lok 1	Lok 2	Lok 3	Lok 4	Lok 5	Lok 6
Işın	-	-	-	+	+	+
Boy	+	+	+	+	+	+
Petal	+	+	+	-	-	-
Brakte	+	+	+	-	-	-
Brakteol	-	-	-	-	-	-
Stilus	-	-	-	+	+	+
Stilopodyum	-	-	-	-	-	-
Anter	+	+	+	+	+	+
Meyve	-	-	-	+	+	+

5.2. Anatomik Sonuç ve Tartışma

Tez çalışma bitkilerimiz *B. euboicum* ve endemik *B. anatolicum* türlerinin kök, gövde ve yaprak kısımlarından mikrotom ile enine kesitler alınıp fotoğraflanmıştır. *B. euboicum* ve *B. anatolicum* türlerinin vejetatif organlarına ait anatomik çalışma ilk kez bu tez çalışması ile ortaya konmuştur.

B. euboicum ve endemik *B. anatolicum* türleri tek yıllık bitkilerdir. Tek yıllık bitkilerde sekonder kök yapısı gözlemlenmesi beklenmemelidir. *B. euboicum* ve *B. anatolicum* için kök enine kesitlerinde periderma tabakası gözlenmiştir. *Bupleurum* cinsinin kökü düzenli olarak düzenlenmiş beş ile on mantar hücre katmanından oluşan periklinal olarak uzatılmış dörtgen hücrelerden oluşan periderm ile kaplıdır (Pan, 2006). Mısır, yaptığı çalışmada *B. heldreichii* kök enine kesitinde periderm tabakasının olduğunu bildirmiştir (Mısır vd., 2008). Tüm bu gözlemler bizim çalışmamızda *B. anatolicum* ve *B. euboicum* için uyumluluk göstermektedir.

Wang ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı çalışmada *Bupleurum* cinslerinin gövde anatomisinde öz boşluğunun varlığı veya yokluğunun türlerin belirlenmesinde rol oynadığını düşünmektedir. Aynı çalışmada *B. hamiltonii* var. *hamiltonii* türünün gövde enine kesitinde öz bölgesi tamamen parankimatik hücreyle doludur (Wang, Ma, He, 2011). Bizim çalışma bitkilerimiz olan *B. euboicum* ve *B. anatolicum* türlerinde de gövde enine kesitinde öz boşluğu bulunmamaktadır.

Bupleurum türlerinin çoğunun yaprak dizilişlerinin dik olması güneş ışığının etkisinin de her iki tarafına eşit olmasına etki eder ve bu sebeple çoğu türün yaprak yapısı izolatral yapı olarak gözlenir, bununla birlikte kurakçıl karaktere sahip olan çoğu türün belirgin kutikül yapısında olduğu sonucuna varılmıştır (Wolff, 1958; Özcan, 2016). Pan, *Bupleurum* yapraklarını bir sıra palizat parankimasından ve beş ile sekiz

hücreli süngerimsi parankima tabakasından oluşmuş iki yüzeyli olarak tanımlamıştır (Pan, 2006). Çalışma bitkilerimiz tanımlamayla paralellik göstermektedir. Özellikle *B. anatolicum* enine kesitinde bir sıra palizat parankiması ve beş sıralı sünger parankiması net bir şekilde görülmektedir.

5.3. Mikromorfolojik Sonuç ve Tartışma

Bupleurum türlerine ait polen, meyve ve yaprak mikromorfolojisine ait çalışmalar sınırlı olup, tez çalışma bitkilerimize ait bir mikromorfolojik çalışma ilk kez bu tez çalışması ile aydınlatılmıştır.

De Leonardis ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptığı çalışmada *Bupleurum* polen tanelerinin neksin anahatlı radyal simetrik monad polenler olarak karakterize etmiştir (De Leonardis vd., 2009). Çıtak, Dural, Gönen'in yaptığı çalışmada *B. rotundifolium* türüne ait polen çalışmasında polen apertürü trikolpat, polen şekli subprolat ve ekzin skülpürü rugulat olarak belirlemiştir (Çıtak, Dural, Gönen, 2016). Perveen ve Qaiser'in yaptığı çalışmada *B. tenue* Buch-Ham, *B. linearifolium* DC., *B. subuniflorum* Boiss&Heldr., bitkilerinin polen tanelerini prolate olarak gözlemlemiştir (Perveen, Qaiser, 2006). Bizim gözlemlerimize göre *B. euboicum* polen şekli prolate, polen apertür kolpat, yüzey ornamentasyonu psilattır. *B. anatolicum* polen şekli ise perprolat, apertürü kolporat ve yüzey ornamentasyonu psilattır.

Umbelliferae meyve yapısının tekdüzeliğine rağmen, meyve morfolojisi ve anatomisinin ayrıntılarındaki önemli farklılıkların tür ayırt etmede yeterli seviyede olduğu bildirilmiştir, ancak bunların üst-spesifik ve üst-jenerik taksonları tanımlamak için etkili bir şekilde kullanılıp kullanılmayacağı şüpheli görünmektedir (Davis, 1972; Özcan, 2004).

Özcan'ın 2004 yılında yaptığı çalışmada *B. nodiflorum*, *B. flavum*, *B. gracile* ve *B. pulchellum*'un yüzeyinin morfolojik betiminde pürüzsüz olduğu belirtilse de mikromorfolojisinde türlerin ayırt edici kırışıklı farklı yüzey desenleri bildirilmiştir. Bizim tez çalışmamız *B. anatolicum* ve *B. euboicum* meyveleri morfolojik olarak pürüzsüz görünse de *B. anatolicum* yüzeyi rugose-ruminat, *B. euboicum* yüzeyi de yivli-striat olarak gözlemlenmiştir (Özcan, 2004).

B. anatolicum petal yüzey mikromorfolojisi az buruşuk-rugulose ve çiğnenmiş izlenimi veren düzensiz dizilimli sırta sahiptir.

(Özcan, 2002), *Bupleurum* taç yapraklarının karakteristik yüzey özelliklerinin çevreye yapısal uyumu yansıttığını ve *Bupleurum* türleri için taksonomik karakter olarak morfolojiye ek kullanılabileceğini gözlemlemiştir.

5.4. Uçucu Yağ Analiz Sonuç ve Tartışma

B. euboicum ve endemik *B. anatolicum* türlerinin 6 farklı lokasyondan toplanan örnekleri kurutulup dövülmüş ve mikrodistilasyon yöntemiyle uçucu yağ analizi ilk kez bu tez çalışmasıyla gerçekleştirilmiştir.

B. euboicum türü için 1, 2, ve 3 no'lu lokasyonlarda undekan (%35.0- %42.8- %13.5) ve heptanal (%32.8- %25.7- %21.3) ana bileşen olarak gözlenmiş, 2 ve 3 no'lu lokasyonlarda ana bileşene ek olarak tridekan gözlenmiştir (%10.6- %15.1). En az oksijenli monoterpenler, onu takip eden monoterpen hidrokarbon ve seskiterpen hidrokarbon olmuştur. En yüksek seviyede 3 lokasyon için de diğer olarak adlandırılan bileşen yüzdesi gözlenmiş ve toplamda 35 bileşen tespit edilmiştir. Endemik *B. anatolicum* için 4 no'lu lokasyonda tridekan (% 32.3), tetradekan (% 11.0), 5 no'lu lokasyon için α - pinen (% 11.6), tridekan (% 42.8), tetradekan (% 10.3), karyofilen oksit (%8.9), 6 no'lu lokasyon için tridekan (% 30.5), tetradekan (% 9.3), karyofilen oksit (%10.8) ana bileşen olarak belirlenmiş, en düşük oksijenli monoterpenler, onu takip eden seskiterpen hidrokarbon, monoterpen hidrokarbon, oksijenli seskiterpenler ve en yüksek yüzde 3 lokasyon için diğer olarak adlandırılan bileşenler olmuş ve toplamda 29 bileşen tespit edilmiştir.

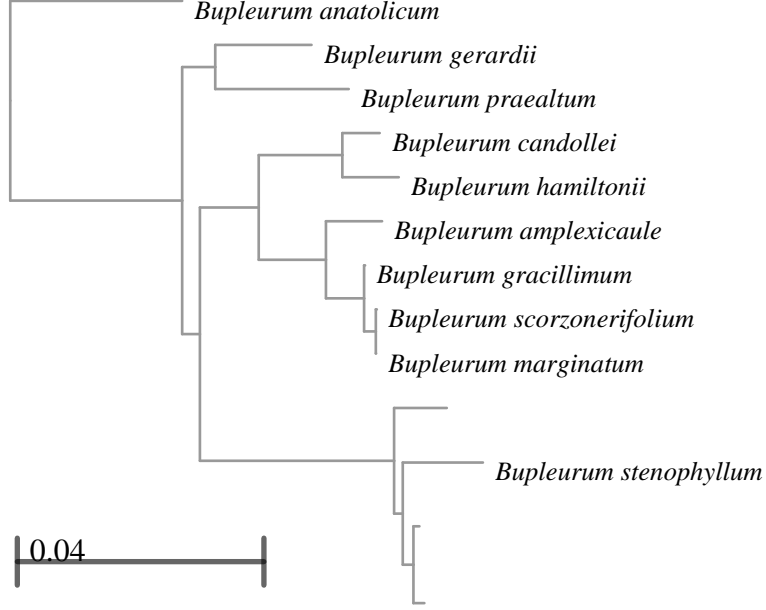
Başer ve Kırimer'in yaptığı çalışmada undekan bileşeni *B. cappadocicum*, *B. croceum*, *B. gerardii*, *B. intermedium*, *B. sulphureum* türlerinde, tridekan *B. lycaonicum*, *B. rotundifolium* türlerinde, α pinen *B. falcatum* subsp. *cernuum* ve *B. rotundifolium* türlerinde rastlanmıştır (Başer, Kırimer, 2014).

Kırcı ve arkadaşlarının yaptığı uçucu yağ çalışmasında *B. lophocarpum*'da α pinen (%8.4) ve undekan (% 3.6) ana bileşenlerine rastlanmıştır (Kırcı vd., 2019). Gözlemlerimiz bu çalışmalarını destekler niteliktedir.

5.5. Moleküler Sonuç ve Tartışma

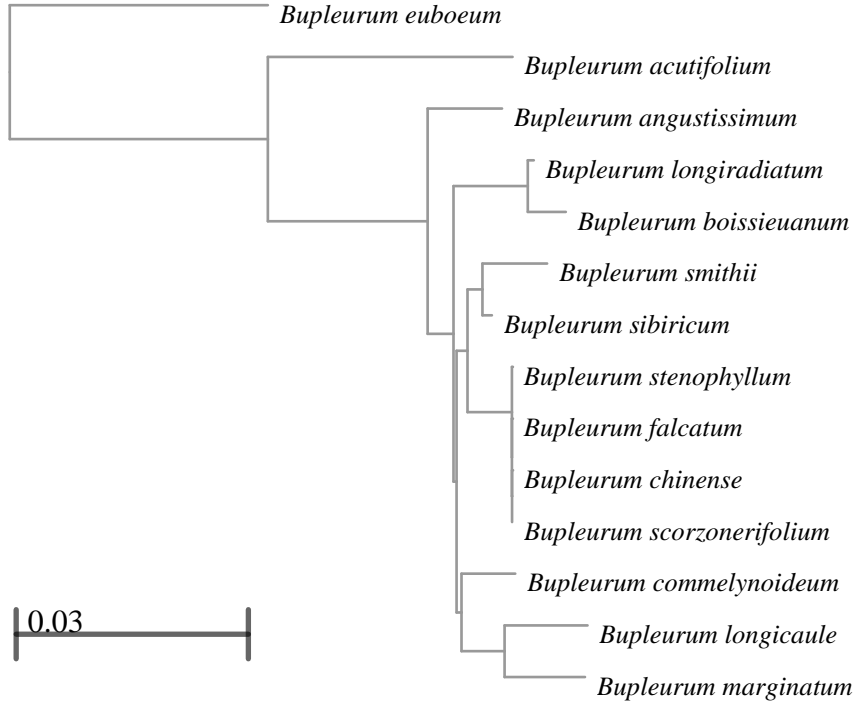
B. euboicum ve endemik *B. anatolicum* türlerinin evrimsel ilişkilerini ve soyağacını belirlemek için ITS1-ITS4 gen bölgeleri dizi analizi çalışılmıştır. Filogenetik ilişkileri görebilmek için ağaç dendogramı oluşturulmuştur (Şekil 5.1) (Şekil 5.2).

Şekil 5.1. *B. anatolicum* ağaç dendogramı.



Şekil 5.1. NCBI Genbank'ta daha önce bilinen taksonlarla bu çalışma ile oluşturulan ITS dizilerinin ilişkisini gösteren *B. anatolicum* filogenetik ağacı.

Şekil 5.2. *B. euboicum* ağaç dendogramı.



Şekil 5.2. NCBI Genbank'ta daha önce bilinen taksonlarla bu çalışma ile oluşturulan ITS dizilerinin ilişkisini gösteren *B. euboicum* filogenetik ağacı.

Filogenetik ağaca göre; hem *B. euboicum* hem de endemik *B. anatolicum* türleri daha önce yapılmış Blast analizleri için tamamen ayrı bir gruba ayrılmış dış grup olarak görülmektedir.

B. euboicum ve endemik *B. anatolicum* türlerinin morfolojik, anatomik, mikromorfolojik, moleküler ve uçucu yağ çalışmaları bu tez çalışmasıyla aydınlatılmıştır. *Bupleurum* L. cinsinin Türkiye Florası ve diğer yerli çalışmalardaki sınırlı bilgileri göz önüne alındığında bu tez çalışmasının diğer çalışmalara ve gelecekte *Bupleurum* L. cinsi ile çalışacak araştırmacılara öncü olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- (Apiaceae) Extract in Acid Solution. Transactions of the Indian Institute of Metals, 68(3), 393–401.
- Abdulmanea, K., Prokudina, E. A., Lanková, P., Vaníčková, L., Koblůvská, R., Zelený, V., & Lapčík, O. (2012). Immunochemical and HPLC identification of isoflavonoids in the Apiaceae family. *Biochemical Systematics and Ecology*, 45, 237-243.
- Adams RP. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured Publ. Corp, Carol Stream, IL. 2007.
- Ashour, M. L., & Wink, M. (2011). Genus *Bupleurum*: a review of its phytochemistry, pharmacology and modes of action. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 63(3), 305-321.
- Ayanoğlu, F., Mert, A., & Kaya, D. A. (1999). Hatay Yöresinde Halk Arasında Kullanılan Bazı Önemli Tıbbi Ve Kokulu Bitkilerin Tespiti Ve Toplanması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4(1-2), 101-116.
- Barrero, A. F., Haï dour, A., Sedqui, A., Mansour, A. I., Rodríguez-García, I., López, A., & Muñoz-Dorado, M. (2000). Saikosaponins from roots of *Bupleurum gibraltarium* and *Bupleurum spinosum*. *Phytochemistry*, 54(8), 741–745.
- Başer, K., & Kırimer, N. (2014). Essential oils of Anatolian Apiaceae-A profile. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 1(1), 1-50.
- Benahmed, M., Akkal, S., Elomri, A., Laouer, H., Vérité, P., & Seguin, E. (2014). Constituents from *Bupleurum montanum* (Coss. & Dur.) (Apiaceae). *Arabian Journal of Chemistry*, 7(6), 1065–1069.
- Benahmed, M., Selatnia, I., Achouri, A., Laouer, H., Gherraf, N., & Akkal, S. (2015). Steel Corrosion Inhibition by *Bupleurum lancifolium*
- Bencheraiet, R., Kabouche, A., Kabouche, Z., Touzani, R., & Jay, M. (2012). Flavonol 3-O-glycosides from three algerian *Bupleurum* species. *Records of Natural Products*, 6(2), 171–174.

- Berenbaum, M.R. 2001. Chemical Mediation Of Coevolution: Phylogenetic Evidence For Apiaceae And Associates. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 88 (1), 4559.
- Boris, Lariushin (2012). *Apiaceae Family: Volume 2*
- Ceylan, A. (1987). Tıbbi bitkiler II. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, (481), 1-22.
- Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Bupleurum montanum* and *B. plantagineum*. *Natural Product Communications*, 4(11), 1934578X0900401.
- Cheng, J. B., Fan, C. Y., Sun, X. Z., Wang, J. Q., Zheng, N., Zhang, X. K., & WANG, X. M. (2018). Effects Of *Bupleurum* Extract On Blood Metabolism, Antioxidant Status And İmmune Function İn Heat-Stressed Dairy Cows. *Journal of integrative agriculture*, 17(3), 657-663.
- Çıtak, B. Y., Dural, H., & Gönen, B. (2016). Selçuk Üniversitesi Alâeddin Keykubat Kampüsü'nde Yayılış Gösteren Bazı Bitkilerin Polen Morfolojileri. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 42(1), 42-56.
- Çoruh, N., Celep, A. S., & Özgökçe, F. (2007). Antioxidant properties of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., *Chaerophyllum macropodium* Boiss. and *Heracleum persicum* Desf. from Apiaceae family used as food in Eastern Anatolia and their inhibitory effects on glutathione-S-transferase. *Food chemistry*, 100(3), 1237-1242.
- Crowden, R. K., Harborne, J. B., & Heywood, V. H. (1969). Chemosystematics of the Umbelliferae—a general survey. *Phytochemistry*, 8(10), 1963-1984.
- Curvers J, Rijks J, Cramers C, Knauss K, Larson P. Temperature programmed retention indexes: calculation from isothermal data. Part 1: Theory. *J High Resolut Chromatogr*. 1985;8: 607–610.
- Davis, P. H. (1970). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 4.*

- De Leonardis, W., De Santis, C., Ferrauto, G., & Fichera, G. (2009). Pollen morphology of six species of *Bupleurum* L.(Apiaceae) present in Sicily and taxonomic implications. *Plant Biosystems*, 143(2), 293-300.
- Ebata, N., Nakajima, K., Hayashi, K., Okada, M., & Maruno, M. (1996). Saponins from the root of *Bupleurum falcatum*. *Phytochemistry*, 41(3), 895–901.
- Ekim T (2005). II. Uluslararası Gölbaşı Göller-Andezit ve Sevgi Çiçeği Festivali Sempozyum Kitabı, s. 314-325, Ankara.
- Emmanuel, G., & Philipp, W. S. (2020). Carrots and related Apiaceae crops. *Carrots and related Apiaceae crops, 2nd edition.*, (Ed. 2).
- Erik, S. , & Tarıkahya Hacıoğlu, B. (2004). “Türkiye florasi üzerine”. *Kebikeç*, 9
- Farida, S. H. M., Ghorbani, A., Ajani, Y., Sadr, M., & Mozaffarian, V. (2018). Ethnobotanical applications and their correspondence with phylogeny in Apiaceae-Apioideae. *Research Journal of Pharmacognosy*, 5(3), 79-97.
- Fener, D., & Aykurt, C. (2019). The flora of Kıbrıs River wildlife development area (Kaş-Antalya/Turkey). *Biological Diversity and Conservation*, 12(1), 107-121.
- Gevrenova, R., Kondeva-Burdina, M., Denkov, N., & Zheleva-Dimitrova, D. (2015). Flavonoid profiles of three *Bupleurum* species and in vitro hepatoprotective activity of *Bupleurum flavum* Forsk. *Pharmacognosy Magazine*, 11(41), 14.
- Goodman, R. (2004). *Encyclopedia of Plant and Crop Science (Print)*. Routledge.
- Göle, K. B., Baştanlar, D., Yıldız, S., Gözen, M. A., Dinç, F., Güvener, H. M., & Gökdemir, G. (2007). Köyceğiz-Dalyan Özel Çevre Koruma Bölgesi Biyolojik Zenginliğinin Tespiti ve Yönetim planının Hazırlanması. *Kesin Rapor. TC Çevre Orman Bakanlığı Özel Çevre Koruma Kurumu Başkanlığı*, 512.
- Güner, E. D., 2006, Türkiye’deki *Seseli* L. (Umbelliferae) cinsinin revizyonu, Doktora tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 3-4.
- Ağalar, H., & Demirci, B. (2014). The volatile compounds of elderberries (*Sambucus nigra* L.). *Natural Volatiles and Essential Oils*, 1(1), 51-54.

- Heywood, VH (2014). Apiales'in sosyo-ekonomik önemi. *İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 44 (2), 113-130.
- Hochmuth DH. MassFinder-4, Hochmuth Scientific Consulting, Hamburg, Germany. 2008.
- Huang, H.-Q., Zhang, X., Xu, Z.-X., Su, J., Yan, S.-K., & Zhang, W.-D. (2009). Fast Determination Of Saikosaponins In *Bupleurum* By Rapid Resolution Liquid Chromatography With Evaporative Light Scattering Detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 49(4), 1048–1055.
- İpek, H.O., 2018. Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryum'undaki (ANK) *Salvia* (*Lamiaceae*) cinsinin revizyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi
- Just, M. J., Recio, M. C., Giner, R. M., Cuellar, M. J., Mañez, S., Bilia, A. R., Morelli, I., Ghelli, S., & Rios, J. L. (1997). Three New Lupane Saponins from *Bupleurum fruticosens*. *Natural Product Letters*, 9(3), 167–175.
- Karahisar, E. (2021). Endemik *Prangos abieticola* Aytaç & H. Duman ve *P. heyniae* H. Duman & M.F. Watson Türleri Üzerine Farmasötik Botanik Araştırmalar. Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir.
- Karakaya, M.A., 2018. Türkiye’de Yayılış Gösteren *Grammosciadium* DC. (*Apiaceae*) Cinsine Ait Taksonların Anatomik Özellikleri. Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kastamonu.
- Kırcı, D., Öztürk, G., Çelik, M., Çetin, Ö., Demirci, B., & Başer, K. H. C. (2019). *Bupleurum Lophocarpum* Boiss. & Balansa Ve *B. Heldreichu* Boiss. & Balansa Türlerinin Uçucu Yağ Bileşimleri. *Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri Ve Biyoteknoloji*, 8(2), 212-217.
- Laouer, H., Hirèche-Adjal, Y., Prado, S., Boulaacheb, N., Akkal, S., Singh, G., Singh, P., Isidorov, V. A., & Szczepaniak, L. (2009).
- Li, X. Q., Gao, Q. T., Chen, X. H., & Bi, K. S. (2005). High performance liquid chromatographic assay of saikosaponins from *Radix Bupleuri* in China. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(9), 1736-1742.

- Luo, S., & Jin, H. (1991). [Chemical constituents of the aerial parts of six species of *Bupleurum* genus medicinally used in south-west region of China]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi = Zhongguo Zhongyao Zazhi = China Journal of Chinese Materia Medica*, 16(6), 353–356, 383.
- Martin, S., Padilla, E., Ocete, M., Galvez, J., Jiménez, J., & Zarzuelo, A. (1993). Anti Inflammatory Activity of the Essential Oil of *Bupleurum fruticosens*. *Planta Medica*, 59(06), 533–536.
- McLafferty FW, Stauffer DB. The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data, J.Wiley and Sons: New York. 1989.
- Meral, A. (2012). Çeşitlilik Ve Endemizm Açısından Türkiye'nin Bitki Örtüsü. *Coğrafya Dergisi*, (13).
- Metcalf, C.R., Chalk, L. (1965). Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem, and wood, in relation to taxonomy, with notes on economic uses. Oxford University Pres, Amen House, London.
- Mısır, F. T., Demirelma, H., Çıtak, B. Y., & Dural, H. (2008). An anatomical investigation on *Bupleurum heldreichii* Boiss. & Bal. and *Bupleurum lophocarpum* Boiss. & Bal.(Apiaceae) from Turkey.
- Neves, S. S. (2004). Phylogenetic Relationships in *Bupleurum* (Apiaceae) Based on Nuclear Ribosomal DNA ITS Sequence Data. *Annals of Botany*, 93(4), 379–398.
- Neves, S. S., & Watson, M. F. (2004). Phylogenetic relationships in *Bupleurum* (Apiaceae) based on nuclear ribosomal DNA ITS sequence data. *Annals of Botany*, 93(4), 379–398.
- Oybak Dönmez, E., & Hüryılmaz, H. (2022). Flax, *Bupleurum* and Other Plants at Early Bronze Age Yenibademli Höyük (Gökçeada), NW Turkey. *Environmental Archaeology*, 1–19.

- Özcan, T., 1999, Türkiye'nin Endemik Bazı *Bupleurum* L. Türleri Üzerinde Taksonomik Araştırmalar, Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji/Botanik Anabilim Dalı
- Özcan, T. (2002). SEM observations on petals and fruits of some Turkish endemic *Bupleurum* L.(Umbelliferae) species. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 138(4), 441-449.
- Özcan, T. (2004). Analysis of the fruit surfaces in *Bupleurum* L.(Umbelliferae) with SEM. *Plant Systematics and Evolution*, 247(1), 61-74.
- Özcan, T. (2016). Patterns of lipid biomarkers in the fruit of *Bupleurum* L. growing wild in Turkey. *Plant Biosystems*, 150(3), 459–467.
- Pan, SL (2006). Çin'deki *Bupleurum*'un Tıbbi Türlerinin Mikroskopik Karakterleri. *Bupleurum Türlerinde* (s. 23-33). CRC Basın.
- Perveen, A., & Qaiser, M. (2006). Pollen Flora of Pakistan-XLVIII. Umbelliferae. *Pakistan Journal of Botany*, 38(1), 1. *Pharmacy and Pharmacology*, 63(3), 305–321.
- Pimenov M, Leonov M. The Asian Umbelliferae biodiversity database (ASIUM) with particular reference to South-West Asian taxa. *Turk J Bot* 2004; 28: 139-145.
- Pistelli, L., Bertoli, A., Bilia, A. R., & Morelli, I. (1996). Minor constituents from *Bupleurum fruticosum* roots. *Phytochemistry*, 41(6), 1579–1582.
- Pistelli, L., Noccioli, C., Giachi, I., Dimitrova, B., Gevrenova, R., Morelli, I., & Potenza, D. (2005). Lupane-triterpenes from *Bupleurum flavum*. *Natural Product Research*, 19(8), 783–788.
- Saleh, N. A., El-Negoumy, S. I., El-Hadidi, M. N., & Hosni, H. A. (1983). Comparative study of the flavonoids of some local members of the Umbelliferae. *Phytochemistry*, 22(6), 1417-1420.
- Saltan, N., & Kaya, A. (2020). Morpho-Anatomical And Palynological Studies On Endemic *Crenosciadium Sufolium* Boiss. & Heldr. From Turkey. *Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri Ve Biyoteknoloji*, 9(1), 35-45.

- Saraccedil, H. T., Akn, M., Huuml, K., & Baer, C. (2012). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from different parts of some *Bupleurum* L. species. *African Journal of Microbiology Research*, 6(12), 2899-2908.
- Shafaghat, A. (2011). Antioxidant, antimicrobial activities and fatty acid components of leaf and seed of *bupleurum lancifolium* hornem. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(16), 3758–3762.
- Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M. A., & Naghdibadi, H. (2008). Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. *Plant foods for human nutrition*, 63(4), 183-188.
- Simpson, M. G. (2019). *Plant systematics*. Academic press.
- Snogerup, S., & Snogerup, B. (2001). *Bupleurum* L. (Umbelliferae) in Europe—1. The annuals, *B. sect. Bupleurum* and sect. *Aristata*. *Willdenowia*, 31(2), 205-308.
- Stoyanov, S., & Goranova, V. (2009). Notes on some critical *Bupleurum* species from sect. *Aristata* in Bulgaria. *Ivanova, D*, 177-181.
- Şirin, E. ve Ertuğrul, K. (2015). Büyük Eğri Dağı (Mut, İçel) Ve Çevresinin Endemik Bitkileri, *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 40: 50-58.
- Tan, L. L., Hu, Z. H., Cai, X., Chen, Y., & Shi, W. J. (2007). [Histochemical localization and the content compare of main medicinal components of vegetative organs in *Bupleurum chinense* DC]. *Fen Zi Xi Bao Sheng Wu Xue Bao = Journal of Molecular Cell Biology*, 40(4), 214–222.
- Tanker, N., Koyuncu, M., & Coşkun, M. (1998). *Farmasötik botanik*.
- Thorne, R. F. (2002). How many species of seed plants are there?. *Taxon*, 51(3), 511-512.
- Uyanık, M., Kara, Ş. M., Gürbüz, B., Özgen, Y., 2013. Türkiye’de Bitki Çeşitliliği ve Endemizm. *Ekoloji 2013 Sempozyumu*, 2-4 Mayıs 2013, Tekirdağ.
- Von Raab-Straube, E., & Raus, T. (2021). Euro+ Med-Checklist Notulae, 14. *Willdenowia*, 51(3), 355-369.

- Wang, C. B., Ma, X. G., & He, X. J. (2011). *Bupleurum candollei* var. *paucefulcrans* comb. nov.(Apiaceae) from Guizhou, China: comparison of allied species based on morphology, anatomy and molecular data. *Nordic Journal of Botany*, 29(4), 424-430.
- Wolff, H. (1958). *Bupleurum*, 36-173, Das Pflanzenreich, 43, IV. 228, Weinheim, BergstraBe.
- Yang, L., Xiong, F., Xiao, Y., Li, J., Chen, C., & Zhou, G. (2020). The complete chloroplast genome of *Bupleurum longicaule* var. *strictum* , an annual herb endemic to China. *Mitochondrial DNA Part B*, 5(1), 899–901.
- Yeşilyurt, E. B., & AKAYDIN, G. (2012). Endemic Plants and Their Threat Categories of Muğla Province Turkey. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 40(2), 195-212.
- Yıldırım, Rosa Damascena Mill.’ Nın Türkiye’deki Yayılışı, Karakterizasyonu ve Isparta Koşullarında Verim Analizi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 316s, Isparta
- Zhang, F., Zhao, Z., Yuan, Q., Chen, S., & Huang, L. (2019). The complete chloroplast genome sequence of *Bupleurum chinense* DC. (Apiaceae). *Mitochondrial DNA Part B*, 4(2), 3665–3666.

İNTERNET KAYNAKLARI

http-1: <https://www.mountainherbalism.com/wp-content/uploads/2020/02/apiaceae.jpg>

http-2: <http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=karsilastir>