

**ENDEMİK *ASPERULA LILACIFLORA* SUBSP. *PHRYGIA*(Bornm.) Schönb.-
Tem. ve ENDEMİK *ASPERULA PESTALOZZAE* Boiss. (RUBIACEAE)
TÜRLERİ ÜZERİNDE FARMASÖTİK BOTANİK ARAŞTIRMALAR**

Yüksek Lisans Tezi

Kader KAYIŞ

Eskişehir 2021

**ENDEMİK *ASPERULA LILACIFLORA* SUBSP. *PHRYGIA*(Bornm.) Schönb.-
Tem. ve ENDEMİK *ASPERULA PESTALOZZAE* Boiss. (RUBIACEAE)
TÜRLERİ ÜZERİNDE FARMASÖTİK BOTANİK ARAŞTIRMALAR**

Kader KAYIŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayla KAYA

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Haziran 2021

ÖZET

ENDEMİK *ASPERULA LILACIFLORA* SUBSP. *PHRYGIA*(Bornm.) Schönb.- Tem. ve
ENDEMİK *ASPERULA PESTALOZZAE* Boiss. (RUBIACEAE) ÜZERİNDE
FARMASÖTİK BOTANİK ARAŞTIRMALAR

Kader KAYIŞ

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Haziran 2021

Danışman: Prof. Dr. Ayla KAYA

Bu çalışmada Rubiaceae familyasına ait *Asperula pestalozzae* Boiss. endemik türü ve *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia* (Bornm.) Schönb.-Tem. endemik alttürü farmasötik botanik yönden araştırılmış, türlerin morfolojik, anatomik, tüy yapısı, palinolojik ve kimyasal (antioksidan aktivite ve toplam fenolik bileşikler) özellikleri ayrıntılı olarak ilk kez ortaya konmuştur.

Morfolojik çalışmalarda türlerin ayrıntılı deskripsiyonları verilmiş, çizim ve fotoğraflarla desteklenmiştir. Tüy morfolojisi için SEM’de ayrıntılı inceleme yapılmış, tüylerin vejetatif ve generatif organlardaki yapısı ve dağılımı verilmiştir. Anatomik çalışmalarda kök, gövde ve meyveden enine; yapraktan ise enine ve yüzeysel kesitler alınarak anatomik yapıları aydınlatılmıştır. Polen morfolojisi için SEM’de örneklerin fotoğrafları çekilmiş ve palinolojik özellikleri belirlenmiştir. Kimyasal çalışmalarda türlerin toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan özellikleri analiz edilmiştir. Metanol ekstraktlarının antioksidan özellikleri, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikalini (DPPH•) süpürücü etki tayini ve 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu (ABTS^{•+}) süpürücü etki ile belirlenmiştir. Kimyasal sonuçlara göre, *Asperula pestalozzae* türünün toplam fenolik madde miktarı ve DPPH• süpürücü etkisi *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia*’dan daha fazladır. ABTS^{•+} süpürücü etki ise ekstraktların konsantrasyonları ile doğru orantılı şekilde artmaktadır.

Anahtar Sözcükler: *Asperula*, Morfoloji, Anatomi, Palinoloji, Antioksidan aktivite.

ABSTRACT

THE PHARMACEUTICAL BOTANICAL INVESTIGATIONS ON THE ENDEMIC
ASPERULA LILACIFLORA SUBSP. *PHRYGIA* (Bornm.) Schönb.-Tem. AND
ASPERULA PESTALOZZAE Boiss. (RUBIACEAE)

Kader KAYIŞ

Department of Pharmaceutical Botany

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, June 2021

Supervisor: Prof. Dr. Ayla KAYA

In this study, *Asperula pestalozzae* Boiss. endemic species and *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia* (Born.) Schönb.-Tem. endemic subspecies in Rubiaceae are investigated in aspects of pharmaceutical botany, morphological, anatomical, trichomes, palynological and chemical (antioxidant activity and total amount of phenolic substance) characteristics of these species presented in the first time detail.

Morphological studies have given detailed descriptions of the species, supported by drawings and photographs. Detailed examination was made in SEM for trichomes morphology, and the structure and distribution of the trichomes in vegetative and generative organs were given. In anatomic studies, cross-section from the root, stem, seed; transverse and superficial sections from the leaf were taken and anatomical structures were illuminated. In the palynological studies, samples were photographed on SEM and their palynological properties were determined. In chemical studies, total amount of phenolic substance and antioxidant activities of species were analyzed. Antioxidant properties of methanol extracts were investigated by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging effect and 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid radical cation (ABTS^{•+}) scavenging effect. According to chemical results, DPPH[•] scavenging effect and total phenolic substance amounts of *Asperula pestalozzae* species is more than *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia*. ABTS^{•+} scavenging effect increases in direct proportionally to the concentration of methanol extracts.

Keywords: *Asperula*, Morphology, Anatomy, Palynology, Antioxidant activity.

TEŞEKKÜR

Tez sürecinde, bilgi birikimi ve deneyimleri doğrultusunda tüm sorularımı cevaplayarak bana yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ayla KAYA'ya,

Kimyasal analizlerin ve antioksidan kapasite testlerinin yapım aşamalarında, özverisi ve bilgi donanımı ile desteğini aldığım Sayın Doç. Dr. Fatih GÖGER'e,

Çalışma yoğunluğuna rağmen bana zaman ayırarak, laboratuvar deneylerimde ve takıldığım her alanda yardımcı olan kıymetli hocam Sayın Öğr. Gör. Nagehan SALTAN'a,

Bitki organlarının yüzeylerini incelemeye, Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ve bünyesinde çalışan Sayın Dr. Bio. Şennur GÖRGÜLÜ'ye,

Laboratuvar olanaklarından yararlandığım Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik ve Farmakognozi Anabilim dallarına,

Bitkilerin toplanması ve arazi çalışmalarımda yardımını esirgemeyen, tüm süreçte maddi ve manevi desteğiyle yanımda olan sevgili eşim Uğur KAYIŞ'a,

Sonsuz şükran ve saygılarımı sunarım.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

16/06/2021

STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES

I hereby truthfully declare that this thesis is an original work prepared by me; that I have behaved in accordance with the scientific ethical principles and rules throughout the stages of preparation, data collection, analysis and presentation of my work; that I have cited the sources of all the data and information that could be obtained within the scope of this study, and included these sources in the references section; and that this study has been scanned for plagiarism with “scientific plagiarism detection program” used by Anadolu University, and that “it does not have any plagiarism” whatsoever. I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

2.3.3.2. <i>Asperula lilaciflora</i> Boiss. türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı	19
2.3.4. <i>Asperula</i> cinsinin kimyasal içeriği ve tıbbi önemi	21
2.4. Literatür Bilgisi	22
2.4.1. Flora çalışmaları	22
2.4.2. Morfolojik, anatomik ve palinolojik çalışmalar	25
2.4.3. Kimyasal içerik ve aktivite çalışmaları	26
2.4.4. Sitogenetik ve filogenetik çalışmalar	29
2.4.5. Diğer çalışmalar	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM	33
3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Materyal ve Cihazlar	33
3.1.1. Bitkisel materyaller	33
3.1.2. Kullanılan kimyasallar	36
3.1.3. Kullanılan cihazlar ve markaları	36
3.2. Deneysel Çalışmalar	37
3.2.1. Morfolojik çalışmalar	37
3.2.2. Anatomik çalışmalar	38
3.2.3. Palinolojik çalışmalar	39
3.2.4. Kimyasal çalışmalar	41
3.2.4.1. <i>Ekstraktların hazırlanması</i>	41
3.2.4.2. <i>Toplam fenolik madde miktarı tayini</i>	42
3.2.5. Antioksidan aktivite çalışmaları	43
3.2.5.1. <i>1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikalini (DPPH[•]) süpürücü etki tayini</i>	43
3.2.5.2. <i>2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu (ABTS^{•+}) süpürücü etki tayini</i>	44
4. BULGULAR	46
4.1. Morfolojik Bulgular	46
4.1.1. <i>Asperula pestalozzae</i> Boiss.	46
4.1.2. <i>Asperula lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> (Bornm.) Schönb.-Tem.	53
4.2. Tüy Morfolojisi Bulguları	60
4.2.1. <i>Asperula pestalozzae</i>	60

	<u>Sayfa</u>
4.2.1.1. <i>Gövde</i>	60
4.2.1.2. <i>Yaprak</i>	61
4.2.1.3. <i>Korolla</i>	62
4.2.1.4. <i>Ovaryum</i>	63
4.2.2. <i>Asperula lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i>	64
4.2.2.1. <i>Gövde</i>	64
4.2.2.2. <i>Yaprak</i>	65
4.2.2.3. <i>Korolla</i>	66
4.2.2.4. <i>Ovaryum</i>	67
4.3. Anatomik Bulgular	68
4.3.1. <i>Asperula pestalozzae</i>	68
4.3.1.1. <i>Kök</i>	68
4.3.1.2. <i>Gövde</i>	70
4.3.1.3. <i>Yaprak</i>	73
4.3.1.4. <i>Meyve</i>	76
4.3.2. <i>Asperula lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i>	78
4.3.2.1. <i>Kök</i>	78
4.3.2.2. <i>Gövde</i>	80
4.3.2.3. <i>Yaprak</i>	83
4.3.2.4. <i>Meyve</i>	86
4.4. Palinolojik Bulgular	88
4.4.1. <i>Asperula pestalozzae</i>	88
4.4.2. <i>Asperula lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i>	89
4.5. Kimyasal Bulgular	90
4.5.1. Toplam fenolik madde miktarı tayini	90
4.5.2. Antioksidan aktivite çalışmaları	91
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	94
5.1. Morfolojik Sonuçlar ve Tartışma	94
5.2. Anatomik Sonuçlar ve Tartışma	100
5.3. Palinolojik Sonuçlar ve Tartışma	103
5.4. Kimyasal Sonuçlar ve Tartışma	105
5.5. Genel Sonuç	106

	<u>Sayfa</u>
KAYNAKÇA	108
ÖZGEÇMİŞ	

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. Türkiye’deki <i>Asperula</i> taksonlarının isimleri, endemikliği ve tehlike kategorileri (http-1)	12
Tablo 2.2. <i>Asperula</i> cinsi ve yakın cinslerin teşhis anahtarındaki ayrımı (Davis,1982)	17
Tablo 2.3. <i>Asperula</i> ve <i>Galium</i> arasındaki farklılıklar	17
Tablo 2.4. <i>Asperula lilaciflora</i> alt türlerinin ayırım anahtarı (Davis,1982)	20
Tablo 3.1. Taksonlara ait herbaryum numaraları ve lokasyon bilgileri	34
Tablo 4.1. 1 gr ekstrede mg gallik asite eşdeğer toplam fenolik madde miktarı	90
Tablo 4.2. Ekstrelerin serbest radikal üzerinden hesaplanan inhibisyonu değerleri.....	91
Tablo 4.3. Ekstrelerin mM TEAC değerleri	92
Tablo 5.1. <i>A. pestalozzae</i> ve <i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması	94
Tablo 5.2. <i>A. pestalozzae</i> ve <i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> vejetatif ve generatif organlarında tüy özellikleri ve yoğunluğu	99
Tablo 5.3. Palinolojik özelliklerinin karşılaştırılması	103

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Bilecik ilçelerini gösteren harita (http-5)	4
Şekil 2.2. Eskişehir ilçelerini gösteren harita (http-7)	5
Şekil 2.3. Rubiaceae familyasının Dünya üzerindeki yayılışı (http-8)	6
Şekil 2.4. Rubiaceae familyasına ait alt familyaların şematik gösterimi (Martin ve Nunez, 2015)	8
Şekil 2.5. Rubiaceae familyasının alt familyalarının kimyasal çeşitliliği ve başlıca sekonder metabolitleri (IXO: Ixoroideae RUB: Rubioideae CIN: Cinchonoideae) (Martins ve Nunez, 2015)	10
Şekil 2.6. <i>Asperula</i> cinsinin Dünya'daki yayılışı (http-10)	12
Şekil 2.7. Bilecik'te (işaretli alan) bulunan <i>Asperula</i> taksonlarının yayılışı (http-12)	14
Şekil 2.8. Eskişehir'de (işaretli alan) bulunan <i>Asperula</i> taksonlarının yayılışı (http-12)	14
Şekil 2.9. Rubiaceae-Rubieae'nin ileri sürülen filogenetik ağacı (Ehrendorfer ve Barfuss, 2014)	16
Şekil 2.10. a)Yaprakların diziliş şekli şematik (http-13) b) Çiçek durumunun yapısı şematik (http-14) c) Korolla şekilleri şematik (http-15)	18
Şekil 2.11. (1ç) Güney Marmara Bölümü, (2a) Batı Karadeniz Bölümü, (2b) Orta Karadeniz Bölümü, (2c) Doğu Karadeniz Bölümü, (4b) Orta Kızılırmak Bölümü, (4c) Yukarı Kızılırmak Bölümü (http-1)	19
Şekil 2.12. (1ç) Güney Marmara Bölümü, (3a) Asıl Ege Bölümü, (3b) İç Batı Anadolu Bölümü, (4a) Yukarı Sakarya Bölümü, (4ç) Konya Bölümü, (6a) Antalya Bölümü (http-1)	20
Şekil 3.1. Davis' in kareleme sisteminde işaretli alan, lokasyonlar	33
Şekil 3.2. <i>Asperula pestalozzae</i> herbaryum örneği	34

	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.3. <i>Asperula lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> herbarium örneği	35
Şekil 3.4. WILD TYP 181300 stereo mikroskobu	37
Şekil 3.5. Çift taraflı bant kaplı stab üzerindeki örnekler	38
Şekil 3.6. Olympus BX51T marka trinokuler mikroskop ve Kameram digital mikroskobu	39
Şekil 3.7. Örnek tutucu (stab) üzerine alınan polenler	40
Şekil 3.8. a) SBC-900 Tek hedefli plazma (altın) saçtırmalı ince film kaplama cihazı b) Altın kaplama sırasında oluşan ışımaya	40
Şekil 3.9. Görüntüleme yapılan, TM3030 Plus Tabletop Microscope–HITACHI	40
Şekil 3.10. Rotator (çalkalayıcı)-ORBİTAL	41
Şekil 3.11. Evaporatör ile alkolün uzaklaştırılması	42
Şekil 3.12. Toplam fenolik madde miktarı tayini için hazırlanan örnekler	43
Şekil 3.13. DPPH radikalini süpürücü etki tayini için hazırlanan numuneler	44
Şekil 3.14. ABTS radikalini süpürücü etki tayini için hazırlanan numuneler	45
Şekil 4.1. <i>A. pestalozzae</i> türünün genel görünüşü	47
Şekil 4.2. <i>A. pestalozzae</i> türünün a) çiçek durumu b) çiçeğinin görünüşü	48
Şekil 4.3. <i>A. pestalozzae</i> türünün c) taban yapısı ve kök d) olgun meyve	48
Şekil 4.4. <i>A. pestalozzae</i> a) bitki genel görünüş b) gövde tüyleri c) çiçek durumu.....	49
Şekil 4.5. <i>A. pestalozzae</i> a) yaprakların dizilişi b) yaprak üst yüzey c) yaprak alt yüzey d) yaprak tüyleri e) ovaryumlu korolla f) ovaryumsuz korolla g) korolla iç yüzey	50
Şekil 4.6. <i>A. pestalozzae</i> a) anter b) ovaryum c) merikarplar(meyve) d) çiçeği saran brakteler e) brakte iç yüzey f) brakte dış yüzey g) brakteol iç yüzey h) brakteol dış yüzey	51

Şekil 4.7. <i>A. pestalozzae</i> a) merikarp genel görünüş b) merikarp dış yüzey süslemesi c-d) merikarp dış yüzey yakın görünüm	52
Şekil 4.8. <i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> alttürünün genel görünüşü	54
Şekil 4.9. <i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> a) çiçek durumu ve b) çiçeğinin görünüşü	55
Şekil 4.10. <i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> c) taban yapısı ve kök d) olgun meyve	55
Şekil 4.11. <i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> a) bitki genel görünüş b) gövde tüyleri c) çiçek durumu	56
Şekil 4.12. <i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> a) yaprakların dizilişi b) yaprak üst yüzey c) yaprak alt yüzey d) yaprak tüyleri e) ovaryumlu korolla f) ovaryumsuz korolla g) korolla iç yüzey	57
Şekil 4.13. <i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> a) anter b) ovaryum c) merikarplar(meyve) d) çiçeği saran brakte e) brakte iç yüzey f) brakte dış yüzey g) brakteol iç yüzey h) brakteol dış yüzey	58
Şekil 4.14. <i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> a) merikarp genel görünüş b) merikarp dış yüzey süslemesi c-d) merikarp dış yüzey yakın görünüm	59
Şekil 4.15. <i>A. pestalozzae</i> SEM’de gövde a) örtü tüyleri genel görünüş b-c-d) örtü tüyleri yakın görünüm ve stoma	60
Şekil 4.16. <i>A. pestalozzae</i> SEM’de yaprak yüzeyi a-b) yaprak üst yüzde örtü tüyleri c) yaprak üst yüzey stoma d-e) yaprak alt yüzeyde örtü tüyleri	61
Şekil 4.17. <i>A. pestalozzae</i> SEM’de korolla a) korolla genel görünüş b) korolla dış tüyleri c-d) dış tüyler yakın görünüm	62
Şekil 4.18. <i>A. pestalozzae</i> SEM’de ovaryum a) ovaryum yüzeyi b) papilla yakın görünüm	63
Şekil 4.19. <i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> SEM’de a) gövde genel görünüş b-c) gövde tüyleri ve stoma d) gövde tüyü yakın görünüm	64

- Şekil 4.20.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* SEM’de a) yaprak üst yüzey tüyler b) üst yüzey tüyler yakın görünüm c) üst yüzde stoma d) alt yüzey tüyler e) alt yüzey tüyler yakın görünüm 65
- Şekil 4.21.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* SEM’de a) korolla lobları b) dış yüzey yakın görünüm c) iç yüzey yakın görünüm 66
- Şekil 4.22.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* SEM’de a) ovaryum genel görünüş b) ovaryum yüzeyi c) papilla yüzeyi yakın görünüm 67
- Şekil 4.23.** *A. pestalozzae* kök enine kesit rf: rafit kristali sfl: sekonder floem sks: sekonder ksilem ö: öz 68
- Şekil 4.24.** *A. pestalozzae* kök 1-2) enine kesit fe: fellem fld: felloderma rf: rafit kristali sfl: sekonder floem sks: sekonder ksilem 69
- Şekil 4.25.** *A. pestalozzae* gövde enine kesit genel görünüş öt: örtü tüyü e: epidermis ko: kollenkima ö: öz 70
- Şekil 4.26.** *A. pestalozzae* enine kesitte 1) gövde köşe kısmı öt: örtü tüyü ku: kütikula e: epidermis ko: kollenkima kp: korteks parankiması en: endodermis fl: floem 2) trakeal elemanlar ve merkez ks: ksilem ök: öz kolları ö: öz 71
- Şekil 4.27.** *A. pestalozzae* gövde enine kesitte tüy yapısı öt: örtü tüyü ku:kütikula e: epidermis 72
- Şekil 4.28.** *A. pestalozzae* yaprak enine kesit genel görünüş öt: örtü tüyü üe: üst epidermis id: iletim demeti ko: kollenkima ae: alt epidermis 73
- Şekil 4.29.** *A. pestalozzae* yaprak 1-2) enine kesit ku: kütikula üe: üst epidermis d:demet kını id: iletim demeti ko: kollenkima ae: alt epidermis pp: palizat parankiması sp:sünger parankiması m:mezofil s:stoma 74
- Şekil 4.30.** *A. pestalozzae* yaprak üst yüzeysel kesit tüyler genel görünüş öt:örtü tüyü üe: üst epidermis 75
- Şekil 4.31.** *A. pestalozzae* yaprak 1) üst yüzeysel kesit 2) alt yüzeysel kesit üe: üst epidermis ae: alt epidermis s: stoma bg: basit geçit 75

- Şekil 4.32.** *A. pestalozzae* meyve enine kesit genel görünüş p: papil b: boşluk
id: iletim demeti te: testa endo: endosperma 76
- Şekil 4.33.** *A. pestalozzae* meyve enine kesitte kısımlar ek: ekzokarp ku: kütikula
p:papil me: mezokarp end: endokarp b: boşluk id:iletim demeti
te: testa endo: endosperma 77
- Şekil 4.34.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* kök enine kesit genel görünüş rf: rafit
kristali sfl: sekonder floem sks: sekonder ksilem ö: öz 78
- Şekil 4.35.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* 1-2) kök enine kesit fe: fellem fld:
felloderma sfl: sekonder floem rf: rafit krsitali sks: sekonder ksilem 79
- Şekil 4.36.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* a) alt gövde genel görünüş b) üst gövde
genel görünüş öt: örtü tüyü e: epidermis ko: kollenkima ö: öz 80
- Şekil 4.37.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* gövde enine kesit ku: kütikula e: epidermis
ko: kollenkima kp: korteks parankiması en: endodermis fl: floem ks:
ksilem ök: öz kolları ö: öz 81
- Şekil 4.38.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* gövde enine kesitte tüy yapısı öt: örtü tüyü
ku: kütikula e: epidermis rf: rafit kristali 82
- Şekil 4.39.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* yaprak enine kesit genel görünüş öt: örtü
tüyü üe: üst epidermis id: iletim demeti ko: kollenkima ae: alt
epidermis 83
- Şekil 4.40.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* 1,2,3) yaprak enine kesit ku: kütikula üe:
üst epidermis id: iletim demeti ko: kollenkima ae: alt epidermis
pp: palizat parankiması sp: sünger parankiması m:mezofil 84
- Şekil 4.41.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* yaprak üst yüzeysel kesit tüyler genel
görünüş öt: örtü tüyü üe: üst epidermis bg: basit geçit s: stoma 85
- Şekil 4.42.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* yaprak 1) üst yüzeysel kesit 2) alt yüzeysel
kesit üe: üst epidermis ae: alt epidermis s: stoma bg: basit geçit 85
- Şekil 4.43.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* meyve enine kesit genel görünüş p: papil
b: boşluk id: iletim demeti te: testa endo: endosperma 86

Şekil 4.44. <i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> meyve enine kesitte kısımlar ek: ekzokarp p: papil me: mezokarp end: endokarp id: iletim demeti b: boşluk te: testa endo: endosperma	87
Şekil 4.45. <i>A. pestalozzae</i> SEM mikrofotografaları a-c) polen taneleri d) ekvatorial görünüm e) polar görünüm f) polen yüzeyi yakın görünüm	88
Şekil 4.46. <i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> SEM mikrofotografaları a-c) polen taneleri d) ekvatorial görünüm e) polar görünüm f) polen yüzeyi yakın görünüm	89
Şekil 4.47. Hesaplama da kullanılan GA eğrisi	90
Şekil 4.48. Ekstrelerin GAE gösteren sütun grafiği	91
Şekil 4.49. Ekstrelerin IC ₅₀ değerlerini gösteren sütun grafiği	91
Şekil 4.50. Hesaplama da kullanılan eğri ve denklemi	92
Şekil 4.51. Ekstrelerin mM TEAC değerlerini gösteren sütun grafiği	93

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

A.	: <i>Asperula</i>
ABTS	: 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
ABTS ^{•+}	: 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu
ACE	: Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
ae	: Alt epidermis
APG	: Angiosperm Phylogeny Group
AÜBİBAM	: Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi
b	: Boşluk
bg	: Basit geçit
CatPCA	: Kategorik Temel Bileşen Analizi
CD	: Korumaya tabi
CR	: Kritik
d	: Demet kını
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
DPPH [•]	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikali
E	: Polen Ekvatorial Eksen
e	: Epidermis
en	: Endodermis
EN	: Tehlikede
ek	: Ekzokarp
end	: Endokarp

END	: Endemik
endo	: Endosperma
ESSE	: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbariumu
EX	: Tükenmiş
fe	: Fellem
fl	: Floem
fld	: Felloderma
GA	: Gallik asit
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IC ₅₀	: %50 İnhibe Eden Konsantrasyon
id	: İletim demeti
ko	: Kollenkima
kp	: Korteks parankiması
ks	: Ksilem
ku	: Kütikula
LC	: Düşük riskli
me	: Mezokarp
MeOH	: Metanol
MIC	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
NT	: Tehdite yakın
ö	: Öz bölgesi
ök	: Öz kolu
öt	: Örtü tüyü

P	: Polen Polar Eksen
P/E	: Polar Eksen/ Ekvatorial Eksen
p	: Papil
pa	: Parankima
PCA	: Temel Bileşen Analizi
PVA	: Nüfus Canlılığı Analizi
pp	: Palizat parankiması
rf	: Rafit kristali
s	: Stoma
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
sfl	: Sekonder floem
sks	: Sekonder ksilem
sp	: Sünger parankiması
subsp.	: Subspecies (Alt tür)
syn	: Sinonim
te	: Testa
TEAC	: Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite
üe	: Üst epidermis
var.	: Varyete
vd.	: Ve devamı, ve diğerleri
VU	: Duyarlı

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ülkemizde görülen biyolojik çeşitliliği, geçmişte yaşanan iki önemli süreç sağlamıştır. Bunlardan ilki, Anadolu ile Arap levhasının yaklaşık 12 milyon önce çarpışması sonucu farklı yükseltilerin oluşması; ikinci önemli süreç ise Buzul Çağı'nın görülmesidir. Bu süreçler, geçmişten günümüze pekçok canlı türünün Türkiye sınırlarında kalıp, yayılış göstermesine yardımcı olmuştur. Ayrıca sınırlar içinde, mikroklimatik alanların yer alması tür zenginliğini daha da arttırmıştır. İklimsel özellikler ve buna bağlı olarak değişen toprak yapısı ile jeomorfolojik farklılıklar fiziksel bir bariyer oluşturmaktadır. Bu bariyer türlerin belli alanlar dışına çıkmasını engelleyerek, endemik türlerin meydana gelmesini sağlamaktadır. Bu nedenle, günümüzde Türkiye'de tür zenginliğine ek olarak, endemik türlerin zenginliğinden de bahsedilmektedir (Eken ve Ataol, 2006).

Endemik Yunanca "endemos" kelimesinden türevlenir ve "yerli" anlamında kullanılır. Endemik tür ise, belli bir ülke veya bölgeye ait olan türler olarak tanımlanmaktadır (Gemici vd., 1992). Bununla birlikte yurdumuzun sınırları içerisinde doğal olarak yetiştiği halde başka hiçbir bölgede yetişmeyen bitkiler, "Türkiye endemik bitkileri" olarak anılmaktadır. Türkiye'de bulunan yaklaşık 12000 bitki takson sayısı, Avrupa'daki sayı ile neredeyse eşdeğerdir. Bu zenginlik içinde ise 3649 endemik bitki bulunmakla birlikte, her geçen gün bu sayı artmaktadır. Bitki sayısının toplamına bakıldığında ise ülkemizin endemiklik oranı yaklaşık %30 çıkmaktadır. Veriler diğer ülkelerin sayıları ile karşılaştırıldığında, Türkiye'nin endemizm oranı oldukça yüksektir. Türkiye'nin yüksek endemizm oranına sahip olma nedenleri arasında, iklim koşulları, jeolojik çeşitlilik, zengin su kaynakları, yükseklik farkları ve en önemlisi ise üç fitocoğrafik bölgenin (Avrupa-Sibirya, İran-Turan, Akdeniz) kesişme alanında bulunması sayılabilmektedir (Avcı, 2005; Güner ve Akçiçek, 2014; Şenkul ve Kaya, 2017).

Dünya üzerinde 37 farklı bitki coğrafyası bulunmakla birlikte, üç bitki flora bölgesinin bir arada olması sadece yurdumuzda görülmektedir. Bu bölgelerden İran-Turan alanı İç Anadolu, Doğu Anadolu, Güneydoğu Anadolu bölgelerini içine almaktadır (Vural ve Adıgüzel, 2006). İran Turan Flora Bölgesi'ni temsil eden bitki örtüsü çoğunlukla bozkırlardır. Bozkırlar Anadolu'nun büyük bir kısmını kaplamaktadır. Bu alanlar otsu ve çalimsız türler ile karakterize edilmekte olup, bitki türleri açısından oldukça zengin alanlardır. Ayrıca içerdiği endemiklerin oranı da fazladır. Rubiaceae familyası da

bu alanlarda bulunan ve endemik türleri bünyesinde bulunduran bir bitki ailesidir (Ülgen, 2019).

Rubiaceae familyasındaki çoğu tür, eski zamanlardan bugüne değin boyamacılıkta kullanılmıştır. Köklerin boyama özelliğinden dolayı familya “Kökboyasıgiller” ismiyle anılmaktadır (Özgen ve Coşkun, 1999).

Dünyada yaklaşık 620 cins ve 13000 kadar tür ile temsil edilen bu familya tür sayısı açısından, familyalar arasında dördüncü sırada yer almaktadır. Kozmopolit bir familyadır (Bremer ve Eriksson, 2009). Bu familyaya ait Türkiye üzerinde 13 cins ve 234 takson bulunmaktadır (http-1). Familyadaki bazı türlerin ekonomik değerinin olmasıyla beraber; *Cinchona* L., *Coffea* L., *Uncaria* Schreber gibi bazı cinslerden drog elde edilmekte ve tedavi amaçlı kullanılmaktadır. *Asperula* L. bu familyaya dâhil Türkiye’de bulunan cinslerden biri olup, tedavi özelliğine sahiptir. Lenf ve kan temizlenmesinde, böbrek rahatsızlıklarında, cilt hastalıklarında ve kanser tedavisinde etki göstermektedir. Aynı zamanda sedatif etki gösterdiği de bilinmektedir (Baytop, 1977; Akdeniz, 2019; Yurchenko vd., 2015).

Asperula cinsi Dünya üzerinde alt tür ve varyeteleri içeren 230 takson ile temsil edilir (Akdeniz, 2019). Türkiye’de ise cinse ait 58 takson bulunmaktadır. Bu türlerin 26 tanesi endemik olup, %45 oranında endemizm oranına sahiptir (http-1).

Anadolu’da bozkır alanlarda yayılışa sahip *Asperula* cinsi ile ilgili, ülkemizde bugüne kadar yapılmış belli başlı çalışmalar bulunmaktadır. Kök ve rizomların anatomik karşılaştırması yapılmıştır (Özgen ve Coşkun, 1999). *Asperula arvensis* L. türünün flavonol glikozidleri analiz edilmiştir (Güvenalp ve Demirezer, 2005). Endemik olan 5 tane *Asperula* cinsinin agar difüzyon ve sıvı dilüsyon metotlarıyla aktimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir (Kalyoncu vd., 2009). Bazı endemik *Asperula* cinslerinde kimyasal bileşenler, toplam flavanoid ve α -tokoferol (e-vitamini) miktarları ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir (Mineraci vd., 2011). Endemik *Asperula daphneola* O. Schwarz morfolojik, anatomik ve sitolojik açıdan incelenmiştir (Gücel, 2015). *Asperula* cinsinin 5 tanesinin karyotip çalışması yapılarak, kromozom sayıları ortaya çıkarılmıştır (Mineraci ve Yıldız, 2011). Anadolu’nun güney-batısında Şırnak Uludere’den toplanan *Asperula* cinsinin bazı türleri arasında yapılan, morfolojik inceleme sonucunda *Asperula anatolica* M.Ozturk yeni tür olarak Türkiye florasına kazandırılmıştır (Öztürk, 2013).

Bunun yanı sıra, yurdumuzda yapılan pekçok flora çalışması ile *Asperula* cinsine ait bazı taksonların kayıtları alınmıştır. Bilecik Abbaslık köyünde yapılmış bir tez çalışmasında, *Asperula* cinsinin 4 türüne ait (*A. pestalozzae* Boiss, *A. tenella* Hauffel Ex Degen, *A. involucrata* Wahlenb., *A. arvensis*) lokasyon bilgisine yer verilmiştir (Erdem, 2018). Ahi Dağı'nın vasküler bitki çeşitliliği ve ekolojisi üzerine yapılan bir çalışmada ise *Asperula* cinsine ait 3 tür bildirilmiştir (Türe vd., 2007). Afyonkarahisar'da endemik bitki ve vejetasyondaki tehlike altındaki bitkileri araştıran bir makalede 5 adet endemik *Asperula* cinsine ait kayıtlara rastlanılmıştır (Kargıoğlu vd., 2007).

Yurdumuz dışında *Asperula* ile ilgili yapılmış çalışmalarda bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde, *Asperula* cinsinin filogenetik ilişkisi tekrardan yorumlanmıştır (Gargiulo vd., 2015). Ukrayna'da *Asperula odorata* L. türünün kuru ekstraktının antihipoksik ve sedatif aktivitesi test edilmiştir (Yurchenko vd., 2015). Ukrayna'daki bir diğer çalışmada ise *Asperula odorata*'nın aminoasit bileşenleri tespit edilmiştir (Yurchenko vd., 2013).

Ülkemizde yayılış gösteren *Asperula* cinsinin 26 endemik taksonu arasında bulunan, *Asperula pestalozzae* türü ve *Asperula lilaciflora* Boiss. subsp. *phrygia* (Bornm.) Schönb.-Tem alttürüne genellikle flora çalışmalarında rastlanılmakla birlikte; detaylı anatomik, morfolojik, palinolojik ve kimyasal çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızın amacı *Asperula* cinsinin *Cynanchicae* (DC.) ex. Boiss grubu içinde yer alan, *Asperula pestalozzae* türü ve *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia*. alttürünün farmasötik botanik açıdan morfolojik, anatomik, palinolojik özelliklerini ayrıntılı olarak incelemek; kimyasal açıdan antioksidan etkilerinin olup olmadığını tespit etmektir. Bu iki endemik bitki ile ilgili detaylı bir çalışma olmaması nedeniyle, elde edilen bulguların literatürdeki eksikleri gidermesi açısından öncü bir çalışma olacağı düşünülmektedir. Ayrıca, çalışma sonucunda ortaya konulan verilerin ileride yapılacak çalışmalara ışık tutacağı öngörülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Arazi Alanları Hakkında Genel Bilgi

2.1.1. Bilecik ili ve Bozüyük ilçesi

Bilecik ili, Marmara Bölgesi'nin güney doğusunda; Eskişehir'in kuzeybatısında yer alır. Ayrıca İç Anadolu, Ege, Karadeniz ve Marmara bölgelerinin kesişim alanında bulunur. Yüz ölçümü 4.321 km² olup, rakımı 500 m'dir. Şehir bölgelerinin kesişim noktasında olduğundan, geçiş iklimine sahiptir ve mikro-klima iklim bölgeleri görülür. Genel olarak tepelik alanlar, dik ve derin vadilerle yarılmış aşınım düzlükleri ilin topografik yapısını oluşturur. İlin en önemli su kaynağı Sakarya Nehri'dir. Üç bitki coğrafyası olan Avrupa-Sibirya, Akdeniz ve İran-Turan bölgelerinin kesişim noktasında bulunduğu için doğal bitki örtüsü oldukça zengindir. İlin yarısı ormanlar ile kaplıdır ve çeşitli endemik bitki türlerine de ev sahipliği yapar. İl sınırlarında 292 bitki taksonu bulunmakla birlikte, bu taksonların 49 tanesi endemik bitkidir ([http-2](#); [http-3](#); [http-4](#)).

Bilecik'in güneyinde kalan ilçesi Bozüyük'tür. Marmara Bölgesi sınırları içinde yer alır. Doğuda Eskişehir, güneyde Kütahya, batıda İnegöl ve Domaniç ilçeleri, kuzeybatısında Pazaryeri ilçesi ile çevrilidir. Yüz ölçümü 928 km², rakımı 740 m'dir. Marmara'da olmasına rağmen karasal iklim görülür. Genel olarak doğal bitki örtüsünde karaçam, kızılçam, kayın ve meşelerden oluşan ormanlar görülmekle birlikte; alçak alanlarda otsu bitkiler ve çalılıklar bulunur ([http-5](#)).



Şekil 2.1. Bilecik ilçelerini gösteren harita ([http-5](#))

2.1.2. Eskişehir ili ve İnönü ilçesi

Eskişehir ili, İç Anadolu Bölgesi'nin kuzeybatısında yer alır. Yüzölçümü 13.902 km² olup, rakımı 792 m'dir. Şehrin büyük kısmında karasal iklim mevcut iken; kuzeyinde Batı Karadeniz Bölümü'nün yarı nemli iklimi, batı ve güneyinde ise Akdeniz geçiş iklimi etkileri görülür. Sakarya ve Porsuk havzalarını çevreleyen dağlar ve düzlükler ilin topografik yapısını meydana getirir. En önemli su kaynakları ise Porsuk barajı, Gökçekaya barajı ve Yenice barajıdır. İran-Turan bitki coğrafyasında bulunan ilin doğal bitki örtüsü çoğunlukla bozkırlar olup, bu doğal görünüme ağaçlar da eşlik etmektedir. İl sınırlarında 538 bitki taksonu bulunmakla birlikte, bu taksonların 122 tanesi endemik bitkidir ([http-2](#); [http-6](#)).

Eskişehir'in küçük ilçelerinden biri de İnönü'dür. Marmara, İç Anadolu ve Ege Bölgelerinin kesiştiği alanda yer alır. Batı ve kuzeyde Bilecik, güneyde Kütahya, doğuda Eskişehir Merkez ile çevrilidir. Yüzölçümü 341 km², rakımı 840 m'dir. Karasal iklim görülmeyle birlikte, genel olarak bozkır ve ormanlar doğal bitki örtüsünü oluşturur ([http-7](#)).



Şekil 2.2. Eskişehir ilçelerini gösteren harita ([http-7](#))

2.2. Rubiaceae Familyası Hakkında Genel Bilgiler

2.2.1. Rubiaceae familyasının Dünya’da ve Türkiye’deki yayılışı

Kapalı tohumluların (Angiospermae) en geniş dördüncü familyası olan Rubiaceae üyelerinin dünya üzerinde 620 cins ve yaklaşık 13000 türü yayılış göstermekte (Bremer, 1996; Bremer ve Eriksson, 2009) ve bu sayı tüm çiçekli bitkilerin yaklaşık % 4’üne karşılık gelmektedir (Robbrecht ve Manen, 2006). Rubiaceae üyeleri, genellikle tropikal-subtropikal bölgelerde yetişen, birçok çevresel koşula uyum sağlayan (Baytop, 1977) ve dünya genelinde hemen hemen her alanda yayılış gösterebilen kozmopolit bir familyadır (Soza ve Olmstead, 2010). Türkiye’de 13 cins ve 234 takson ile temsil edilen familyanın endemizm oranı yaklaşık %38,5 olarak çıkmaktadır (http-1).



Şekil 2.3. Rubiaceae familyasının Dünya üzerindeki yayılışı (http-8)

Türkiye’de bu familyaya ait 13 cinsin kaydı bulunmaktadır. Bu cinslerin isimleri aşağıdaki gibidir (http-1).

- *Asperula* L. (Belumotu)
- *Callipeltis* Steven (Nermik)
- *Crucianella* L. (Haçotu)
- *Cruciata* Mill. (Sarılıkotu)
- *Galium* L. (Yapışkanotu)
- *Mericarpaea* Boiss. (Merikarpotu)

- *Oldenlandia* L. (Bataklıkotu)
- *Plocama* Aiton (Belumçalısı)
- *Rubia* L. (Kökboyası)
- *Sherardia* L. (Gökörenotu)
- *Theligonum* L. (Kuşyüreği)
- *Valantia* L. (Örenotu)
- *Wendlandia* Bartl. ex DC. (Yalancıkurtbağrı)

2.2.2. Rubiaceae familyasının sistematikteki yeri ve filogenisi

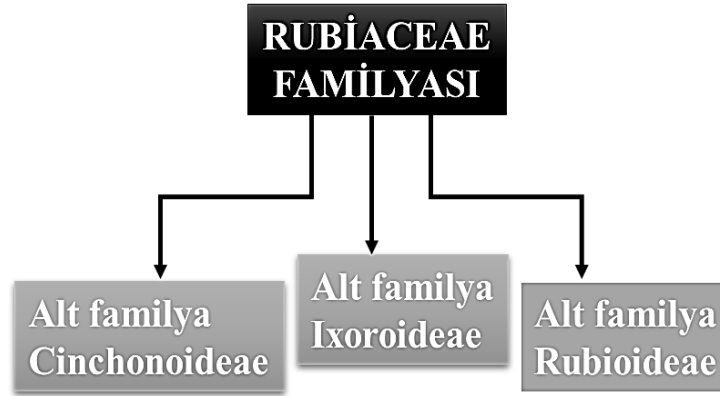
<u>Regnum (Âlem):</u>	Plantae –Bitkiler
<u>Subregnum (Alt Âlem):</u>	Tracheobionta – Damarlı Bitkiler
<u>Superdivisio (Üst Bölüm):</u>	Spermatophyta –Tohumlu Bitkiler
<u>Divisio (Bölüm):</u>	Magnoliophyta –Çiçekli Bitkiler
<u>Subdivisio (Alt Bölüm):</u>	Angiospermae –Kapalı Tohumlu Bitkiler
<u>Class (Sınıf):</u>	Magnoliopsida –Çift çenekli Bitkiler
<u>Subclass (Alt Sınıf):</u>	Asteridae
<u>Order (Takım):</u>	Rubiales
<u>Family (Aile):</u>	Rubiaceae –Kökboyasıgiller

(Bremer ve Eriksson, 2009; http-9)

Magnoliopsida bulunan en geniş sınıflardan biridir. Rubiaceae familyası doğal ve monofiletik bir grup olarak kabul edilmiştir. Rubiaceae familyasının taksonomik sınıflandırması oldukça karışıktır ve halen doldurulması gereken bazı boşlukları bulunmaktadır. Schumann 1891 yılında familyayı 2 alt familyaya ayırmıştır ki bunlar; Cinchonoideae ve Coffeoidae'dir. Buna ilaveten daha sonra geliştirilen yöntem ve analizler ile alt familya sınıflandırması birçok kez değişmiştir. Robbrecht'e göre (1988,1993) yapılan sınıflandırmada familya Rubioideae, Cinchonoideae, Antirheoideae ve Ixoroideae olmak üzere 4 alt familyaya ayrılmıştır.

Fakat son yapılan filogenetik çalışmalar ile Rubioideae, Cinchonoideae ve Ixoroideae olarak 3 alt familyaya ayrılmaktadır (Şekil 2.4). Moleküler çalışmalar

tarafından, Antirheoideae'nin polifiletik olduğunun gösterilmesi, onun bir alt familya olarak kabul edilmesini engellemiştir. Bununla birlikte türlerin zenginliğinden dolayı da bu alt familyalar toplamda 43 gruba (tribe, oymak) ayrılmıştır (Bremer, 1996; Jansen vd., 2002; Bremer ve Eriksson, 2009; Martins ve Nunez, 2015).



Şekil 2.4. *Rubiaceae* familyasına ait alt familyaların şematik gösterimi (Martin ve Nunez, 2015)

Bu familya içindeki 43 gruptan, Rubieae grubu (Oymak) en geniş olanıdır. 12 cinsi ve 1000 türü kapsamaktadır. Rubieae makro ve mikro evrim çalışmaları için önemli bir gruptur. Rubieae grubunun öne çıkan özellikleri, 4 ya da daha fazla parça ile yaprak-halkalarının gelişimidir. Grubun temel kromozom sayısı $x=9-12$ 'dir. Bununla birlikte, taksonomik ayırım için yaşam formu, korolla tübü, meyve yapısı, polen tipi gibi başka karakterlerde kullanılmaktadır (Bremer ve Manen, 2000; Ehrendorfer vd., 2018).

Rubieae monofiletik bir gruptur, morfolojik ve moleküler sinapomorfinin her ikisini de taşırlar. Bunun yanı sıra, Rubieae'nin sınıflandırılması ve tanımlanması özellikle *Asperula* ve *Galium* gibi büyük cinslerde problemlili olabilmektedir. Çünkü *Asperula* içindeki bazı taksonlar *Galium*'a morfolojik olarak benzerlik gösterirler (Soza ve Olmstead, 2010; Akdeniz, 2019).

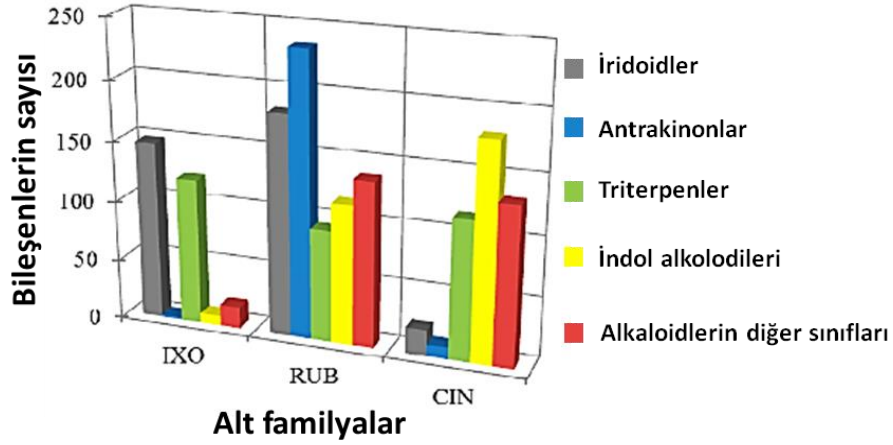
2.2.3. Rubiaceae familyasının morfolojik özellikleri

Otsu, odunsu, tek ya da çok yıllık bitkiler. Yapraklar tam, karşılıklı ve stipulalı. Stipula yaprak sapları arasında ve birbiriyle kaynaşmış ya da çoğunlukla yaprak şeklinde. 4-10 ya da daha fazla yapraklar halka şeklinde. Çiçek durumu tirsus. Brakteli ya da değil. Çiçek durumu seyrekten yoğunu doğru kapitat ya da spikat. Çiçekler çoğunlukla hermafrodit, çok nadir tek eşeyli, genellikle 4-5 parçalı ve aktinomorf simetrik. Sepaller çoğunlukla serbest, bazen indirgenmiş, halde. Korolla gamopetal, yayık, boru, huni, tekerlek ya da çan şeklinde. Tüp kıtsadan uzuna doğru, loblar burulmuş, üst üste binmiş ya da kenarları birbirine değen şekillerde. Stamenler petallerin üzerinde, korolla parçaları ile almaşık dizili. Ovaryum alt durumlu, çoğu zaman sadece 2-gözlü. Her bir göz 1 ya da daha çok ovüllü. Meyve bir drupa, bakka, kapsül ya da 2 merikarpa ayrılan bir şizokarptır (Davis, 1982).

2.2.4. Rubiaceae familyasının kimyasal içeriği

Rubiaceae ailesi büyük farmakolojik potansiyelli biyoaktif metabolitler üretmeleri ile karakterizedirler. Bu metabolitler, tıbbi amaçla ve kemotaksonomik çalışmalarda kullanılmaktadır. Bu maddeler çok çeşitli olmakla birlikte; ağırlıklı olarak iridoid, indol alkaloidleri, antrakınonlar, terpenodiler (diterpenler, triterpenler), kumarin, flavanoidler ve diğer fenolik türevleri içermektedir. Örneğin; *Cinchona* türlerinin gövde ve kök kabukları, kinin alkaloidini taşımaktadır. *Asperula odorata*, kumarin içeren türlerden biri olarak bilinmektedir (Baytop, 1977; Minareci vd., 2011; Martins ve Nunez, 2015; Kala, 2015).

Monoterpen indol alkaloidleri Rubiaceae familyası için karakteristik olup, yapılan kemotaksonomik çalışma sonucunda alt familyaların kimyasal içerikleri tespit edilmiştir. Ixoroideae alt familyasında iridoidler; Cinchonoideae alt familyasında diğer maddeler üzerinde daha ağırlıklı olarak indol alkaloidleri; Rubioideae alt familyasında ise antrakınonlar sekonder metabolitlerin ana sınıfları olarak (Şekil 2.5) ortaya konulmuştur. Bunun yanı sıra, alt familyalarda bulunan diğer metabolitlerde gösterilmiştir (Martins ve Nunez, 2015).



Şekil 2.5. Rubiaceae familyasının alt familyalarının kimyasal çeşitliliği ve başlıca sekonder metabolitleri (IXO: Ixoroideae RUB: Rubioideae CIN: Cinchonoideae) (Martins ve Nunez, 2015)

2.2.5. Rubiaceae familyasının ekonomik ve tıbbi önemi

Rubiaceae familyası, ülkemizde yoğurtotu ailesi, kökboyası ailesi ve kahve ailesi gibi farklı adlarla isimlendirilirler (Kala, 2015). Bu isimlerden kökboyası isminin verilme nedeni, *Rubia tinctorum* L. türünün çok eski zamanlardan beri yün boyamacılıkta kullanılması gösterilmektedir (Özgen ve Coşkun, 1999). 18. yüzyılda *Rubia tinctorum* bitkisinin köklerinden drog elde edildiğinden kültürü yapıp, çok miktarda üretimi yapılmıştır. Kökte bulunan boyar maddeler purpurin ve alizarin olup, elde edilen boyaya ise "Türk kırmızısı" veya "Edirne kırmızısı" adı verilmiştir. Familyadaki *Galium* türleri, taşıdığı enzim nedeniyle, yoğurt mayalanmasında kullanılmıştır. Buna ilaveten, *Galium* türlerinin çoğundan, ester ve lakton grubu taşıyan asperulozit elde edilmektedir. Bu madde, bir iridoit heteroziti olup, diüretik, antiromatizmal ve antispazmodik etkileri ile tıbbi açıdan önem taşımaktadır (Tanker ve Tanker, 1991).

Aktif moleküller ya da ilaç prototipleri olarak, yeni biyoaktif maddeleri üretebilen yeni bir kaynak olarak bu familya gösterilmektedir. Bu familyadaki bitkilerin çoğunun halk tıbbında kullanımı yaygındır. Bazı türlerin antienflamatuar, analjezik, antibakteriyel, mutajenik, antiviral, antioksidan etkilere sahip olmasıyla birlikte, merkezi sinir sistemi üzerinde ve damar hastalıkları üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (Martins ve Nunez, 2015).

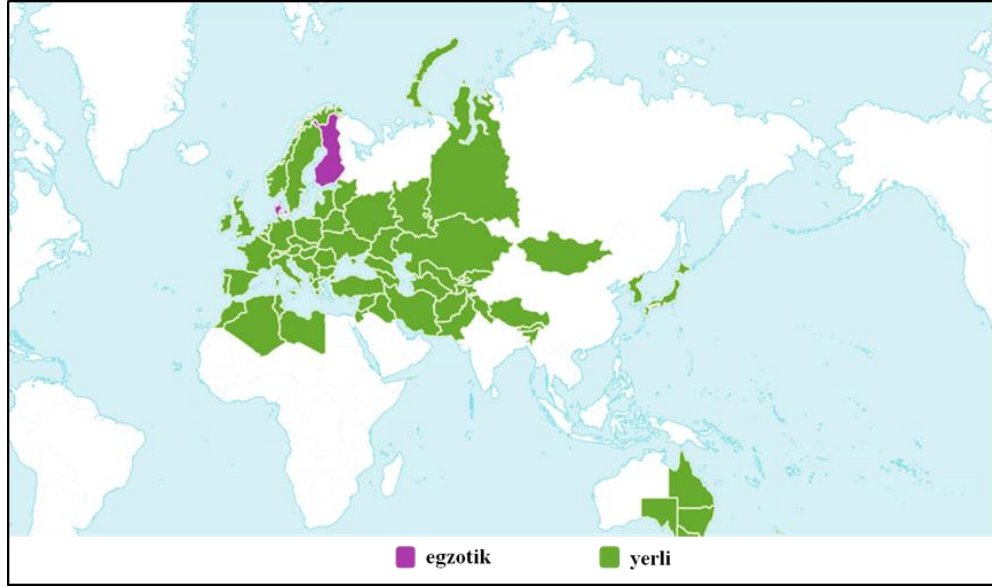
Ixoroideae altfamilyasında bulunan *Coffea* cinsi ekonomik olarak en önemli cinslerden biridir. En bilinen türü ise *Coffea arabica* L.'dir. Vatanı Afrika olmakla birlikte, tropik bölgelerde yetiştirilen küçük bir ağaç veya ağaççıktır. Tohumları kafein

alkaloidi içermektedir. Bu alkaloid bronkodilatör, vazokonstriktör olarak, diüretik, merkezi sinir sistemini uyarıcı ve hazmı kolaylaştırıcı olarak etki eder. Ayrıca migren ilaçlarının bileşenleri arasında da yer almaktadır. Ayrıca içecek olarak kullanılmasıyla, ticareti yapıldığından dolayı ekonomik açıdan büyük öneme sahiptir (Baytop, 1977; Martins ve Nunez, 2015).

2.3. Çalışılan Cins Hakkında Bilgiler

2.3.1. *Asperula* cinsinin Dünya’da ve Türkiye’deki yayılışı

Asperula cinsinin Dünya’da 183 türü ve 230 taksonu yayılış göstermektedir (Mineraci ve Yıldız, 2010; Öztürk, 2013).



Şekil 2.6. *Asperula* cinsinin Dünya’daki yayılışı (http-10)

Türkiye’de ise toplam alttür ve varyeteler ile birlikte 58 taksonu yetişir (Tablo 2.1). Anadolu’nun kuzeydoğusu ile güneybatısında yayılış gösteren taksonların 26 tanesi endemiktir. Rakamlar dikkate alındığında, cinsin endemizm oranı, yaklaşık olarak %45’dir (Kalyoncu vd., 2009; Minareci ve Yıldız, 2010; http-1).

Tablo 2.1. Türkiye’deki *Asperula* taksonlarının isimleri, endemikliği ve tehlike kategorileri (http-1)

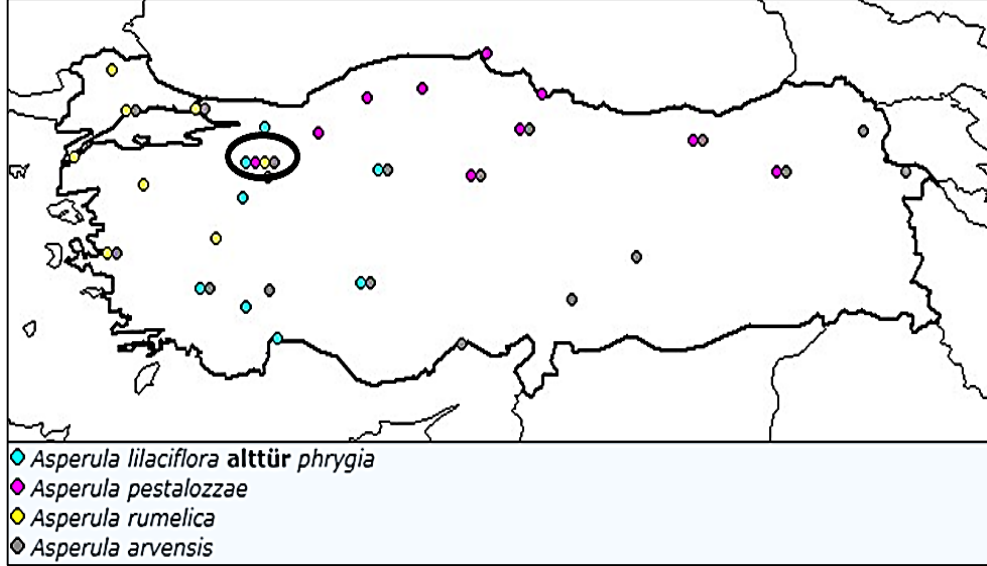
TAKSON ADI	Endemik	Kategori
<i>Asperula affinis</i> Boiss. & A.Huet		
<i>Asperula anatolica</i>		
<i>Asperula arvensis</i> L.		
<i>Asperula bargyli</i> Gomb.		
<i>Asperula bornmuelleri</i> Velen.	END	LC
<i>Asperula brevifolia</i> Vent.	END	LC
<i>Asperula bryoides</i> Stapf	END	CR
<i>Asperula capitellata</i> Hausskn. & Bornm.	END	VU
<i>Asperula cilicia</i> Hausskn. ex Ehrend.	END	CR
<i>Asperula cymulosa</i> (Post) Post	END	VU

Tablo 2.1. (Devam) *Türkiye'deki Asperula taksonlarının isimleri, endemikliği ve tehlike kategorileri*
(http-1)

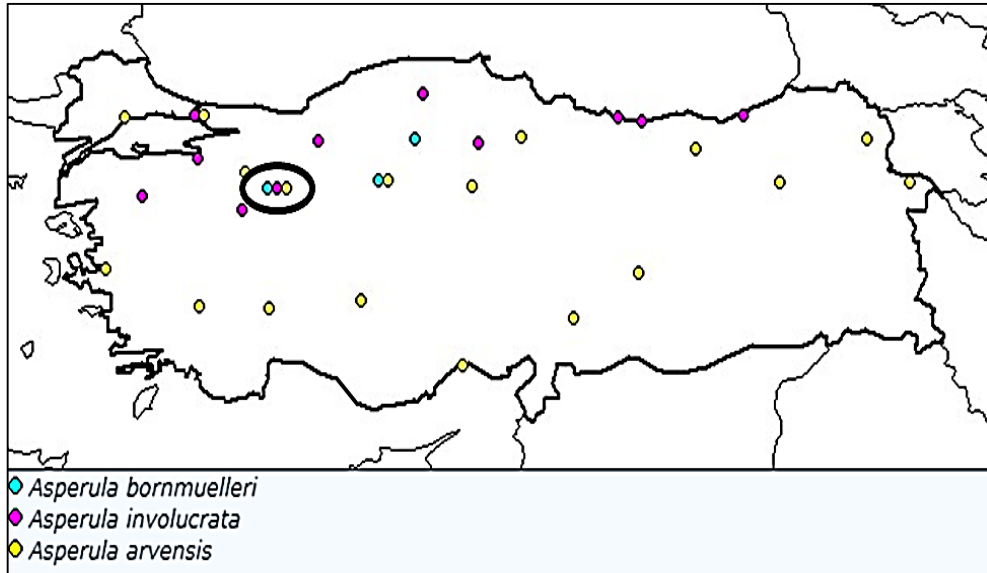
<i>Asperula daphneola</i> O.Schwarz	END	VU
<i>Asperula glareosa</i> Ehrend.		
<i>Asperula glomerata</i> (M.Bieb.) Griseb.		
<i>Asperula glomerata</i> subsp. <i>condensata</i> (Ehrend.) Ehrend.		
<i>Asperula glomerata</i> subsp. <i>condensata</i> var. <i>condensata</i> (Ehrend.) Ehrend.		
<i>Asperula glomerata</i> subsp. <i>condensata</i> var. <i>filiformis</i> Bornm.		
<i>Asperula glomerata</i> subsp. <i>eriantha</i> (Hauskn. ex Bornm.) Ehrend.		
<i>Asperula glomerata</i> subsp. <i>glomerata</i> (M.Bieb.) Griseb.		
<i>Asperula gracilis</i> C.A.Mey.		
<i>Asperula involucrata</i> Wahlenb.		
<i>Asperula kotschyana</i> (Boiss. & Hohen.) Boiss.		
<i>Asperula lilaciflora</i> Boiss.		
<i>Asperula lilaciflora</i> subsp. <i>lilaciflora</i> Boiss.	END	NT
<i>Asperula lilaciflora</i> subsp. <i>mutensis</i> Schönb.-Tem.	END	VU
<i>Asperula lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> (Bornm.) Schönb.-Tem.	END	LC
<i>Asperula littoralis</i> Sm.	END	VU
<i>Asperula lycia</i> Stapf	END	CD
<i>Asperula molluginoides</i> (M.Bieb.) Rchb.		
<i>Asperula nitida</i> Sm.		
<i>Asperula nitida</i> subsp. <i>hirtella</i> (Boiss.) Ehrend.	END	NT
<i>Asperula nitida</i> subsp. <i>nitida</i> Sm.		
<i>Asperula nitida</i> subsp. <i>subcapitellata</i> Ehrend.	END	
<i>Asperula orientalis</i> Boiss. & Hohen.		
<i>Asperula pestalozzae</i> Boiss.	END	LC
<i>Asperula pontica</i> Boiss.		
<i>Asperula prostrata</i> (Adams) K.Koch		
<i>Asperula pseudochlorantha</i> Ehrend.		
<i>Asperula pseudochlorantha</i> var. <i>antalyensis</i> (Ehrend.) Minareci & K.Yıldız	END	
<i>Asperula pseudochlorantha</i> var. <i>pseudochlorantha</i> Ehrend.	END	
<i>Asperula purpurea</i> (L.) Ehrend.		
<i>Asperula purpurea</i> subsp. <i>apiculata</i> (Sibth. & Sm.) Ehrend.		
<i>Asperula rumelica</i> Boiss.		
<i>Asperula serotina</i> (Boiss. & Heldr.) Ehrend.	END	NT
<i>Asperula setosa</i> Jaub. & Spach		
<i>Asperula sintenisii</i> Asch. ex Bornm.	END	EN
<i>Asperula stricta</i> Boiss.		
<i>Asperula stricta</i> subsp. <i>elmaliensis</i> Schönb.-Tem.	END	
<i>Asperula stricta</i> subsp. <i>grandiflora</i> Schönb.-Tem.	END	
<i>Asperula stricta</i> subsp. <i>latibracteata</i> (Boiss.) Ehrend.	END	LC
<i>Asperula stricta</i> subsp. <i>monticola</i> Ehrend.	END	LC
<i>Asperula stricta</i> subsp. <i>stricta</i> Boiss.		
<i>Asperula suavis</i> Fisch.	END	LC
<i>Asperula taurina</i> L.		
<i>Asperula tenella</i> Heuff. ex Degen		
<i>Asperula tenuifolia</i> Boiss.		
<i>Asperula virgata</i> Hub.-Mor. ex Ehrend. & Schönb.-Tem.	END	EN
<i>Asperula woronowii</i> V.I.Krecz.	END	VU
<i>Asperula xylorrhiza</i> Nábelek		

**END: Endemik, EX: Tükenmiş, CR: Kritik, EN: Tehlikede, VU: Duyarlı, CD: Korumaya tabi,
LC: Düşük Riskli, NT: Tehdite Yakın (http-1; http-11)

Bu listedeki taksonlar incelendiğinde, Bilecik ilinde yayılış gösteren taksonların *Asperula lilaciflora* alttür *phrygia*, *Asperula pestalozzae*, *Asperula rumelica* Boiss., *Asperula arvensis*; Eskişehir ilinde yayılış gösterenlerin *Asperula bornmuelleri* Velen., *Asperula involuocrata*, *Asperula arvensis* olduğu görülmektedir (http-12).



Şekil 2.7. Bilecik'te (işaretli alan) bulunan *Asperula* taksonlarının yayılışı (http-12)



Şekil 2.8. Eskişehir'de (işaretli alan) bulunan *Asperula* taksonlarının yayılışı (http-12)

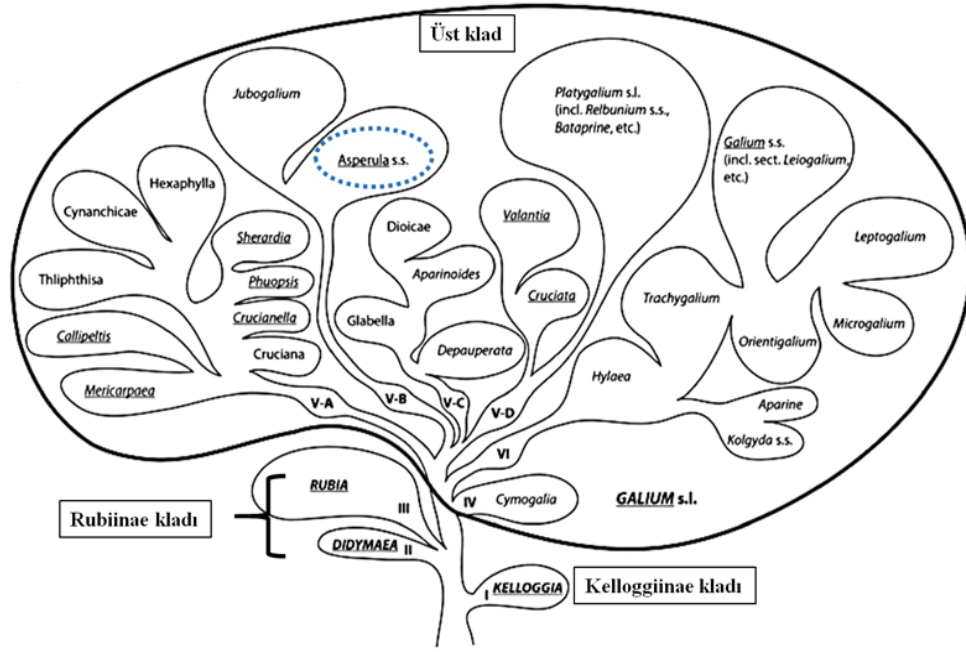
2.3.2. *Asperula* cinsinin sistematikteki yeri ve filogenisi

<u>Regnum (Âlem):</u>	Plantae –Bitkiler
<u>Subregnum (Alt Âlem):</u>	Tracheobionta – Damarlı Bitkiler
<u>Superdivisio (Üst Bölüm):</u>	Spermatophyta –Tohumlu Bitkiler
<u>Divisio (Bölüm):</u>	Magnoliophyta –Çiçekli Bitkiler
<u>Subdivisio (Alt Bölüm):</u>	Angiospermae –Kapalı Tohumlu Bitkiler
<u>Class (Sınıf):</u>	Magnoliopsida –Çift çenekli Bitkiler
<u>Subclass (Alt Sınıf):</u>	Asteridae
<u>Order (Takım):</u>	Rubiales
<u>Family (Aile):</u>	Rubiaceae –Kökboyasıgiller
<u>Subfamily (Alt Aile):</u>	Rubioideae
<u>Tribe (Oymak):</u>	Rubieae
<u>Genus (Cins):</u>	<i>Asperula</i> L. – Belumotu

(Bremer ve Eriksson, 2009; http- 9)

Asperula cinsi, Rubiaceae familyasının, Rubioideae alt familyasında yer almaktadır. Rubioideae 16 (tribe) gruba ayrılır ki, bu gruplardan biri de Rubieae'dir. Rubieae'nin temel kromozom sayısı $x=9-12$ olup, içinde 9 cinsi (*Rubia*, *Asperula*, *Galium*, *Relbunium*, *Didymaea*, *Cruciata*, *Phuopsis*, *Sherardia*, *Valantia*) bulundurmaktadır (Bremer ve Manen, 2000; Bremer ve Eriksson, 2009).

Ehrendorfer ve Barfuss tarafından, 2014 yılında atpB- rbcL ve rpL32-trnL DNA dizilerinin analizi ile bütün temel Rubieae kladlarının filogenetik ilişkisine bakılmış ve bir filogenetik ağaç modellenmesi yapılmıştır (Şekil 2.9). Sonuçlara bakıldığında ise Kelloggiinae, Rubiinae (*Didymaea*, *Rubia*) ve geniş bir üst kladın yer aldığı görülmektedir. Polifiletik *Asperula* cinsi, V numaralı kladın B kolunda yer alır (Ehrendorfer ve Barfuss, 2014).



Şekil 2.9. Rubiaceae-Rubieae'nin ileri sürülen filogenetik ağacı
(Ehrendorfer ve Barfuss, 2014)

Daha sonrasında yapılan bir başka çalışmada, Rubieae grubunun hem morfolojik ve biyocoğrafik özellikleri hem de kloroplast DNA dizileri kullanılarak filogenetik ilişkisi incelenmiştir. Çalışmanın sonuçları dikkate alındığında, Kelloggiinae, Rubiinae ve Galiinae isminde 3 büyük kladın grubu oluşturduğu görülmektedir. Galiinae kladı en geniş cinsler olan *Galium* ve *Asperula* cinslerini içerir (Ehrendorfer vd., 2018).

Bununla birlikte, *Asperula* cinsi altı ayrı seksiyona ayrılır. Bunlar; *Oppositifoliae* Schischkin., *Asperula*, *Cruciana* Griseb., *Glabella* Griseb., *Thlipthisa* (Griseb.) Ehrend. ve *Cynanchicae*'dir (Davis, 1982; Öztürk, 2013). *Asperula* cinsinin tanımlanmasında çoğunlukla çiçek durumu kullanılmaktadır (Tablo 2.2). Birbirine yakın akraba olan *Asperula* ve *Galium* arasındaki en önemli farkın ise çiçek sapı, çiçek tüpü ve brakteolde olduğu (Tablo 2.3) görülmektedir (Akdeniz, 2019; Gargiulo, 2013).

Tablo 2.2. *Asperula* cinsi ve yakın cinslerin teşhis anahtarındaki ayrımı (Davis, 1982)

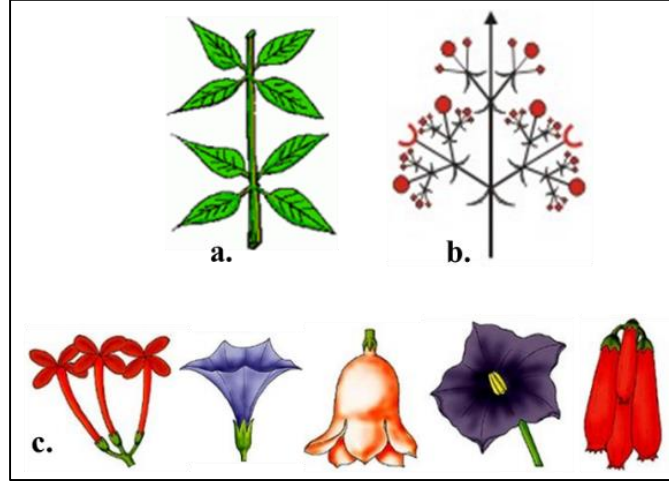
1. Çiçekler başaklarda, her braktenin ekseninde sapsız 1(-3)çiçekli -----1. <i>Crucianella</i>
1. Çiçekler kimöz panikül ya da başak
2. Tek yıllık; kaliks 4-6 dişli, meyvede kalıcı -----2. <i>Sherardia</i>
2. Tek ya da çok yıllık; kaliks düşmüş
3. Çiçekler sapsız ya da ovaryumdan daha kısa saplı, genellikle brakteollü----3. <i>Asperula</i>
3. Çiçekler ovaryumdan daha uzun saplı, brakteolsüz -----4. <i>Galium</i>

Tablo 2.3. *Asperula* ve *Galium* arasındaki farklılıklar

CİNSLER		
	<i>Asperula</i>	<i>Galium</i>
Yapraklar	<ul style="list-style-type: none">• 4-6 ya da daha fazla	<ul style="list-style-type: none">• 4-14 sayıda
Çiçek sapı	<ul style="list-style-type: none">• Pedisel yok veya pediseller ovaryumdan daha kısa	<ul style="list-style-type: none">• Pediseller genellikle ovaryumdan daha uzun
Brakteol	<ul style="list-style-type: none">• Çiçekler brakteollü	<ul style="list-style-type: none">• Çiçekler brakteolsüz
Kaliks	<ul style="list-style-type: none">• Yok	<ul style="list-style-type: none">• Genellikle yok
Korolla	<ul style="list-style-type: none">• (3-) 4-5 parçalı, loblar tüpten daha kısa	<ul style="list-style-type: none">• (3-) 4 parçalı, loblar tüpten daha uzun

2.3.3. *Asperula* cinsinin morfolojik özellikleri

Tek ya da çok yıllık otsular, alçak çalılar. Yapraklar 4-6 veya çok sayıda çevrel dizilişli. Stipullar nadiren indirgenmiş. Çiçekler gevşek panikulalarda ya da başıklarda. Çiçekler hermafrodit, sapsız veya ovaryumdan daha kısa saplı ve genellikle brakteollerin koltuğunda ve brakteollerin karşısında yer alırlar. Kaliks eksiktir. Korolla (3-)4-5 parçalı, çansı, yayık laminalı boru ya da huni şeklindedir. Korolla lobları tüpten daha kısadır. Çok nadir ± tekerleksi ve indirgenmiş, genellikle sarımsı, kırmızımsı veya yeşilimsi, bazen beyaz renktedir. Stilus 2, ± eşit dallı ve stigmalar klavat-küremsidir. Meyve 2 kuru, yumurtamsı şekilde, papillalı, tüysüz veya tüylü (fakat asla ucu kanca gibi kıvrılmış değil) merikarplardan oluşur (Davis, 1982; Minareci, 2007).

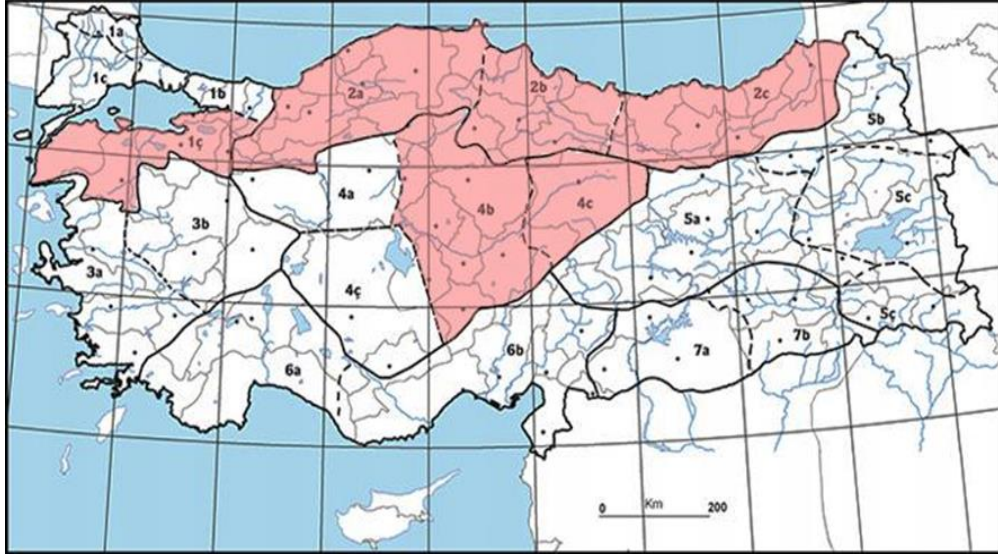


Şekil 2.10. a) Yaprakların diziliş şekli şematik (http-13) b) Çiçek durumunun yapısı şematik (http-14) c) Korolla şekilleri şematik (http-15)

2.3.3.1. *Asperula pestalozzae* Boiss. türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı

Kümeler halinde yetişen yarı çalimsılar. Gövde tabanda yoğun yapraklı, çiçekli gövdeler (13-)20-60 cm, dört köşeli, tüysüz ya da alt kısımlarda kısa sert tüylü. Yapraklar 4-15(-25)x0,3-0,75 mm, şeritsi - ipliksi, uçta mukronat- aristat, yaklaşık 0,7 mm, belirgin geriye kıvrık, kısa sert tüylü, tüysüz ya da tüyler hemen hemen yayık-geriye yatık. Çiçek durumu dalların uç koltuğunda baş şeklinde simöz, nadiren 1-2 vertisilli. Brakteler 2-4 mm, lanseolat -ovat, çoğunlukla aristalı, kenarı ince dişli ya da tam ve tüysüz. Korolla açık pembe, 2-3 mm, huni şeklinde, túbün 2 katı kadar uzun ya da daha kısa, sivri loblar, dış yüzeyde hemen hemen kısa sert tüylü, bazen tüysüz. Ovaryum papillalı. Merikarplar 2 mm, siğilli ve koyu kahverengidir (Davis, 1982).

Kayalık yamaçlarda, steplerde, kalker taşı, kumtaşı, kireçli toprak ile killi alanlarda 300 ila 2300 m yüksekliklerde yetişir. Endemik olup, Karadeniz ve Orta Anadolu'daki alanlarda yayılış (Şekil 2.11) göstermektedir (Davis, 1982; http-1).



Şekil 2.11. (1ç) Güney Marmara Bölümü, (2a) Batı Karadeniz Bölümü, (2b) Orta Karadeniz Bölümü, (2c) Doğu Karadeniz Bölümü, (4b) Orta Kızılırmak Bölümü, (4c) Yukarı Kızılırmak Bölümü (http-1)

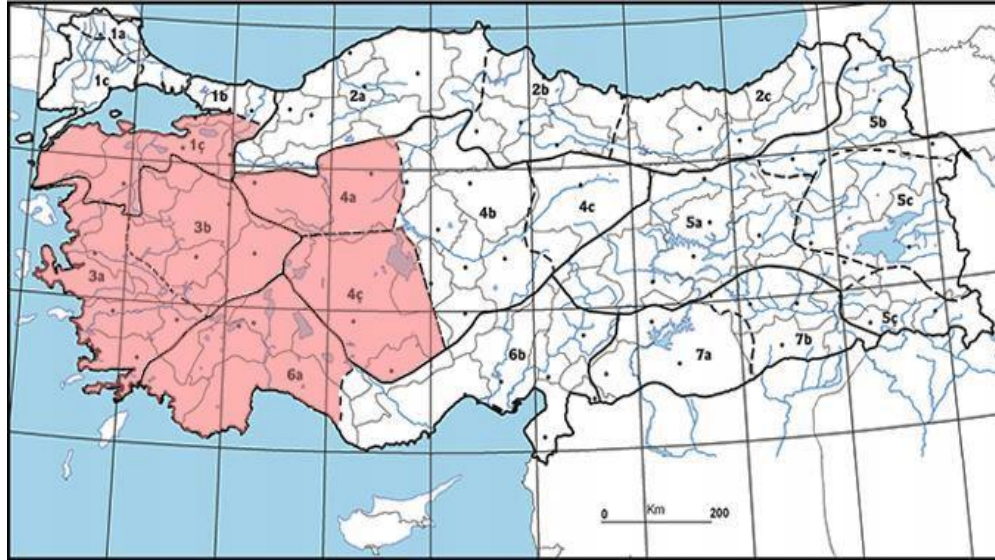
2.3.3.2. *Asperula lilaciflora* Boiss. türünün morfolojik özellikleri ve yayılışı

Alçak, gevşek biçimde kümeler oluşturan yarı çalimsılar. Gövdeler (10-)15-35 cm, dik ya da yükselici, alt kısımlar hemen hemen yuvarlak, kısa tüylü; üst kısımlar köşeli ± tüysüz, bazen çiçek durumuna kadar tüylü. Taban yapraklar 2-7x0,6-1 mm, oblong - oblanseolat; üst gövde yaprakları (8-)10-20x0,3-0,75 mm, şeritsi-biz şeklinde, 1 mm saydam uçlu, belirgin geriye kıvrık, genellikle kısa hispit tüylü. Çiçek durumu basit ya da dallanmış, az ya da çok çiçekten oluşan simözler halinde, vertisiller mesafeli. Brakteler 1,5-6 mm, lanseolat - genişçe ovat, aristalı, genellikle düzensiz dişli. Korolla açık pembe - pembe, 3-8 mm, huni-boru şeklinde, dış yüzeyi tüysüz ya da tüylü. Lanseolat-akuminat loblar 1,5-3 mm, korolla lobları tüpe eşit ya da tübün 3 katı kadar daha kısa. Ovaryum papilalı- tüylü. Merikarp 2-3 mm. Tür, belli morfolojik farklılıklar ile 5 alttüre (Tablo 2.4) ayrılmaktadır (Davis, 1982).

Tablo 2.4. *Asperula lilaciflora* alttürlerinin ayırım anahtarı (Davis,1982)

1.Ovaryum hispit tüylü; bitki ± yoğun olarak tüylü; korolla 4-4,5 mm -----subsp. <i>mutensis</i>
1. Ovaryum sadece papilli; bitki az yoğun olarak tüylü; korolla 4-8 mm
2. Korolla tüpü ± 2-3 mm loblara eşit şekilde; çiçekli gövdeler alttan 1/3 de dallanmış; bitki 15-20(-25) cm, oldukça sert ve ± tüylü -----subsp. <i>lilaciflora</i>
2. Korolla tüpü 1,5-2 mm loblardan 2-3 kat kadar uzun; çiçekli gövde orta kısmın yukarisından dallanmış ya da ± basit; bitki genellikle daha uzun, 35 cm kadar, çok gevşek ve eğik, en azından yukarıda tüysüz
3. Korolla (4-)5-8 mm; çiçek durumu ± dallanmış -----subsp. <i>phrygia</i>
3. Korolla 4-5 mm; çiçek durumu hemen hemen dallanmamış
4. Bitki beyazımsı, mum tabalı; yapraklar 0,6-0,75 mm genişliğinde -----subsp. <i>runemarkii</i>
4. Bitki beyazımsı, mum tabalı değil; yapraklar 0,4-0,6 mm genişliğinde -----subsp. <i>coa</i>

Korolla tüpünün uzunluğu ve çiçek durumunun dallanmış özelliğiyle diğer alt türlerden ayrılan *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia*, stepler, meşe ve çam ormanlarında, 300 ila 1400 m yüksekliklerde yetişir. Endemik olup, Batı ve Orta-Batı Anadolu'daki alanlarda yayılış (Şekil 2.12) göstermektedir (Davis, 1982; http-1).



Şekil 2.12. (1c) Güney Marmara Bölümü, (3a) Asıl Ege Bölümü, (3b) İç Batı Anadolu Bölümü, (4a) Yukarı Sakarya Bölümü, (4c) Konya Bölümü, (6a) Antalya Bölümü (http-1)

2.3.4. *Asperula* cinsinin kimyasal içeriği ve tıbbı önemi

Asperula türlerinin çiçekli dal uçlarında, sütü kestirmekte kullanılan bir enzim bulunmakta ve bu enzim yoğurt yapımında kullanılmaktadır. Bu yüzden “yoğurt otu” olarak isimlendirilmektedir. Fakat “yapışkanotu” adının kullanımı daha yaygındır. Güncel kaynaklarda ise, “belumotu” olarak geçmektedir. *Asperula* cinsini temsil eden türü *Asperula arvensis* olup, içerdiği polifenol asitler, iridoitler, tanen ve flavonlar sayesinde kan ve lenf sistemi temizleyicisi, cilt hastalıkları ve kanser tedavileri için tıbbi amaçla kullanılmaktadır (Baytop, 1999; http-1).

Asperula octonaria Klokov türünün toprak üstü kısımlarının (herba) infüzyonu halk tıbbında diüretik olarak kullanımı bulunmaktadır. Ayrıca yapılan kimyasal çalışmalarda, toprak altı kısımlarının antrakınonlar; toprak üstü kısımlarının da hidroksisinnamik asit, flavonoid ve iridoid içerdiği belirlenmiştir (http-16).

Asperula odorata türü kumarin içeriğine sahip olup, çiçekli sürgünleri diyare karşıtı, tonik ve diüretik etkisiyle halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Aynı tür ile yapılan çalışmada fenolik bileşenlerin içinde, klorojenik asitin en etkili bileşen olduğu tespit edilmiştir (Baytop, 1977; Yurchenko vd., 2015). Diğer türlerin çoğu ise iridoid glikozit, kardenolitler, flavonoitler, kinonik bileşenler içerir. *Asperula arvensis* ile yapılan kimyasal çalışmalarda dokuz farklı flavonol glikozitin izole edildiği görülmektedir (Güvenalp ve Demirezer, 2005; Özgen vd., 2006). *Asperula lilaciflora* türünün kimyasal içeriğinde de iridoitler ve flavonoitlerin olduğu bir çalışma ile gösterilmiştir (Kırmızıbekmez vd., 2014).

2.4. Literatür Bilgisi

Asperula ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, genellikle fitokimyasal ve filogenetik çalışmaların çoğunlukta olduğu görülmektedir. Türkiye endemikleri olan taksonlar üzerinde çalışmalar az sayıda olmakla birlikte, genellikle kök-polen morfolojisi ve anatomisi araştırılmıştır. Ayrıca çalışmadaki endemik taksonların daha çok flora çalışmalarında yer aldığı görülmüştür. Cins ile ilgili yapılan literatür incelemesinin sonuçları, aşağıda kronolojik olarak sıralanmıştır.

2.4.1. Flora çalışmaları

Bilecik-Bursa florasını belirlemek için, 1992-1995 yılları arasında bitki örnekleri toplanmış, A2 ve B2 karelerinden 505 takson sunulmuştur. Bunların 9 tanesinin A2; 56 tanesinin B2 karesi için yeni kayıt olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın son kısmında taksonlar listelenmiş olup, listede 3 adet *Asperula* cinsine ait takson (*Asperula pestalozzae*, *A. tenella*, *A. involucrata*) rapor edilmiştir. (Türe ve Tokur, 2000).

Başka bir çalışmada Bilecik ilinde bulunan Gülümbe Dağı'nın bitki çeşitliliği incelenmiş ve inceleme alanından 1035 örnek toplanmıştır. Tespit edilen 456 tür ve tür altı taksonun 63 tanesi A2 karesine yeni kayıt olarak geçirilmiştir. Floristik listenin içerisinde *Asperula pestalozzae*, *A. tenella*, *A. arvensis* türlerinin isimleri de bildirilmiştir (Ocak ve Tokur, 2000).

2001'de Bolu-Bartın-Zonguldak illerinin fındık bahçelerinden örnekler toplanarak, alanın florası çıkarılmıştır. 1999-2000 yılları arasında 710 bitki örneği toplanmıştır. Örnekler arasında 4 adet endemik bitki; A3 karesi için 31; A4 karesi için 7; A3 ve A4 karelerinin her ikisini kapsayan alanda ise 5 yeni kayıt elde edilmiştir. Florada, *Asperula involucrata* türünün de listelendiği görülmüştür (Başaran ve Adıgüzel, 2001).

Arazi çalışması 1996-1998 yılları arasında yapılan, floristik başka bir çalışmada Musaözü göleti (Eskişehir) ve çevresinin ekolojik özelliği ile bitki çeşitliliği incelenmiştir. 302 takson tespit edilmiş ve risk kategorilerine bakılmıştır. Floraya göre endemizm oranının ise %9,2 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca floristik listede, *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia* ve *A. arvensis* takson isimlerinin varlığı tespit edilmiştir (Erdir ve Türe, 2003).

B3 karesinde yer alan Emirdağlarının kuzey yarısının florası araştırılmıştır. İnceleme alanından toplanan 754 bitkinin teşhisi yapılmış olup, 47 taksonun B3 karesinde

yeni kayıt oldukları tespit edilmiştir. Listelenen taksonlar arasında, *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia* ve *A. arvensis* kayıtlarının olduğu görülmektedir (Köse ve Ocak, 2004).

2004 de Eskişehir, Mihalicçık ilçesinin florası çalışılmış ve 85 familya, 302 cins ve 539 takson tespit edilmiştir. %12,57 endemizm oranı bulunmuştur. 24 taksonun A3; 40 taksonun B3 taksonu için yeni kayıt olduğu tespit edilmiştir. Tüm flora kaydı içerisinde *Asperula* cinsine ait 4 taksonun bulunduğu gözlemlenmiştir. Bunlar; *Asperula glomerata* (Bieb.) Griseb. subsp. *glomerata*, *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*, *A. stricta* Boiss. subsp. *latibracteata* (Boiss.) Ehrend. ve *A. involucrata*'dır (Özaydın ve Yücel, 2004).

Bilecik ilinde yer alan, Ahi dağı ve çevresinin bitki çeşitliliği ile ekolojik özellikleri yüksek lisans tezi olarak araştırılmıştır. Çalışma alanından 461 takson elde edilmiştir. 22 taksonun kültür bitkisi, 43 taksonun çalışma alanı için yeni kayıt ve 25 taksonun ise endemik olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca floristik listenin içinde *Asperula tenella*, *Asperula involucrata*, *Asperula arvensis* taksonları bildirilmiştir (Türe vd., 2007).

Afyonkarahisar'da yapılan floristik çalışmada, yayılış gösteren 2000 farklı tür ve alttür tespit edilmiştir. Bu taksonların 5 tanesinin Afyonkarahisar iline, 330 tanesinin Türkiye'ye endemik olduğu bulunmuştur. Bitkilerin tehlike kategorileri de belirlenip liste yapılmıştır. Bu listede *Asperula* cinsinden 5 taksona yer verilmiştir. Bunlar; *Asperula lilaciflora* subsp. *lilaciflora*, *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*, *A. nitida* Sm. subsp. *hirtella*, *A. stricta* subsp. *latibracteata*, *A. stricta* Boiss. subsp. *monticola* olarak görülmektedir (Kargıoğlu vd., 2007).

Eskişehir ili, Kalabak havzasından 2001-2003 yıllarında toplanan bitki örnekleri incelenip, 575 takson bulunmuştur. Bu taksonlardan 80 tanesinin endemik, 91 taksonun ise B3 karesi için yeni kayıt olduğu bulunmuştur. Oluşturulan flora listesine bakıldığında ise 2 taksonun *Asperula*'ya ait (*A. lilaciflora* subsp. *phrygia* ve *A. involucrata*) olduğu tespit edilmiştir (Ocak vd., 2008).

2008 yılında, Bursa ili Uludağ florası doktora tezi için araştırılmıştır. Bitki örneklerinin teşhisi sonucunda, 1308 takson belirlenmiştir. Çalışma sonucunda taksonlardan 82 tanesinin A2 ve B2 kareleri için yeni kayıt olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda *Cirsium eriophorum* (L.) Scop.'un varlığının ispatlandığı, *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó subsp. *maculata* taksonunun da yeni kayıt olduğu söylenmiştir. Ayrıca tüm taksonların 169 tanesinin endemik ve 31 tanesinin de Uludağ'a özgü bitkiler olduğu belirtilmiştir. Flora listesine bakıldığında ise *Asperula* cinsine ait 5 taksonun (*A. nitida*

Sm. subsp. *nitida*, *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*, *A. taurina* L. subsp. *taurina*, *A. involucrata*, *A. arvensis*) isminin yer aldığı görülmüştür (Daşkın, 2008).

B3 karesinde bulunan Hekimdağ (Bozdağ) flora incelemesi sonucunda 467 takson belirlenmiştir. Taksonların 43 tanesinin endemik olduğu; 13 tanesinin ise B3 karesi için yeni kayıt olduğu bilgisine yer verilmiştir. Tespit edilen taksonların listesinde, *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia* ve *A. arvensis* kayıtlarına rastlanılmıştır (Ardıç vd., 2011).

Osmaneli (Bilecik) florası 2012 yılında araştırılmış olup, 969 takson tespit edilmiştir. Flora listesinde, *Asperula* cinsine ait 4 takson (*A. lilaciflora* subsp. *phrygia*, *A. pestalozzae*, *A. arvensis*, *A. rumelica*) kayıt altına alınmıştır (Koyuncu vd., 2012).

Kırka (Eskişehir) ve çevresinin damarlı bitki florası için yapılmış çalışmada ise 1 adet *Asperula* cinsinin alttürüne ait kayıt bulunmaktadır. Bu taksonun *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia* olduğu ve Kunduzlar Baraj sapağı yol kenarlarında bulunduğu bilgisi verilmiştir (Dere vd., 2013).

Bilecik ili Pazaryeri ilçesi ve çevresine ait damarlı bitkilerden 2472 tane örnek toplanarak, flora incelemesi yapılmıştır. Örneklerin teşhisi yapıp, APG III sistemi kullanılarak floristik bir liste meydana getirilmiştir. *Asperula arvensis* türünün ismi listede kayıt altına alınmıştır (Kocaman vd., 2017).

Eskişehir, Yazlıkaya vadisi ve çevresinin bitki çeşitliliği incelenmiştir. 1130 bitki örneği 2009-2010 yılları arasında toplanmıştır. 470 takson tespit edilmiş olup, bunların 70 tanesinin endemik olduğu bulunmuştur. Oluşturulan floristik listede 2 adet *Asperula* taksonuna yer verilmiştir (Çingay vd., 2017).

B3 karesinde yer alan Frigya vadisinin floristik listesi çıkarılmıştır. 2012-2015 yılları arasında 2214 bitki örneği toplanmış ve teşhis sonrası 855 takson tespit edilmiştir. Bitki listesinin düzenlenmesinde ise, APG III sistemi kullanılmıştır. Listedeki *A. arvensis*, *A. involucrata*, *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* taksonlarının yer aldığı görülmüştür (Sezer vd., 2017).

2018 yılında Ceren Batı Erdem tarafından, Bilecik Abbaslık köyünün florası ve etnobotanik özellikleri incelenmiştir. A2 karesinde yer alan köyden, 1276 örnek toplanmış olup bunların 650 tanesi tespit edilmiştir. Taksonların 48 tanesinin endemik, 18 türün ise A2 karesi için yeni kayıt olduğu bulunmuştur. Çalışma sonunda düzenlenen listede *A. pestalozzae*, *A. tenella*, *A. involucrata* ve *A. arvensis* türlerine yer verilmiştir (Erdem, 2018).

2.4.2. Morfolojik, anatomik ve palinolojik çalışmalar

Asperula taurina L. subsp. *caucasica* (Pobed.) Ehrend. (Syn.: *A. caucasica* Pobed.) bitkisinin toprakaltı kısımlarında anatomik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sırasında, sürünücü rizom ve köklerden enine ve boyuna kesitler elde edilmiştir. Kesitlerden şematik ve anatomik çizimler yapılarak, kök ve rizomların farklılıkları açıklanmıştır. Kökteki süberin tabakanın rizomlardakinden daha kalın olduğu görülmüştür. Kök ve rizomların her ikisinde de bol miktarda nişasta tanesi ve rafit demetleri tespit edilmiş; kambiyum her ikisinde de gözlenmemiştir (Özgen ve Coşkun, 1999).

İtalya'da 2009 yılında yapılan bir çalışmada *Asperula gussonei* Boiss., *A. peloritana* Brullo C., Brullo, Giusso & Scuderi, sp. nov. türleri arasındaki temel morfolojik ve ekolojik farklılıklar araştırılmıştır. Türlerle ait çizimler ayrıntılı olarak verilmiştir. Yakın olduğu düşünülen türler ile morfolojik farklılıklar tablolar halinde özetlenmiştir (Brullo vd., 2009).

Türkiye için endemik olan iki yakın akraba *Asperula* cinsinin karşılaştırmalı morfolojik ve polen analizi çalışması yapılmıştır. Morfolojik özelliklerinin çok ufak farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. *A. serotina* ve *A. purpurea* subsp. *apiculata* arasındaki morfolojik farklılıklar listelenmiştir ve en belirgin farkın sadece internod uzunlukları, yaprağın damar kalınlığı ve pedisel uzunluğu olduğu görülmüştür. Polenlerin oranlarında belirgin bir fark bulunmamıştır. Her iki taksonda da polen tipi sferoidal, seksin yapısı perforat, süslemesi ise mikroekinat olarak kayıt edilmiştir (Minareci vd., 2010).

2009-2010 yıllarında Şırnak/Uludere'den toplanan örnekler arasında *Asperula* taksonları da bulunmuştur. Bunlardan biri yeni tür *Asperula anatolica* M. Ozturk sp. nova olarak kayıt edilmiştir. Yakın akrabası olan *Asperula comosa* ile morfolojik ve palinolojik olarak karşılaştırılması yapılmış, polen özellikleri taramalı elektron mikroskobu ile görüntülenmiştir. *Asperula comosa* polen tipi oblat-sferoidal; *Asperula anatolica* polen tipi ise sferoidal olarak tanımlanmıştır. Tohumlarının karşılaştırılmasında testa hücrelerinin boyu ve genişliği, 0,1 mm²'de bulunan testa hücrelerinin sayısında belirgin farklar gözlemlenmiştir. Aynı zamanda çiçek durumu, brakte boyutları ve korolla loblarında da farklılıklar ortaya konulmuştur (Öztürk, 2013).

Endemik *Asperula daphneola*'nın, morfolojik anatomik ve palinolojik çalışması sonucu elde edilen veriler 2015 yılında Salih Gücel tarafından açıklanmıştır. Tohumların 1,3-1,8x2,3-2,9 mm ebatlarında olup ovat şekilde olduğunu; polen tipinin stefanokolpat

ve polen şeklinin ise (P/E=1,06) sferiodal olduğunu belirtmiştir. Ayrıca kökün sekonder bir gelişim gösterdiği, ince kollenkimatik korteks tabakasındaki hücrelerin rafit kristalleri içerdiğine de değinilmiştir. Gövdenin enine kesitinde sırasıyla, ince bir periderm, parankimatik hücrelerden oluşan bir korteks, merkezde ise sklerankimatik öz hücrelerinin olduğu bildirilmiştir. Yaprakların izolateral şekilde olduğu, orta damar boyunca alt epidermise kadar kollenkimatik hücreler içerdiği, iletim demetlerinin demet kını hücreleri ile çevrelendiği, alt ve üst epidermisin altında palizat parankimasının yer aldığı rapor edilmiştir (Gücel, 2015).

Bir tez çalışması için, *Asperula xylorrhiza* Nábelek (siirt belumotu), *Asperula orientalis* Boiss. & Hohen. (gökçe belumotu), *Asperula arvensis* (tarla belumotu) araştırılmıştır. Örnekler Elazığ ve Bitlis çevresinden toplanmış, taksonlara ait polenler hem ışık mikroskobu hem de taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile görüntülenmiştir. Işık mikroskobunda inceleme yapmak için, preparatlar Wodehouse (1935) Metodu ile hazırlanmıştır. Polen morfolojilerinde; polen tipi ve şekli, ekvatorial şekil, ekzin kalınlığı, kolpus eni ve uzunluğu, yapı, ornamentasyon ve intin kalınlığı gibi özellikler dikkate alınmıştır. Polen şekillerinin prolat-sferoidal ve oblat-sferoidal; ornamentasyonunun skabrat ve perforat olduğu rapor edilmiştir (Akdeniz, 2019).

2.4.3. Kimyasal içerik ve aktivite çalışmaları

Asperula arvensis türüne ait, 9 adet flavonol glikozid analiz edilerek kimyasal yapıları tanımlanmıştır. Bileşenler; kersetin; izokersitrin; hiperin; kersetin 7-O- β galaktopiranozit; kersetin 4'-O- β galaktopiranozit; izorhamnetin 3-O- β galaktopiranozit; izorhamnetin 5-O- β galaktopiranozit; aromadendrin 7,4'-dimetil eter 3-O- β glukopiranozit; izorhamnetin 3-O- β rutinosid'tir. (Güvenalp ve Demirezer, 2005)

Asperula taurina subsp. *caucasica* alt türünün toprak altı kısımları üzerinde fitokimyasal çalışma yapılmıştır. Trabzon Maçka'dan toplanan bitkinin, rizom ve köklerinden metanol ile elde edilen ekstraktın içeriği incelenmiştir. Sonucunda ise mollugin, β -sitosterol, munjistin gibi kimyasal bileşikler ve formülasyonları rapor edilmiştir (Özgen vd., 2006).

Türkiye'de yayılış gösteren *Asperula* cinsinin *Thlipthisa* seksiyonunun revizyonu, 2007 yılında yapılmıştır. Çalışmada *Asperula* taksonları (*A. antalyensis*, *A. brevifolia* Vent., *A. pseudochlorantha* Ehrend., *A. purpurea* subsp. *apiculata* ve *A. serotina*) fitokimyasal, toprak analizi açısından incelenmiştir. Araştırılan türlerin hepsinde tanen,

flabotanen, steroid, flavonoid, ve antrakinon tespit edilirken, saponin hiçbirinde görülmemiştir. α -tokoferol miktarı en yüksek *A. antalyensis* çıkmıştır. Ayrıca yetiştikleri toprağın pH değerinin 7,1-7,4 değerleri arasında ve tuzsuz özellikte olduğu bildirilmiştir (Minareci, 2007).

Başka bir çalışmada, Lübnan geleneksel tıbbında kullanılan bazı bitkilerin anjiotensin dönüştürücü (ACE) ve diyabet ile ilgili sindirim enzimlerinin in-vitro inhibitör etkileri araştırılmıştır. Tıbbi kullanımı olan bitkiler arasında, Rubiaceae familyasından *Asperula glomerata* (M. Bieb) Griseb türü de incelenmiştir. Kloroform ve n-hekzan ile ektreleri elde edilmiştir. Gaz kromatografisi/Kütle spektrofotometre yöntemi ile bileşenleri tespit edilmiştir. Ayrıca Folin–Ciocalteu metodu ile total fenolik bileşen miktarının tayini yapılmıştır. *Asperula glomerata* total fenolik bileşen miktarı $81,5 \pm 0,13$ (mg/g) bulunmuştur. Ayrıca *Asperula glomerata* metanol ektresinin glukosidaz ve ACE enzimlerinin her ikisini de inhibe ettiği tespit edilmiştir (Loizzo vd., 2008).

5 endemik *Asperula* cinsinin (*A. antalyensis*, *A. brevifolia*, *A. pseudochlorantha*, *A. purpurea* subsp. *apiculata* ve *A. serotina*) metanol ve eter ekstraktlarının agar difüzyon ve sıvı dilüsyon metotlarıyla aktimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir. Testler sonucunda en aktif türler *Asperula brevifolia* ve *A. serotina* çıkmıştır. *Asperula* türlerinin metanol ekstraktlarının en aktif olduğu MIC değerleri 7,6 mg/mL ila 14,8 mg/mL arasında olduğu saptanmıştır (Kalyoncu vd., 2009).

Rubiaceae familyasına ait, 5 endemik *Asperula* cinsinin (*A. brevifolia*, *A. pseudochlorantha* var. *antalyensis*, *A. pseudochlorantha* var. *pseudochlorantha*, *A. purpurea* subsp. *apiculata* ve *A. serotina*) kimyasal bileşenleri, toplam flavanoid ve α -tokoferol (e-vitamini) miktarları ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. DPPH radikal süpürme aktivitesi en çok olan *Asperula brevifolia* çıkmıştır. Total flavanoid miktarı en fazla olan %2,90 ile *A. purpurea* subsp. *apiculata*, α tokoferol miktarı en yüksek olan ise % 0,66 ile *A. pseudochlorantha* var. *antalyensis* bulunmuştur (Mineraci vd., 2011).

Yunanistan'ın güneydoğusunda yetişen endemik *Asperula lutea* subsp. *rigidula* kullanılarak, etonal ekstraktın polar olmayan kırılma analizi ile çoğunluğu yağ asidi esterleri olan 18 bileşen tanımlanmıştır. Bu bileşenlerden en yüksek orana sahip olanların sırasıyla %10,5 linoleik asit etil ester, %20,1 linolenik asit etil ester, %32,7 etil palmitat olduğu belirtilmiştir (Tzakou vd., 2011)

Asperula odorata bitkisinin toprak üstü kısımlarında bulunan esansiyel yağ bileşenleri çalışılmış olup, kimyasal içerikte bulunan serbest ve esansiyel amino asitler

belirlenmiştir. *A. odorata* toprak üstü kısımlarında, glutamik asit, prolin, lösin, alanin, serin, glisin ve arjinin hakim olduğu bulunmuştur (Yurchenko vd., 2013).

Asperula lilaciflora türünün flovanol glikozitleri ve iridoitleri üzerine çalışma yapılmıştır. Toprak üstü kısımlarından yeni bir flovanol glikozit bulunmuştur ve adına “lilaciflorosit” denilmiştir. Aynı zamanda “asperulojenin” ismi verilen yeni bir iridoit tespit edilmiştir. Bunlara ilaveten; kamferol, kuersetin, klorenjenik asit, asperulosit gibi bilinen diğer sekonder metabolitler de izole edilmiştir (Kırmızıbekmez vd., 2014).

Asperula odorata kuru ekstraktının antihipoksik ve sedatif aktivitesi test edilmiştir. Kuru ekstrakt içinde bulunan fenolik bileşenleri saptamak için, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) analizi kullanılmıştır. Sedatif aktivite ise açık alan testi ile çalışılmıştır. Kuru ekstraktın 100 mg/kg dozu antihipoksik etki göstermiştir. Ekstraktın Merkezi Sinir Sistemi üzerinde sedatif etki gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca bileşenlerinde en çok klorojenik asit ve sinarozit bulunduğu gözlemlenmiştir (Yurchenko vd., 2015).

İran’da yapılmış bir çalışmada *Asperula oppositifolia* Regel & Schmalh. kullanılmıştır. 2010 yılında toplanan bitkinin toprak üstü kısımlarından yararlanılmıştır. Toprak üstü kısımların metanol ile elde edilen ekstraktlarının esansiyel yağ bileşenleri ve antioksidan aktivitesi test edilmiştir. Gaz kromatografisi/Kütle spektrometresi yöntemiyle 42 bileşen tespit edilmiştir. Ayrıca DPPH süpürücü aktivite testi ile antioksidan ajanlar için yeni tıbbi bir kaynak olabileceği ortaya konulmuştur (Halimi ve Nasrabadi, 2015).

Ukrayna’da yapılmış olan başka bir çalışmada *Asperula octonaria* türünün toprak üstü kısımlarının (herba) infüzyonunun halk tıbbında diüretik olarak kullanıldığı belirtilmiştir. Bitkinin daha önceki kimyasal çalışmalarında, toprak altı kısımlarının antrakınonlar; toprak üstü kısımlarının da hidrosisinnamik asit, flavonoid ve iridoid içerdiğine değinilmiştir. Temel bileşenleri de incelenen bitkide 6 makro, 13 mikro element tespit edilmiş, makro elementlerden miktarı fazla olanların ise potasyum, silisyum ve kalsiyum olduğunu bulmuştur (http-16).

Asperula involucrata türünün toprak üstü kısımları ile yapılan bir çalışmada üç yeni iridoid glikozitleri bulunmuştur. Bitkinin toprak üstü kısımlarının metanol ile ekstresi elde edilmiştir. Kromatografi yöntemi kullanılarak, involucratosit A-C adı verilen üç yeni bileşen tespit edilmiş ve molekül yapıları açıklanmıştır. Ayrıca toprak üstü ekstraktlarının, ksantin oksidaz inhibitör testi ve antioksidan aktivite testleri de yapılmıştır. Türün

kimyasal bileşen ve biyoaktivitesini gösteren ilk çalışma olduğu da vurgulanmıştır (Kırmızıbekmez vd., 2017).

Asperula taurina subsp. *caucasica* taksonunun toprak üstü kısımlarının fitokimyasal, antikolinesteraz ve antioksidan özellikleri ile ilgili bir çalışma yapılmıştır. Toprak üstü kısımların metanol ile ekstresi çıkarılmış ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemi kullanılarak fenolik içeriği tespit edilmiştir. İçeriğinde protokatekuik asit, p-OH benzoik asit ve benzoik asit bulunmuştur. Fitokimyasal çalışma sonucunda ise kersetin 3-O-β-galaktozid izole edilmiştir. Bunlara ilaveten, bitkinin metanolik ekstresinin asetilkolinesteraz inhibitör etki göstermediği; orta düzeyde lipit peroksidasyonu önleyici aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Özgen vd., 2018).

2.4.4. Sitogenetik ve filogenetik çalışmalar

Asperula cinsi de dâhil, 10 cins ve toplamda 129 taksonun yer aldığı Rubieae grubunun filogenetik incelemesi yapılmıştır. Taksonların DNA'ları izole edilip, tasarlanan primerler ile karşılaştırılmıştır. Bayes analizi ve Maksimum parsimony analizleri kullanılmıştır. Taksonların bağlantıları ve ilişkileri filogenetik ağaçlar üzerinde gösterilmiştir (Soza ve Olmstead,2010).

Thliphthisa seksiyonundan, 5 *Asperula* taksonu üzerinde (*A. brevifolia*, *A. pseudochlorantha* var. *antalyensis*, *A. pseudochlorantha* var. *pseudochlorantha*, *A. purpurea* subsp. *apiculata* ve *A. serotina*) karyotip çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada kromozom sayılarını bulmak için, kök uçları kullanılmıştır. Taksonların somatik kromozom sayısı $2n=22$ olarak bulunmuştur. Ayrıca kromozom uzunluklarının 0,80 µm-2,40 µm arasında değiştiği gösterilmiştir. *A. serotina* ve *A. purpurea* subsp. *apiculata* ve *A. brevifolia* taksonlarının kromozom çalışması olarak, ilk kez yapıldığı da vurgulanmıştır (Minareci ve Yıldız, 2011).

İtalya'da yapılmış doktora tezinde, *Asperula* cinsinin takson sayısı bakımından en zengin *Cynanchicae* seksiyonunun filogenisi yeniden revize edilmiştir. “Bayes çıkarımı, Maksimum parsimony, Maksimum olabilirlik” gibi farklı filogenetik yaklaşımlar kullanılarak taksonların kendi aralarındaki ve dış gruplar ile bağlantıları kladistik ağaçlar üzerinde tanımlanmıştır (Gargiulo, 2013)

Filogenetik bir başka çalışmada, *Asperula* sect. *Cynanchicae* (Rubiaceae: Rubieae) hem nükleer hem de kloroplast DNA markerları kullanılarak yeniden incelenmiştir. Araştırılan hipotez sonucunda, seksiyonun en yaygın iki türü olan; *Asperula aristata* ve

A. cynanchica L. monofiletik olmadığı ortaya çıkmıştır. Kullanılan taksonların yakınlık uzaklık ilişkisi kladistik ağaçlar üzerinde gösterilmiştir (Gargiulo vd., 2015)

Başka bir çalışmada sadece Nif Dağı'nda yayılış gösteren, *Asperula daphneola* kullanılmıştır. Endemik tür sitolojik açıdan incelenmiş ve *A. daphneola*'nın diploit kromozom sayısı 20 olarak tespit edilmiştir. Çalışmanın ileride yapılacak biyosistematik çalışmalara, temel oluşturacağı düşünülmüştür (Gücel, 2015).

Almanya'da yapılan filogenetik bir çalışma Rubieae grubu temel alınmış. Bu gruba dâhil olan, *Galium* ve *Asperula* cinslerini de kapsayan üç ana kladın birbiriyle ilişkisi ve bağlantıları ortaya konulmuştur. Materyal olarak total genomik DNA kullanılmıştır. Sonuçlar ise kladistik ağaçlarda ayrıntılı şekilde gösterilmiştir (Ehrendorfer vd., 2018).

Akdeniz bölgesinde, şizoendemik yayılıma sahip olduğu düşünülen *Asperula crassifolia* L. türündeki genetik varyasyonlar açıklanmaya çalışılmıştır. Kromozomal DNA dizileri kullanılmıştır. Tür içindeki çeşitlilik ve farklılaşma için veriler nSSR ile analiz edilmiştir. 4 farklı ptDNA haplotipleri içerdiği, mikrosatellit analizler ile çalışılan popülasyonun genetik çeşitliliğinin düşük seviyelerde olduğu ortaya çıkarılmıştır (Gargiulo vd., 2019).

2.4.5. Diğer çalışmalar

İtalya'da, *Asperula neglecta* Guss. and *Asperula nitens* Guss. (Rubiaceae)'in taksonomik kayıtları ve isimlerinin tipleştirilmesi ile ilgili bir çalışma yapılmıştır. İki türün morfolojik özelliklerine göre, belli seviyeye kadar güçlükle ayırt edilebildiği gözlemlenmiştir. Bu yüzden alttür seviyelerinde ayırımları önerilmiştir (Del Guacchio ve Caputo, 2005).

Britanya Adaları'nda yetişen *Asperula cynanchica* türündeki varyasyonlar araştırılmıştır. Bitki örnekleri herbaryum materyallerinden sağlanmıştır. Birden fazla *Asperula* karakterinin, Temel Bileşen Analizi (PCA) ile ilişkisi ortaya konulmuştur. Sonuçlar grafik üzerinde özetlenmiştir (Codd ve Rich, 2007).

Batı Anadolu endemik bitkilerinden olan *Asperula daphneola*'nın sınırlı yayılış nedenleri araştırılmıştır. Çalışmada beş farklı lokasyon belirlenmiş olup, buradaki popülasyon sayıları incelenmiştir. Sonuçlara göre, türün tehlike kategorisi için "Kritik Tehlike Altında" (CR) olması önerilmiştir. Ayrıca tozlaşma ekolojisi sonucunda, türün zorunlu otogam olduğu tespit edilmiştir (Gücel ve Seçmen, 2009).

Cynanchicae seksiyonunda yer alan *Asperula daphneola* endemik türünün, yapılan flora çalışması sonucunda yeni bir lokasyonda daha yayılış gösterdiği tespit edilmiştir. 2009'un Mayıs ayı içinde yapılan arazi çalışmasında Murat Dağı'nda (İzmir) toplanmıştır. Floradaki anahtarlara göre tür teşhis edildikten sonra, Murat Dağı yeni lokasyon olarak kayda geçmiştir. Türün popülasyonunun 200 m² kadar olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda çalışmada, türün taksonomik betimlemesi de yapılmıştır (Şenol ve Yıldırım, 2010).

1958 yılında Türkiye florasında tanımlanmış olan, *Asperula pseudochlorantha* ve *Asperula antalyensis* daha önceki çalışmalarda taksonomik ayırım için karşılaştırılmış ve morfolojik olarak ayırt edilmesinin zor olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak, aynı habitat içinde yayılış gösterdikleri ve her ikisinin kromozom sayısının 2n=22 olduğu bulunmuştur. Bütün bu sonuçları dikkate alan araştırmacılar, *A. antalyensis* taksonunun, *A. pseudochlorantha* Ehrend. var. *antalyensis* (Ehrend.) Minareci & K. Yıldız, comb. et stat. nov. olarak kabul edilmesini önermişlerdir (Minareci ve Yıldız, 2010)

Yunanistan, Pindus kuzeyinde *Asperula tymphaea* (Rubiaceae) yeni bir tür olarak keşfedilmiştir. Bulunan bitki, simpatrik *A. aristata* subsp. *thessala* (Boiss. & Heldr.) Hayek taksonu ile mukayese edilmiştir. Elde edilen veriler bölgede yayılış gösteren yeni bir tür olduğunu doğrulamıştır (Gregor vd., 2016).

İtalya Apennine Dağları'nın güneyindeki *Asperula calabra* (Rubiaceae) ve akraba taksonlar arasındaki ilişki araştırılmış ve inceleme için, taksonlara ait makromorfolojik veriler üzerinde biyometrik metodlar kullanılmıştır. İstatiksel analizlerde, Temel Bileşen Analizi (PCA) ve Kategorik Temel Bileşen Analizi (CatPCA) tercih edilmiştir. Analizlerin sonuçları tablolar halinde özetlenmiştir (Del Guacchio vd., 2017).

Yunanistan'da yapılmış bir çalışmada *Asperula* cinsine ait yeni kayıtlar bildirilmiştir. İnceleme sonucunda *Asperula taurina* taksonunun varlığı kesinleşirken; *A. taurina* subsp. *taurina* alt türünün varlığı ise yeni kayıt olarak değerlendirilmiştir (Zografidis, 2017).

Romanya'da yapılan bir başka çalışma, herbaryumda bulunan ana temsilci *Asperula* türlerinin genel özellikleri ve sayısal verileri üzerine yapılmıştır. Romanya ormanlarından toplanılmış olan 25 takson üzerinde çalışılmıştır. Herbaryumda bulunan *Asperula rumelica* and *A. graveolens* subsp. *graveolens* taksonlarının tehlike kategorileri nedeniyle koruma altında oldukları bildirilmiştir (Plesca vd., 2020).

İtalya’da yapılan diğer bir çalışmada *Asperula* cinsinin *Cynanchicae*, *Thlipthisa* ve *Hexaphylla* seksiyonlarında 139 tane yeni adlandırma kombinasyonu oluşturulmuştur. Daha önce yapılan birçok filogenetik çalışmanın sonucunda, bu değişimin gerekli olduğu görülmüştür. Rubieae grubundaki tüm tür seviyesinde yapılan filogenetik çalışmalar temel alınarak, sadece filogenetik durumu sabit görülen *Asperula* cinsinin seksiyonları tercih edilmiştir. Sonucunda ise *Asperula pestalozzae* Boiss. adlandırması yerine *Cynanchica pestalozzae* (Boiss.) P.Caputo & Del Guacchio, comb. nov.; *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* (Bornm.) Schönb.-Tem. yerine *Cynanchica lilaciflora* subsp. *phrygia* (Bornm.) P.Caputo & Del Guacchio, comb. nov. isimlendirmesi yapılmıştır (Del Guacchio ve Caputo, 2020).

Yunanistan’da, Zakintos adası endemiği olan çok yıllık kasmofit *Asperula naufraga* Ehrend. & Guterm üzerinde çalışılmıştır. Bitkinin adaya endemik olduğu, 2-25 m yükseklikte yetiştiği ve nesli “Tükenme Tehlikesi Altında” (EN) olduğu çalışmada belirtilmiştir. *A. naufraga* beş alt popülasyonu, beş yıl boyunca kayıt altına alınmıştır. Popülasyon boyutunun süreç boyunca, önemli derecede dalgalanma yaptığı gözlemlenmiştir. Türün neslinin tükenme olasılığı “Nüfus Canlılığı Analizi” (Population viability analysis: PVA) ile incelenmiştir. Sonuçlar, gelecek 50 yıl içinde, türün yok olma riskinin %47,8 arttığını göstermiştir ve bu nedenle tehlike kategorisinin “Kritik Tehlike Altında” (CR) olarak değiştirilmesi önerilmiştir (Valli vd., 2021).



Şekil 3.3. *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia* herbarium örneği

3.1.2. Kullanılan kimyasallar

- Kloralhidrat
- Sartur reaktifi
- Gallik asit standartı
- Folin-Ciocalteu Reaktifi
- CH₃OH Metanol (%99,8'lik)
- C₂H₅OH Etanol (%70'lik)
- Na₂CO₃ Sodyum karbonat (%20'lik)
- DPPH 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
- ABTS 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit

3.1.3. Kullanılan cihazlar ve markaları

- Binoküler Stereo Mikroskop WILD TYP 181300
- Trinoküler Işık Mikroskobu Olympus BX51
- Digital Mikroskop Kamerası Kameram 318CU
- Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) TM3030 Plus Tabletop
Microscope-HITACHI
- Sputtering (Püskürtme) SBC-900 Single Target Plasma
Sputtering Coater
- Rotary Evaporatör (Döner Buharlaştırıcı) Vacuum Pump V-100 BUCHI
Heating Bath B-100 BUCHI
- Rotator (Çalkalayıcı) ORBITAL
- Ultrasonik Banyo Ultrasonic LC30
- ELISA Mikroplaka Okuyucu Biotek SYNERGY HTX
- Hassas Terazi OHAUS Explorer E14130

3.2. Deneysel Çalışmalar

3.2.1. Morfolojik çalışmalar

Toplanan örneklerin tayininde Türkiye Florasının 7. cildinden yararlanılmıştır. Tayin sonrası yapılan incelemelerle, her iki türe ait morfolojik özellikler belirlenmiş ve türlerin habitatu, rakımı, çiçeklenme dönemleri, ülkemiz üzerindeki yayılışları haritalarda gösterilmiştir.

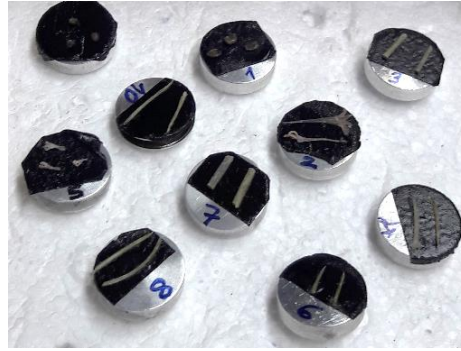
Morfolojik bulgular tanımlanırken herbarium örnekleri ile taze örnekler kullanılmıştır. Toplama sonrası kaybolabilecek özellikler için ise, bitkiler doğal ortamlarında birçok açıdan fotoğraflanmıştır. Her iki bitki için ortalama 20 örnek üzerinden alınan ölçümlerin bazıları doğal ortamında yapılırken, bazıları herbarium örnekleri üzerinden alınmıştır. Daha sonra morfolojik özellikler ayrıntılı olarak tanımlanmış ve genel görünüş, gövde yapısı ve tüyleri, yaprak yapısı ve tüyleri, çiçek durumu, korolla yapısı, boyuna açılmış korolla, anter, ovaryum, meyve, brakte, brakteol şekilleri ayrıntılı çizilmiştir. Çizimler için WILD TYP 181300 stereo mikroskobu ve resim çizme tüpü (Şekil 3.4) kullanılmıştır. Her çizim kullanılan büyütme oranına göre ölçeklendirilmiş ve daha sonra türlere ait elde edilen genel çizimler, aydınlar üzerine aktarılarak düzenlenmiştir. Morfolojik terminolojide Baytop (1998)'un İngilizce-Türkçe Botanik Kılavuzu isimli eseri kullanılmıştır.



Şekil 3.4. WILD TYP 181300 stereo mikroskobu

Deskripsiyonda kullanılacak ölçümler, organların en geniş bölümlerinden alınmıştır. Ölçümler Excel dosyası üzerinde düzenlenmiş ve morfolojik karakterlere ait ölçüler iki tür arasında karşılaştırılmıştır.

Mikromorfolojik çalışmalar için bitkilerin gövde, yaprak, korolla, ovaryum ve merikarp yüzeylerindeki tüy ve yapıları araştırılmış, bunun içinde Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezinde bulunan masa üstü taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır. İnceleme yapılacak örneklerden alınan küçük parçalar stab üzerindeki çift taraflı karbon bant üzerine yapıştırılmıştır (Şekil 3.5).



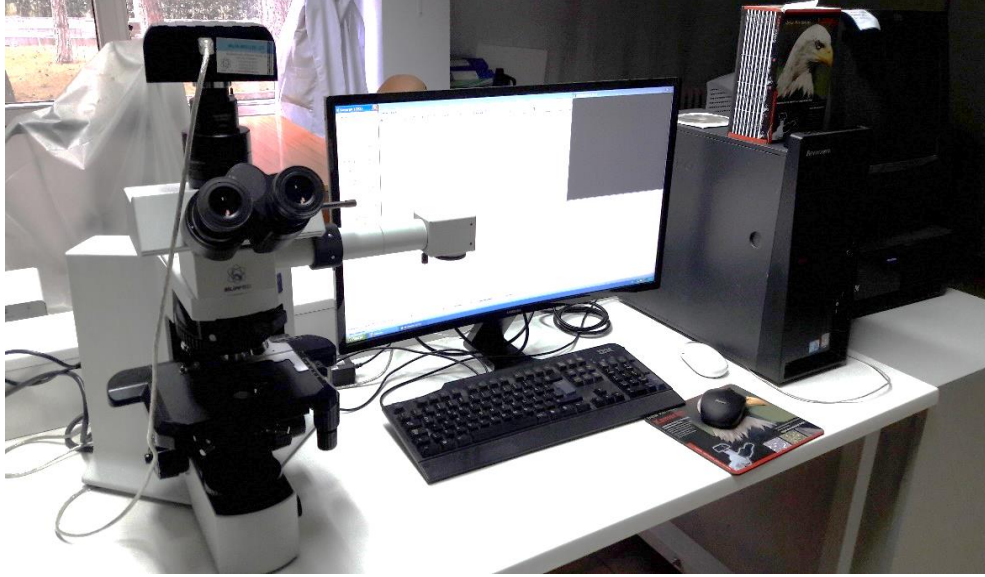
Şekil 3.5. Çift taraflı bant kaplı stab üzerindeki örnekler

İnceleme öncesi, AÜBİBAM'da bulunan SBC-900 Tek Hedefli Plazma (Altın) Saçtırmalı İnce Film Kaplama cihazına konularak altın ile kaplanmış (Şekil 3.8), daha sonra altın ile kaplanan örnekler masa üstü taramalı elektron mikroskobunda (TM3030 Plus Tabletop Microscope-HITACHI) ayrıntılı olarak incelenmiş ve fotoğraflandırılmıştır (Şekil 3.9).

3.2.2. Anatomik çalışmalar

Deneysel çalışmanın bu aşamasında %70'lik alkolde muhafaza edilen kök, gövde, yaprak ve meyve örnekleri kullanılmıştır. Kök, gövde ve meyvenin orta kısımlarından enine ince kesitler, yaprakların ise hem orta bölgelerinden enine, hem de alt üst kısımlarından yüzeysel kesitler alınmıştır. Hazırlanan preparatlarda, hücreleri net görüntülenen tüm kesitler saydamlaşması için kloralhidrata maruz bırakılmıştır, daha sonra Sartur reaktifi ile boyanmıştır. Boyanmış preparatlar Olympus BX51T marka trinokuler mikroskop (Şekil 3.5) ve Kameram digital mikroskop kamerasının yardımıyla

farklı büyütme objektiflerinde (4x, 10x, 20x) fotoğraflanmış, ölçeklendirilmiş ve daha sonra anatomik yapılar ayrıntılı olarak tanımlanmıştır.



Şekil 3.6. Olympus BX51T marka trinokuler mikroskop ve Kameram digital mikroskobu

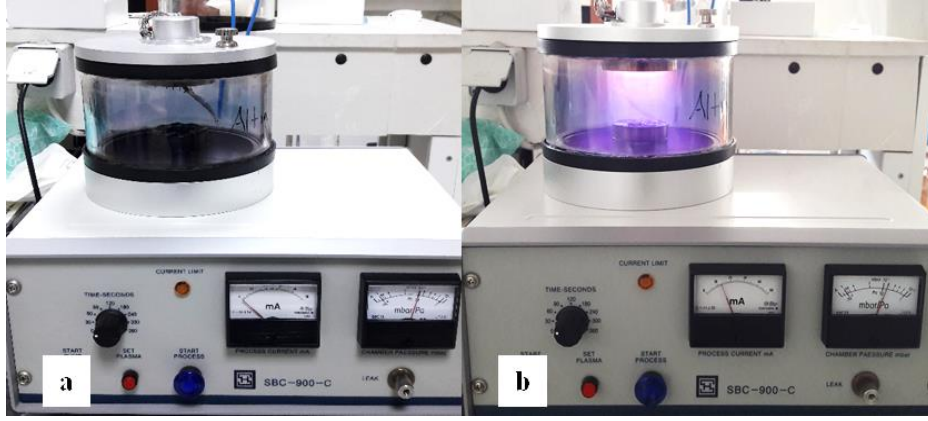
3.2.3. Palinolojik çalışmalar

Her iki bitkiye ait polenlerin yüzeylerini incelemek adına, yaklaşık 20 adet kuru korolla örneklerinden polenler, ok uçları yardımıyla çıkarılmıştır. Daha sonra, çift taraflı bantlar örnek tutucu (stab) üzerine yapıştırılmıştır (Şekil 3.7). Bantların yapışkan yüzeyleri polen ile kaplanmıştır. Hazırlanan örnekler inceleme yapılmadan önce, Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi (AÜBİBAM)'da bulunan SBC-900 Tek Hedefli Plazma (Altın) Saçtırmalı İnce Film Kaplama cihazına (Şekil 3.8) konularak belli süre altın kaplama işlemine maruz bırakılmıştır. Daha sonra altın ile kaplanan polenler AÜBİBAM bünyesindeki, masa üstü taramalı elektron mikroskobunda (TM3030 Plus Tabletop Microscope - HITACHI) ayrıntılı olarak incelenmiş ve fotoğraflandırılmıştır (Şekil 3.9).

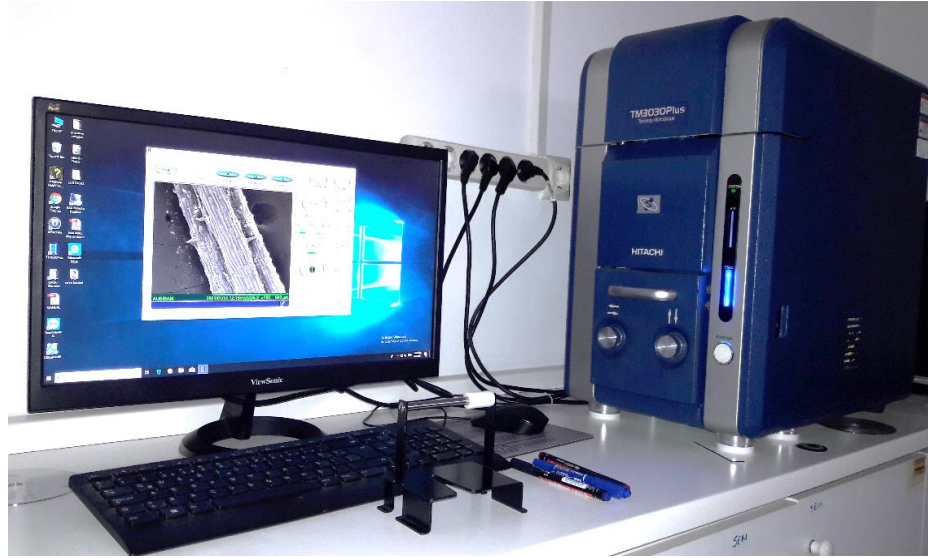
Fotoğrafları çekilen polenlerin, polar eksen ve ekvatorial eksen ölçümleri alınmış ve polar eksenin değerinin (P), ekvatorial eksen değerine (E) bölünmesiyle polen şekli belirlenmiştir. Aynı zamanda polenlerin yüzeyleri, kolpatların sayısı ve uzunluğunda tanımlanmıştır. Polen morfolojisinde Walker ve Doyle, (1975), Pınar vd., (2003), Punt vd., (2007) terminolojilerinden yararlanılmıştır. Örneklere ait polen özellikleri, tablo halinde birbiriyle kıyaslanmış ve aralarındaki farklar ortaya çıkarılmıştır.



Şekil 3.7. Örnek tutucu (stab) üzerine alınan polenler



Şekil 3.8. a) SBC-900 Tek hedefli plazma (altın) saçtırmalı ince film kaplama cihazı
b) Altın kaplama sırasında oluşan ışımaya



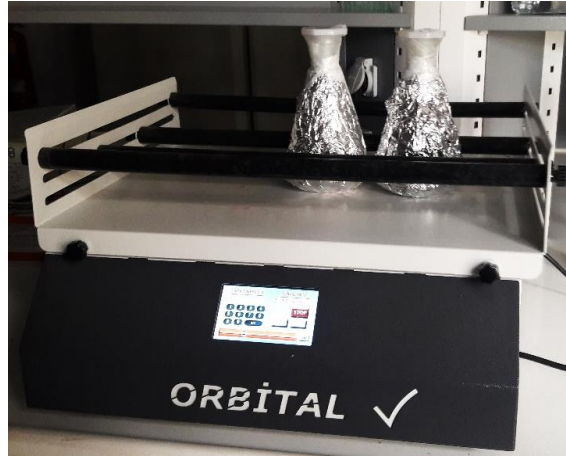
Şekil 3.9. Görüntüleme yapılan, TM3030 Plus Tabletop Microscope – HITACHI

3.2.4. Kimyasal çalışmalar

3.2.4.1. Ekstraktların hazırlanması

Ekstraktların hazırlanması için, oda sıcaklığında kurutulmuş bitkilerin toprak üstü kısımları kullanılmıştır. Bu toprak üstü kısımlar, elle iri taneli toz haline getirilmiştir. Toz halindeki örneklerden 20 g tartılmıştır. Kaba toz örnekler kapaklı erlenmeyer içine doldurulmuş ve dışarıdan ışık almaması için alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Daha sonra, üzerine mezür ile ölçülen 100 ml %70'lik etanol konularak 24 saat çalkalama işlemine (ORBİTAL, Çalkalayıcı) maruz bırakılmıştır (Şekil 3.9). Süre sonunda karışım süzülüp, alınan süzöntü üzerine tekrar 100 ml etanol ilave edilmiştir. İşlem 3 kez tekrarlanıp sonlandırılmıştır.

Tüm süzöntüler bir kap içerisinde toplanıp dolaba konulmuş, daha sonra saklanan süzöntülerdeki etanol evaporatörde (Şekil 3.10) 30 dk. boyunca 41 °C'de kontrollü bir şekilde uçurulmuştur. Etanolü uzaklaştırılan örnekler küçük saklama kaplarına alınmış ve yapısındaki suyun kristalleşmesi için derin dondurucuya kaldırılmıştır. Buz haline gelen örneklerdeki suyu uzaklaştırmak amacıyla liyofilizatör kullanılmıştır. Materyallerin ağızları sıkı şekilde kapatılıp, derin dondurucuda kimyasal analizlerde kullanılmaya kadar saklanmıştır.



Şekil 3.10. Rotator (çalkalayıcı)-ORBİTAL



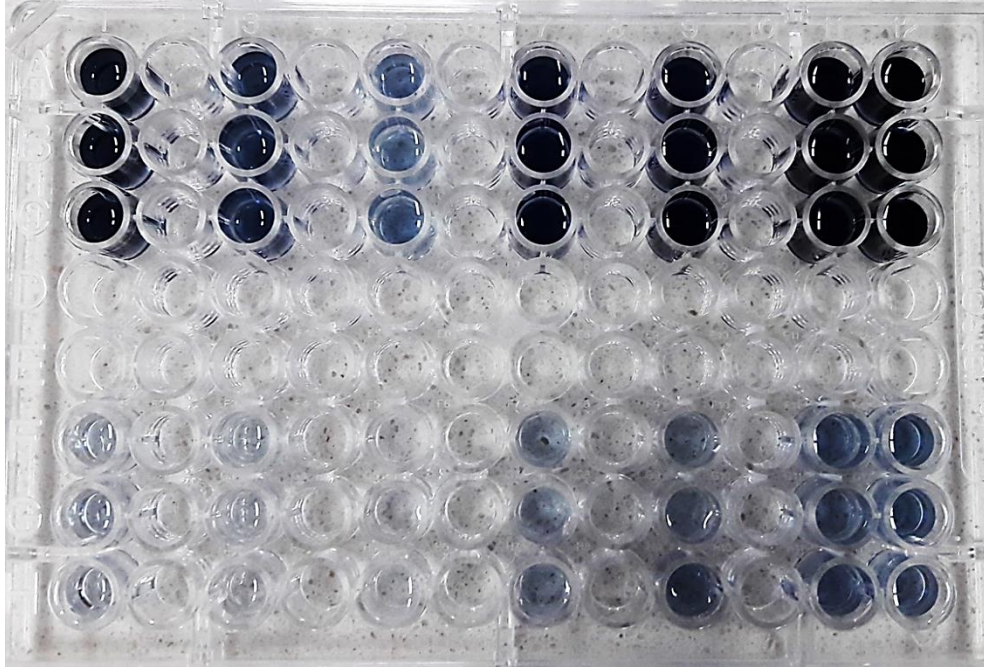
Şekil 3.11. Evaporatör ile alkolün uzaklaştırılması

3.2.4.2. Toplam fenolik madde miktarı tayini

Toplam fenolik madde miktarı tayini Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntem spektrofotometrik olup, standart olarak gallik asit kullanılır ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilir (Büyüktuncel, 2013; Attard, 2013). İlk olarak, 20 mg bitki ekstraktları, 2 ml metanolde çözündürülmüştür. Böylece *A. pestalozzae* ekstresinden 10 mg/ml; aynı şekilde *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* ekstresinden de 10 mg/ml derişime sahip çözeltiler hazırlanmıştır. Ayrıca standart olarak kullanılan gallik asitten de farklı derişimlerde (0,1 mg/ml, 0,35 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,7 mg/ml, 1 mg/ml) çözeltiler hazırlanmıştır. Daha sonra, hazırlanan çözeltilerden 20 µl numune alınarak mikroplak kuyucuklarına sırasıyla konulmuştur. Ekstre ve gallik asit çözeltileri üzerine 1560 µl distile su ve 100 µl Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Reaktifin homojen dağılması için 1-2 dk. beledikten sonra, 300 µl %20'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) eklenerek reaksiyon başlatılmıştır (Şekil 3.12).

Ekstre içermeyen reaktif-metanol karışımı, kör kontrol olarak kullanılmıştır. Karanlık ortamda 2 saat oda sıcaklığında beledikten sonra absorbans değerleri 760

nm’de ölçülmüştür. Analiz için üç tekrar yapılmıştır. Toplam fenolik madde miktarının tayini, gallik asit standart eğrisi üzerinden hesaplanmıştır.



Şekil 3.12. Toplam fenolik madde miktarı tayini için hazırlanan örnekler

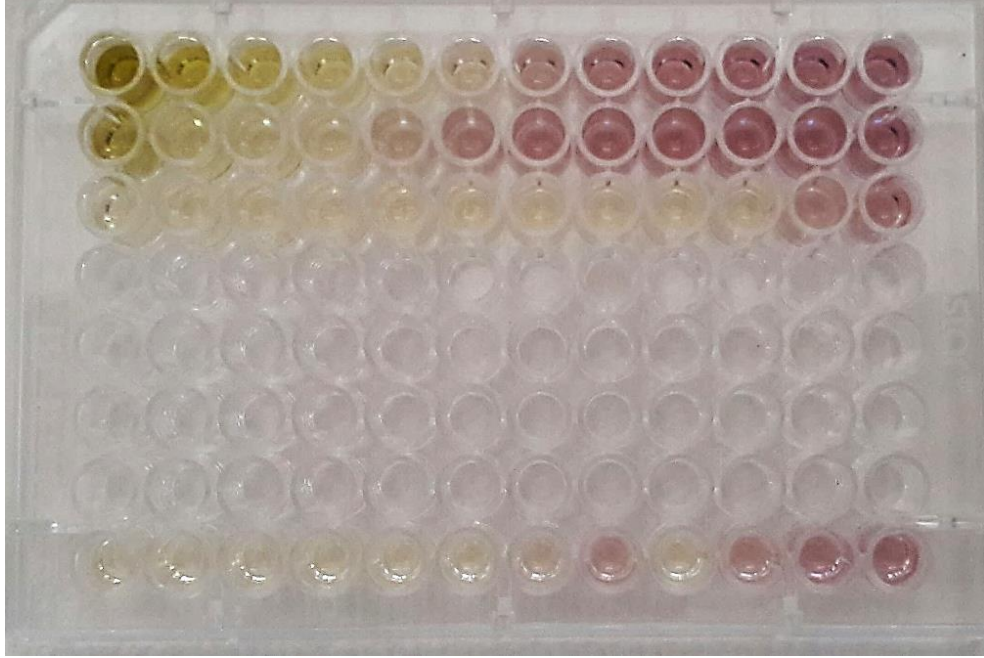
3.2.5. Antioksidan aktivite çalışmaları

3.2.5.1. 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikalini (DPPH[•]) süpürücü etki tayini

Ekstraktların miktarları hassas terazi ile ölçülmüştür. *Asperula pestalozzae* ekstraktından 20 mg, *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia* ekstraktından 20 mg alınıp üzerlerine 2 ml metanol konulmuştur. Pozitif kontrol amacıyla kullanılacak olan, toz halindeki gallik asitten 2 mg alınıp ve üzerine 2 ml metanol eklenmiştir. Tüm hazırlanan çözeltilerin homojen olması için, vortekste karıştırma işlemi yapılmıştır.

DPPH radikal süpürücü etki tayini 1995’te Brand-Williams ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Yöntem, antioksidanın DPPH serbest radikaline proton transferi reaksiyonu temeline dayanmaktadır (Okan vd., 2013). Bu amaçla 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plak kullanılmış olup ilk sütunlarına sırasıyla, 200’er µl MeOH’de (metanol) çözülmüş örnekler aktarılmıştır. Diğer kuyucukların hepsine, çok-kanallı pipet aracılığıyla 100’er µl MeOH konulmuştur. İlk kuyucuktan 100 µl numune alınarak, sırasıyla 10 seri seyreltme işlemi yapılmıştır. Seyreltilmiş örnekler üzerine 100 µl DPPH^{•+} çözeltilisinden eklenmiştir (Şekil 3.13). Böylece plakta tepkime başlatılmış olup, 30 dk.

karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Mikrotitrasyon plak, spektrofotometrede UV absorbands değeri 517 nm seçilerek okutulmuştur. Deneyin üç tekrarı yapılmıştır.



Şekil 3.13. DPPH radikalini süpürücü etki tayini için hazırlanan numuneler

SigmaPlot programı, istatistiksel değerlendirme ve hesaplamalarda kullanılmıştır. Radikal uzaklaştırma aktivitesi, %50 inhibisyon konsantrasyonu denklemi kullanılarak hesaplanmıştır (Minareci vd., 2011).

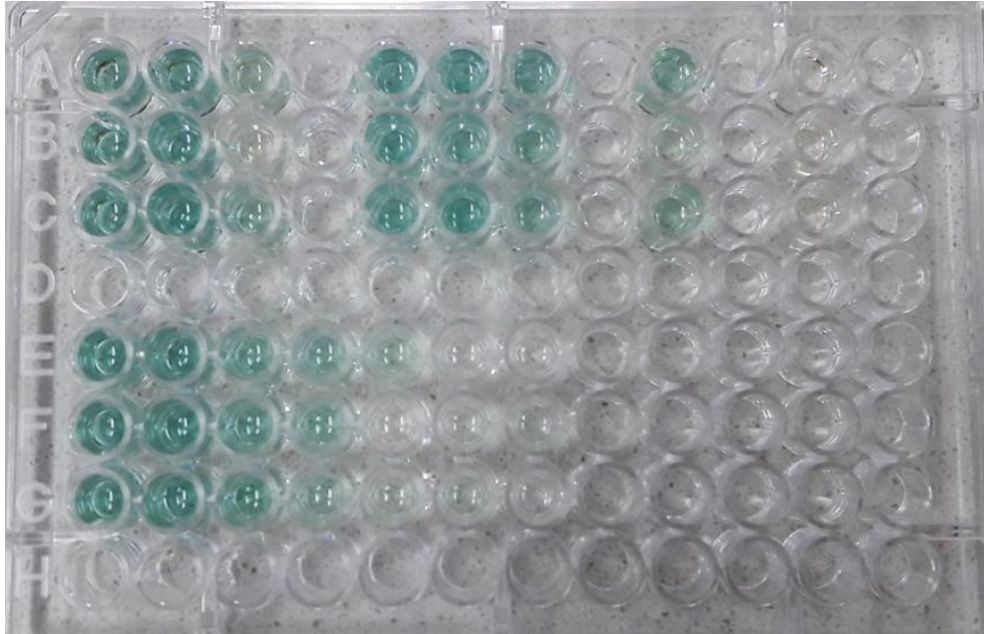
$$IC_{50} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (3.1)$$

Denkleme göre; IC_{50} : %50 inhibe eden konsantrasyon, A_0 : kontrol absorbands, A_1 : numune absorbandıdır.

3.2.5.2. 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu ($ABTS^{\bullet+}$) süpürücü etki tayini

Geliştirilen bu yöntemde (TEAC), 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit ($ABTS$)'in persülfatla oksidasyonu ile, $ABTS^{\bullet+}$ radikali oluşturulmakta ve moleküllerin toplam radikal süpürme kapasitesi ölçülmektedir. Standart olarak vitamin E'nin suda çözünebilen bir analogu olan Troloks (6-hidroksi-2, 5, 7, 8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) kullanılmakta ve standart ile karşılaştırılması yapılmaktadır (Büyüktuncel, 2013). İlk olarak, 7 miliMolar (mM) $ABTS^{\bullet+}$ ve 2,5 mM sodyum persülfat

(Na₂S₂O₈) ile karıştırılmıştır. Karışım 12-16 saat karanlıkta bekletilmiş ve mavi-yeşil renkli radikal oluşumu sağlanmıştır. Hazırlanan radikal çözeltinin absorbans değerinin 734 nm’de 0,7-0,8 olması için etanol ile seyreltme yapılmıştır. İkinci olarak, her iki bitki ekstresinden de 0,1 mg/ml ve 10 mg/ml konsantrasyonlarda çözeltiler elde edilmiştir. Daha sonra ise, standart olarak kullanılacak 3 mM Troloks’dan farklı derişimler (2,5 mM, 2 mM, 1,5 mM, 1 mM, 0,5 mM ve 0,1 mM) hazırlanmıştır. 0,1 mg/ml ve 1 mg/ml yoğunluğa sahip gallik asit ise pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Hem bitki hem de standartlar ile hazırlanan numunelerden 10 µl mikroplak kuyucuklarına sırasıyla konulmuş ve üzerine 990 µl ABTS^{•+} eklenmiştir (Şekil 3.14). 30 dk. sonunda 734 nm’de absorbansı ölçülmüştür. Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite hesabı için, standartın kalibrasyon eğrisi kullanmıştır. Numunelerin % inhibisyonları kalibrasyon denklemine göre bulunmuştur.



Şekil 3.14. ABTS radikalini süpürücü etki tayini için hazırlanan numuneler

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik Bulgular

4.1.1. *Asperula pestalozzae* Boiss.

Syn: *Asperula bornmuelleri* subsp. *cappadocica* Bornm.

Asperula cynanchica var. *supina* Griseb.

Asperula graveolens var. *majoriflora* Bornm.

Asperula graveolens var. *pestalozzae* (Boiss.) Bornm. (http-17)

Bitki çok gövdeli, tabanda yoğun yapraklı, yarı çalımıdır. Çiçekli gövdeler 18-63 cm, yükselici-dik, dört köşeli, ya da hafifçe yuvarlak, alt kısımlarda puberulent - hispit tüylü (Şekil 4.4), üst kısımlarda tüysüz (Şekil 4.3).

Yapraklar her nodda dört adet ve çevrel dizilişli, linear veya filiform. Taban yapraklar 5-20 x 0,2-1 mm, tepede aristat, ucu şeffaf 0,2-0,6 mm; üst yapraklar 5,8-16 x 0,3-0,8 mm tepede aristat ucu şeffaf 0,2-0,7 mm. Tüm yapraklar kenarda düz, tabanda trunkat, belirgin geriye kıvrık. Taban yaprakları yoğun hispit tüylü, tüyler dik ya da hafif geriye yatık, üst gövde yaprakları daha az tüylü, hatta çiçek durumuna yakın kısımlarda tüysüz (Şekil 4.5).

Çiçek durumu basit ya da hemen hemen dallanmış, panikula çiçek durumunda bir araya gelen çiçekler dalların ucunda simöz şeklinde, nadiren 1-2 vertisilli. Simözlarda bir araya gelen çiçeklerin sayısı 3-15, çiçek durumunun sapları 5-35 mm (Şekil 4.2).

Brakte simözlarda 2 adet, 2-4,3 x 0,5-1,3 mm, lanseolat-ovat alt kısım yanlarda kulakçıklı, kenarları düz, tepelerde aristalı. Aristalar 0,2-0,7 mm, şeffaf düz ya da hafif geriye kıvrık, tüysüz (Şekil 4.6).

Brakteoller 1,5-3,3 mm x 0,4-1 mm, oblong-lanseolat, kenarlar düz, alt kısımlarda içe kıvrık, tepede aristalı. Şeffaf aristalar 0,2-0,5 mm, tüysüz (Şekil 4.6).

Korolla gamopetal, huni şeklinde, 2,2-3,3 mm, loblarda pembemsi beyaz, tüp kısmında pembe. Loblar 4 parçalı, akuminat, 1-1,2 x 2-3 mm, tüp 1-2,2 mm. Tüp boyu loblara neredeyse eşit ya da 2 kat daha uzun. Korolla hemen hemen hispit tüylü ya da tüysüz (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5).

Kaliks eksik.

Pistil pembemsi mor, hemen hemen ikili eşit dallanmış, yuvarlak stigmalı, stilus 0,5-1,6 mm, Ovaryum 1 x 0,5 mm, dış yüzeyi yoğun papilli (Şekil 4.6).

Stamenler 4 adet, 1-1,2 mm, loblar ile almaşık dizili, dorsifiks. Anterler linear, kahverengi filamentler kısa (Şekil 4.5)

Meyve iki merikarpa ayrılan şizokarp, ovat-oblong, 1,2-2 x 1 mm, genç merikarplar yeşil, olgun merikarplar koyu kahverengi, dış yüzey yoğun papilli (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7).

Çiçeklenme zamanı: Temmuz- Ağustos.

Habitatı: Kayalık yamaçlar ve stepler, kireçtaşı, kumtaşı, marl, kil alanlar.

Yüksekliği: 300-2300 m.

Endemik



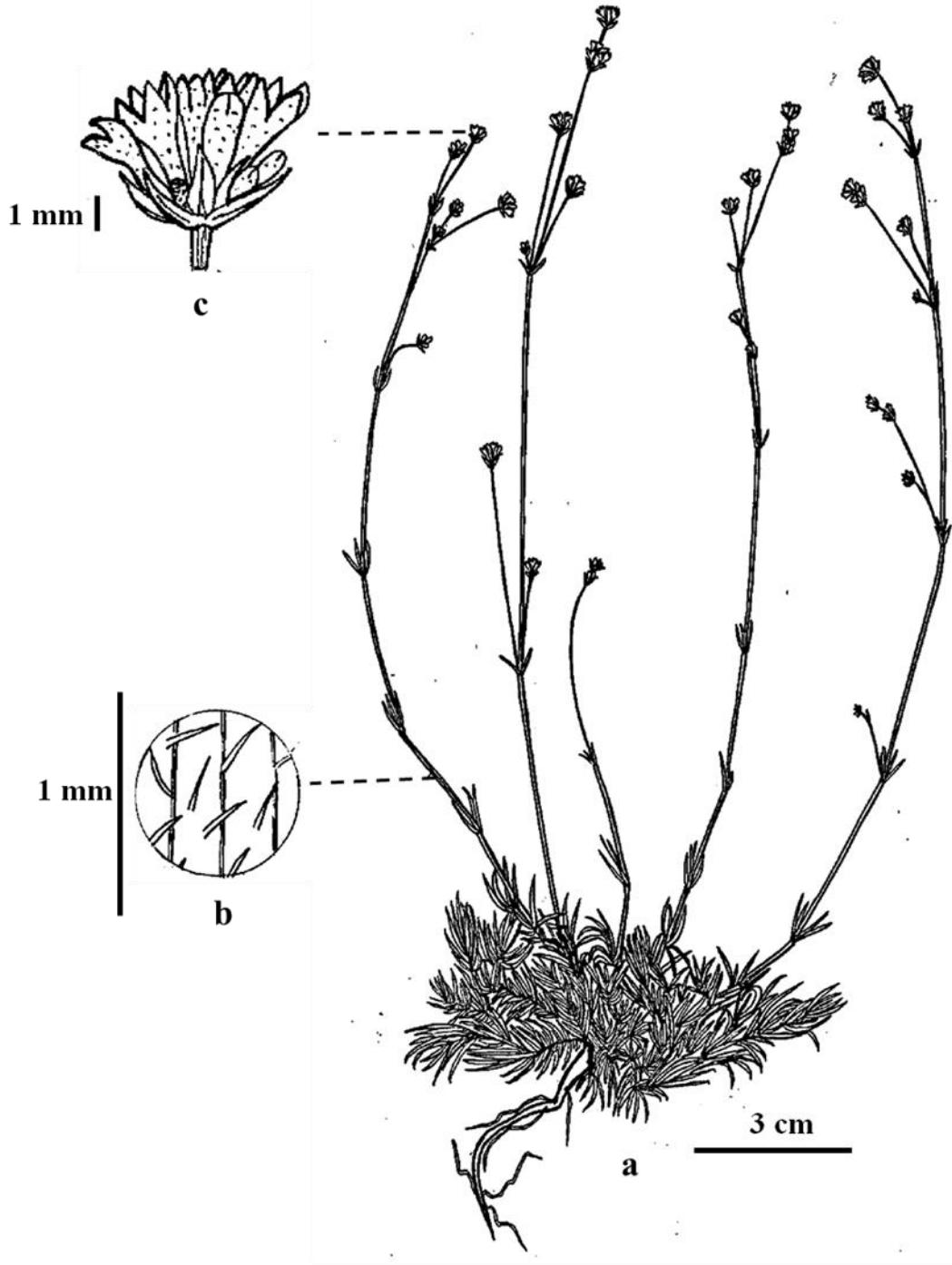
Şekil 4.1. *A. pestalozzae* türünün genel görünüşü



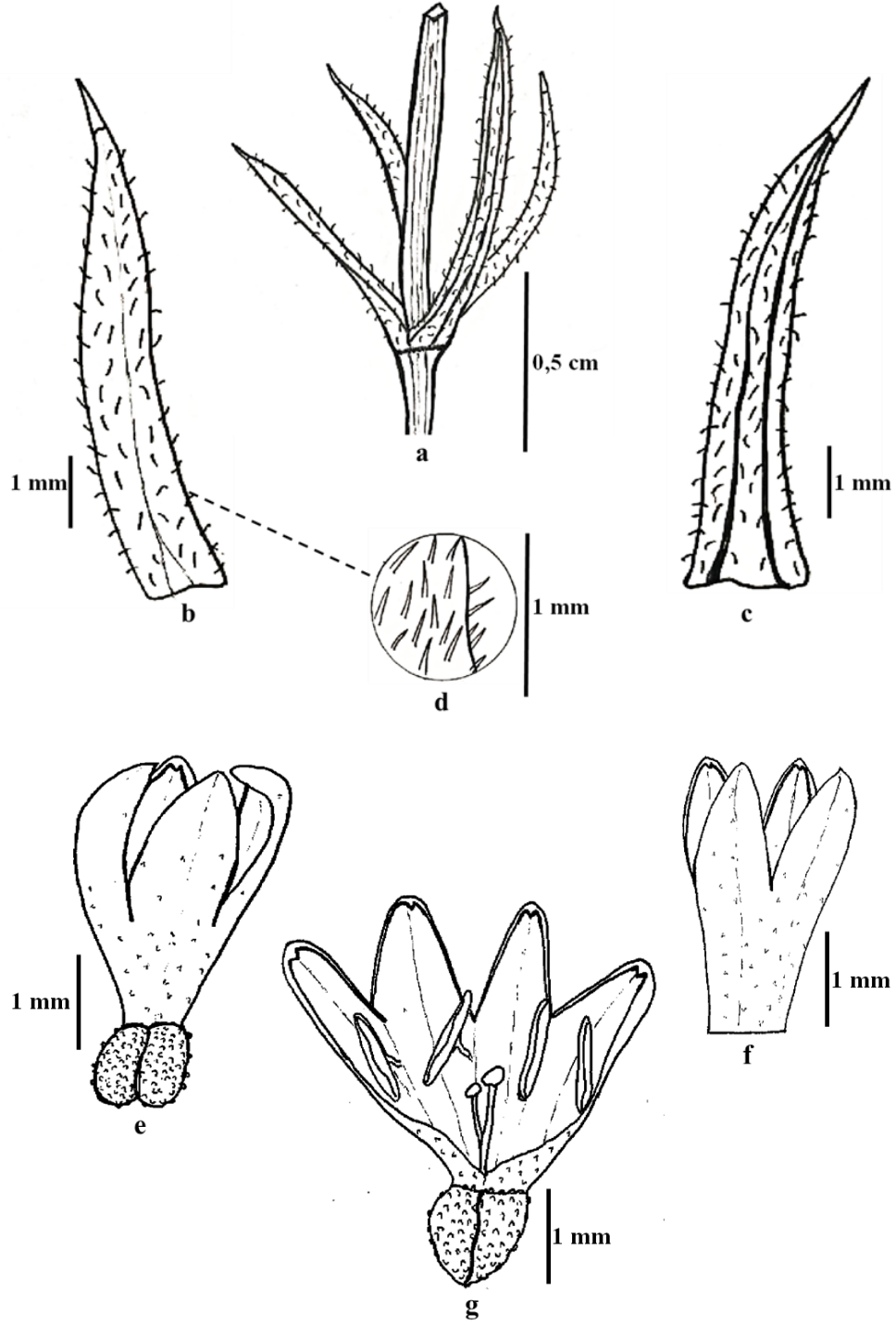
Şekil 4.2. *A. pestalozzae* türünün a) çiçek durumu b) çiçeğinin görünüşü



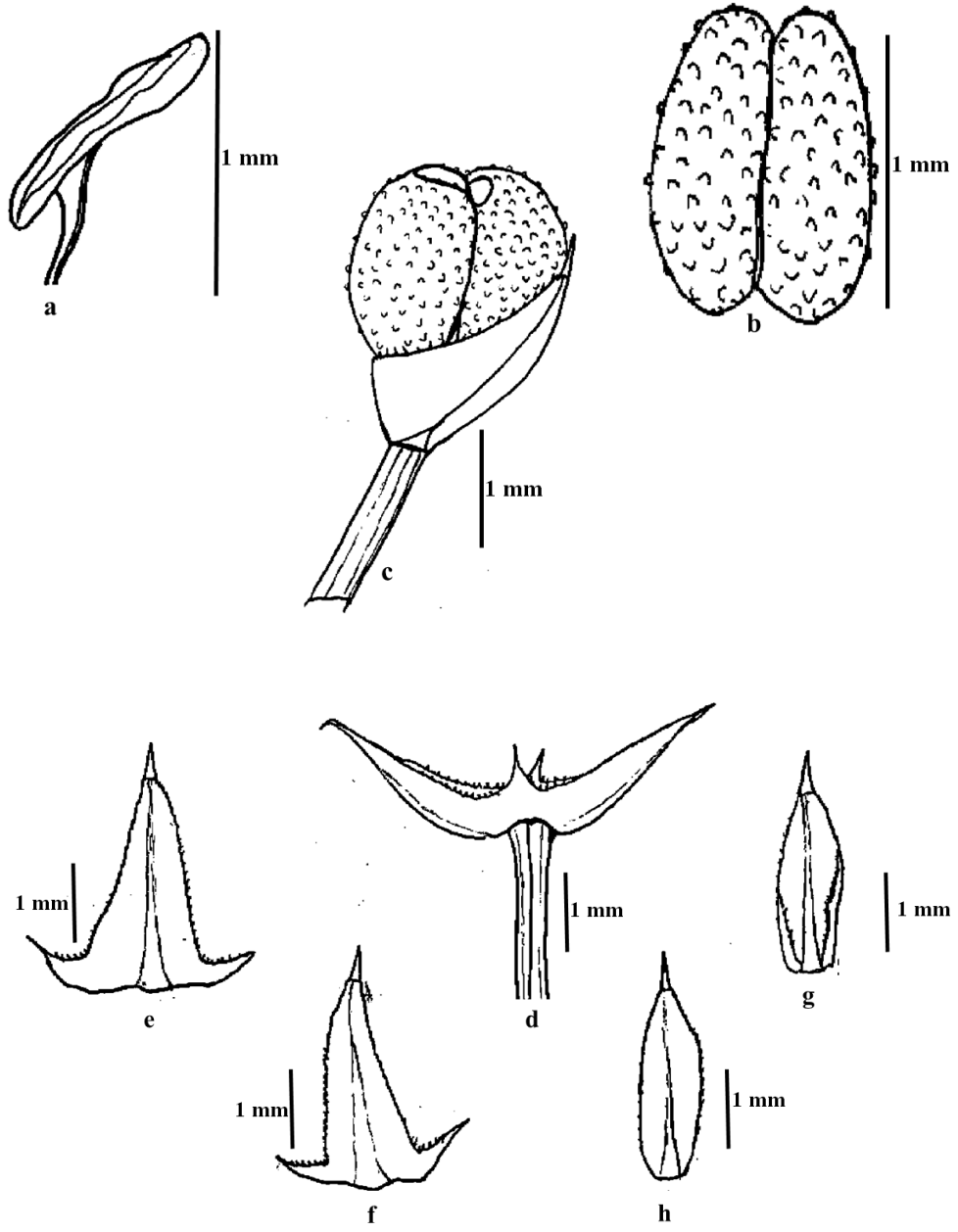
Şekil 4.3. *A. pestalozzae* türünün c) taban yapısı ve kök d) olgun meyve



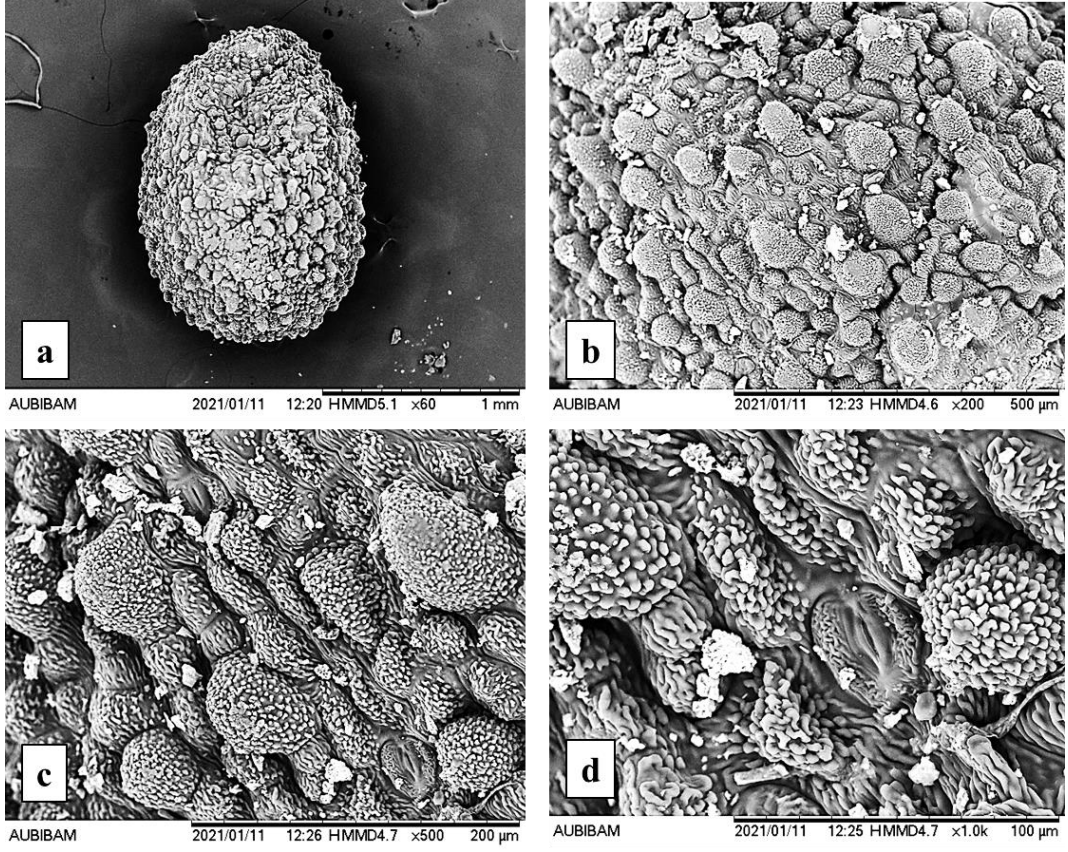
Şekil 4.4. *A. pestalozzae* a) bitki genel görünüş b) gövde tüyleri c) çiçek durumu



Şekil 4.5. *A. pestalozzae* a) yaprakların dizilişi b) yaprak üst yüzey c) yaprak alt yüzey d) yaprak tüyleri e) ovaryumlu korolla f) ovaryumsuz korolla g) korolla iç yüzey



Şekil 4.6. *A. pestalozzae* a) anter b) ovaryum c) merikarplar(meyve) d) çiçeği saran brakteler
e) brakte iç yüzey f) brakte dış yüzey g) brakteol iç yüzey h) brakteol dış yüzey



Şekil 4.7. *A. pestalozzae* a) merikarp genel görünüş b) merikarp dış yüzey süslemesi
c-d) merikarp dış yüzey yakın görünüm

4.1.2. *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia* (Bornm.) Schönb.-Tem.

Syn: *Asperula phrygia* (Bornm.) Bornm.

Asperula stricta var. *phrygia* Bornm.

Asperula stricta var. *scabrida* Boiss. (http-18)

Bitki çok gövdeli, tabanda yoğun yapraklı, yarı çalımıdır. Çiçekli gövdeler 16-35(-39) cm, yükselici - dik, dört köşeli, ya da hafifçe yuvarlak, yoğun puberulent ya da hispit tüylü, üst kısımlarda tüysüz (Şekil 4.8 ve Şekil 4.11).

Yapraklar her nodta dört adet ve çevrel dizilişli, linear-subulat. Taban yapraklar 2-10 x 0,2-1 mm, yoğun hispit tüylü, tepede aristat, şeffaf arista 0,5-1 mm; üst yapraklar 10-20 x 0,2-1 mm, tüy daha az ya da eksik, şeffaf arista 1 mm, kenarlar düz, tabanda trunkat ve belirgin geriye kıvrık (Şekil 4.12).

Çiçek durumu basit ya da hemen hemen dallanmış, panikula çiçek durumunda bir araya gelen çiçekler dalların ucunda simöz şeklinde, simözlarda bir araya gelen çiçeklerin sayısı 3-12, çiçek durumunun sapı 8-47 mm (Şekil 4.9).

Brakte simözlarda 2 adet, 2,4-4,5 x 1-1,6 mm, ovat-üçgen, alt kısım yanlarda kulakçıklı, düz veya belirgin şeffaf kenarlar genellikle düzensiz dişli. Tepede aristalı, aristalar 0,5-1 mm, şeffaf, hafif geriye kıvrık, tüysüz (Şekil 4.13).

Brakteoller 2-3,6 x 0,4-0,8 mm, lanseolat, kenarlar düz, alt kısımlarda içe kıvrık, genellikle düzensiz dişli, tepede aristalı. Şeffaf aristalar 0,5-1 mm, tüysüz (Şekil 4.13).

Korolla gamopetal, huni ya da lobları yayık boru şeklinde, 5-10 mm, loblarda pembemsi beyaz, tüp kısmında pembe (Şekil 4.9). Loblar 4 parçalı, lanseolat, akuminat, 2-3 x 0,8-1,2 mm, tüp 5-7,5 mm, tüpten 2 ya da 3 kat kadar daha kısa, çok nadiren tüp ve lob neredeyse eşit, tüysüz (Şekil 4.12).

Kaliks eksik.

Pistil açık pembe, hemen hemen ikili eşit dallanmış yuvarlak stigmalı, stilus 6-6,5 mm. Ovaryum 0,5-1,2 x 0,5-0,8, mm, dış yüzeyi yoğun papilli (Şekil 4.12).

Stamenler 4 adet, 1-1,3 mm, loblar ile almaşık dizili, dorsifiks. Anterler linear, sarımsı-koyu kahverengi, filamentler çok kısa (Şekil 4.13).

Meyve iki merikarpa ayrılan şizokarp, ovat-orbikular, genişçe oblong, 2-3 x 1-2 mm, genç merikarplar pembemsi, olgun merikarplar kahverengi (Şekil 4.10), dış yüzey yoğun papilli (Şekil 4.14).

NOT: Bitki kurduğunda korolla ve üst gövdelerin bazıları belirgin mor.

Çiçeklenme zamanı: Haziran - Temmuz.

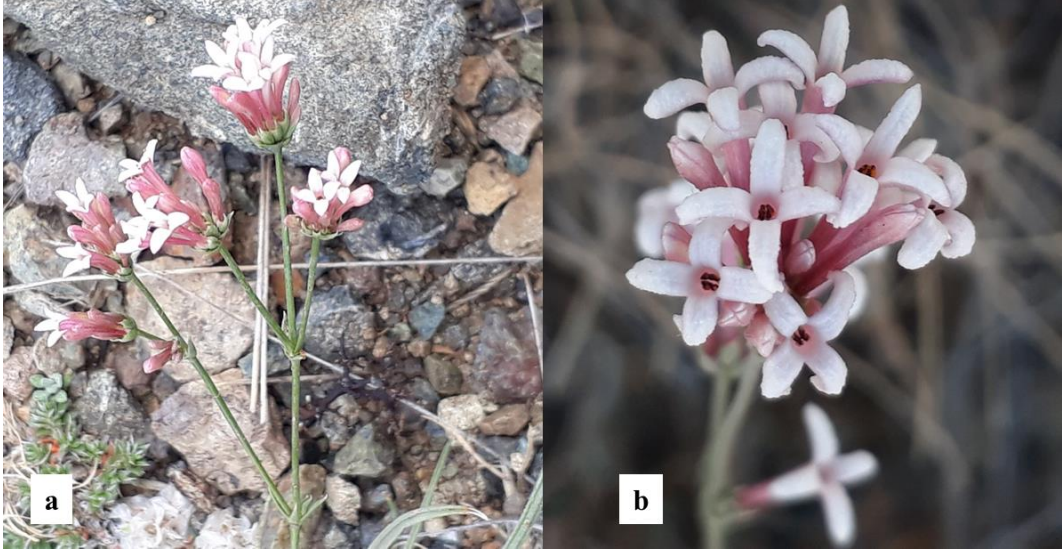
Habitatı: Tepe stepleri, meşe ve çam ormanları.

Yüksekliği: 300 – 1400 m.

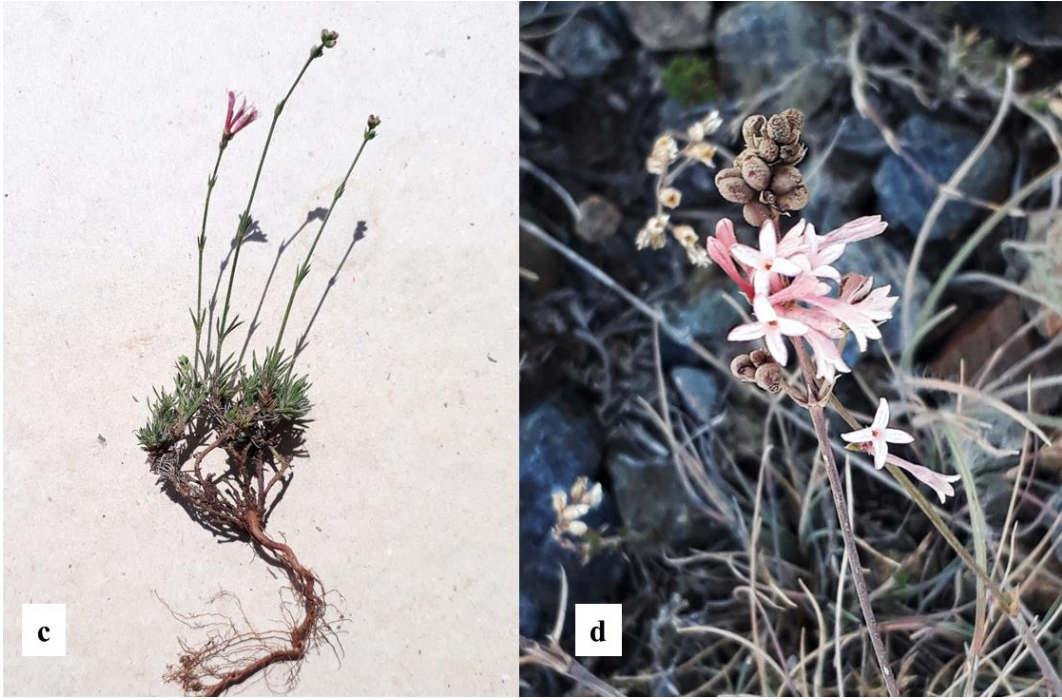
Endemik



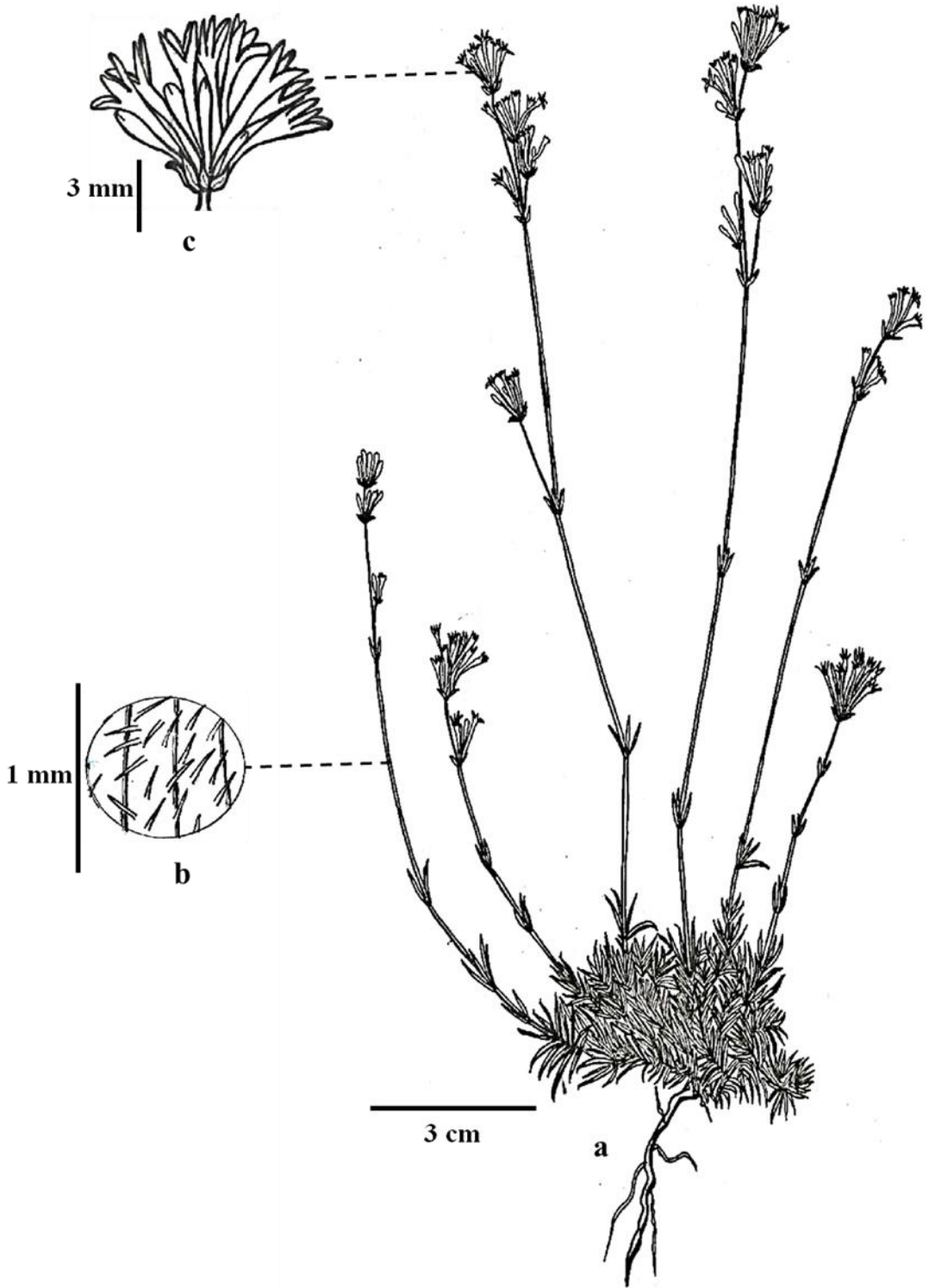
Şekil 4.8. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* alttürünün genel görünüşü



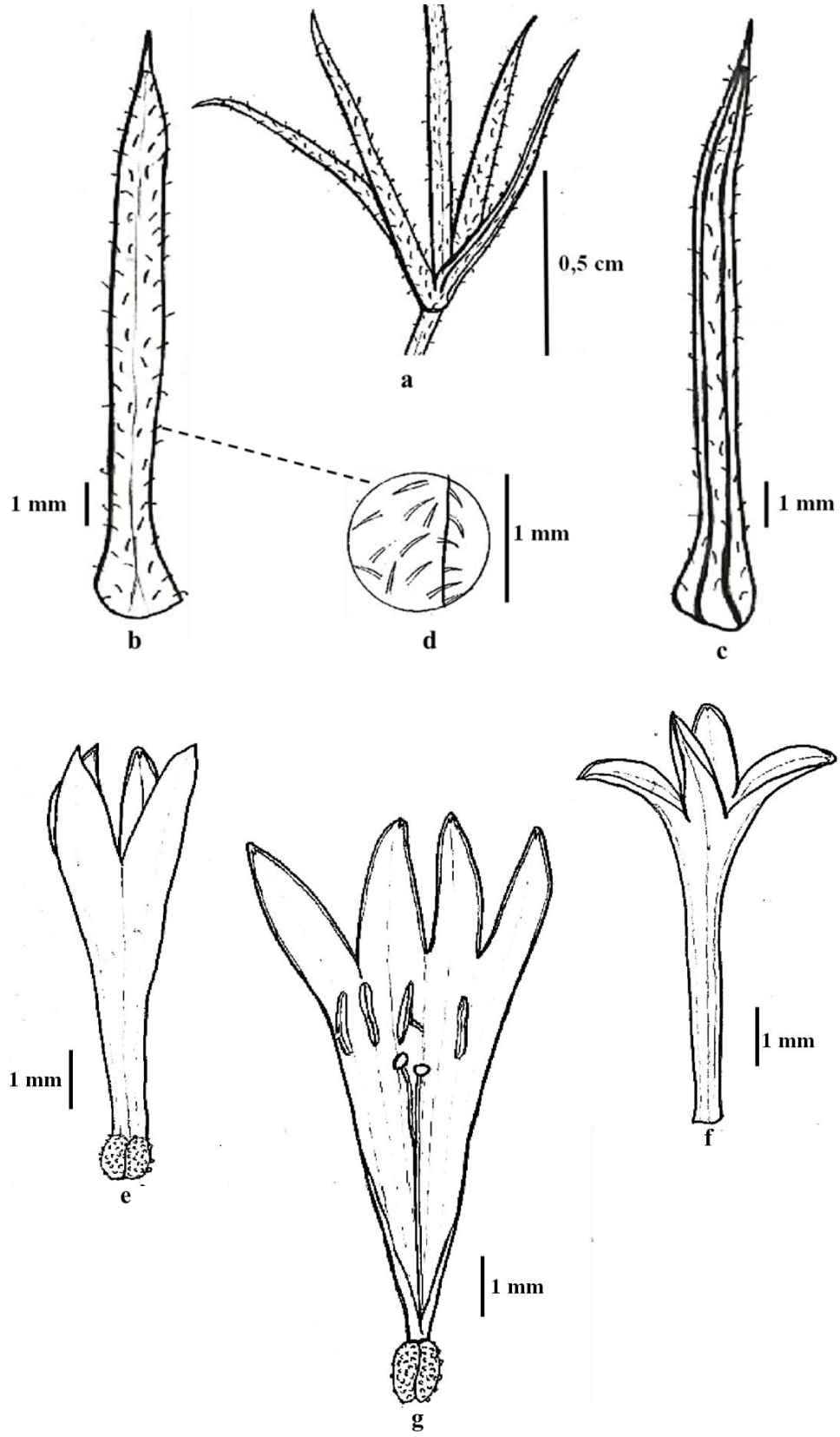
Şekil 4.9. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* a) çiçek durumu ve b) çiçeğinin görünüşü



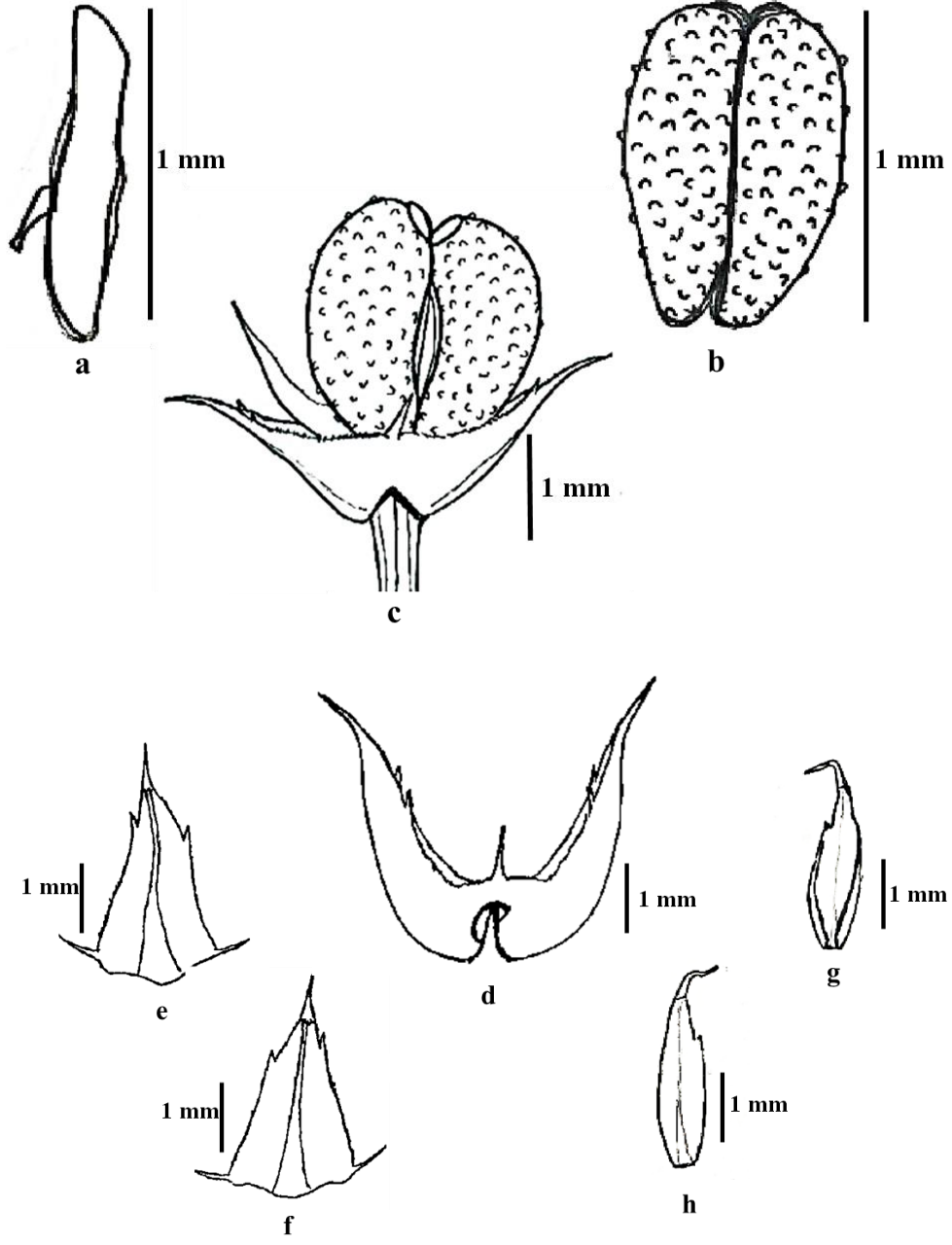
Şekil 4.10. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* c) taban yapısı ve kök d) olgun meyve



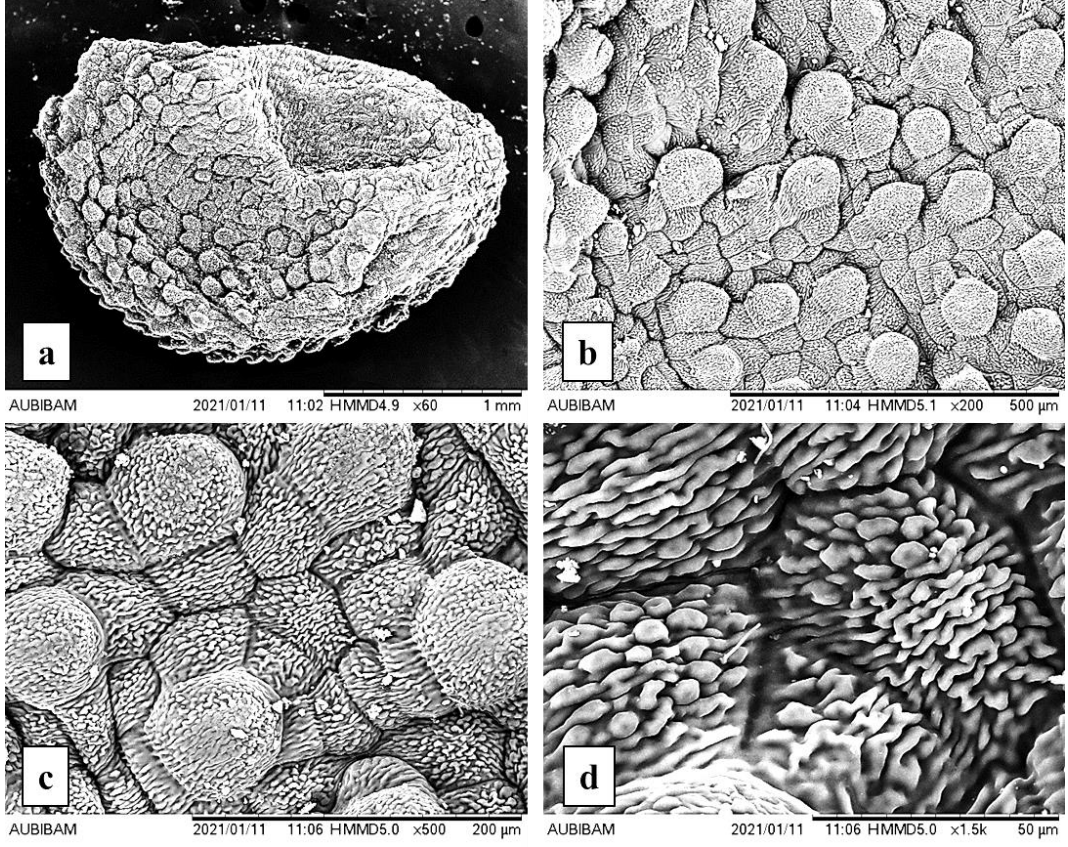
Şekil 4.11. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* a) bitki genel görünüş b) gövde tüyleri c) çiçek durumu



Şekil 4.12. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* a) yaprakların dizilişi b) yaprak üst yüzey c) yaprak alt yüzey d) yaprak tüyleri e) ovaryumlu korolla f) ovaryumsuz korolla g) korolla iç yüzey



Şekil 4.13. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* a) anter b) ovaryum c) merikarplar(meyve) d) çiçeği saran brakte e) brakte iç yüzey f) brakte dış yüzey g) brakteol iç yüzey h) brakteol dış yüzey



Şekil 4.14. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* a) merikarp genel görünüş b) merikarp dış yüzey süslemesi c-d) merikarp dış yüzey yakın görünüm

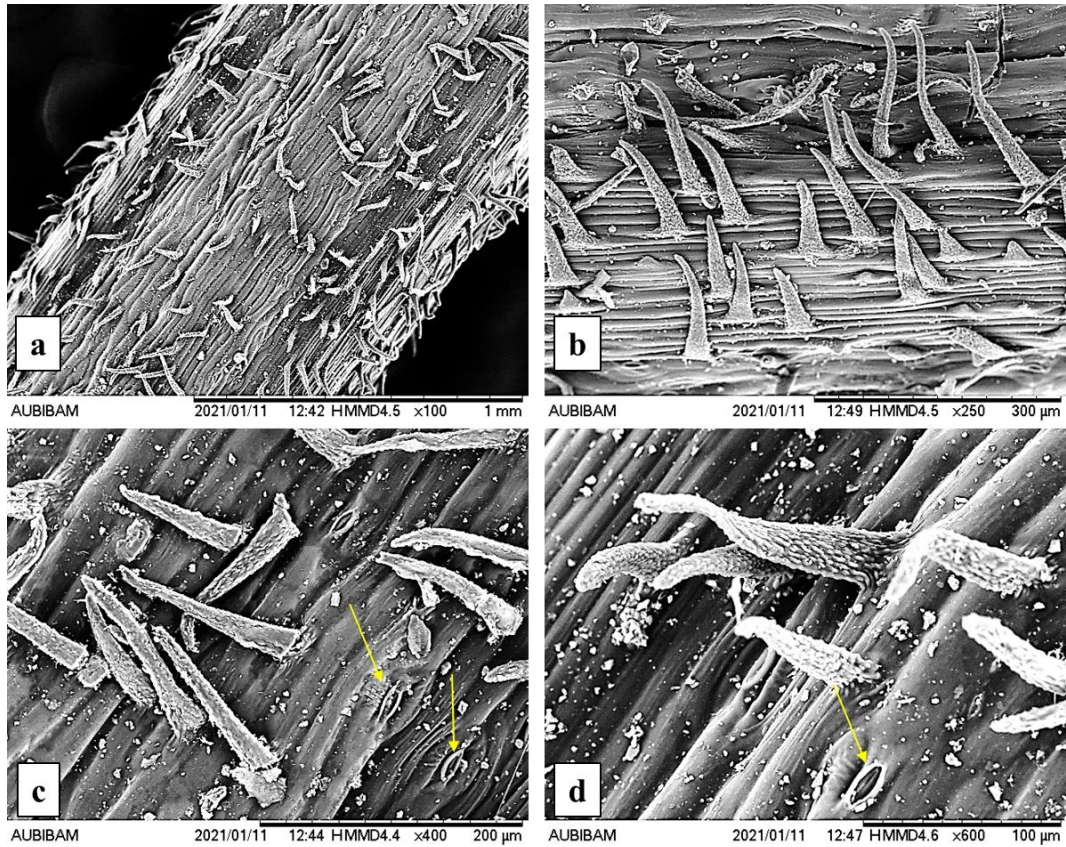
4.2. Tüy Morfolojisi Bulguları

4.2.1. *Asperula pestalozzae*

Türe ait vejetatif (gövde, yaprak) ve generatif organlardaki (çiçek: korolla ve ovaryum) tüy yapıları taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiş ve fotoğraflanmıştır (Şekil 4.15- 4.18).

4.2.1.1. Gövde

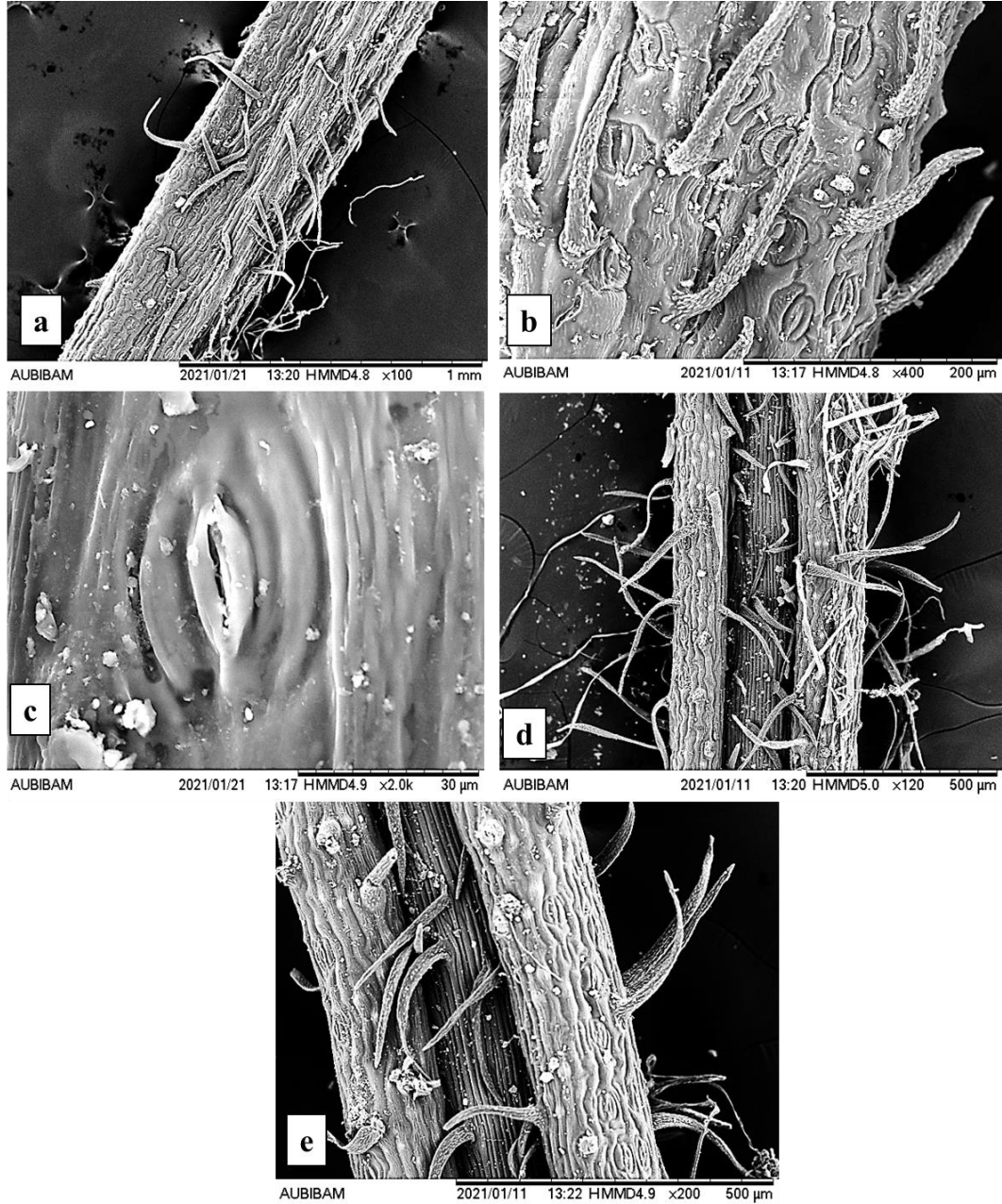
Gövde üzerinde örtü tüyleri ve stomaya rastlanılmıştır. Tüyler alt gövdede daha yoğun iken, üst kısımlarda daha azdır. Örtü tüyleri basit, tek hücreli, genelde kısa- konik, dik ya da eğik, hispit, 88,3 µm-196 µm, üzeri yoğun kütikula kabarcıklıdır.



Şekil 4.15. *A. pestalozzae* SEM’de gövde a) örtü tüyleri genel görünüş b-c-d) örtü tüyleri yakın görünüm ve stoma

4.2.1.2. Yaprak

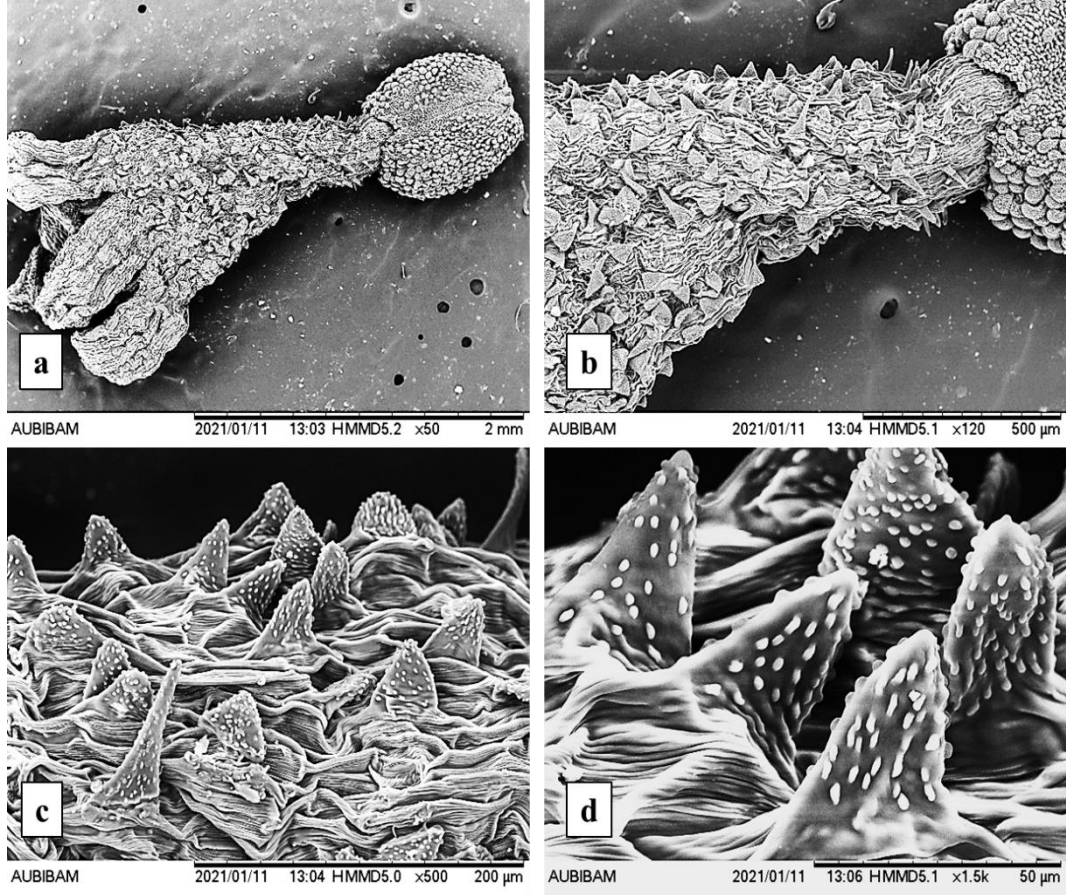
Yaprağın alt ve üst yüzeyinde örtü tüyleri yoğun. Örtü tüyü tek hücreli, uzun, üzeri yoğun kütikula kabarcıklı, eğik ya da hafif geriye yatık, hispit, 55,2- 298 µm. Stomalar yaprak üst yüzde, alt yüze oranla daha yoğundur.



Şekil 4.16. *A. pestalozzae* SEM'de yaprak yüzeyi a-b) yaprak üst yüzde örtü tüyleri c) yaprak üst yüzey stoma d-e) yaprak alt yüzeyde örtü tüyleri

4.2.1.3. Korolla

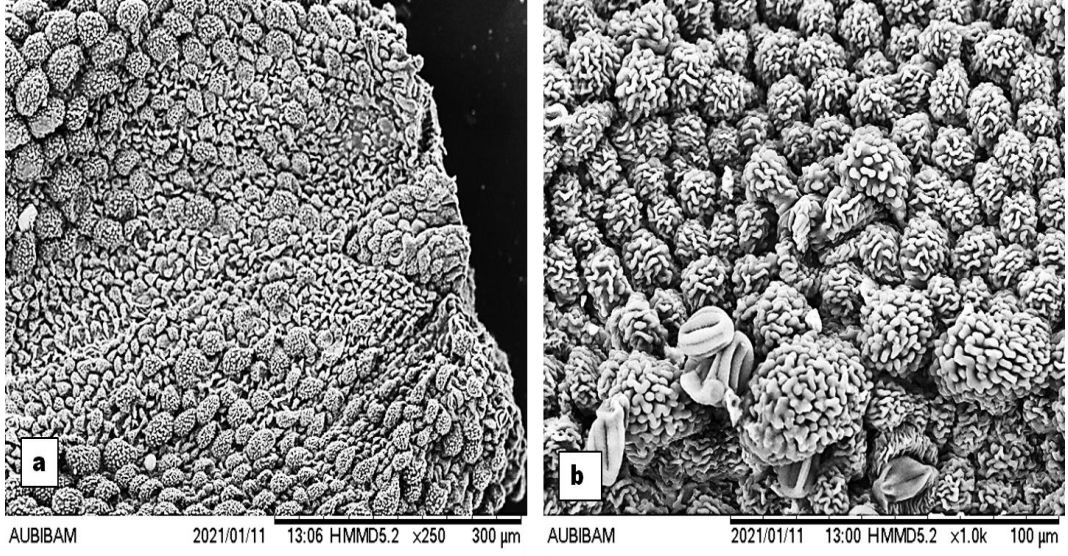
Dış yüzey epidermal katlanmaların oluşturduğu dalgalı çizgiler halinde. Korolla loblarının altından ovaryuma kadar olan kısım yoğun hispit ve dış tüylerle kaplı. Tüyler, 32,9 µm-91,3 µm ve üzeri kütikula kabarcıklı.



Şekil 4.17. *A. pestalozzae* SEM'de korolla a) korolla genel görünüş b) korolla dış tüyleri c-d) dış tüyler yakın görünüm

4.2.1.4. Ovaryum

Ovaryum 1 x 0,5 mm boyutunda, yüzeyi genelde yuvarlak görümlü yoğun papilla'lar içermektedir. İrili-ufaklı konveks papillaların üzeri epidermal katlanmaların oluşturduğu düz ya da kıvrımlı çizgiler taşır.

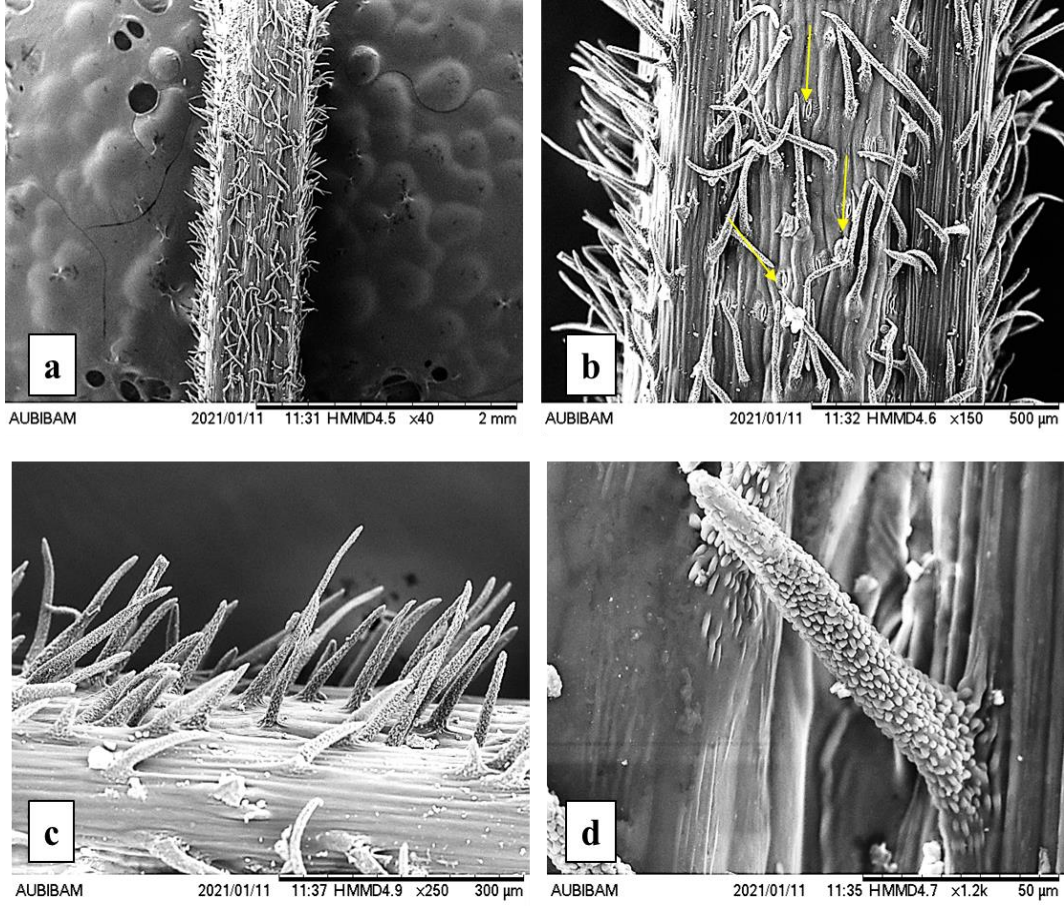


Şekil 4.18. *A. pestalozzae* SEM'de ovaryum a) ovaryum yüzeyi b) papilla yakın görünüm

4.2.2. *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia*

4.2.2.1. *Gövde*

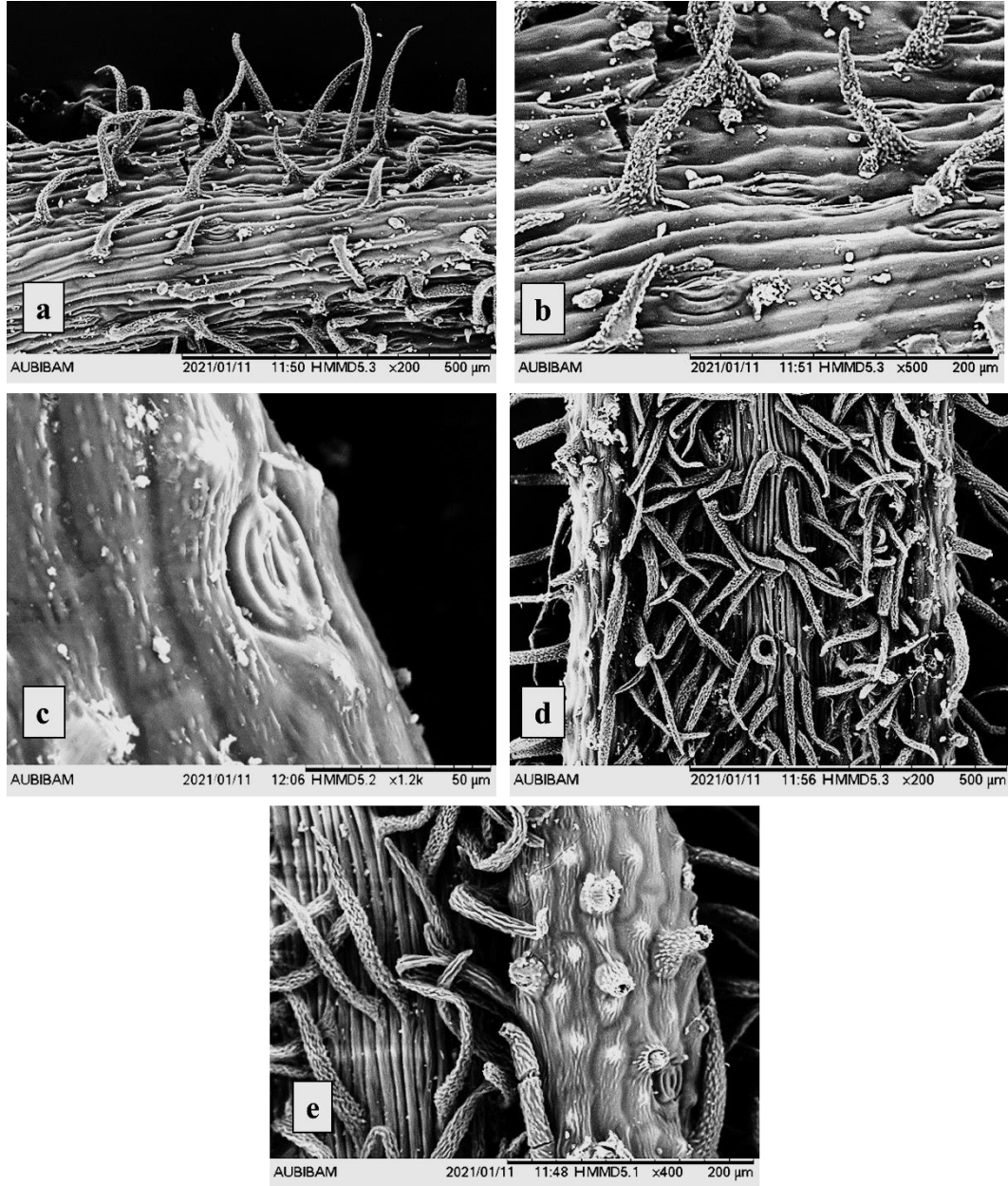
Alt gövde yoğun tüylü, üst gövde tüysüz, gövde üzerinde çok sayıda stoma bulunur. Örtü tüyleri tek hücreli, basit, genelde uzun-yatık hispit, 101 µm-174 µm ve yoğun kütikula kabarcıklıdır.



Şekil 4.19. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* SEM'de a) gövde genel görünüş b-c) gövde tüyleri ve stoma d) gövde tüyü yakın görünüm

4.2.2.2. Yaprak

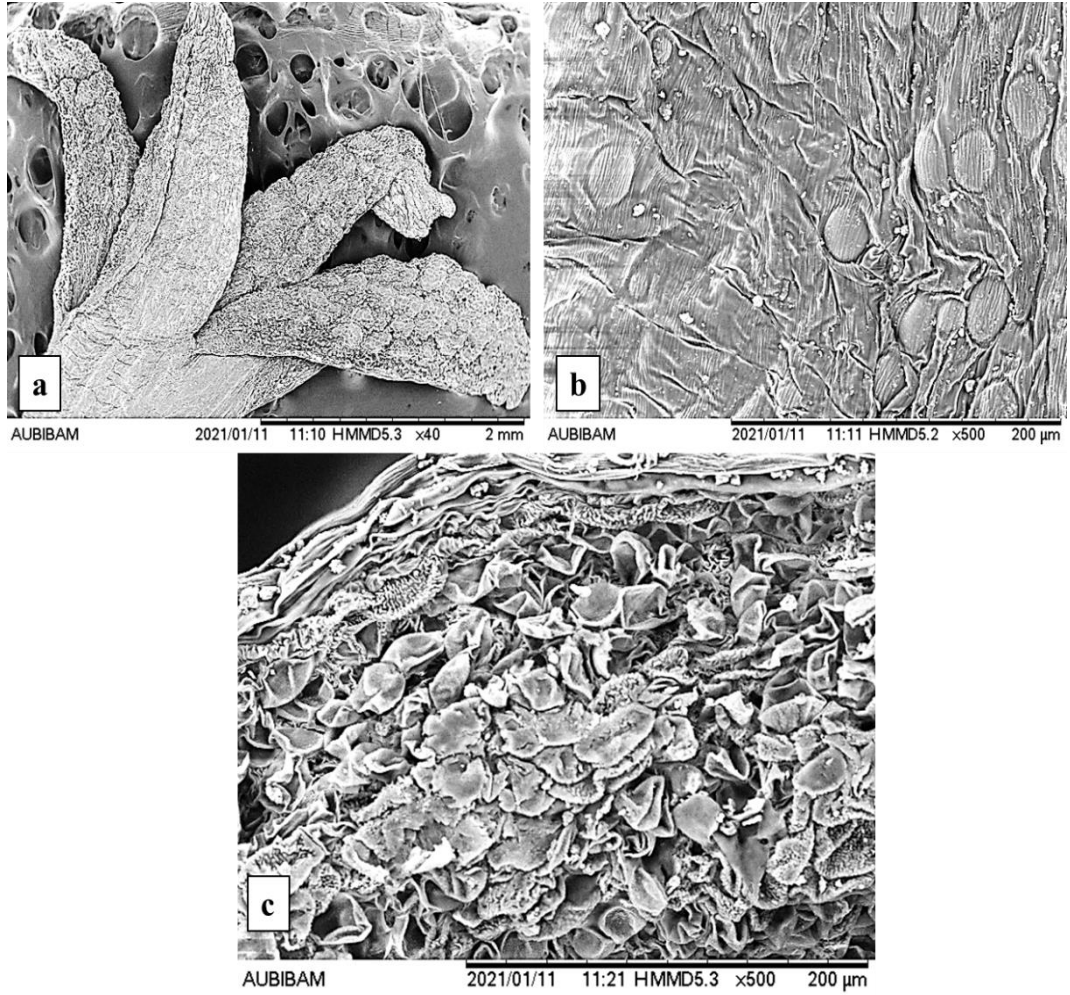
Alt ve üst yüzey yoğun örtü tüylü. Örtü tüyleri basit, tek hücreli, uzun-yatık, hispit, 50,3 µm-265 µm, yoğun kütikula kabarcıklı. Her iki yüzde de stoma olup, üst yüzde daha fazladır.



Şekil 4.20. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* SEM'de a) yaprak üst yüzey tüyler b) üst yüzey tüyler yakın görüntüm c) üst yüzde stoma d) alt yüzey tüyler e) alt yüzey tüyler yakın görüntüm

4.2.2.3. Korolla

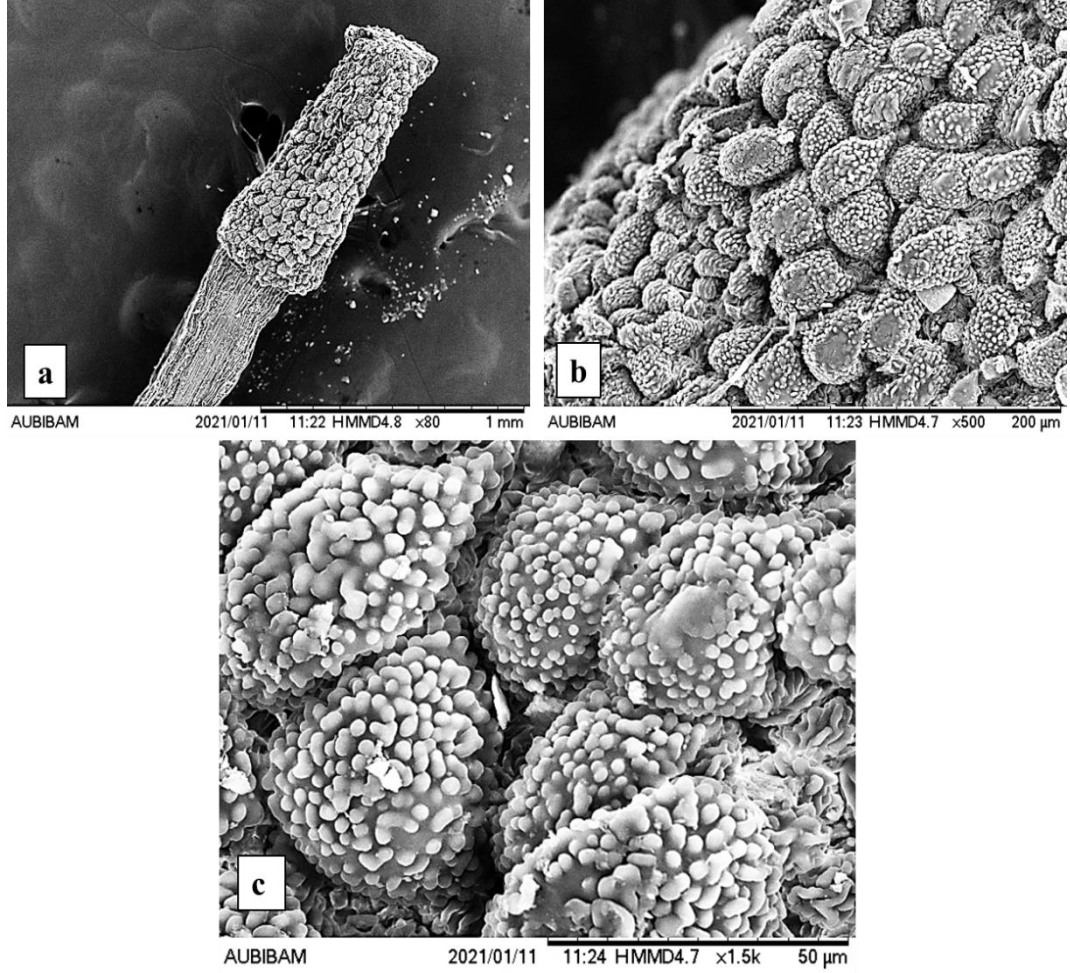
Korolla dış yüzeyi düzensiz çizgili ve yer yer elipsoid-oblong şekiller içerirken, iç yüzey düzensiz epidermal katlanmaların oluşturduğu yoğun şekilsiz kabartılar halindedir.



Şekil 4.21. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* SEM'de a) korolla lobları b) dış yüzey yakın görünüm c) iç yüzey yakın görünüm

4.2.2.4. Ovaryum

Ovaryum 0,5-1,2 mm boyutunda, tüm yüzeyi sıkı dizilimli, çok sayıda, irili ufaklı, konveks şekilde papiller ile kaplıdır. Papillerin üzerinde açık renkte küçük yoğun ikincil papil kabarcıklar yer alır.



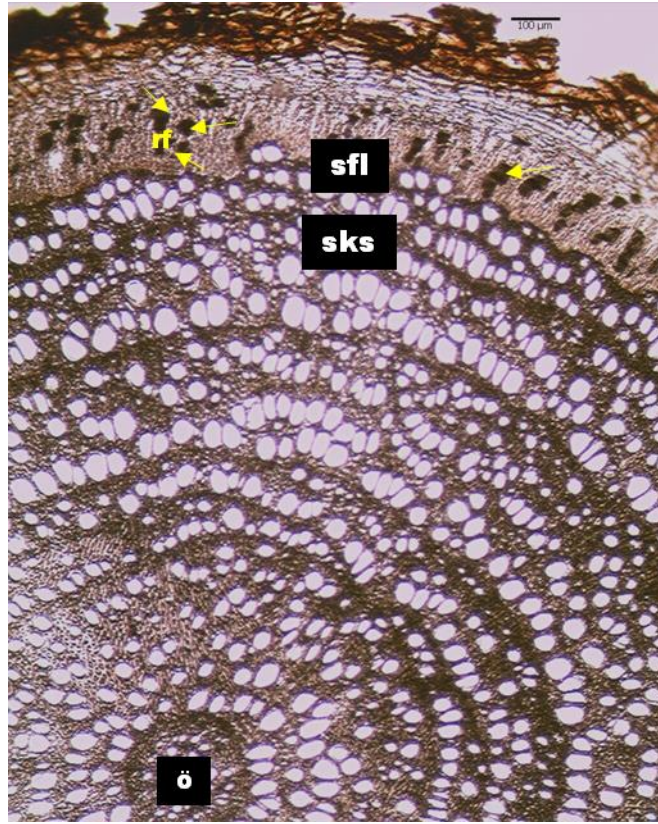
Şekil 4.22. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* SEM’de a) ovaryum genel görünüş b) ovaryum yüzeyi c) papilla yüzeyi yakın görünüm

4.3. Anatomik Bulgular

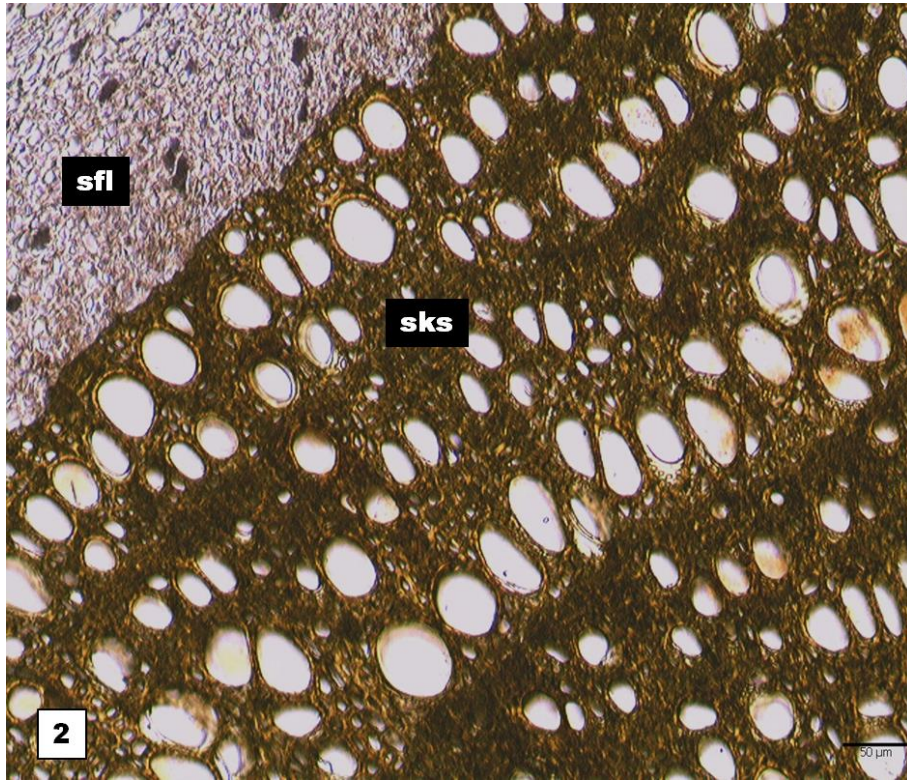
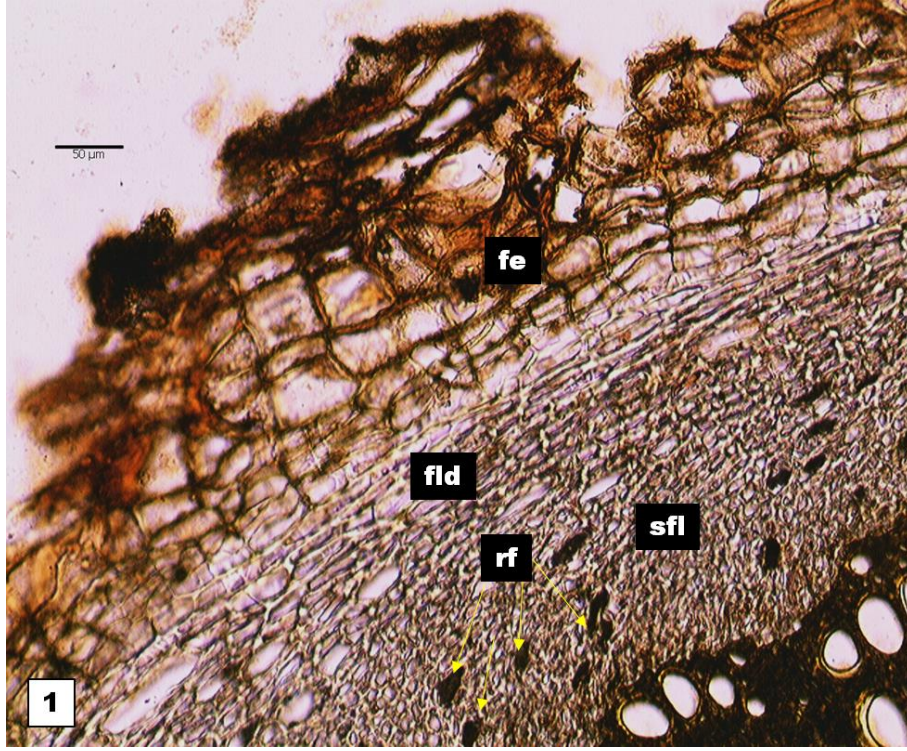
4.3.1. *Asperula pestalozzae*

4.3.1.1. Kök

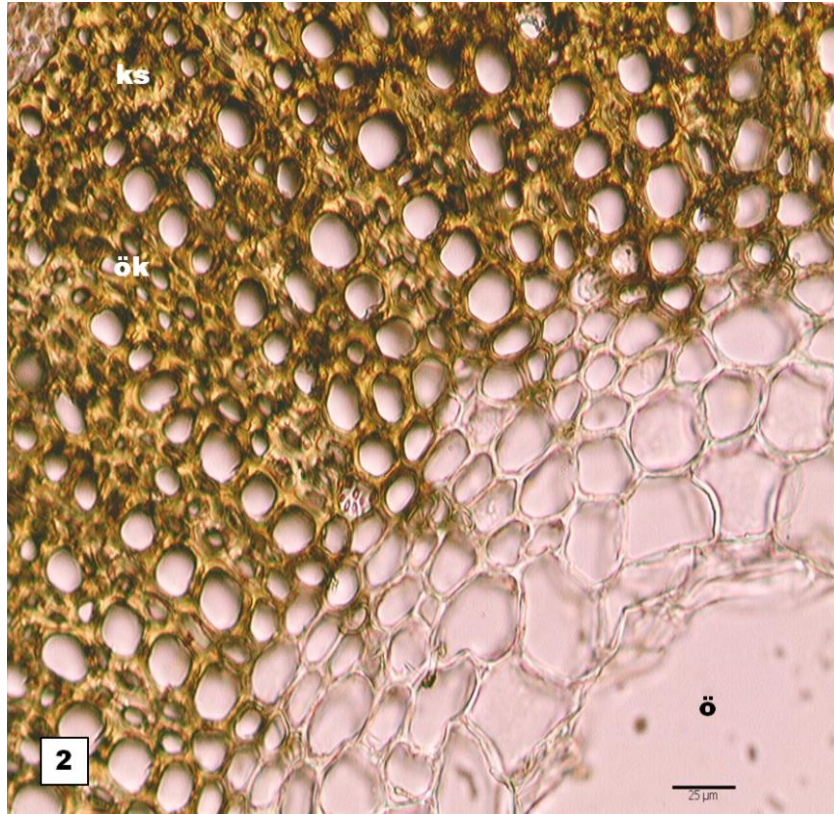
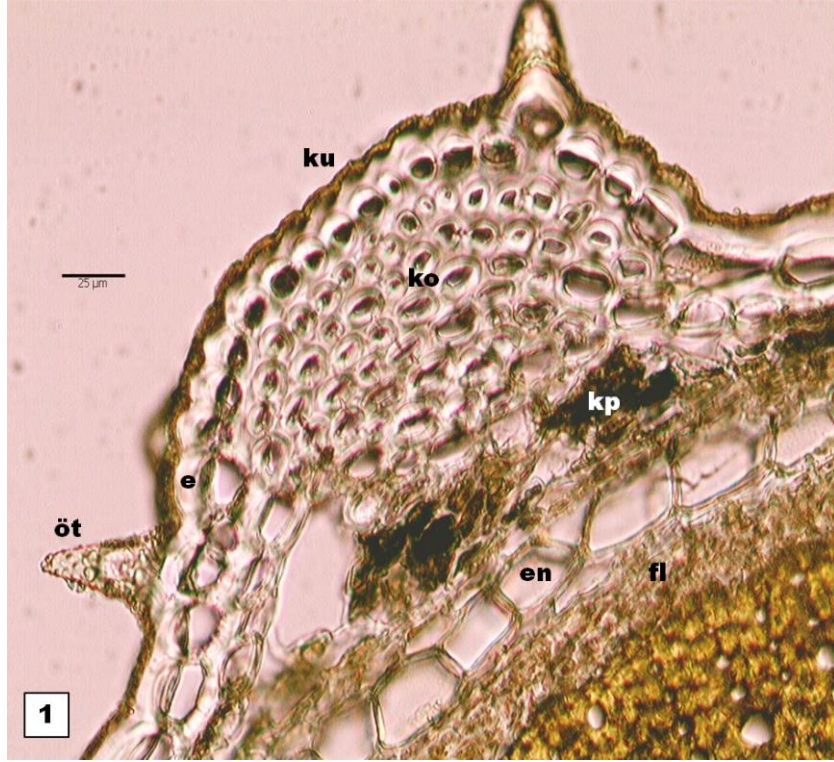
Kök orta bölgeden alınan enine kesitte sekonder yapıya rastlanmıştır (Şekil 4.23). Dışta koruyucu doku periderma yer alır. Periderma 4-6 sıra, büyük dörtgenimsi hücrelerden oluşan fellem (mantar doku) ile 3-4 sıra, küçük, enine uzamış fellodermadan meydana gelir. Parankimada fellogen tabakanın aktivitesiyle oluşan boşluklar gözlenmektedir. En dıştaki mantar hücreleri genellikle parçalanmış ve üzerinde yer yer ezilmiş primer kortekse ait doku kalıntıları bulunmaktadır. Peridermanın altında 10-15 sıra, küçük kare-oval şekilli, düzensiz sıralı, halka şeklinde sekonder floem yer alır ve bu hücrelerde rafit kristallerine rastlanmıştır. Kambiyum belirsizdir. Sekonder ksilem geniş bir alanı kaplar ve sklerenkimatik bir temel doku içinde büyük ve küçük çaplı trakeal elemanlardan oluşmuştur. Öz kolları 1-2 sıralıdır. Dar bir alanı kaplayan öz bölgesi sekonder ksilem tarafından doldurulmuştur (Şekil 4.24).



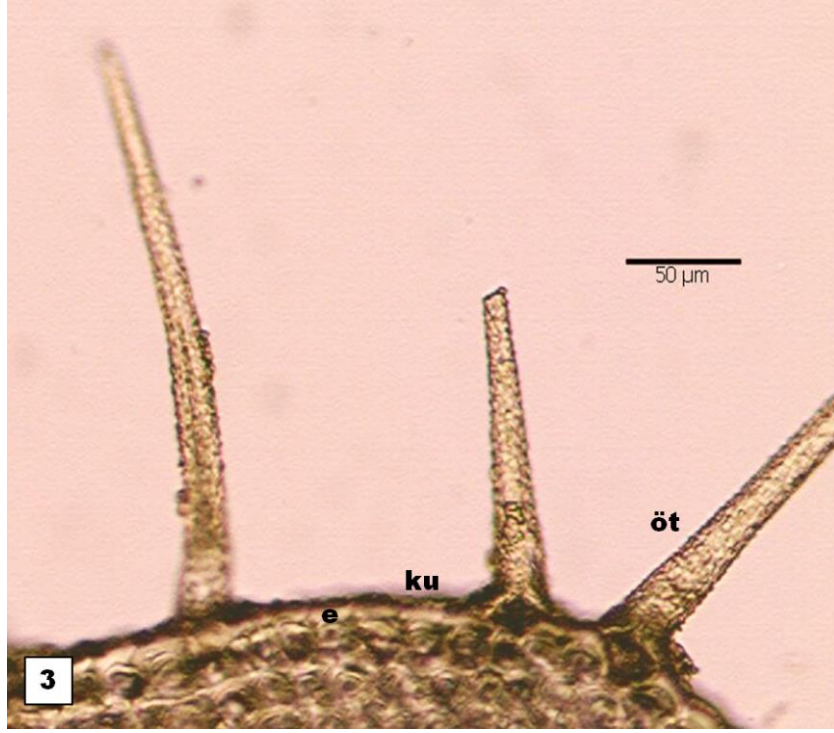
Şekil 4.23. *A. pestalozzae* kök enine kesit rf: rafit kristali sfl: sekonder floem sks: sekonder ksilem ö: öz



Şekil 4.24. *A. pestalozzae* kök 1-2) enine kesit fe: fellem fld: felloderma rf: rafit kristali sfl: sekonder floem sks: sekonder ksilem



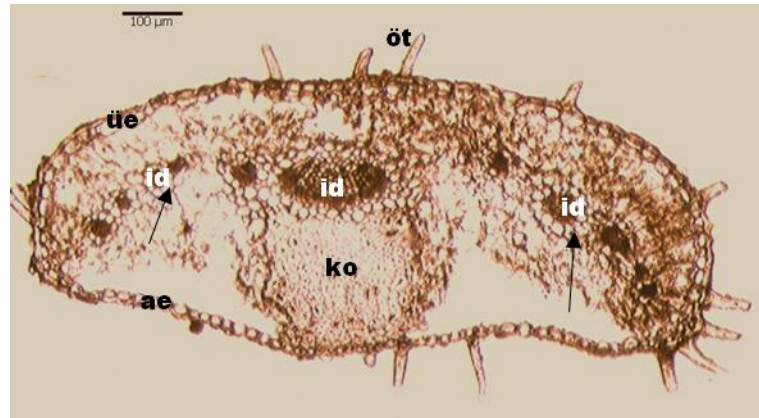
Şekil 4.26. *A. pestalozzae* enine kesitte 1) gövde köşe kısmı öt: örtü tüyü ku: kutikula e: epidermis ko: kollenkima kp: korteks parankiması en: endodermis fl: floem 2) trakeal elemanlar ve merkez ks: ksilem ök: öz kolları ö: öz



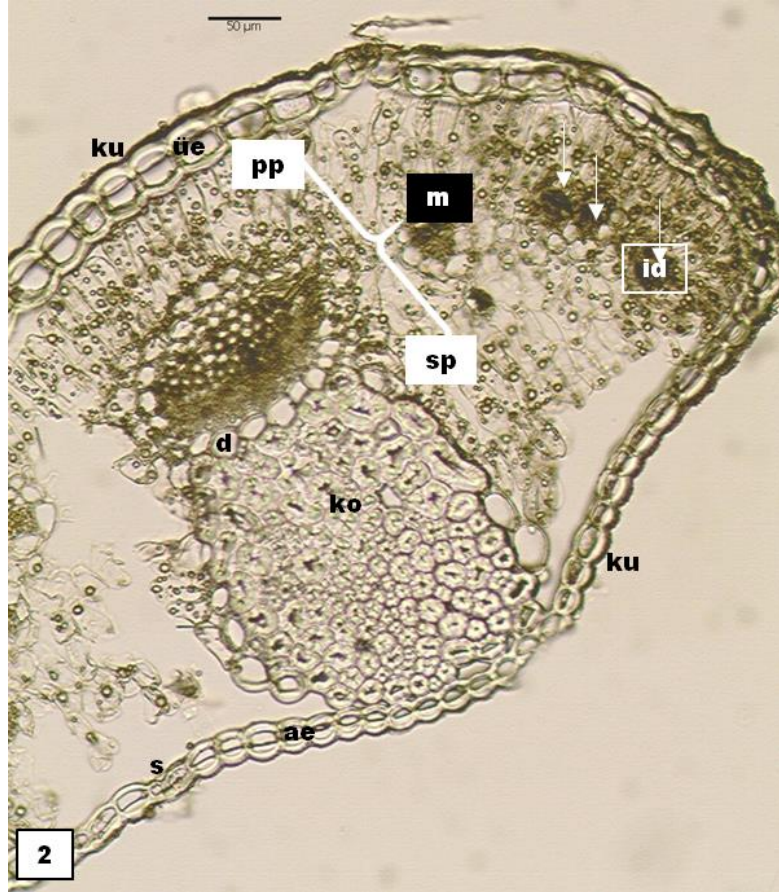
Şekil 4.27. *A. pestalozzae* gövde enine kesitte tüy yapısı öt: örtü tüyü ku: kütikula e: epidermis

4.3.1.3. Yaprak

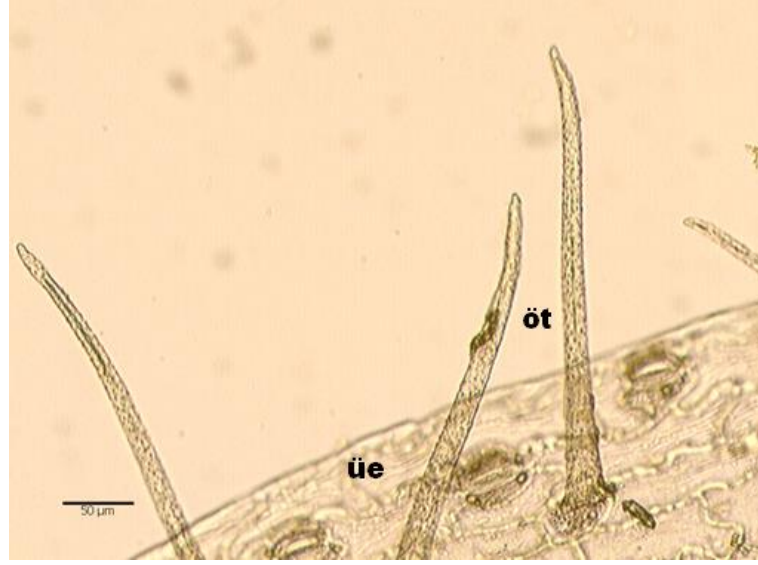
Enine kesitte genel görünüm enine oval-dikdörtgenimsidir (Şekil 4.28). Geriye kıvrık olan yapraklar alt yüzeyde hafif girintilidir. Yaprak enine kesitte alt ve üst epidermis hücreleri; tek sıralı, dikdörtgenimsi ya da oval hücrelerden oluşur ve hücrelerin alt ve üst çeperleri yan çeperlere göre daha kalındır. Yüzeysel kesitlerde üst-alt epiderma hücreleri uzun dikdörtgen şekilli ve çok sayıda basit geçitli; alt epidermalar, üst epidermadan daha uzun ve daha dalgalı çeperlidir (Şekil 4.31). Alt ve üst epiderma üzerinde kalın, düz ya da hafif dalgalı bir kütikula tabakası ve tek hücreli, konik-uzun, basit örtü tüyleri bulunur (Şekil 4.30). Epidermanın iki yüzünde yer alan stoma (amfistomatik), parasitik tiptedir. Epiderma hücreleri ile stomalar aynı seviyede (mezomorf) olup, üst yüzde stoma sayısı, alt yüze oranla daha fazladır. Alt epidermada kollenkimanın sağında ve solunda yer alan stoma altı boşlukları dikkat çekecek kadar geniştir. Yaprak monofasiyaldir (Şekil 4.29). Mezofil tabakasında üst epidermanın hemen altında, 2 sıra, sıkı dizili, uzun, silindrik, bol kloroplast içeren palizat parankiması yanlarda 1 sıra halinde alt epidermaya kadar devam eder. Alt epidermada palizat parankimasının üzerinde 3-4 sıra, boyuna silindrik ya da oval, gevşek dizilimli sünger parankiması yer alır. Mezofil tabakasında yer yer rafit kristalleri görülmektedir. Orta damarın altında dikeyde 12-18 sıra, yatayda 6-12 sıra, oval-yuvarlak hücreli geniş bir kollenkima tabakası ayırt edilir. Kollenkima tabakasının üzerinde, demet kını ile çevrili büyük bir iletim demeti ve demetin sağında ve solunda 3-5 adet küçük iletim demetleri bulunur. İletim demetlerinde ksilem üst epiderma, floem ise alt epiderma yönündedir (Şekil 4.29).



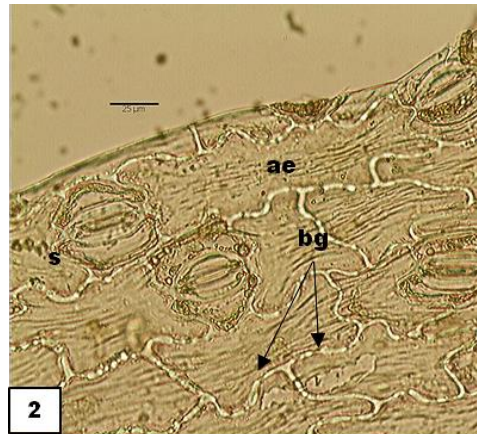
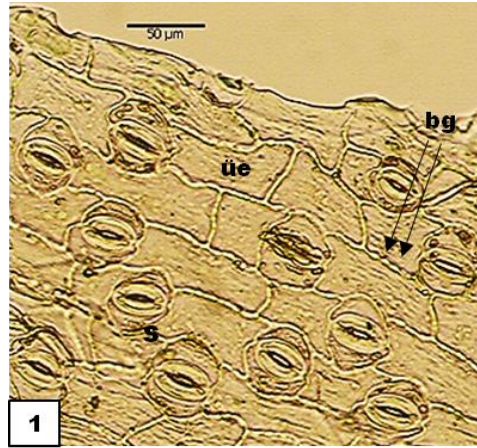
Şekil 4.28. *A. pestalozzae* yaprak enine kesit genel görünüş *öt*: örtü tüyü *üe*: üst epidermis *id*: iletim demeti *ko*: kollenkima *ae*: alt epidermis



Şekil 4.29. *A. pestalozzae* yaprak 1-2) enine kesit ku: kütikula üe: üst epidermis d: demet kını
 id: iletim demeti ko: kollenkima ae: alt epidermis pp: palizat parankiması sp: sünger
 parankiması m: mezofil s: stoma



Şekil 4.30. *A. pestalozzae* yaprak üst yüzeysel kesit tüyler genel görünüş
öt: örtü tüyü üe: üst epidermis



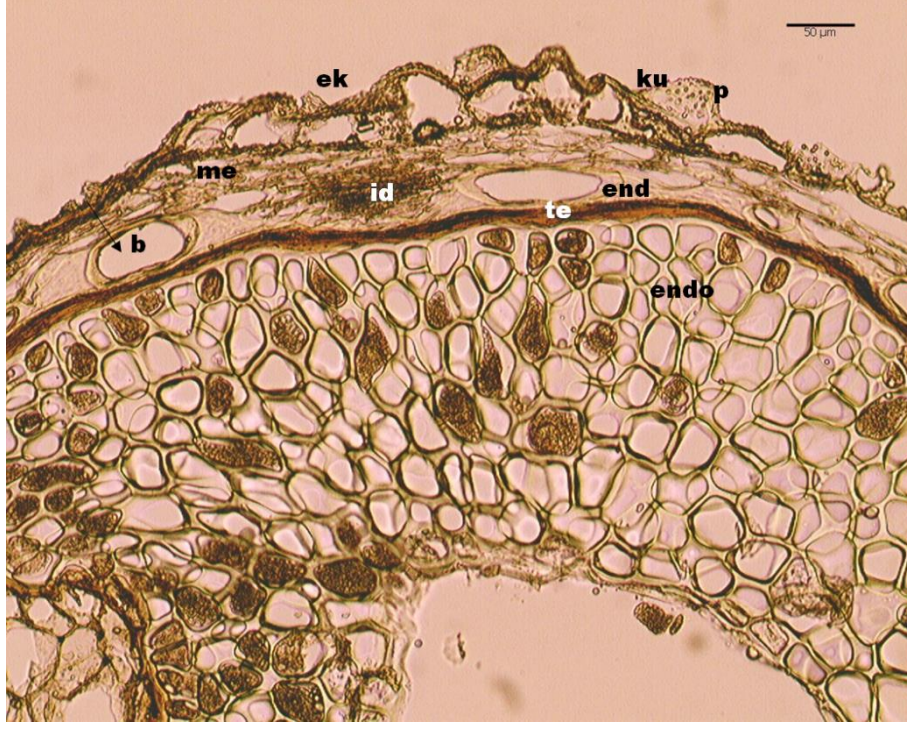
Şekil 4.31. *A. pestalozzae* yaprak 1) üst yüzeysel kesit 2) alt yüzeysel kesit
üe: üst epidermis ae: alt epidermis s: stoma bg: basit geçit

4.3.1.4. Meyve

İki merikarpa ayrılan bir şizokarptır. Merikarp enine kesitinin genel görünüşü oval-oblong olup, ventral bölgede içeriye doğru çöküntü yapmış haldedir (Şekil 4.32). Dış epidermis (ekzokarp) tek sıra hücrelerden oluşur ve yer yer dışa doğru papilsi kabarcıklıdır. Ekzokarpın üzeri ince dalgalı kütikula ile kaplıdır. Ekzokarpın altında, birkaç sıra ince çeperli enine uzamış hücrelerden oluşan mezokarp bulunur. Mezokarp tabakası içinde aralıklı iletim demetleri ve demetlere ardışık şekilde yer yer hücrelerin erimesiyle oluşan boşluklar yer alır. Mezokarpı tek sıra, ince çeperli, yer yer ezilmiş, dar uzun hücrelerden oluşan endokarp tabakası izler. Testa, endosperm dokuyu çepeçevre sarar ve ezilmiş hücrelerden oluştuğu için endosperm ile birlikte kahverengi bir çizgi şeklinde görülür. Endosperm doku, büyük, poligonal şekilli, organik maddeler içeren parankimatik hücrelerden meydana gelir ve oldukça geniş yer kaplar (Şekil 4.33).



Şekil 4.32. *A. pestalozzae* meyve enine kesit genel görünüş p: papil b: boşluk id: iletim demeti te: testa endo: endosperma

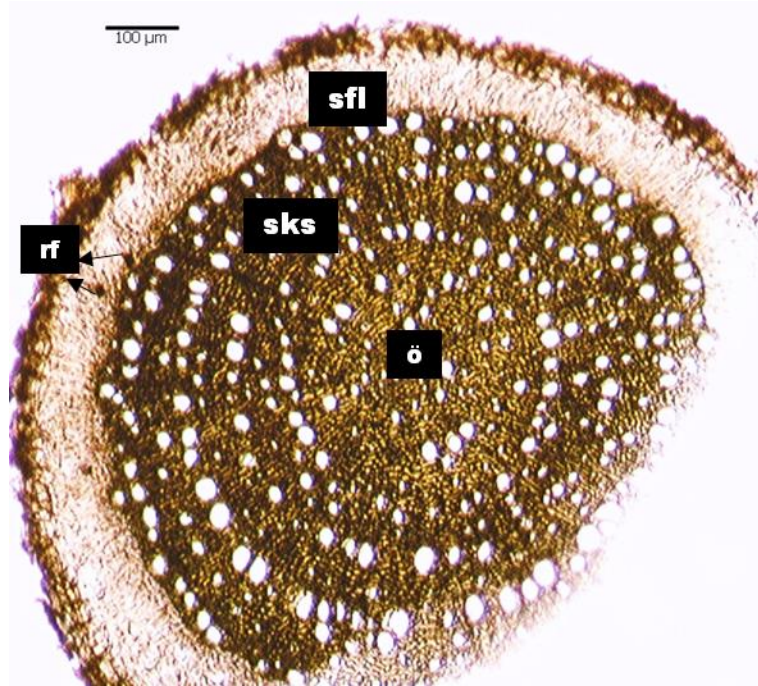


Şekil 4.33. *A. pestalozzae* meyve enine kesitte kısımlar ek: ekzokarp ku: kütikula p: papil me: mezokarp end: endokarp b:boşluk id: iletim demeti te: testa endo: endosperma

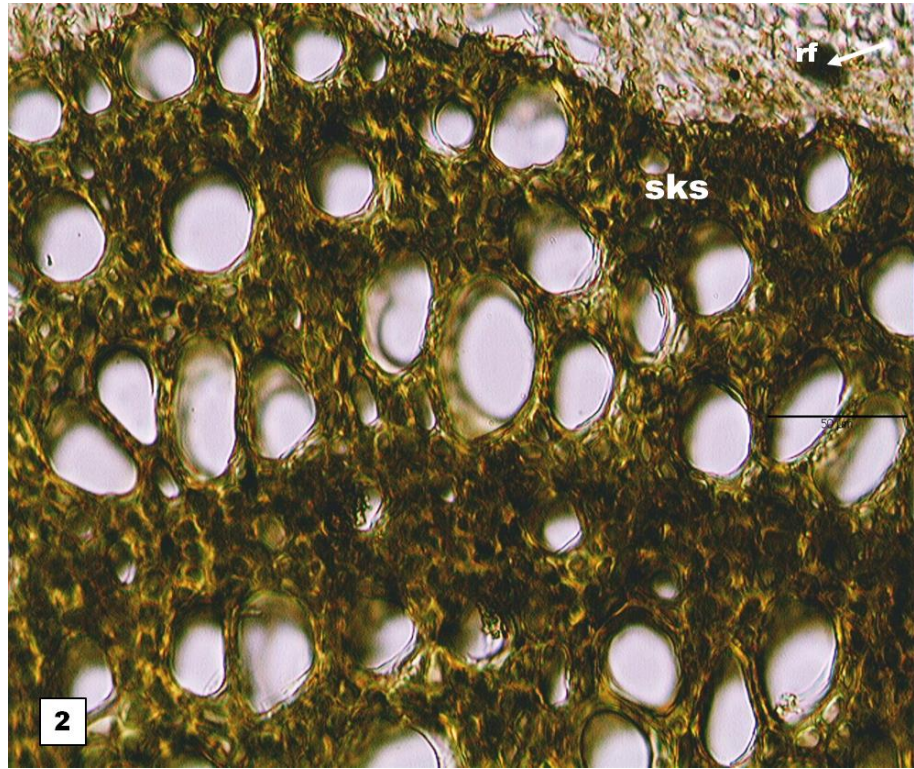
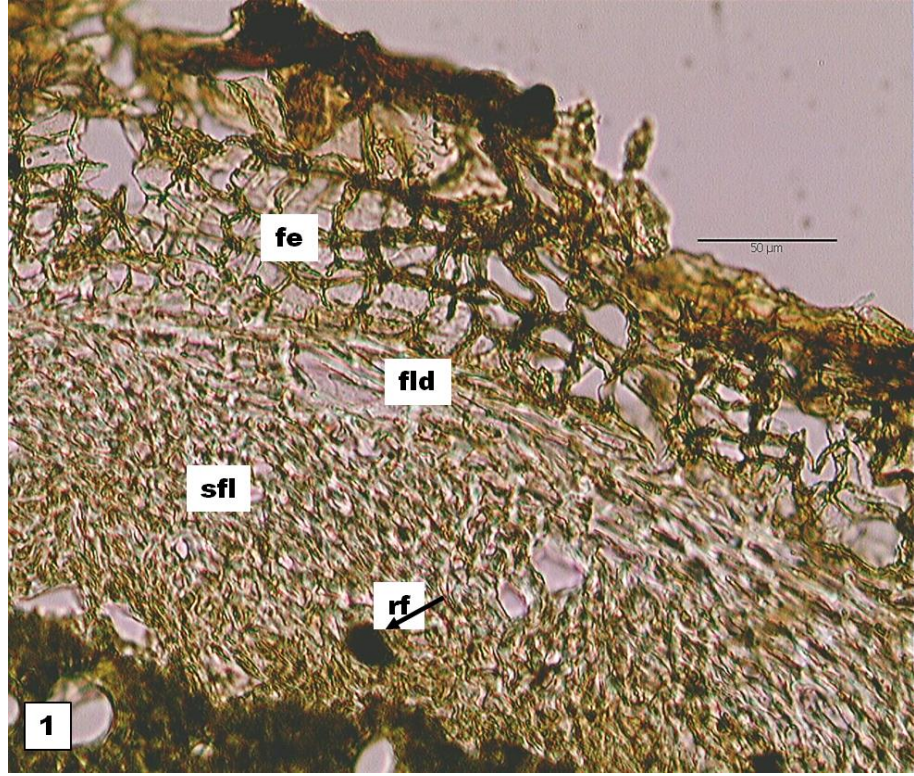
4.3.2. *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia*

4.3.2.1. Kök

Kök orta bölgeden alınan enine kesitte sekonder yapıya rastlanmıştır (Şekil 4.34). Dışta koruyucu doku periderma yer alır. Periderma 4-5 sıra, büyük dörtgenimsi hücrelerden oluşan fellem (mantar doku) ile 3-4 sıra, küçük, enine uzamış, yer yer ezilmiş fellodermadan meydana gelir. Parankimada fellogen tabakanın aktivitesiyle oluşan boşluklar gözlenmektedir. En dıştaki mantar hücreleri yer yer parçalanmış ve üzerinde ezilmiş primer kortekse ait doku kalıntıları bulunmaktadır. Peridermanın altında 10-13 sıra, küçük karemsi şekilli, düzensiz sıralı, halka şeklinde sekonder floem yer alır ve bu hücrelerde az da olsa rafit kristallerine rastlanmıştır. Kambiyum belirsizdir. Sekonder ksilem geniş bir alanı kaplar ve sklerenkimatik bir temel doku içinde büyük ve küçük çaplı trakeal elemanlardan oluşmuştur. Öz kolları 1-2 sıralıdır. Dar bir alanı kaplayan öz bölgesi sekonder ksilem tarafından doldurulmuştur (Şekil 4.35).



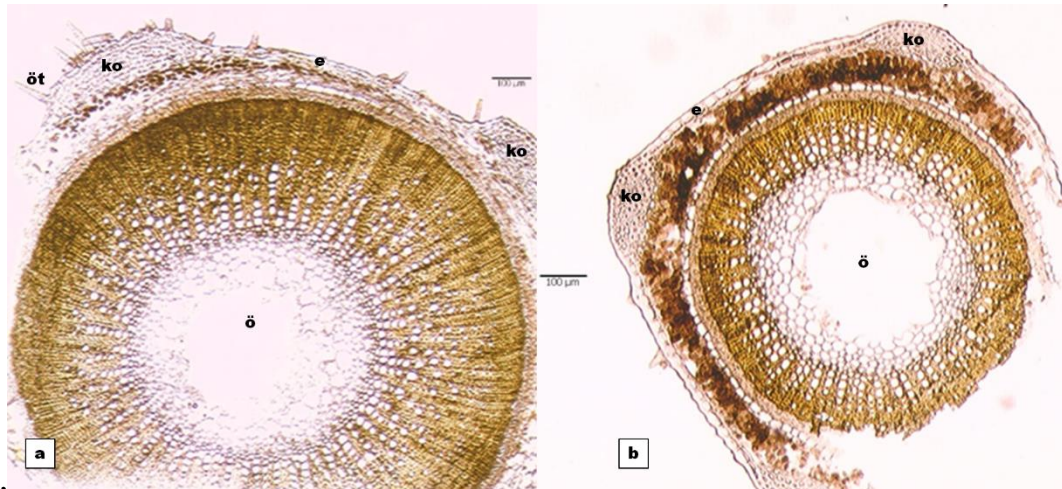
Şekil 4.34. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* kök enine kesit genel görünüş rf: rafit kristali sfl: sekonder floem sks: sekonder ksilem ö: öz



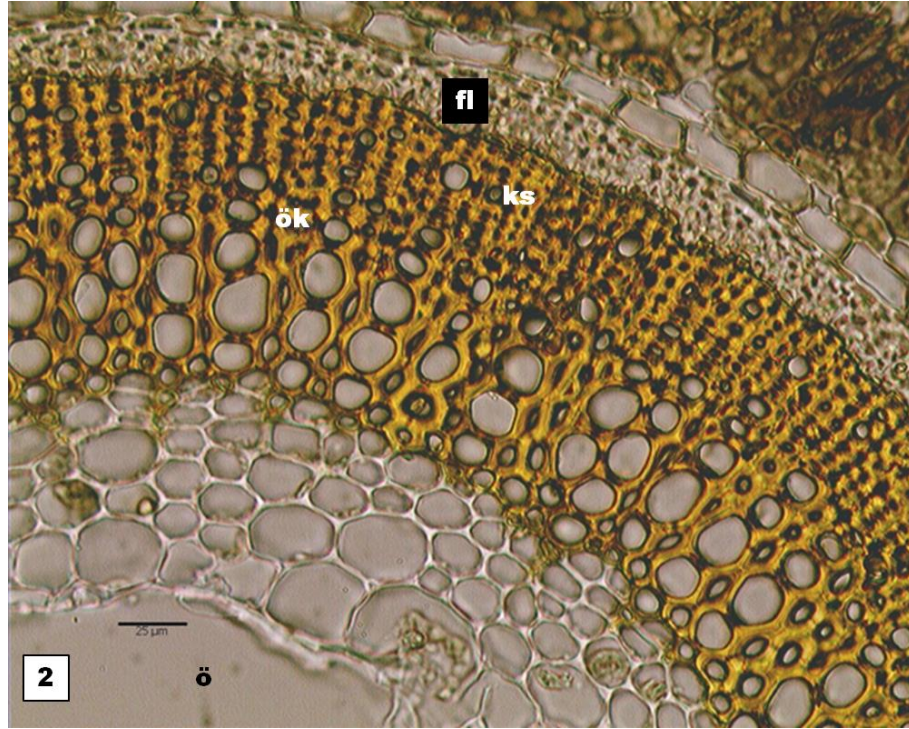
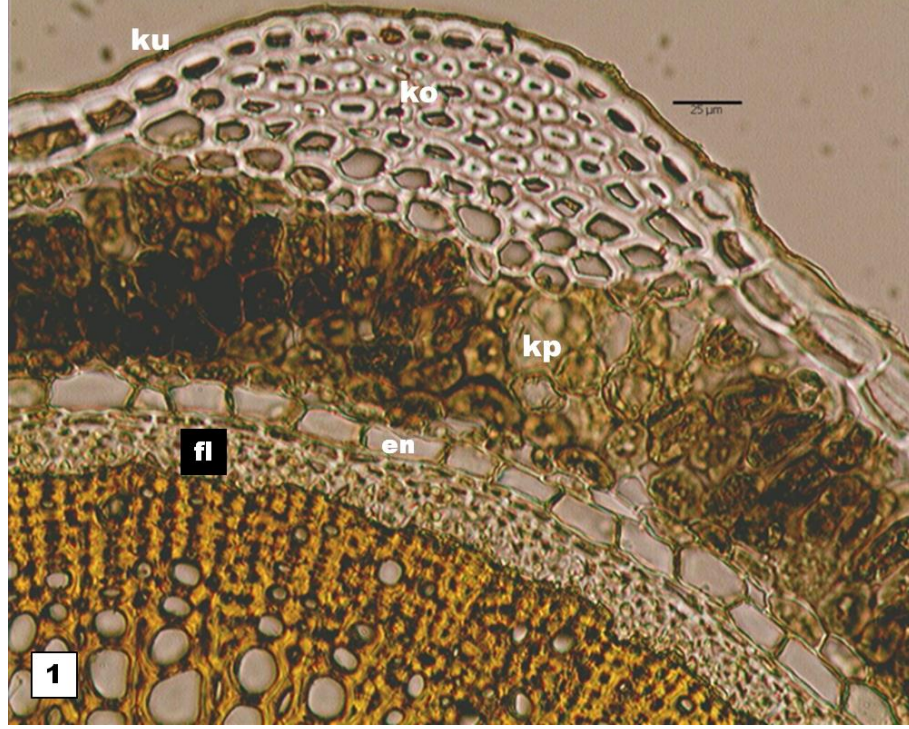
Şekil 4.35. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* 1-2) kök enine kesit fe: felleme fld: felloderma
sfl: sekonder floem rf: rafit kritali sks: sekonder ksilem

4.3.2.2. Gövde

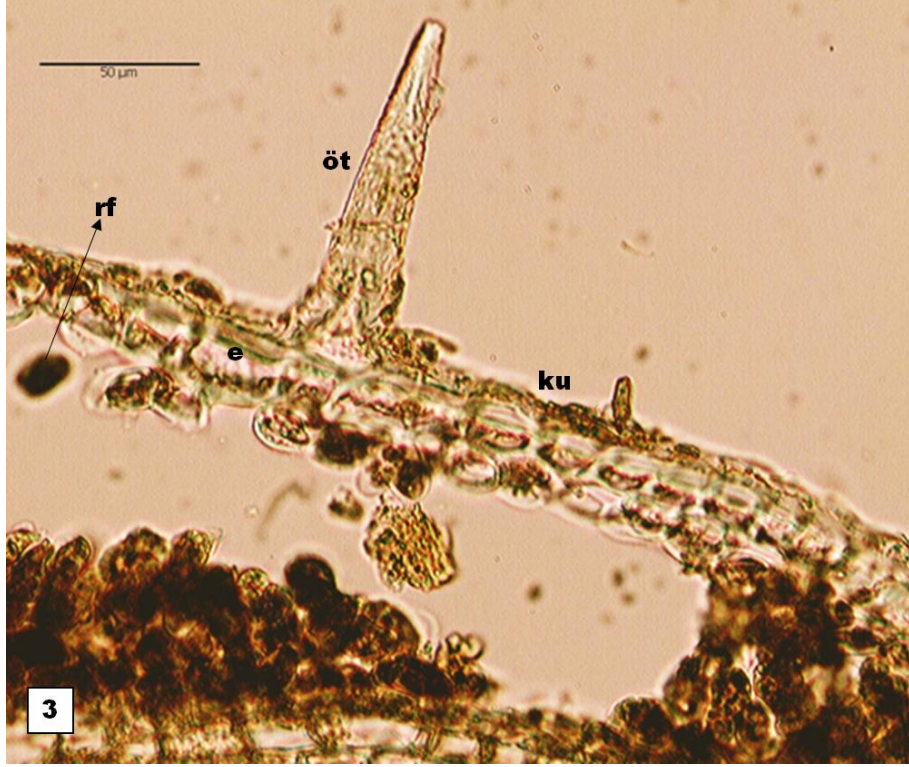
Enine kesitlerde alt gövdeler dört köşeli-yuvarlak; üst gövdeler belirgin dörtgendir (Şekil 4.36). Gövdenin dış kısmında dikdörtgen ya da kare şekilli, tek sıra, üst ve alt çeperleri daha kalın olan epiderma hücreleri bulunur. Epidermanın üzeri düz kalın bir kütikula tabakası ile örtülüdür. Alt gövdelerde seyrek, basit tek hücreli örtü tüylerine rastlanmıştır (Şekil 4.38). Köşelerde epidermanın altında 3-7 sıra, enine oval hücreli kollekimatik doku yer alır. Hemen altında korteksi oluşturan, 2-4 sıra, büyük, yuvarlak-oval hücrelerin meydana getirdiği parankimatik doku vardır. Yoğun ergastik maddeler ve rafit kristalli içeren parankima dokusu üst gövdelerde neredeyse korteksin tamamında koyu renkte ve halka şekliyle dikkat çekicidir. Alt gövdelerde ise ergastik maddeler içeren parankima dokusu daha azdır. Endoderma tek sıra, belirgin, büyük enine dikdörtgenimsi hücrelerden oluşur. Endoderma üst gövdelerde gövdeyi halka şeklinde çevrelerken, alt gövdelerde parankima hücreleriyle yer yer kesintiye uğramıştır. Endoderma altında yer alan iletim demetleri gövdeyi tümüyle sarar. Floem tabakası 4-5 sıra, basık düzensiz şekilli hücrelerden oluşur (Şekil 4.37). Floemin altında, belirsiz ya da 1-2 sıra ezilmiş hücrelerden oluşan kambiyum yer alır. Trake ve trakeidlerden oluşan ksilemde, trakeler büyük oval-yuvarlak şekilde, trakeidler ise küçük düzensiz şekillidir. Öz kolları 1(-2) sıradır. Öz bölgesini dolduran hücreler ksilemin altında küçük, öze doğru büyük, poligonal, ince çeperli, hücreler arasında boşluklu parankimatik hücrelerden oluşur. Merkeze doğru parçalanmış parankima hücrelerinden dolayı orta kısım boştur. (Şekil 4.37).



Şekil 4.36. A. *lilaciflora* subsp. *phrygia* a) alt gövde genel görünüş b) üst gövde genel görünüş ö: örtü tüyü e: epidermis ko: kollenkima ö: öz



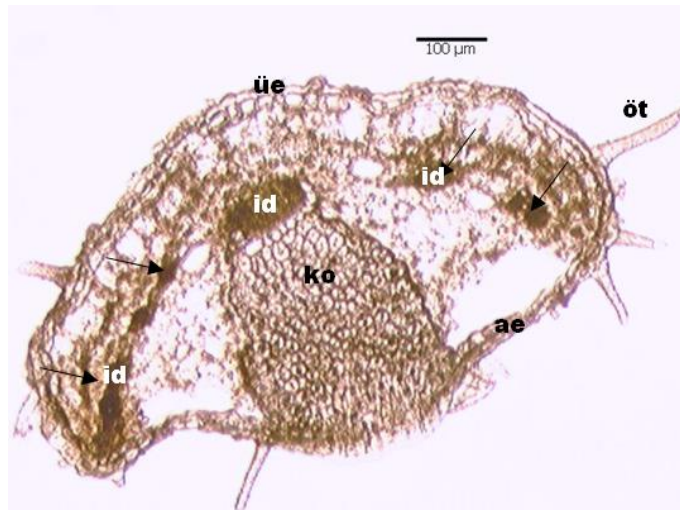
Şekil 4.37. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* gövde enine kesit ku: kütikula e: epidermis ko: kollenkima
kp: korteks parankiması en: endodermis fl: floem ks: ksilem ök: öz kolları ö: öz



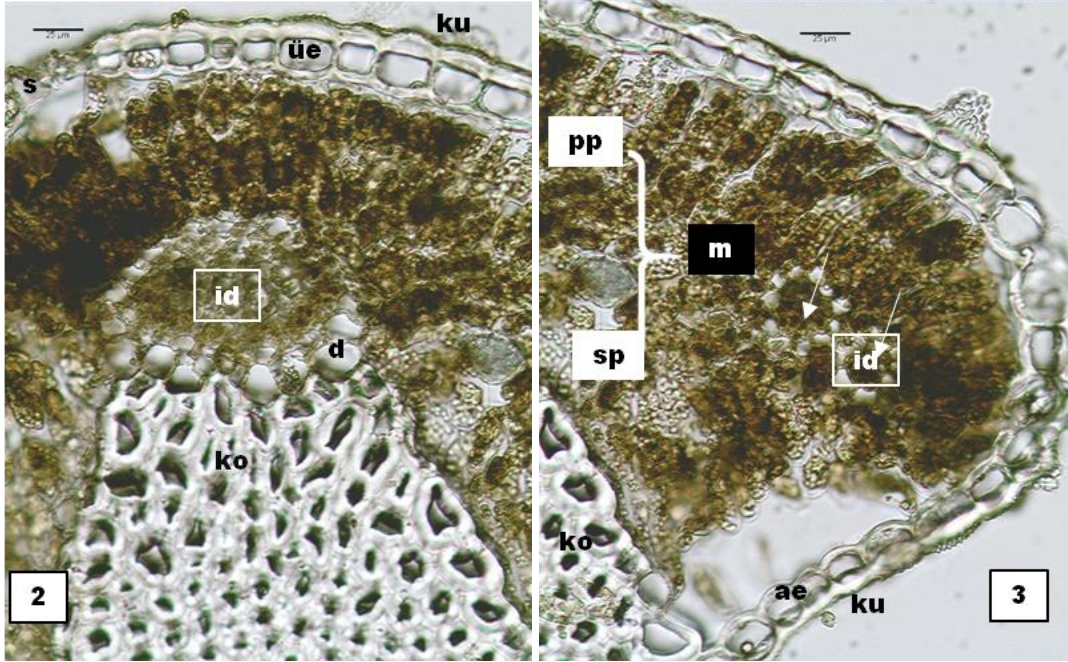
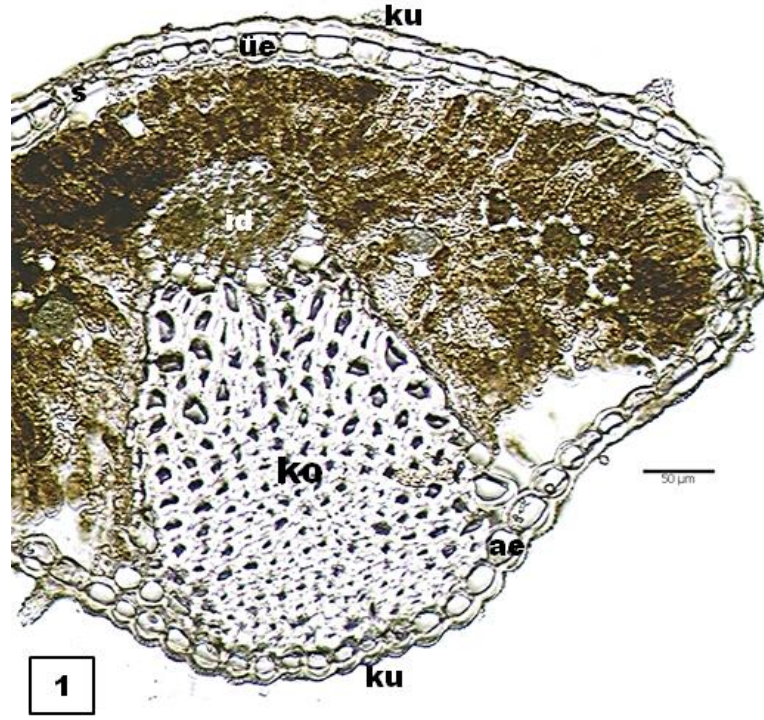
Şekil 4.38. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* gövde enine kesitte tüy yapısı **öt**: örtü tüyü
ku: kütikula **e**: epidermis **rf**: rafit kristali

4.3.2.3. Yaprak

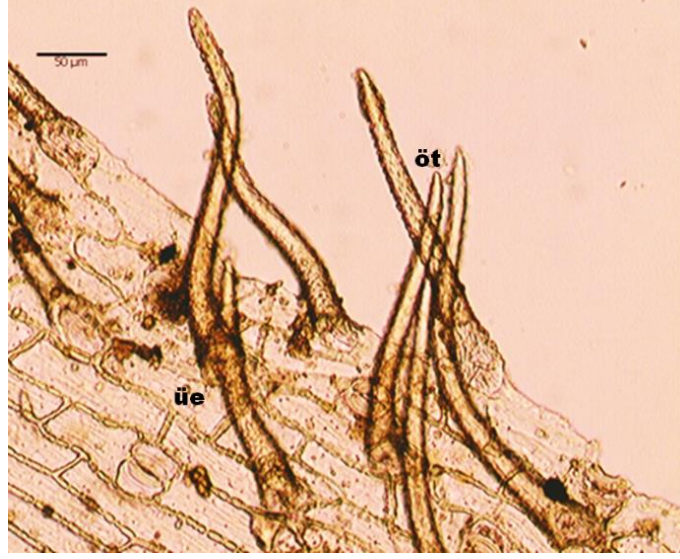
Enine kesitte genel görünüm ovaldir. Geriye kıvrık olan yapraklar alt yüzeyde hafif girintilidir. (Şekil 4.39). Yapraktan alınan enine kesitte; alt ve üst epidermis hücreleri tek sıralı, dikdörtgenimsi olup, alt ve üst çeperle yan çeperlere göre daha kalındır. Yüzeysel kesitlerde üst-alt epiderma hücreleri uzun dikdörtgen şekilli, hemen hemen eşit uzunlukta ve çok sayıda basit geçitli; alt epidermalar, üst epidermadan daha dalgalı çeperlidir (Şekil 4.42). Alt ve üst epiderma üzerinde kalın, düz ya da hafif dalgalı bir kütikula tabakası ve tek hücreli, konik-uzun, basit örtü tüyleri bulunur (Şekil 4.41). Epidermanın iki yüzünde yer alan stoma (amfistomatik), parasitik tiptedir. Epiderma hücreleri ile stomalar aynı seviyede (mezomorf) olup, üst yüzde stoma sayısı, alt yüze oranla daha fazladır. Alt epidermada kollenkimanın sağında ve solunda yer alan stoma altı boşlukları dikkat çekecek kadar geniştir. Yaprak monofasiyaldir. Üst epidermanın altında mezofili oluşturan 2 sıra, sıkı dizilimli, uzun, silindirik, bol kloroplast içeren palizat parankiması yan yüzlerde tek sıra halinde devam eder. Alt epidermada palizat parankimasının üzerinde 3-4 sıra boyuna silindirik ya da oval, gevşek dizilimli sünger parankiması bulunur. Mezofil tabakasında yer yer rafit kristalleri görülmektedir. Orta damarın altında dikeyde 15-19 sıra, yatayda 6-15 sıra oval-yuvarlak hücreli kollenkimatik doku yer alır. Kollenkima tabakasının üzerinde demet kını ile çevrelenmiş büyük bir iletim demeti, bu demetin sağında ve solunda ise 4-5 adet küçük iletim demetleri vardır. İletim demetlerinde ksilem üst epiderma, floem ise alt epiderma yönündedir (Şekil 4.40).



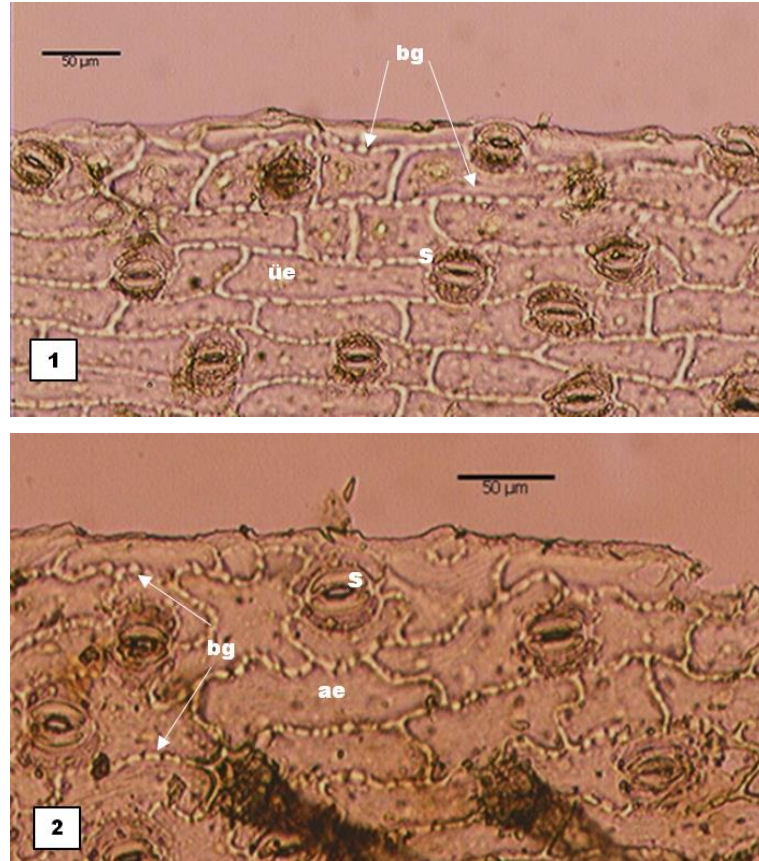
Şekil 4.39. A. lilaciflora subsp. phrygia yaprak enine kesit genel görünüş ö: örtü tüyü üe: üst epidermis id: iletim demeti ko: kollenkima ae: alt epidermis



Şekil 4.40. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* 1,2,3) yaprak enine kesit ku: kütikula üe: üst epidermis id: iletim demeti ko: kollenkima ae: alt epidermis pp: palizat parankimasi sp: sünger parankimasi m:mezofil



Şekil 4.41. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* yaprak üst yüzeysel kesit tüyler genel görünüş öt: örtü tüyü üe: üst epidermis bg: basit geçit s: stoma



Şekil 4.42. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* yaprak 1) üst yüzeysel kesit 2) alt yüzeysel kesit üe: üst epidermis ae: alt epidermis s: stoma bg: basit geçit

4.3.2.4. Meyve

İki merikarpa ayrılan bir şizokarptır. Merikarp enine kesitinin genel görünüşü yuvarlak-oval olup, ventral bölgede hafifçe içeriye doğru çöküntü yapmış haldedir (Şekil 4.43). Ekzokarp tek sıra genelde büyük, kare-oval hücrelerden oluşur ve yer yer dışa doğru papillidir. Ekzokarpın üzeri ince dalgalı kütikula ile kaplıdır. Ekzokarpın altında, birkaç sıra ince çeperli enine uzamış hücrelerden oluşan mezokarp bulunur. Mezokarp tabakası içinde iletim demetleri ve demetlere ardışık şekilde yer yer hücrelerin erimesiyle oluşan boşluklar yer alır. Mezokarpı tek sıra, ince çeperli, dar uzun hücrelerden oluşan endokarp tabakası izler. Testa, endosperm dokuyu çepeçevre sarar ve genellikle hücreleri ezildiği için kahverengi bir çizgi şeklinde görülür. Endosperm doku, büyük, poligonal şekilli, organik maddeler içeren parankimatik hücrelerden meydana gelir ve oldukça geniş yer kaplar (Şekil 4.44).



Şekil 4.43. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* meyve enine kesit genel görünüş p: papil b: boşluk id: iletim demeti te: testa endo: endosperma

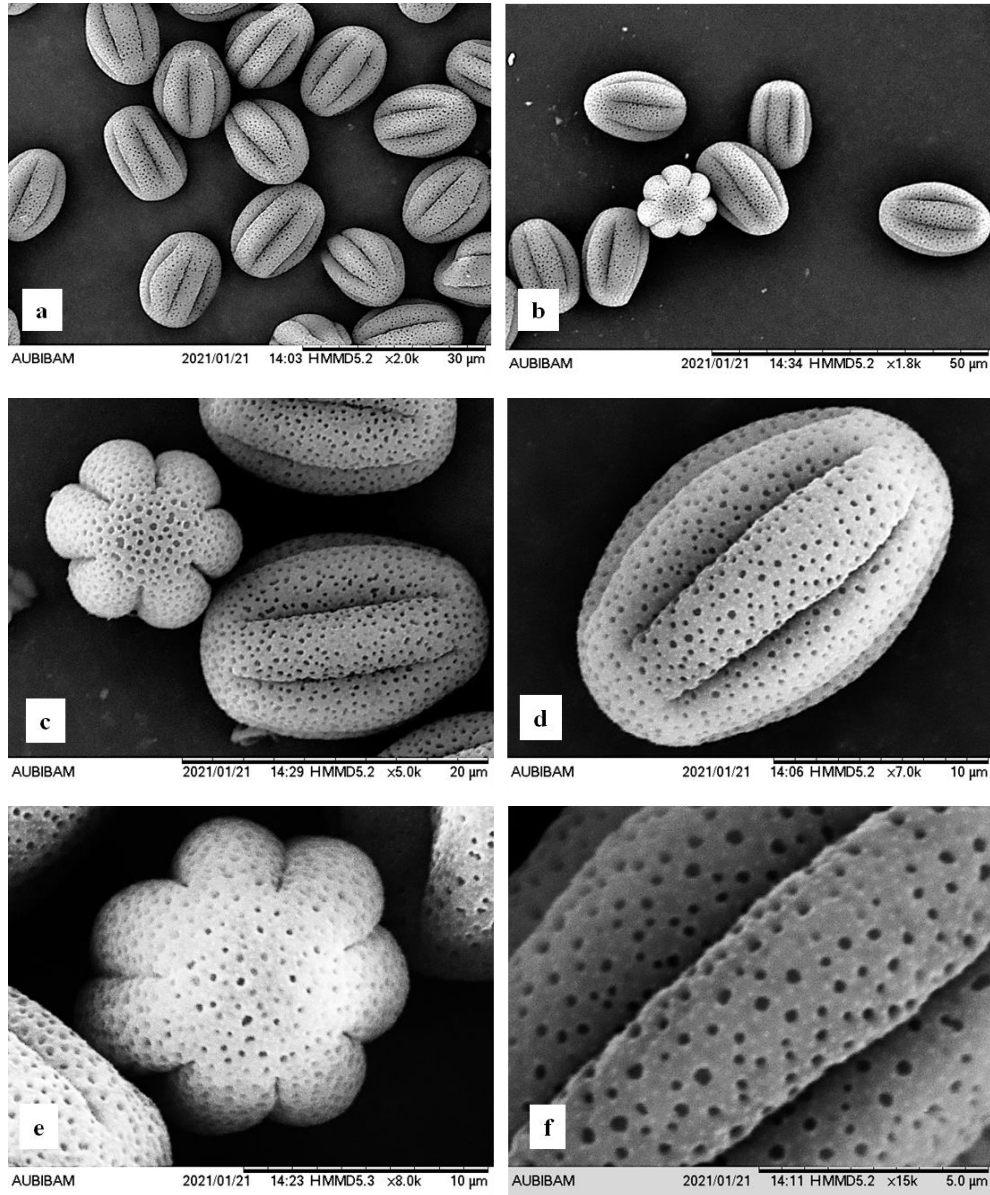


Şekil 4.44. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* meyve enine kesitte kısımlar ek: ekzokarp p: papil me: mezokarp end: endokarp id: iletim demeti b: boşluk te: testa endo: endosperma

4.4. Palinolojik Bulgular

4.4.1. *Asperula pestalozzae*

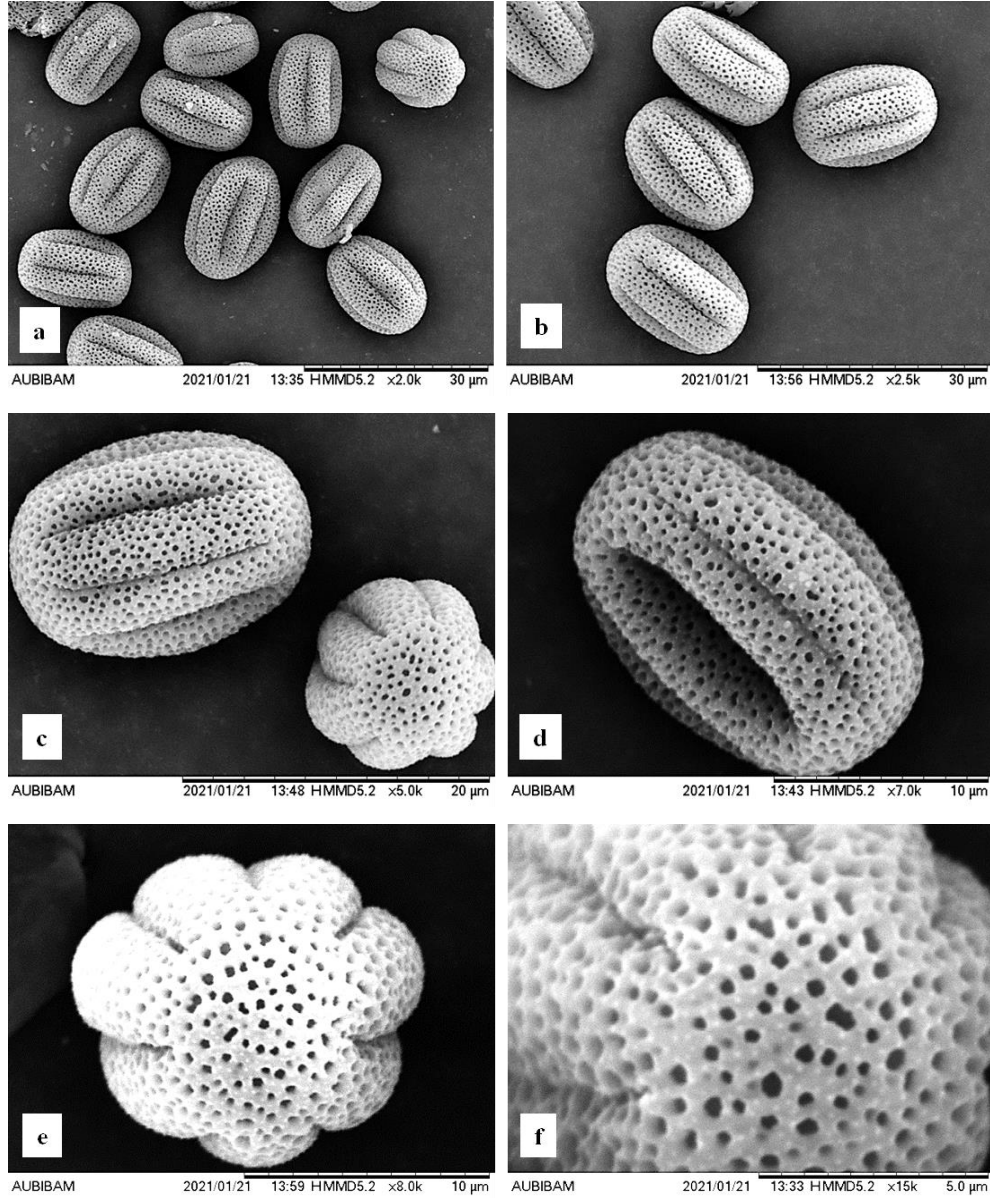
Polen taneleri monad, radyal simetridir, izopolar, hegzakolpat (bazen heptakolpat). Polar eksen (P) 16,9-20,6 μm , ekvatorial eksen (E) 10,9-14,3 μm . P/E oranı 1,44-1,55 μm . Polen tanelerinin sahip olduğu şekil öprolat. Polen tanelerinin ekvatorial görüntüleri eliptik, polar görüntüleri hemen hemen daire şeklindedir. Kolpus boyu 12,5 μm -15,8 μm , kolpus eni 1 μm 'den küçük. Skulptur (ornemantasyon) skabrat-perforat.



Şekil 4.45. *A. pestalozzae* SEM mikrofotografaları a-c) polen taneleri d) ekvatorial görünüm e) polar görünüm f) polen yüzeyi yakın görünüm

4.4.2. *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia*

Polen taneleri monad, radyal simetrlili, izopolar, hegzakolpat (bazen heptakolpat). Polar eksen (P) 17,3-21,2 μm , ekvatorial eksen (E) 11,4-14,8 μm . P/E oranı 1,43-1,51 μm . Polen tanelerinin sahip olduğu şekil öprolat. Polen tanelerinin ekvatorial görüntüleri eliptik, polar görüntüleri hemen hemen daire şeklindedir. Kolpus boyu 11,9 μm -15,2 μm 'dir, kolpus eni 1 μm 'den küçük. Skulptur (ornemantasyon) skabrat-perforat.



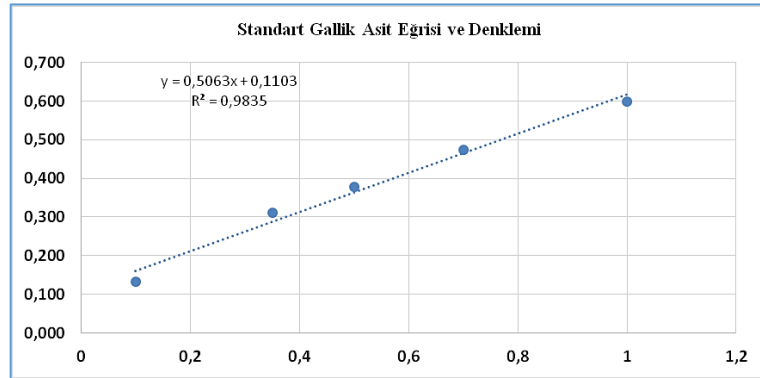
Şekil 4.46. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* SEM mikrofotografaları a-c) polen taneleri d) ekvatorial görünüm e) polar görünüm f) polen yüzeyi yakın görünüm

4.5. Kimyasal Bulgular

Bu kısımda *A. pestalozzae* türü ve *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* alt türünün toplam fenolik madde miktarının tayini ve antioksidan aktivite testlerine ait, elde edilen veriler açıklanmıştır.

4.5.1. Toplam fenolik madde miktar tayini

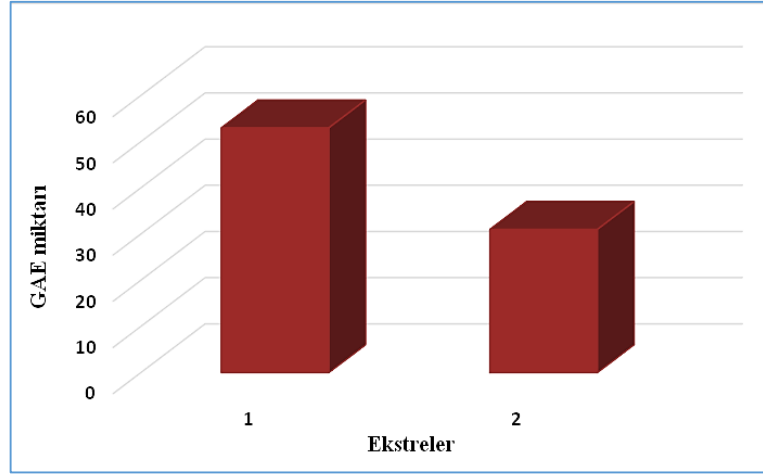
Toplam fenolik madde miktarını tayin etme yöntemi, temel olarak renk reaksiyonuna dayanmaktadır. Reaksiyonda mavi renkli kompleks oluşumuna bakılır. Renk ne kadar koyu ise, bitki ekstresindeki total fenolik madde miktarı da o kadar fazla olmaktadır. Sonuçları değerlendirebilmek için; hesaplama ile standart gallik asit eğrisi çizilmiştir (Şekil 4.47), daha sonra standart eğri denklemine göre ekstrelerin içerdiği fenolik madde miktarları bulunmuştur. Sonuçlara bakıldığında (Tablo 4.1); 1 g *A. pestalozzae* ekstresinde 53 mg gallik asite eşdeğer (GAE), 1 g *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* ekstresinde 31 mg gallik asite eşdeğer (GAE) olarak hesaplanmıştır. Ayrıca *A. pestalozzae* ekstresine ait renk kompleksinin de daha koyu olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.47. Hesaplama kullanılan GA eğrisi

Tablo 4.1. 1 gr ekstrede mg gallik asite eşdeğer toplam fenolik madde miktarı

Ekstreler	Gallik Asit Eşdeğer (GAE)
1 <i>A. pestalozzae</i>	53 mg GAE
2 <i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i>	31 mg GAE



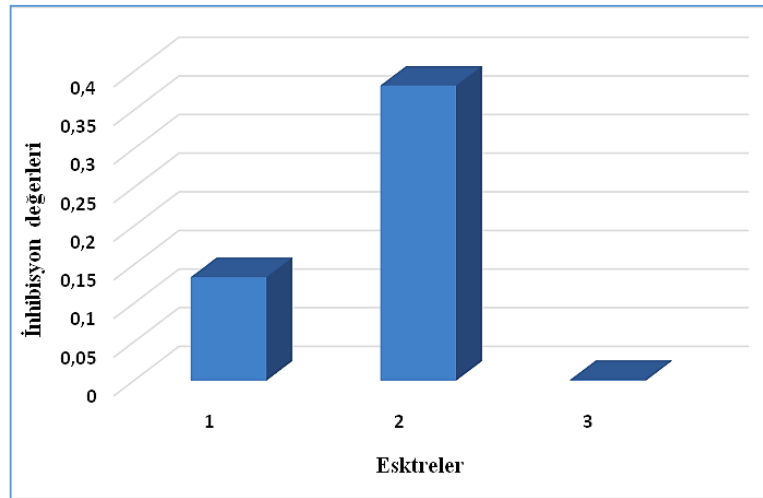
Şekil 4.48. Ekstrelerin GAE gösteren sütun grafiği

4.5.2. Antioksidan aktivite çalışmaları

Radikal uzaklaştırma aktivitesi, DPPH %50 inhibisyon konsantrasyonu (IC_{50}) olarak hesaplanmıştır. IC_{50} değeri standart gallik asit için 0,0011 mg/ml olarak bulunmuştur. *A. pestalozzae* ekstresi için 0,134 mg/ml, *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* ekstresinde ise 0,382 mg/ml olarak elde edilmiştir (Tablo 4.2).

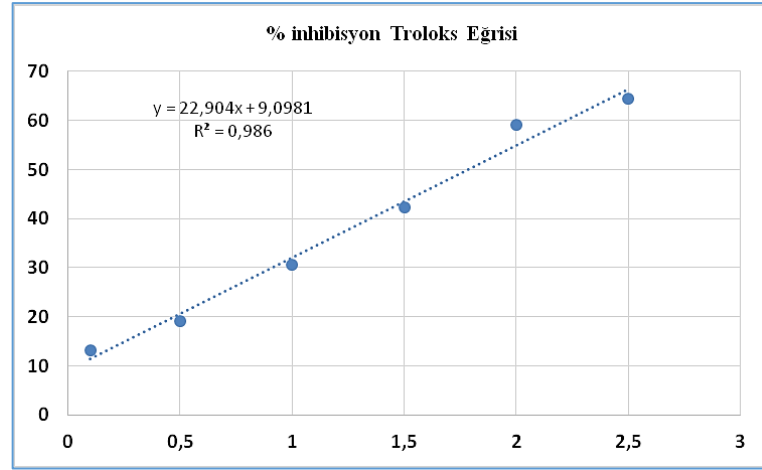
Tablo 4.2. Ekstrelerin serbest radikal üzerinden hesaplanan inhibisyonu değerleri

Ekstreler	IC_{50} Değerleri (mg/ml)
1	<i>A. pestalozzae</i> 0,134
2	<i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> 0,382
3	Gallik asit 0,0011



Şekil 4.49. Ekstrelerin IC_{50} değerlerini gösteren sütun grafiği

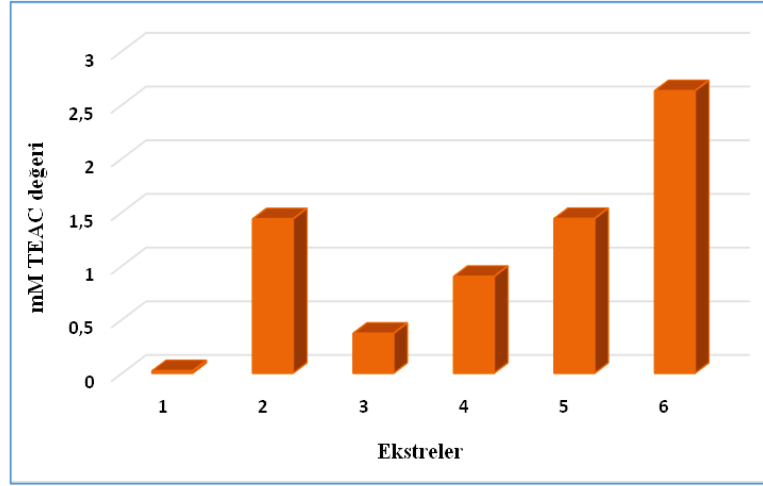
Ekstrelerin troloksa eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC) testi için, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan troloksun % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen veriler ile kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve denklemleri oluşturulmuştur (Şekil 4.50). Denklem üzerinde yapılan hesaplamalar ile; 0,1 mg/ml *A.pestalozzae* ekstresi için 0,022 mM TEAC, 10 mg/ml *A. pestalozzae* ekstresi için 1,437 mM TEAC; 0,1 mg/ml *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* ekstresi için 0,371 mM TEAC, 10 mg/ml *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* ekstresi için 0,901 mM TEAC olarak bulunmuştur (Tablo 4.3). Standart olarak kullanılan gallik asitin 0,1 mg/ml için 1,436 mM, 1 mg/ml için 2,630 mM TEAC aktivite belirlenmiştir.



Şekil 4.50. Hesaplama için kullanılan eğri ve denklemleri

Tablo 4.3. Ekstrelerin mM TEAC değerleri

	Ekstreler	mM TEAC (mg/ml)
1	<i>A.pestalozzae</i> (0,1 mg/ml)	0,022
2	<i>A.pestalozzae</i> (10 mg/ml)	1,437
3	<i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> (0,1 mg/ml)	0,371
4	<i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i> (10 mg/ml)	0,901
5	Gallik asit (0,1 mg/ml)	1,436
6	Gallik asit (1 mg/ml)	2,630



Şekil 4.51. Ekstrelerin mM TEAC değerlerini gösteren sütun grafiği

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Davis'in kareleme sistemine göre, bu çalışmada B3 karesinden toplanan *A. pestalozzae* türü ve endemik *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* alt türü farmasötik botanik yönden araştırılmıştır. Bu çerçevede bitkilerin anatomik, morfolojik, mikromorfolojik (tüy ve meyve yapısı) ve palinolojik özellikleri incelenmiş, kimyasal çalışmalarla toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktiviteleri aydınlatılmaya çalışılmıştır.

5.1. Morfolojik Sonuçlar ve Tartışma

İki endemik taksonun morfolojik araştırma bulguları ayrıntılı tanımlanmış ve Türkiye Florası'nda (Davis, 1982) yer alan tanımlamalar ve ölçütleri ile karşılaştırılmıştır (Tablo 5.1).

Tablo 5.1. *A. pestalozzae* ve *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Özellikler		<i>A. pestalozzae</i>		<i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i>	
		Bulgular	Türkiye Florası	Bulgular	Türkiye Florası
Hayat formu		Çok yıllık, yarı çalı	Çok yıllık, yarı çalı	Çok yıllık, yarı çalı	Çok yıllık, yarı çalı
Bitki boyu		18-63 cm	(13-)20-60 cm	16-35(-39) cm	(10-)15-35 cm
Gövde	Şekli	Yükselici-dik, dört köşeli ya da altlarda hafif yuvarlak	Yükselici ile dik, dört köşeli	Yükselici-dik, dört köşeli ya da altlarda hafif yuvarlak	Yükselici ile dik altlarda hafif yuvarlak, üst daha köşeli
	Tüyleri	Alt puberulent-hispit tüylü, üst kısım tüysüz	Tüysüz ya da az tüylü, altlarda puberulent skabrit-hispit	Alt puberulent ya da hispit tüylü, üst kısım tüysüz	Alt puberulent ya da kısa hispit tüylü, üst kısım tüysüz
Yaprak	Boyutu	Taban yaprak 5-20 x 0,2-1 mm, üst yaprak 5,8-16 x 0,3-0,8 mm	4-15(-25) x 0,3-0,75 mm	Taban yaprak 2-10 x 0,2-1 mm, üst yaprak 10-20 x 0,2-1 mm	Taban yaprak 2-7 x 0,6-1 mm, üst yaprak (-8)10-20x0,3-0,75 mm
	Sayısı	4, çevrel dizilişli	-	4, çevrel dizilişli	-

Tablo 5.1. (Devam) *A. pestalozzae* ve *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Yaprak	Şekli	Linear veya filiform, belirgin geriye kıvrık	Linear veya filiform, belirgin geriye kıvrık	Linear-subulat, belirgin geriye kıvrık	Oblong oblanseolat, linear-subulat geriye kıvrık
	Tepesi	Aristat, uç şeffaf	Aristat uç şeffaf	Aristat, uç şeffaf	Aristat, uç şeffaf
	Aristalar	0,2-0,7 mm	0,7 mm	0,5-1 mm	1mm
	Kenarı	Düz	-	Düz	-
	Tabanı	Trunkat	-	Trunkat	-
	Tüyleri	Yoğun hispit, tüyler dik ya da hafif geriye yatık; tüysüz ya da az tüylü	Skabrit ile hispit, tüyler hafif geriye yatık ya da tüysüz	Yoğun hispit tüylü, yapraklar tüysüz ya da az tüylü	Genellikle kısa hispit, bazen sadece skabrit tüylü
Çiçek durumu	Tipi	Panikulalardan oluşan dal ucunda simöz	Dal ucunda simöz	Panikulalardan oluşan dal ucunda simöz	Dal ucunda simöz
	Dallanma	Basit ya da dallanmış	Dallanmış	Basit ya da dallanmış	Dallanmış
	Çiçek sayısı	Simözlarda 3-15	-	Simözlarda 3-12	-
	Çiçek durumu sapı	5-35 mm	-	8-47 mm	-
Brakte	Boyutu	2-4,3 x 0,5-1,3 mm	2-4 mm	2,4-4,5 x 1-1,6 mm	1,5-6 mm
	Şekli	Lanseolat- ovat alt kısım kulakçıklı	Lanseolat-Ovat	Ovat-üçgen alt kısım kulakçıklı	Lanseolat ile genişçe ovat
	Kenarı	Düz	Düz ya da dişli	Şeffaf kenar, düzensiz dişli	Şeffaf kenar düzensiz dişli
	Tüyleri	Tüysüz	Tüysüz	Tüysüz	-
	Tepesi	Aristat	Aristat	Aristat	Aristat
	Aristalar	0,2-0,7 mm, şeffaf düz ya da hafif kıvrık	-	0,5-1 mm, şeffaf hafif geriye kıvrık	-

Tablo 5.1. (Devam) *A. pestalozzae* ve *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Brakteol	Boyutu	1,5-3,3 x 0,4-1 mm	-	2-3,6 x 0,4-0,8 mm	-
	Şekli	Oblong-lanseolat	-	Lanseolat	-
	Kenarı	Düz	-	Düz ya da düzensiz dişli	-
	Tepesi	Aristat	-	Aristat	-
	Aristalar	0,2-0,5 mm, şeffaf	-	0,5-1 mm, şeffaf	-
Korolla	Boyutu	2,2-3,3 mm	2-3 mm	5-10 mm	(4-)5-8 mm
	Şekli	Gamopetal, huni	Huni	Gamopetal, huni ya da yayık laminalı boru	Huni ila yayık laminalı boru
	Rengi	Loblar pembemsi-beyaz, tüp pembe	Açık pembe	Loblar pembemsi-beyaz, tüp pembe	Açık pembe-pembe
	Tüp Boyu	1-2,2 mm, loblara eşit ya da 2 kat daha uzun	2 kat uzun ya da ovat-oblongdan daha kısa	5-7,5 mm, loblardan 2 ya da 3 kat uzun	Loblara eşit ya da 3 kat kadar uzun
	Lob Boyu	1-1,2 x 2-3 mm	-	2-3 x 0,8-1,2 mm	1,5-3 mm
	Lob şekli	Ovat-oblong, akut	Ovat-oblong, akut	Lanseolat, akuminat	Lanseolat, akuminat
	Tüyleri	Yoğun hispit-diş tüylü loblarda az ya da tüysüz	Hispit tüylü, bazen tüysüz	Tüysüz	Tüysüz ya da hispit tüylü
Stamen	Sayısı	4	-	4	-
	Şekli	Dorsifiks	-	Dorsifiks	-
	Konumu	Petale bağlı, loblar ile almaşık	-	Petale bağlı, loblar ile almaşık	-
Anter	Boyu	1-1,2 mm	-	1-1,3 mm	-
	Şekli	Linear	-	Linear	-
	Rengi	Kahverengi	-	Sarımsı-koyu kahverengi	-
Filament	Boyu	Korollaya yapışık, kısa	-	Korollaya yapışık, kısa	-

Tablo 5.1. (Devam) *A. pestalozzae* ve *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Ovaryum	Boyutu	1 x 0,5 mm	-	0,5-1,2 x 0,5-0,8 mm	-
	Rengi	Koyu kahverengi	-	Koyu kahverengi	-
	Yüzeyi	Yoğun papilli	Papilli	Yoğun papilli	Papilli ila hispit
Stilus	Boyu	0,5-1,6 mm	-	6-6,5 mm	-
	Şekli	İkili eşit dallanmış	-	İkili eşit dallanmış	-
	Rengi	Pembemsi, morumsu	-	Açık pembe	-
Stigma	Şekli	Yuvarlak	-	Yuvarlak	-
	Sayısı	2	-	2	-
Meyve	Boyutu	1,2-2 x 1 mm	2 mm	2-3 x 1-2 mm	2-3 mm
	Şekli	Ovat-oblong	-	Ovat-orbikular	-
	Rengi	Önce yeşil, olgunlarda koyu kahverengi	Koyu kahve	Önce pembemsi, olgunlarda kahverengi	-
	Yüzeyi	Yoğun siğilli	Siğilli	Yoğun siğilli	-

Endemik *Asperula* taksonları ile yaptığımız araştırma sonuçlarımızın Türkiye Florası ile genelde benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Buna karşın, bazı yapılarda ufak farklılıklar saptanmıştır.

A. pestalozzae bitki boyu Türkiye Florası'nda 13-60 cm iken, çalışmamızda 18-63 cm arasında çıkmıştır. Gövde şeklinin dört köşeli olması sonuçlarımız ile uyumlu iken, alt kısımlarda farklı olarak hafif yuvarlak gözlenmiştir. Çalışmamızda taban yapraklar 5-20 x 0,2-1 mm, üst yapraklar 5,8-16 x 0,3-0,8 mm olarak tanımlanırken; florada yapraklar genel olarak 4-15(-25) x 0,3-0,75 mm verilmiştir. Yaprak eni floradan daha fazla, şeffaf ucu ise daha küçük bulunmuştur. Florada brakte 2-4 mm, sonuçlarımızda 2-4,3 x 0,5-1,3 mm'dir. Korolla boyu floradan farklı olarak 2,2-3,3 mm arasında; rengi ise loblarda pembemsi beyaz, tüpte ise pembe olarak belirlenmiştir. Merikarplar çalışmamızda daha küçük boyda ve yoğun siğilli olarak gözlenmiştir. Aynı zamanda yaprak sayısı, yaprak kenarı ve tabanı, çiçek sayısı, çiçek durumu sapı, brakte ucu, brakteol, korolla lob boyu, stamen, anter, filament, ovaryum boyu ve rengi, stilus, stigma ve meyve şekli

morfolojileri çalışmamız ile ilk kez belirlenmiş, tüm morfolojik görseller çizilmiş ve floradaki bu eksiklikler giderilmiştir.

A. lilaciflora subsp. *phrygia* bitki boyunun, çalışmamızda (16-35(-39) cm) Türkiye Florası'ndan ((10-)15-35 cm) daha fazla belirlenmiştir. Gövde şekli ve tüy yapısı flora ile uyumludur. Bulgularımızda taban yaprak 2-10 x 0,2-1 mm, üst yaprak 10-20 x 0,2-1 mm; florada taban yaprak 2-7 x 0,6-1 mm, üst yaprak (-8)10-20 x 0,3-0,75 mm'dir. Floraya göre çalışmamızdaki taban yapraklar daha uzun, üst yapraklar ise benzerdir. Yaprak enleri ise aynı ya da daha dardır. Florada brakte 1,5-6 mm, sonuçlarımızda 2,4-4,5 x 1-1,6 mm olup daha küçüktür. Brakte şekli ovat-üçgen ile floradan farklı bulunmuştur. Korolla boyu floradan farklı olarak 5-10 mm mm; rengi ise loblarda pembemsi-beyaz, tüpte pembe olarak belirlenmiştir. Florada korolla loblarının boyu 1,5-3 mm olup, tüp boyu loblara eşit ya da 3 kat uzun iken; çalışmamızda lob boyu 2-3 x 0,8-1,2 mm ve tüp boyu loblardan 2 ya da 3 kat uzun çıkmıştır. Ayrıca yaprak sayısı, yaprak kenarı ve tabanı, çiçek sayısı, çiçek durumu sapı, brakte ucu, brakteol, stamen, anter, filament, ovaryum boyu ve rengi, stilus, stigma, meyve şekli, rengi, yüzeyi çalışmamız ile ilk kez belirlenmiş tüm morfolojik görseller çizilmiş ve floradaki eksiklikler giderilmiştir.

İki endemik taksonun morfolojik özelliklerinin benzer olduğu bulunmuştur. Ancak, bazı özelliklerde farklılıklar saptanmıştır. Bu farklılıklardan en belirgin olanları *A. pestalozzae*'da gövde boyu ve taban yapraklarının daha uzun; çiçek durumu sapı, korolla ve stilus boyunun ise daha kısa olmasıdır. Diğer farklılıklar ise yaprak şeffaf uçlarında, çiçek sayısında, brakte şeklinde, brakte kenarı ve şeffaf uçlarında, lob şekli ve tüylerinde, ovaryum boyutunda, stilus renginde, meyve boy ve şeklinde gözlemlenmiştir (Tablo 5.1).

Mikromorfolojik çalışmalarımızda endemik taksonların vejetatif-generatif organları ve üzerinde yer alan tüy yapısı SEM'de ayrıntılı olarak tanımlanmış ve Tablo 5.2'de karşılaştırılmıştır. Tablo 5.2'ye göre, her iki taksonun gövde ve yaprak tüyleri şekil ve uzunluk açısından genelde benzer iken, taksonlarda yaprak tüy uzunluklarının, gövde tüyelerine göre daha uzun olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, bulgularımızdaki tüy yoğunluklarının da korolla hariç birbiriyle uyumlu olduğu tespit edilmiştir. *A. pestalozzae*'da korolla yüzeyi tüylü iken, diğer taksonda hiç tüy yoktur. Korolla yüzey mikromorfolojisine baktığımızda *A. pestalozzae* epidermal katlanmalardan oluşan dalgalı çizgilere sahip iken, diğerinde düzensiz çizgiler arasında yer yer elipsoid-oblong şekiller

bulunur. Her iki taksonun ovaryum yüzeyinde papiller gözlenmiştir. Papillerin yüksek büyütmelerde şekilleri taksonlar arasında küçük farklılıklar göstermektedir.

Tablo 5.2. *A. pestalozzae* ve *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* vejetatif ve generatif organlarında tüy özellikleri ve yoğunluğu

<i>A. pestalozzae</i>			<i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i>			
	Özellikler	Yoğunluk	Özellikler	Yoğunluk		
Gövde	88,3 µm-196 µm Hisplit Tek hücreli	Üst	±	101 µm-174 µm Hisplit Tek hücreli	Üst	±
		Alt	++		Alt	++
Yaprak	55,2- 298 µm Hisplit Tek hücreli	Üst yüz	+	50,3 µm-265 µm Hisplit Tek hücreli	Üst yüz	+
		Alt yüz	+		Alt yüz	+
Korolla	32,9 µm-91,3 µm Yoğun hispit-diş tüylü	Tüp	++	Tüysüz	Tüp	-
		Lob	± veya -		Lob	-
Ovaryum	Yuvarlak ve konveks Papillalı		++	Yuvarlak ve konveks Papillalı		++

(-) yok, (±) seyrek, (+) yoğun, (++) çok yoğun

Bulgularımıza göre, merikarplar *A. pestalozzae*'da 1,2-2 x 1 mm boyunda, ovat-oblong şekilde, yeşil ya da koyu kahverengi, yüzeyi yoğun papiller içermektedir. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*'da ise 2-3 x 1-2 mm boyunda, ovat-orbikular, pembemsi ya da kahverengi, yüzeyi yoğun papillidir. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* merikarpları daha büyük olup; ovat-orbikular şekilde ve erken dönemde pembemsi renkte olmasıyla çalışmamızdaki diğer türden ayrılmaktadır.

Gücel, (2015)'de yaptığı bir çalışmada aynı seksiyonda yer alan *A. daphneola* türünün merikarplarını incelemiştir. Bulgularında merikarplar 1,3-1,8 x 2,3-2,9 mm, yüzeyi oluklu ve tüylü, sarımsı-yeşil olarak rapor edilmiştir. Sonuçlarımız Gücel'in yaptığı çalışma ile merikarpların boyutu, şekli, rengi ve yüzey yapısıyla farklılık göstermektedir.

Gücel, (2015) aynı çalışmada türe ait diğer morfolojik özellikleri de araştırmıştır. Bulgularına göre bitki boyu maksimum 60 cm, yapraklar imbrikat, brakte koltuğunda 8 kadar çiçek, korolla rengi canlı pembe, korolla boyu 10-12 mm, genellikle 4 stamen

epipetal olarak açıklanmıştır. Stamen sayısı ve durumu çalışmamızdaki sonuçlar ile uyumlu bulunmuştur. Yaprak özelliği tümüyle farklı olup, çiçek sayısı bulgularımızdan daha azdır. Korolla boyu ve renginin çalıştığımız iki endemik örnekten farklı olması; bu karakterlerin anahtar ayırımında kullanılan özellikler olduğunu doğrulamaktadır.

Minareci vd., (2010) yaptığı çalışmada *A. serotina* ile ilgili gövde boyunu 20-45 cm, gövdeyi puberulent tüylü, yaprakları 4-6 halkasal, yaprak boyunu 6-13 x 0,6-1 mm, braketeol boyu 0,5 mm, korolla şeklini tekerleksi, korolla tübünü sarımsı-yeşil, lamina dışını yeşilimsi-mor ve içini mor renkte, stigmaları küresel şekilde, merikarpları 0,85-1,25 mm ve tüylü olarak rapor etmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre, gövde ve yaprak boyları, merikarp boyutu ve tüyü, korolla şekli ve rengi çalışmamız ile farklılık gösterirken; halkasal yaprak şekli ve yuvarlak stigma özellikleri uyumlu bulunmuştur.

5.2. Anatomik Sonuçlar ve Tartışma

Araştırma bitkilerimiz olan *A. pestalozzae* türü ve *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* alt türünün kök, gövde ve meyvelerinden enine kesitler, yapraklarından hem enine hem de yüzeysel kesitler alınmış, fotoğraflandırılarak iç yapıları tanımlanmış ve karşılaştırılmıştır.

Kök enine kesitlerde, her iki taksonda da sekonder gelişim gözlenmiş ve rafit kristallere rastlanmıştır. En dışta yer alan periderma; *A. pestalozzae*'da 4-6 sıra, *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*'da 4-5 sıra büyük dörtgenimsi hücreli fellem ile 3-4 sıra küçük, enine uzamış, yer yer ezilmiş fellodermadan oluşur. Periderma altında bulunan sekonder floem *A. pestalozzae*'da 10-15 sıra, *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*'da ise 10-13 sıra, küçük karemsi şekilli, düzensiz sıralı, halka şeklindedir. Her iki örnekte kambiyum belirsiz; sekonder ksilem genişçe ve sklerenkimatik bir temel doku içinde, büyük ve küçük çaplı trakeal elemanlardan oluşmuş; öz kolları 1-2 sıra ve öz bölgesi ksilem ile doludur.

Gövde enine kesitlerde, *A. pestalozzae* dört köşeli-yuvarlak iken; *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*'da alt gövde dört köşeli-yuvarlak, üst gövde belirgin dörtgendir. Epiderma her iki örnekte dikdörtgen şekilde, tek sıralı, üst ve alt çeperleri daha kalındır. *A. pestalozzae* epiderması kalın-dalgalı kütikula ile kaplı iken, *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*'da düz-kalın kütikula ile kaplıdır. Epidermada basit, tek hücreli örtü tüyleri bulunur. Köşelerde epiderma altında *A. pestalozzae* türünde 5-10 sıra, *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* da 6-7 sıra enine oval çeperli kollenkimatik doku bulunur. Kollenkima altında yoğun ergastik maddeli, rafit kristalli, yuvarlak-oval hücreli, korteksi dolduran

parankimatik doku yer alır ve *A. pestalozzae* türünde 3-5 sıra; *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*'da 2-4 sıradır. Her iki örnekte de endoderma tek sıra, belirgin dikdörtgenimsi hücrelerden oluşur, *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* alt gövdesinde endoderma yer yer kesintiye uğramıştır. Floem gövdeyi tümüyle sarar; basık düzensiz dörtgen hücreli olup *A. pestalozzae* türünde 3-5 sıra, *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*'da 4-5 sıradır. Kambiyum genelde belirsiz olup, ksilemi oluşturan trakeal elemanların özellikleri, öz kollarının sayısı ve özün boşluklu yapısı iki örnekte de benzerdir.

Yaprak enine kesitlerde, genel görünüm her iki türde de geriye kıvrık olduğundan alt yüzeyde hafif girintili; *A. pestalozzae*'da oval-dikdörtgenimsi, *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*'da ovaldir. Her iki türde de epiderma tek sıra, dikdörtgenimsi, alt ve üst çeperleri kalındır. Epidermanın her iki yüzünde de örtü tüylerine ve stomaya rastlanılmıştır. Her iki örnekte de örtü tüyleri basit, tek hücreli, kısa ya da uzun, stoma ise parasitik tiptedir. Mezofil tabakası her iki örnekte de aynı sıralı olup, yaprak monofasiyaldir. Orta damarın altında geniş bir kollenkima tabakası bulunur. Kollenkima tabakası üzerinde her iki örnekte de demet kını ile çevrili büyük bir iletim demeti bulunur. *A. pestalozzae*'da büyük demetin sağında ve solunda 3-5 adet; *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*'da 4-5 adet küçük iletim demetleri bulunur. Demetlerde ksilem üst epiderma, floem alt epiderma yönündedir.

Meyve enine kesitlerde, *A. pestalozzae* oval-oblong, ventral bölgede içeri çökük şekilde iken; *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* yuvarlak-oval, ventral bölgede içeri çöküktür. Her iki örnekte de diğer tabakaların özellikleri ortaktır. Ekzokarp tek sıra hücreli, dışta papilsi ve üzerindeki ince kütikula dalgalıdır. Mezokarp birkaç sıra ince çeperli enine uzamış hücreden oluşur ve aralıklı iletim demeti ve hücrelerin erimesiyle oluşan boşluklar taşır. Endokarp tek sıra, ince çeperli, dar uzun hücrelidir; testa endospermayı sarar ve ezilmiş hücrelerden oluştuğu için kahverengi çizgi şeklindedir; endosperm büyük ve poligonal şekilde parankimatik hücrelerden oluşur.

Metcalf ve Chalk'a (1950) göre familyanın kök yapısında kambiyum yoktur. Bununla birlikte felloderm doku iyi gelişmiştir. Parankimada fellogen tabakanın aktivitesiyle oluşan boşluklar gözlenmektedir. *Asperula* cinsinin gövdeleri kollenkimatik köşe çıkıntılarının olduğu poligonal şekle sahiptir ve mantar görülmez. Endoderma iyi gelişmiştir, bununla birlikte sklerankimatik periskl bulunmaz. Ksilem dar, silindirik bir yapıdadır ve trakeal elemanlarının çapları küçüktür. Metcalf ve Chalk göre Rubiaceae familyası genellikle dorsiventral yaprak yapısına sahip iken, bazı üyelerinde sentrik

(*Asperula*) ya da homojen (*Borreria*) bir yapı görülebilmektedir. Tüyle *Asperula* ve bazı cinslerin türlerinde uzun tek hücreli ve bazen uç kısımlarda kıvrıktır. Bazı cinslerin türlerinde tüyle küçük kristaller içerebilmektedir. Stoma neredeyse sadece yaprak alt yüzde bulunsa da, *Asperula* ve bazı cinslerin türlerinde üst yüzünde de yer alır ve rubiaseus (parasitik) tiptedir. Epiderma hücreleri düz ya da dalgalı çepelidir. Familya üyelerinde kristaller genellikle yaprak ve gövdelerde yoğun olup kum kristali, rafitler, küme kristaller şeklindedir ve kristallerin tipi cinslerin ve türlerin tanımlanmasında son derece önemlidir. Rafitler ya yalnız olarak ya da küme kristallerle birlikte *Asperula* dâhil birçok cinstе bulunmaktadır. *Asperula* gövdelerinde kristaller sadece rafitlerden oluşmaktadır.

Yukarıda Metcalfe ve Chalk'ın Rubiaceae familyası ve *Asperula* cinsi için yapmış olduğu kök, gövde, yaprak anatomik özellikler ve kristal tanımlamaların birçoğu çalışma sonuçlarımızla uyumludur.

Gücel'in (2015) yaptığı *Asperula daphneola* türünün anatomik çalışmasında kökte sekonder büyümenin olduğunu, dış yüzeyde periderm tabakasının varlığını, peridermin altında rafit kristallerinin bulunduğu ve merkezde sklerankimatik öz'ün yer aldığını rapor etmiştir ki bu tanımlamalar bizim kök sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir. Gövde de ise ince bir tabaka periderm ve altında ince bir parankimatik hücrelerden oluşan korteksi tanımlamış ve kortekste rafit kristallerinin olduğundan söz etmiştir. Ayrıca kollenkima, endoderma ve iletim demetlerini tanımlayarak merkezde sklerankima hücrelerinden bahsetmiştir ki bizim gövde kesitlerimizde öz parankimatik olup parçalanmıştır. Ayrıca gövdede periderm yapıya rastlanmamıştır. Yaprakta orta damar altında büyük kollenkimatik dokunun varlığı, demet kını hücreleri ile çevrelenmiş iletim demetleri, alt ve üst epidermin altında palizat parankimasının yer aldığı ve yaprağın izolateral olduğu ve mezofilde rafit kristallerinin varlığı rapor edilmiştir. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla genel olarak uyum içindedir.

Özgen ve Coşkun'un (1999) yaptığı *Asperula taurina* subsp. *caucasica* alttürünün kök anatomik çalışmasının sonuçlarına göre; en dıştaki epiderma tabakasının parçalanmış olduğu, kambiyum tabakasının ise gözlenmediği, ksilem elemanlarının kökün iç tabakasını tümüyle doldurduğu ve bol miktarda nişasta tanesi ile rafit demetlerinin varlığı rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, bizim çalışmamız ile genelde paralellik göstermektedir. Bununla birlikte araştırmacıların kökte rapor ettiği endoderma, periskl'a bizim örneklerimizde rastlanmamıştır.

5.3. Palinolojik Sonuçlar ve Tartışma

Endemik iki taksonun palinolojik özellikleri araştırılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 5.3’de karşılaştırılmıştır.

Tablo 5.3. *Palinolojik özelliklerin karşılaştırılması*

ÖZELLİKLER	<i>A. pestalozzae</i>		<i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i>	
Ornamentasyon	Skabrat-Perforat		Skabrat-Perforat	
Apertür tipi	Kolpus		Kolpus	
Polen şekli	Öprolat		Öprolat	
Apertür sayısı	6-7		6-7	
Kolpus genişlik	< 1 µm		< 1 µm	
Kolpus Boyu	Max. 15,8 µm	Min. 12,5 µm	Max. 15,2 µm	Min. 11,9 µm
Polar uzunluk (P)	Max. 20,6 µm	Min. 16,9 µm	Max. 21,2 µm	Min. 17,3 µm
Ekvatorial uzunluk (E)	Max. 14,3 µm	Min. 10,9 µm	Max. 14,8 µm	Min. 11,4 µm
P/E değeri	Max. 1,44 µm	Min. 1,55 µm	Max. 1,43 µm	Min. 1,51 µm

Tablo 5.3 değerlendirildiğinde, iki endemik taksonun polen özelliklerinin birbiriyle hemen hemen aynı olduğu bulunmuştur. Bu nedenle polen özellikleri bu iki takson için ayırıcı bir karakter değildir. Bununla birlikte, taksonlar arasındaki tek fark, perforat (delik) yoğunluğunda görülmüş olup (Şekil 4.54), *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* poleninde perforasyon daha fazladır.

Akdeniz (2019) yaptığı tez çalışmasında, *Asperula* cinsine ait bazı taksonların palinolojik özelliklerini ortaya koymuştur. Çalışılan taksonlarda polen şeklini oblat-sferoidal ve prolat- sferoidal, polar eksen 17,03-20,53 µm, ekvatorial eksen 18,41-20,02 µm, ornemantasyonu skabrat-perforat, kolpus sayılarını 6-8, kolpus boyunu 12,41-15,40 µm, kolpus enini 0,95-1,38 µm arasında bulmuştur. Çalışmanın sonuçlarına göre; *Asperula arvensis* polenleri oblat-sferoidal, P/E oranı 0,99 µm, kolpus sayısı çoğunlukla 6-7, kolpus boyu 13,20 µm, kolpus eni 1,38 µm, ornemantasyonu skabrat-perforat’dır. *Asperula xylorrhiza* polenleri oblat-sferoidal, P/E oranı 0,92 µm, kolpus sayısı

çoğunlukla 6, kolpus boyu 12,41 µm, kolpus eni 0,95 µm, ornemantasyonu skabrat-perforat'dır. *Asperula orientalis* polenleri prolat-sferoidal, P/E oranı 1,03 µm, kolpus sayısı çoğunlukla 7, kolpus boyu 15,40 µm, kolpus eni 1,09 µm, ornemantasyonu skabrat-perforat olarak rapor edilmiştir.

Bu sonuçlar ile bizim sonuçlarımız (Tablo 5.3) kıyaslandığında kolpus sayısı ve ornemantasyon tipi uyumluluk göstermektedir. *Asperula xylorrhiza* poleni kolpus eni ile benzerlik gösterirken, tüm taksonların P/E oranları, çalışma sonuçlarımıza göre daha düşük çıkmıştır. Kolpus boyu en yüksek-en düşük değerleri 12,41-15,40 µm iken; bizim çalışmamızda elde edilen kolpus boyları 11,9-15,80 µm olarak belirlenmiştir.

Minareci (2007), tez çalışmasında bazı *Asperula* cinsinin *Thlipthisa* seksiyonundaki taksonların palinolojik özelliklerini ışık mikroskobu ve SEM ile incelemiştir. Bulgularında polar çap, ekvatorial çap, P/E oranı, kolpus boyu, kolpus eni, ekzin kalınlığı, kolpus sayısı, ornemantasyon gibi özellikleri tanımlamıştır. Yapılan çalışmanın sonuçlarına göre; polenlerin P değeri 15-20 µm, E değeri 15-20 µm, P/E oranı 0,88-1,09, kolpus uzunluğu 11-14,5 µm, kolpus eni 1 µm'den küçük, kolpus sayısı 6-7-8, yüzey süslemesi perforat ve mikroekinat olarak tespit edilmiştir.

Çalışmanın sonuçlarında belirlenen 6-7-8 kolpus sayısı, 1 µm'den küçük kolpus eni ve perforat yüzey süslemesi, bizim çalışmamız ile uyumluluk göstermektedir. Bununla birlikte, P/E oranı çalışmamızda 1,43-1,55 iken, yapılan çalışmada 0,88-1,09; kolpus uzunluğu 11,9-15,80 µm iken, yapılan çalışmada 11-14,5µm arasında görülmektedir. Ayrıca polen şeklinin sferoid olmasıyla da çalışmamızdan farklılık göstermektedir.

Gücel (2015) yaptığı araştırmada, çalışmamızda kullanılan örnekler ile aynı seksiyonda yer alan *A. daphneola* türünün polen özellikleri incelemiştir. Türe ait polenin P değerini 18,47±0,78 µm, E değerini 17,37±0,67 µm, P/E değerini 1,06, kolpus uzunluğunu 9,60±0,50 µm, kolpus enini 0,90±0,10 µm, kolpus sayısını 6, ornemantasyonunu ise granulat bulmuştur. Bulgular göz önüne alındığında, kolpat sayısı ve kolpus genişliğinin ebatı çalışmamız ile uyum içindedir. Araştırmadaki polar çap ve ektoral çap değerlerinin daha yüksek, kolpus uzunluğunun daha düşük ve polen şeklinin prolat-sferoidal olması sonuçlarımız ile farklılığını göstermektedir.

Öztürk (2013) yeni olarak tanımladığı *Asperula anatolica* türünün polen özelliklerini rapor etmiş ve taksonun yakın akrabası *A. comosa* ile karşılaştırmıştır. İki taksonun P ve E değerleri bizim sonuçlarımızdan daha fazla, P/E oranı ise daha düşüktür.

Ayrıca kolpus boy ve enlerinin sahip olduğu değer aralığı da daha geniştir. *A. comosa* türünün polen şekli oblat-sferoidal, *A. anatolica* türünün polen şekli sferoidal çıkması sonuçlarımızla uyuşmamaktadır. Her iki türe ait polen kolpus sayısının 7-8 olması, çalışmamız ile uyumlu olduğu tek özelliğidir.

5.4. Kimyasal Sonuçlar ve Tartışma

Bu çalışmada endemik *A. pestalozzae* ve *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* alttürünün toprak üstü kısımları kullanılmış, bitkilerin toplam fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktivite gibi kimyasal özellikleri incelenmiştir. Deneylelerden elde edilen sonuçlar ayrıntılı şekilde açıklanmıştır. Bu çalışmadaki bitkiler ile ilgili kimyasal analizlerin olmaması, bizi diğer *Asperula* türleri ile karşılaştırmaya yönlendirmiştir.

Yapılan toplam fenolik madde miktarı analizinde; ekstrelerin içerdiği fenolik madde miktarı gram ekstrede, mg gallik asite eşdeğer olarak belirlenmiştir. 1 g *A. pestalozzae* ekstresinde bulunan fenolik madde miktarı 53 mg GAE olup, 1 g *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* ekstresinde bulunan fenolik madde miktarından daha fazla çıkmıştır.

DPPH radikali süpürücü etki tayininde sonuçlar, test edilen konsantrasyonlarda IC₅₀ değeri olarak verilmiştir ve standart antioksidan gallik asit değeri ile kıyaslanmıştır. Ekstrelerin elde edilen IC₅₀ değerleri; gallik asit 0,0011 mg/ml, *A. pestalozzae* ekstresi 0,134 mg/ml, *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* ekstresi 0,382 mg/ml'dir. Düşük IC₅₀ değeri, yüksek antioksidan aktivite olarak değerlendirilmektedir (Seyhan, 2019). Buna göre; ekstreler karşılaştırıldığında *A. pestalozzae* ekstresindeki antioksidan aktivitenin daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, toplam fenolik madde miktarı tayini ile paralellik göstermektedir. Yüksek fenolik madde miktarı ile yüksek antioksidan aktivite arasında doğrusal bir ilişki olduğu söylenebilir.

ABTS radikali süpürücü etki tayininde sonuçlar, test edilen konsantrasyonlarda mM TEAC değeri olarak verilmiştir. 0,1 mg/ml *A. pestalozzae* ekstresi 0,022 mM TEAC, 10 mg/ml *A. pestalozzae* ekstresi için 1,437 mM TEAC; 0,1 mg/ml *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* ekstresi 0,371 mM TEAC, 10 mg/ml *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* ekstresi 0,901 mM TEAC ve gallik asitin 0,1 mg/ml 1,436 mM TEAC, 1 mg/ml 2,630 mM TEAC çıkmıştır. Bu durumda ekstrelerin konsantrasyonları arttıkça, radikal süpürücü etkilerinin de arttığı söylenebilir.

Loizzo vd. (2008) tıbbi kullanımını olan bitkiler arasında, Rubiaceae familyasından *Asperula glomerata* türünü incelemiştir. Folin-Ciocalteu metodu ile total fenolik bileşen

miktarının tayinini yapmıştır. *A. glomerata* ekstresinin toplam fenolik bileşen miktarını $81,5 \pm 0,13$ (mg/g) bulmuştur. Çalışmaya göre; *A. glomerata* ekstresi toplam fenolik madde miktarının, ekstrelerimizin sonucundan daha fazla olduğu görülmektedir.

İran’da yapılmış bir çalışmada, Halimi ve Nasrabadi (2015) *Asperula oppositifolia* türünü kullanmıştır. Bitkinin toprak üstü kısımlarının metanol ile elde edilen ekstraktlarının antioksidan aktivitesi test edilmiş ve yüksek konsantrasyonda yüksek inhibitör etki görülmüştür. Bu sonuç, bizim çalışmamız ile uyumluluk göstermektedir ve çalıştığımız bitkilerin de antioksidan ajanlar için yeni bir kaynak olabileceği söylenebilir.

Minareci vd. (2011) Rubiaceae familyasına ait, 5 endemik *Asperula* cinsinin (*A. brevifolia*, *A. pseudochlorantha* var. *antalyensis*, *A. pseudochlorantha* var. *pseudochlorantha*, *A. purpurea* subsp. *apiculata* ve *A. serotina*) antioksidan aktivitelerini araştırmıştır. Çalışma sonucunda, *Asperula* taksonlarının antioksidan aktivite göstermesi, çalışmamızdaki *Asperula* taksonlarının antioksidan aktivite özelliğini desteklemektedir.

Kırmızıbekmez vd., (2014) *Asperula lilaciflora* türünün toprak üstü kısımları ile çalışmış ve yeni bir flavonol glikozit ile yeni bir iridoid tespit etmişlerdir. Flavonol glikozitin adını lilaciflorasit; iridoitin’i ise asperulojenin olarak bildirmişlerdir. İridoidler dikotil familyaları için taksonomik değere sahip olup, bitkilere antioksidan özellik kazandırmaktadır.

5.5. Genel Sonuç

Endemik *A. pestalozzae* türü ve *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* alttürünün morfolojik, anatomik, palinolojik ve kimyasal özellikleri ilk kez bu çalışmayla ayrıntılı şekilde karşılaştırılarak incelenmiştir. Bu durum, araştırmamızın özgün değerini oluşturmakta ve daha sonraki araştırmalar için katkı veren öncü bir çalışma olduğunu göstermektedir.

Morfolojik çalışmalarda türlerin ayrıntılı tanımı Flora of Turkey (Davis,1982) ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Daha önce hiçbir kaynakta örneklerimize ait çizimler bulunmadığı için, ilk kez bu çalışmada çizimlerinin verildiğini söyleyebiliriz. Çalışılan bitkiler, ülkemizde yayılış gösteren diğer *Asperula* türleri ile karşılaştırılarak benzerlik ve farklılıkları ortaya konulmuştur. Ayrıca SEM de tüy mikromorfojiler ve meyve yapıları ayrıntılı olarak icelenmiş ve fotoğraflandırılmıştır. Morfolojik açıdan türler arasında gövde uzunluğu, çiçek durumunun uzunluğu, korolla boyu, stilus rengi, kısmen meyve boyu ve şekli ayırt edici özellikler olarak dikkat çekmektedir.

Mikromorfolojik açıdan; *A. pestalozzae* korollası tüylü yapısıyla, diğer taksondan kolayca ayrılmaktadır. Ayrıca her iki taksonun korolla ve ovaryum yüzey mikromorfolojisinde farklılıklar bulunmaktadır.

Anatomik çalışmalarda örneklere ait kök, gövde, yaprak ve meyve anatomilerine ilk kez bu çalışmada yer verilmiş, içyapıları fotoğraflandırılarak tanımlanmış bununla birlikte sonuçların genelde taksonları birbirinden ayırıcı özellikte olmadığı belirlenmiştir.

Palinolojik çalışmada SEM de görüntülenen polenlerin ayrıntılı tanımları yapılmış ve elde edilen özelliklerin taksonları ayırıcı karakteristikte olmadığı saptanmıştır.

Taksonların kimyasal özellikleri hem kendi aralarında, hem de diğer *Asperula* türlerinin kimyasal özellikleri ile karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda *Asperula* türleri antioksidan özelliktedir. Örneklerimizin antioksidan aktivite göstermesi fenolik bileşenlerinde flavanoid ve iridoid yapıları taşıyabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle örneklerimizin flavanoid, iridoid, fenolik bileşenlerinin tespiti, ileriki çalışmamızın konusu olarak öngörülmektedir.

KAYNAKÇA

- Akdeniz, S. (2019). *Türkiye’de Yayılış Gösteren Asperula L., Galium L. (Rubiaceae) Cinslerine ait Bazı Taksonların Polen Morfolojileri*. Yüksek Lisans Tezi. Bitlis: Bitlis Eren Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
- Ardıç, M., Koyuncu, O. ve Tokur, S. (2011). Hekimdağ (Bozdağ) Florası, Eskişehir. *Anadolu Üniversitesi Bilim Ve Teknoloji Dergisi*, 1 (1), 35-38.
- Attard, E. (2013). A rapid microtitre plate Folin-Ciocalteu method for the assessment of polyphenols. *Central European Journal of Biology*, 8 (1), 48-53.
- Avcı, M. (2005). Çeşitlilik ve Endemizm Açısından Türkiye’nin Bitki Örtüsü, *İstanbul Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Coğrafya Dergisi*, 13, 25-55.
- Başaran, M.S. ve Adıgüzel, N. (2001). Bolu, Bartın ve Zonguldak İlleri Fındık Bahçelerinin Florasının Tespiti. *Bitki Koruma Bülteni*, 41 (1-2), 39-66.
- Baytop, A. (1977). *Farmasötik Botanik*. (3.baskı). İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları
- Baytop, A. (1998). *İngilizce-Türkçe Botanik Kılavuzu*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları
- Baytop, T. (1999). *Türkiye’de Bitkilerle Tedavi*. (2. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi
- Bremer, B. (1996). Phylogenetic studies within Rubiaceae and relationships to other families based on molecular data. *Opera Botanica Belgica*, 7, 33-50.
- Bremer, B. ve Manen, J.F. (2000). Phylogeny and classification of the subfamily Rubioideae (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 225, 43-72.
- Bremer, B. ve Eriksson, T. (2009). Time Tree Of Rubiaceae: Phylogeny And Dating The Family, Subfamilies, And Tribes. *International Journal of Plant Sciences*, 170 (6), 766-793.
- Brullo, C., Brullo, S., Galdo, G.P.G. ve Scuderi, L. (2009). Taxonomical notes on the Sicilian populations of *Asperula gussonei* (Rubiaceae): *A. peloritana* sp. nov.. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 66 (1), 85-92.

- Büyüktuncel, E. (2013). Toplam Fenolik İçerik Ve Antioksidan Kapasite Tayininde Kullanılan Başlıca Spektrofotometrik Yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17, 93-103.
- Codd, R.B. ve Rich, T.C.G. (2007). Variation in *Asperula cynanchica* L. (Rubiaceae) in the British Isles. *Watsonia*, 26 (1), 433-442.
- Çıngay, B., Ataşlar, E. ve Koyuncu O. (2017). Flora of Eskişehir Yazılıkaya Valley and Its Environs. *Biological Diversity and Conservation*, 10 (3), 43-57.
- Daşkın, R. (2008). *Uludağ Florası*. Doktora Tezi, Bursa: Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
- Davis, P.H. (1982). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Volume 7. Edinburgh: Edinburgh University Press, 722-767.
- Del Guacchio, E. ve Caputo, P. (2005). Taxonomic notes on *Asperula neglecta* Guss. and *Asperula nitens* Guss. (Rubiaceae), and typification of their names. *Webbia*, 60 (2), 569-576.
- Del Guacchio, E., Gargiulo, R. ve Caputo, P. (2017). *Asperula calabra* (Rubiaceae) and allied taxa in southern Apennines, Italy. *Plant Biosystems*, 151 (2), 352-360.
- Del Guacchio, E. ve Caputo, P. (2020). Splitting *Asperula* (Rubiaceae): a proposal for consistency purposes within sections *Cynanchicae*, *Thliphthisa* and *Hexaphylla*. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing With All Aspects Of Plant Biology*, 154 (5), 766-782.
- Dere, H.H., Koyuncu, O., Yaylacı, Ö.K., Öztürk, D., Özgişi, K., Sezer, O. ve Savaroğlu, F. (2013). Kırka (Eskişehir) ve Çevresinin Damarlı Bitki Florası. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 14 (1), 70-93.
- Ehrendorfer, F., Barfuss, M.H.J. (2014). Paraphyly And Polyphyly In The Worldwide Tribe Rubieae (Rubiaceae): Challenges For Generic Delimitation. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 100 (1/2), 79-88.
- Ehrendorfer, F., Barfuss, M.H.J., Manen, J.F. ve Schneeweiss, G.M. (2018). Phylogeny, character evolution and spatiotemporal diversification of the speciesrich and world-wide distributed tribe Rubieae (Rubiaceae). *PLOS ONE*, 13 (12), 1-26.

- Eken, G. ve Ataol, M. (2006). Türkiye'nin Biyocoğrafyası. G. Eken, M. Bozdoğan, S. İsfendiyaroğlu, D.T. Kılıç ve Y. Lise (Ed.), *Türkiye'nin Önemli Doğa Alanları* içinde (s. 23-28). Ankara: Doğa Derneği.
- Erdem, C.B. (2018). *Abbaslık Köyü (Bilecik) Florası Ve Etnobotanik Özellikleri*. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
- Erdir, M. ve Türe, C. (2003). Plant Diversity And General Ecological Characteristics Of A Protected Area Of Musaözü Dam And Its Environment (Eskişehir, Turkey). *Anadolu Üniversitesi Bilim Ve Teknoloji Dergisi*, 4 (2), 301-322.
- Gargiulo, R. (2013). *Phylogeny of Asperula L. sect. Cynanchicae (DC.) Boiss. (Rubiaceae)*, Doktora Tezi. İtalya: NAPLES "FEDERICO II" Üniversitesi: Biyoloji Bölümü.
- Gargiulo, R., Guacchio, E. ve Caputo, P. (2015). Phylogenetic reconstruction of *Asperula* sect. *Cynanchicae* (Rubiaceae) reveals a mosaic of evolutionary histories. *Taxon*, 64 (4), 754-769.
- Gargiulo, R., Castro, O., Guacchio, E. ve Caputo, P. (2019). Genetic diversity and origin of the rare, narrow endemic *Asperula crassifolia* (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 305, 181-192
- Gemici, Y., Seçmen, Ö., Ekim, T. ve Leblebici, E. (1992). Türkiye'de Endemizm ve İzmir Yöresinin Bazı Endemikleri. *Ege Coğrafya Dergisi*, 6 (1), 61-83.
- Gregor, T., Meierott, L. ve Raus, T. (2016). *Asperula tymphaea* (Rubiaceae) – A New Species From Northern Pindus, Greece. *Phytologia Balcanica*, 22 (2), 255-258.
- Gücel, S. ve Seçmen Ö. (2009). Conservation biology of *Asperula daphneola* (Rubiaceae) in Western Turkey. *Turkish Journal Of Botany*, 33, 257-262.
- Gücel, S. (2015). Morphology, anatomy and cytology of critically endangered endemic *Asperula daphneola* from, West Anatolia, Turkey. *Journal of Environmental Biology*, 36 (1), 129-132.
- Güner, Ö. ve Akçiçek, E. (2014). Ulus Dağı (Balıkesir-Türkiye)'nin Endemik ve Nadir Bitkileri. *Bağbahçe Bilim Dergisi*, 1 (3), 32-38.

- Güvenalp, Z. ve Demirezer, L.Ö. (2005). Flavonol Glycosides from *Asperula arvensis* L. *Turkish Journal of Chemistry*, 29 (2), 163-169.
- Halimi, M. ve Nasrabadi, M. (2015). Essential oil composition and antioxidant activity of aerial parts of *Asperula oppositifolia* collected from Darkesh, Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 9 (46), 1118-1122.
- Jansen, S., Robbrecht, E., Beeckman, H. ve Smets, E. (2002). A Survey Of The Systematic Wood Anatomy Of The Rubiaceae. *IAWA Journal*, 23 (1), 1-67.
- Kala, S.C. (2015). Medicinal Attributes Of Family Rubiaceae. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 5 (2), 179-181.
- Kalyoncu, F., Minareci, E. ve Minareci, O. (2009). Antimicrobial Activity of Five Endemic *Asperula* Species from Turkey. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 8 (4), 263-268.
- Kargioğlu, M., Cenkci, S. ve Dayan, S. (2007). Afyonkarahisar Sınırlarında Yayılış Gösteren Endemik Bitkiler Ve Tehlike Kategorileri. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 7 (1), 287-311.
- Kırmızıbekmez, H., Bardakçı, H., Masullo, M., Kamburoğlu, Ö., Eryılmaz, G., Akaydın, G., Yeşilada, E. ve Piacente, S. (2014). Flavonol Glycosides and Iridoids from *Asperula lilaciflora*. *Helvetica Chimica Acta*, 97 (11), 1571-1576.
- Kırmızıbekmez, H., Tiftik, K., Kusz, N., Orban-Gyapai, O., Zomborszki, Z.P. ve Hohmann, J. (2017). *Chemistry & Biodiversity*, 14 (3), 1-7.
- Kocaman, B.G., Yaylacı, Ö.K., Özgişi, K., Sezer, O., Koyuncu, O. ve Erkara, İ.P. (2017). Pazaryeri (Bilecik) ve çevresinin damarlı bitkiler florası. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 18 (1), 36-50.
- Koyuncu, O., Yaylacı, Ö.K., Öztürk, D., Özgişi, K., Sezer, O., Savaroğlu, F., Erkara, İ.P. ve Ocak, A. (2012). Vascular Plant Diversity of Osmaneli (Bilecik-Turkey). *Scottish Journal of Arts*, 7 (1), 78-129.
- Köse, Y.B. ve Ocak, A. (2004). The Flora of the Northern Part of the Emirdağ Mountains. *Turkish Journal of Botany*, 28, 369-390.

- Loizzo, M.R., Saabb, A.M., Tundisa, R., Menichinia, F., Bonesia, M., Piccoloa, V., Statti, G.A., De Cindioc, B., Houghtond, P.J. ve Menichinia, F. (2008). In vitro inhibitory activities of plants used in Lebanon traditional medicine against angiotensin converting enzyme (ACE) and digestive enzymes related to diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 119 (1), 109-116.
- Martins, D. and Nunez, C.V. (2015). Secondary Metabolites from Rubiaceae Species. *Molecules*, 20 (7), 13422-13495.
- Metcalf, C.R. and Chalk, L. (1950). *Anatomy of the Dicotyledons*, Vol 2. Oxford Univ. Press, London. 759-776.
- Minareci, E. (2007). *Türkiyede Yayılış Gösteren Asperula L. (Rubiaceae) Cinsi Thlipthisa (Griseb.) Ehrend. Seksiyonunun Revizyonu*. Doktora Tezi. Manisa: Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
- Minareci, E. ve Yıldız K. (2010). *Asperula pseudochlorantha* var. *antalyensis* comb. et stat. nov. (Rubiaceae). *Annales Botanici Fennici*, 47, 121-128.
- Minareci, E., Yıldız, K. and Çırpıcı, A. (2010). Comparative morphological and palynological study on poorly known *Asperula serotina* and its closest relative *A. purpurea* subsp. *apiculata*. *Scientific Research and Essays*, 5 (17), 2472-2479.
- Minareci, E., Ergönül, B., Kayalar, H. ve Kalyoncu, F. (2011). Chemical Compositions And Antioxidant Activities Offive Endemic *Asperula* Taxa. *Archives of Biological Sciences*, 63 (3), 537-543.
- Minareci, E. ve Yıldız, K. (2011). Karyotype characterization of Turkish taxa of the genus *Asperula* L.- section *Thlipthisa* (Rubiaceae). *Indian Society of Genetics & Plant Breeding*, 71 (1), 49-54.
- Ocak, A. ve Tokur, S. (2000). The Flora of Gülümbe Dağı (Bilecik-Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 24, 121-141.
- Ocak, A., Hüner, G. ve Ataşlar E. (2008). The Flora of Kalabak Basın (Eskişehir, Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 32, 381-410.
- Okan, O.T., Varlıbaş, H., Öz, M. ve Deniz, İ. (2013). Antioksidan Analiz Yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Antioksidan Kaynağı Olarak Kullanılabilecek Odun

- Dışı Bazı Bitkisel Ürünler. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 13 (1), 48-59.
- Özaydın, B.U. ve Yücel, E. (2004). Mihalıççık İlçesinin (Eskişehir) Florası. *Anadolu Üniversitesi Bilim Ve Teknoloji Dergisi*, 5 (1), 83-106.
- Özgen, U. ve Coşkun, M. (1999). *Asperula taurina* L. Subsp. *Caucasica* (Pobed.) Ehrend. (Rubiaceae) Üzerinde Morfolojik Ve Anatomik Çalışmalar. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 28 (2), 71-83.
- Özgen U., Kazaz, C., Seçen, H. ve Coşkun, M. (2006). Phytochemical Studies on the Underground Parts of *Asperula taurina* subsp. *caucasica*. *Turkish Journal of Chemistry*, 30 (1), 15-20.
- Özgen, U., Şener, S.Ö., Badem, M., Seçinti, H., Hatipoğlu, S.D., Gören, A.C., Kazaz, C. ve Palaska, E. (2018). Evaluation Of HPLC, Phytochemical, Anticholinesterase And Antioxidant Profiles Of The Aerial Parts Of *Asperula taurina* subsp. *caucasica*. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 42 (1), 1-13.
- Öztürk, M. (2013). *Asperula anatolica* (Rubiaceae), a new species from south-east Anatolia, Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 37 (1), 46-54.
- Pınar, M., Akgül, G. ve Tuğ, G.N. (2003). *Palinoloji Laboratuvar Kılavuzu*. (66). Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Döner Sermaye İşletmesi Yayınları.
- Plesca, I.M., Blaga, T. ve Dincă, L. (2020). *Asperula* L. Species Preserved in ‘Alexandru Beldie’ Herbarium. *Bulletin UASVM Horticultur*, 77 (1), 92-98.
- Punt, W., Hoen, P.P., Blackmore, S., Nilsson, S. ve Le Thomas, A. (2007). Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 143, 1-81.
- Robbrecht, E. ve Manen, J.F. (2006). The Major Evolutionary Lineages of the Coffee Family (Rubiaceae, Angiosperms). Combined Analysis (nDNA and cpDNA) to Infer the Position of *Coptosapelta* and *Luculia*, and Supertree Construction Based on *rbcL*, *rps16*, *trnL-trnF* and *atpB-rbcL* Data. A New Classification in Two Subfamilies, *Cinchonoideae* and *Rubioideae*. *Systematics and Geography of Plants*, 76 (1), 85-145.

- Seyhan, S.A. (2019). DPPH• Antioksidan Analizinin Yeniden Değerlendirilmesi. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 9 (2), 126-135.
- Sezer, O., Öztürk, D., Ocak, A. ve Koyuncu, O. (2017). Frigya Vadisi Florası (Dağlık Frigya/Türkiye). *Biological Diversity and Conservation*, 10 (3), 163-183.
- Soza, V.L. and Olmstead, R.G. (2010). Molecular systematics of tribe Rubieae (Rubiaceae): Evolution of major clades, development of leaf-like whorls, and biogeography. *Taxon*, 59 (3), 755–771.
- Şenkul, Ç. ve Kaya, S. (2017). Türkiye endemik bitkilerinin coğrafi dağılışı. *Türk Coğrafya Dergisi*, 69, 109-120.
- Şenol, S., G. ve Yıldırım, H. (2010). A new distribution area of *Asperula daphneola* (Rubiaceae) in Western Turkey and it's new recommended IUCN threat category. *Biological Diversity and Conservation*, 3 (2), 123-127.
- Tanker, M. ve Tanker, N. (1991). *Farmakognozi*. Ankara: Ankara Üniversitesi Basım evi.
- Türe, C. ve Tokur, S. (2000). The Flora of the Forest Series of Yirce-Bürmece-Kömürsu and Muratdere (Bilecik-Bursa, Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 24, 47-66.
- Türe, C., Tire, E. ve Böcük, H. (2007). Vascular plant diversity and general ecological characteristics of Ahi mountain (Bilecik, Turkey). *Anadolu Üniversitesi Bilim Ve Teknoloji Dergisi*, 8 (2), 423-448.
- Tzakou, O., Lempesis, K. and Loukis, A. (2011). Secondary Metabolites from *Asperula lutea* subsp. *rigidula*. *Natural Product Communications*, 6 (2), 237-238.
- Ülgen, C. (2019). *Anadolu Bozkır Bitkilerinin Fonksiyonel Karakter Örüntüleri*. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
- Valli, A.T., Koumandou, V.L., Iatrou, G., Andreou, M., Papatziropoulos, V. ve Trigas, P. (2021). Conservation biology of threatened Mediterranean chasmophytes: The case of *Asperula naufraga* endemic to Zakynthos island (Ionian islands, Greece). *PLOS ONE*, 16 (2), 1-21.
- Vural, M. ve Adıgüzel, N. (2006). Türkiye'nin Doğal Yaşam Ortamları. G. Eken, M. Bozdoğan, S. İsfendiyoğlu, D.T. Kılıç ve Y. Lise (Ed.), *Türkiye'nin Önemli Doğa Alanları* içinde (s. 28-30). Ankara: Doğa Derneği.

- Walker, J.W. ve Doyle, J.A. (1975). *The Bases of Angiosperm Phylogeny: Polynology*. Ann. Missouri Bot. Gard. 62, 664-723.
- Yurchenko, N.S., Ilyina, T.V. ve Kovaleva, A.M. (2013). Amino-Acid Composition Of *Asperula odorata* Herb. *Chemistry of Natural Compounds*, 49 (2), 401-402.
- Yurchenko, N.S., Ilyina, T.V., Kovaleva, A.M., Toryanik, E.L. ve Kulish, I.A. (2015). The Antihypoxic and Sedative Activity of the Dry extract from *Asperula odorata* L. *Pharmacognosy Communications*, 5 (4), 233-236.
- Zografidis, A. (2017). New Floristic Records In Greece. *Parnassiana Archives*, 5, 61-66.
- http-1: <https://bizimbitkiler.org.tr/yeni/demos/technical/> (Eriřim tarihi: 03.02.2021)
- http-2: <http://www.tubives.com/> (Eriřim tarihi: 07.02.2021)
- http-3: <https://www.bebka.org.tr/bolgemiz/bilecik-16> (Eriřim tarihi: 07.02.2021)
- http-4: https://www.bebka.org.tr/admin/datas/yayins/197/2018-12-doga-bilecikl_1545052305.pdf (Eriřim tarihi: 07.02.2021)
- http-5: https://www.bebka.org.tr/admin/datas/sayfas/198/bozuyuk-ilce-raporu_1568788074.pdf (Eriřim tarihi: 07.02.2021)
- http-6: <https://www.bebka.org.tr/bolgemiz/eskisehir-15> (Eriřim tarihi:07.02.2021)
- http-7: https://www.bebka.org.tr/admin/datas/sayfas/198/inonu-ilce-raporu_1568787732.pdf (Eriřim tarihi: 07.02.2021)
- http-8: <http://exa.unne.edu.ar/carreras/docs/9-Asterides.pdf> (Eriřim tarihi:08.03.2021)
- http-9: <https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=ASPER2> (Eriřim Tarihi: 08.03.2021)
- http-10: <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:331373-2> (Eriřim Tarihi: 16.03.2021)
- http-11: <http://www.tehditalindabitkiler.org.tr/v2/index.php?sayfa=listele&sinif=alfabetik> (Eriřim tarihi: 16.03.2021)
- http-12: <http://www.tubives.com/> (Eriřim tarihi: 16.03.2021)

http-13: <https://orbisec.com/tree-and-shrub-leaf-arrangement/leaf-arrangement/>
(Eriřim tarihi: 02.03.2021)

http-14: http://www.northernontarioflora.ca/inflorescence_types.cfm
(Eriřim tarihi: 02.03.2021)

http-15: <https://id.pinterest.com/pin/860469072539617694/> (Eriřim tarihi: 02.03.2021)

http-16: <https://dspace.nuph.edu.ua/bitstream/123456789/13079/1/404.pdf>
(Eriřim tarihi: 30.03.2021)

http-17: <http://www.theplantlist.org/tpl/record/kew-17026> (Eriřim tarihi: 11.04.2021)

http-18: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-16941> (Eriřim tarihi: 11.04.2021)