

**TÜRKİYE'DEKİ BAZI *POLYGALA* L. (*POLYGALACEAE*)
TAKSONLARININ KROMOZOM SAYIMI VE AKIŞ
SİTOMETRİ (FCM) TEKNİKLERİ İLE SİTOTAKSONOMİSİ**

**CYTOTAXONOMY OF SOME TURKISH *POLYGALA* L.
(*POLYGALACEAE*) TAXA WITH CHROMOSOME
COUNTING AND FLOW CYTOMETRY (FCM)
TECHNIQUES**

MUSTAFA KORAY ŞENOVA

PROF. DR ALİ A. DÖNMEZ

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2021

Babam Ahmet ŞENOVA'ya...

ÖZET

TÜRKİYE'DEKİ BAZI *POLYGALA* L. (*POLYGALACEAE*) TAKSONLARININ KROMOZOM SAYIMI VE AKIŞ SİTOMETRİ (FCM) TEKNİKLERİ İLE SİTOTAKSONOMİSİ

Mustafa Koray ŞENOVA

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali A. DÖNMEZ

Ağustos 2021, 80 sayfa

Bu çalışmada, *Polygala supina*, *P. anatolica*, *P. papilionacea*, *P. inexpectata*, *P. hohenackeriana*, *P. vulgaris*, *P. alpestris*, *P. peshmenii*, *P. turcica* ve *P. monspeliaca* taksonlarının somatik kromozom sayıları ve 2C çekirdek DNA içerikleri belirlenmiştir. Örneklerin kromozom sayıları bakımından en düşük kromozom sayısına sahip takson *P. alpestris* ($2n=24$), en yüksek kromozom sayısına sahip takson *P. vulgaris* ($2n=68$, $2n=70$) olarak belirlenmiştir. Kromozom sayımı çalışmalarına göre (*P. vulgaris*) türünde $2n=4x=68$ kromozom sayısı ile tetraploidi tespit edilmiştir. *P. papilionacea* ($2n=42$), *P. inexpectata* ($2n=34$), *P. peshmenii* ($2n=34$) ve *P. turcica* ($2n=38$) türlerinin kromozom sayıları ilk kez belirlenmiştir. *P. alpestris*, *P. papilionacea*, *P. anatolica* ve *P. vulgaris* taksonları somatik kromozom sayıları bakımından diğer taksonlardan ayrılmıştır. Akış sitometri çalışması bu türler için 24 farklı populasyon ve 66 farklı birey üzerinden gerçekleştirilmiştir. 2C çekirdek DNA içeriği en düşük takson 0,50 pg ile *P. monspeliaca* en yüksek takson 2,42 pg ile *P. alpestris*'dir. *P. monspeliaca*

0,50 pg değeri ile ekirdek DNA içeriği bakımından diğer tüm taksonlardan ayrılmıştır. Bu alışma ile hem 3 *Polygala* türünde kromozom sayımı, 7 *Polygala* türünde 2C ekirdek DNA içeriği ilk kez belirlenmiş hem de bu değerler bakımından üzerinde çalıştığımız *Polygala* taksonlarından bazılarının birbirinden farklı olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Akış sitometri, ekirdek DNA içeriği, Kromozom sayımı, Poliploidi, *Polygala*, Sitotaksonomi

ABSTRACT

CYTOTAXONOMY OF SOME TURKISH *POLYGALA* L. (*POLYGALACEACE*) TAXA WITH CHROMOSOME COUNTING AND FLOW CYTOMETRY (FCM) TECHNIQUES

Mustafa Koray ŞENOVA

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Ali A. DÖNMEZ

August 2021, 80 pages

In this study, somatic chromosome numbers and 2C nuclear DNA contents of some *Polygala* species which are *Polygala supina*, *P. anatolica*, *P. papilionacea*, *P. inexpectata*, *P. hohenackeriana*, *P. vulgaris*, *P. alpestris*, *P. peshmenii*, *P. turcica* and *P. monspeliaca* taxa were investigated. The taxon with the lowest chromosome number in terms of chromosome numbers of the specimens was determined as *P. alpestris* ($2n=24$), and the taxon with the highest chromosome number was determined as *P. vulgaris* ($2n=68$, $2n=70$). According to chromosome count studies, tetraploidy with $2n=4x=68$ chromosome number was detected in *P. vulgaris* species. Chromosome numbers of *P. papilionacea* ($2n=42$), *P. inexpectata* ($2n=34$), *P. peshmenii* ($2n=34$) and *P. turcica* ($2n=38$) species were determined for the first time. *P. alpestris*, *P. papilionacea*, *P. anatolica* and *P. vulgaris* taxa differed from all other taxa in terms of somatic

chromosome numbers. Flow cytometric analysis (or nuclear DNA content analysis) was carried out on 24 different populations and 66 different individuals for these species. Based on the results of flow cytometric analysis the lowest 2C nuclear DNA content (0.50 pg) was observed in *P. monspeliaca* while the highest 2C nuclear DNA content (2.42 pg) was observed in *P. alpestris*. *P. monspeliaca* was easily distinguished from other taxa as it had the most different nuclear DNA content. In this study, both the chromosome count in 3 *Polygala* species and the 2C nuclear DNA content in 7 *Polygala* species were determined for the first time and it was determined that some of the *Polygala* taxa we studied were different from each other in terms of these values.

Keywords: Chromosome counting, Cytotaxonomy, Flow cytometry, Nuclear DNA content, *Polygala*, Polyploidy

TEŞEKKÜR

Gerek lisans gerekse yüksek lisans öğrenimimde mesleki bilgilerinden faydalandığım, bilimsel anlamda yol gösterici tavsiyeleriyle her zaman yanımda olan ve bu tez çalışmasına ait örneklerin temin ve teşhisinde yoğun emeklerinden dolayı çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Ali A. DÖNMEZ'e;

Lisansüstü öğrenimime başlamam konusundaki desteği başta olmak üzere her türlü desteğinden dolayı değerli hocam Doç. Dr. Zübeyde UĞURLU AYDIN'a;

Akış sitometri çalışmalarında mesleki deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Metin TUNA ve ekibine, karyolojik çalışmalarda bana yol göstererek yolumu aydınlatan değerli hocam Prof. Dr. Esra MARTİN ve öğrencisi Esra KAVCI'ya;

Tez çalışmasına ait örneklerin temini konusunda yardımlarını esirgemeyen Dr. Fulya YÜCEOL ve Ayşe CANTAŞ ÜNLÜ'ye;

Bilimsel önerileriyle ve dostluklarıyla her zaman yanımda olan değerli çalışma arkadaşlarım Yasin KAYA, Fatmanur KIÇAR ve Cemre ERTUŞ'a;

Çimlendirme çalışmalarında bana yardımcı olan başta Zafer Can ERDOĞAN olmak üzere MOBİS özel çalışma öğrencilerine;

Her anımda yanımda olan ve desteklerini her zaman hissettiğim değerli arkadaşlarım Kıvanç SEVİM, Ahmet SÜNBÜL ve Oğuzcan ÖZDEMİR'e;

Bu tez çalışması TÜBİTAK-KBAG 118Z708 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir. Maddi destek için TÜBİTAK'a;

Başta annem olmak üzere canım aileme; yanımda oldukları ve bütün destekleri için çok teşekkür ederim.

Mustafa Koray ŞENOVA

Ağustos 2021, Ankara

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. <i>Polygalaceae</i> Familyası.....	1
1.2. <i>Polygalaceae</i> ve <i>Polygala</i> 'nın Taksonomisi.....	2
1.3. <i>Polygalaceae</i> 'nin Biyocoğrafik Yapısı ve Dispersal Stratejisi.....	5
1.3.1. Dispersal Stratejisi.....	7
1.4. Kromozom Sayımı	8
1.5. Akış Sitometri	13
1.6. Sitotaksonomi	16
1.7. Amaç ve Hedefler	18
2. MALZEMELER VE YÖNTEMLER	19
2.1. Arazi Çalışması.....	19
2.2. Çimlendirme Çalışması.....	26
2.2.1 Petride Çimlendirme	26
2.2.2 Viyolde Çimlendirme	26
2.3. Kromozom Sayımı	28
2.3.1 Analiz Öncesi Hazırlık Aşaması.....	28

2.3.2 Analiz Aşaması	28
2.3.3 Görüntüleme Aşaması.....	28
2.4. Akış Sitometri (Flow Cytometry – FCM) Çalışması	29
2.5. Veri Analizi	31
3. SONUÇLAR	32
3.1. Karyolojik Bulgular	32
3.1.1. <i>Polygala supina</i>	32
3.1.2. <i>Polygala anatoica</i>	33
3.1.3. <i>Polygala papilionacea</i>	34
3.1.4. <i>Polygala inexpectata</i>	34
3.1.5. <i>Polygala hohenackeriana</i>	35
3.1.6. <i>Polygala vulgaris</i>	36
3.1.7. <i>Polygala alpestris</i>	38
3.1.8. <i>Polygala peshmenii</i>	38
3.1.9. <i>Polygala turcica</i>	39
3.1.10. <i>Polygala monspeliaca</i>	40
3.2. Akış Sitometrik Bulgular.....	42
3.2.1. <i>Polygala supina</i>	42
3.2.2. <i>Polygala anatoica</i>	43
3.2.3. <i>Polygala papilionacea</i>	45
3.2.4. <i>Polygala inexpectata</i>	46
3.2.5. <i>Polygala hohenackeriana</i>	48
3.2.6. <i>Polygala vulgaris</i>	49
3.2.7. <i>Polygala alpestris</i>	49
3.2.8. <i>Polygala peshmenii</i>	50
3.2.9. <i>Polygala turcica</i>	52
3.2.10. <i>Polygala monspeliaca</i>	53
4. TARTIŞMA.....	60
4.1. Karyolojik Değerlendirme.....	60
4.1. Akış Sitometrik Değerlendirme	62
4.1. Sitotaksonomik Değerlendirme.....	65

5. KAYNAKLAR	69
EKLER.....	83
EK 6 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu.....	83
ÖZGEÇMİŞ	84

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Polygalaceae</i> familyasına ait soyların jeolojik zaman içerisindeki oluşumu.....	6
Şekil 1.2. <i>Polygala vulgaris</i> türüne ait tohum yapısı.....	8
Şekil 1.3. Sentromer bölgesine göre kromozomların adlandırılması.....	9
Şekil 2.1. Tez çalışması kapsamında toplanan bitkilerin coğrafi dağılımı.....	19
Şekil 2.2. Üzerinde çalışılan bazı <i>Polygala</i> türlerine ait fotoğraflar.....	20
Şekil 2.3. Çimlendirilen örnekler ve çimlendirme kabini.....	26
Şekil 2.4. Çimlendirme çalışmasında elde edilen materyaller.....	27
Şekil 2.5. Kromozom sayımı çalışması aşamaları.....	29
Şekil 2.6. Akış sitometri analiz basamakları.....	30
Şekil 3.1. AAD 20792 numaralı <i>P. supina</i> örneğine ait kök ucu dokusu.....	32
Şekil 3.2. <i>P.anatolica</i> örneklerine ait somatik kromozom görüntüleri.....	33
Şekil 3.3. <i>P.papilionacea</i> örneğine ait somatik kromozom görüntüsü.....	34
Şekil 3.4. <i>P.inexpectata</i> örneğine ait somatik kromozom görüntüsü.....	35
Şekil 3.5. <i>P.hohenackeriana</i> örneğine ait somatik kromozom görüntüsü.....	36
Şekil 3.6. <i>P.vulgaris</i> örneklerine ait somatik kromozom görüntüleri.....	37
Şekil 3.7. <i>P.alpestris</i> örneğine ait somatik kromozom görüntüsü.....	38
Şekil 3.8. <i>P.peshmenii</i> örneklerine ait somatik kromozom görüntüleri.....	39
Şekil 3.9. <i>P.turcica</i> örneğine ait somatik kromozom görüntüsü.....	40
Şekil 3.10. <i>P.monspeliaca</i> örneklerine ait somatik kromozom görüntüleri.....	41
Şekil 3.11. <i>P. anatolica</i> örneği (MKŞ 015-2) ve standart bitkiye (<i>Vicia sativa</i>) ait G1 pikleri	45
Şekil 3.12. <i>P. papilionacea</i> örneği (AAD 20746-1) ve standart bitkiye (<i>Vicia sativa</i>) ait G1 pikleri.....	46
Şekil 3.13. <i>P. inexpectata</i> örneği (AAD 20820-1) ve standart bitkiye (<i>Vicia sativa</i>) ait G1 pikleri.....	47
Şekil 3.14. <i>P. hohenackeriana</i> (AAD 11415) örneği ve standart bitkiye (<i>Vicia sativa</i>) ait G1 pikleri.....	48
Şekil 3.15. <i>P. peshmenii</i> (AAD 20389-3) örneği ve standart bitkiye (<i>Lycopersicon esculentum</i>) ait G1 pikleri.....	52

Şekil 3.16. <i>P. turcica</i> örneği (AAD 19552-1) ve standart bitkiye (<i>Vicia sativa</i>) ait G1 pikleri	53
Şekil 3.17. <i>P. monspeliaca</i> (AAD 20797-3) örneği ve standart bitkiye (<i>Lycopersicon esculentum</i>) ait G1 pikleri.....	55
Şekil 3.18. Çekirdek DNA içeriği belirlenen tüm örnekler için temel bileşenler analizi.	57
Şekil 4.1. Standart olarak fiğ bitkisi kullanılan örnekler için temel bileşenler analizi.	63
Şekil 4.2. Standart olarak domates bitkisi kullanılan örnekler için temel bileşenler analizi.	64
Şekil 4.3. Çekirdek DNA miktarının kromozom sayısına olan korelasyon matrisi.	66
Şekil 4.4. Çekirdek DNA miktarına göre taksonların kümeleneşmesi.....	67

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Türkiye'de Yayılış Gösteren <i>Polygala</i> Taksonları.....	4
Çizelge 1.2. Bazı <i>Polygala</i> taksonlarına ait haploid kromozom sayıları.	10
Çizelge 2.1. Tez çalışmasında kullanılan <i>Polygala</i> örneklerine ait toplama bilgileri.....	21
Çizelge 2.2. İklimlendirme kabini parametreleri.....	27
Çizelge 3.1. <i>P. supina</i> örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler.	42
Çizelge 3.2. <i>P. anatolica</i> örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler.....	43
Çizelge 3.3. <i>P. papilionacea</i> örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler.....	45
Çizelge 3.4. <i>P. inexpectata</i> örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler.....	47
Çizelge 3.5. <i>P. hohenackeriana</i> örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler.....	48
Çizelge 3.6. <i>P. vulgaris</i> örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler.....	49
Çizelge 3.7. <i>P. alpestris</i> örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler.....	50
Çizelge 3.8. <i>P. peshmenii</i> örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler.....	51
Çizelge 3.9. <i>P. turcica</i> örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler.	53
Çizelge 3.10. <i>P. monspeliaca</i> örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler.....	54
Çizelge 3.11. Çalışılan örneklere ait çekirdek DNA içeriği güven aralıkları	55
Çizelge 3.12. Çalışılan örneklerin genel sonuçları	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μ l	Mikrolitre
μ m	Mikrometre

Kısaltmalar

AC	Ayşe Cantaş'a ait toplayıcı kodu
AAD	Ali A. Dönmez'e ait toplayıcı kodu
APG	Angiosperm Phylogeny Group
m	Metasentrik kromozom
MKŞ	M. Koray Şenova'ya ait toplayıcı kodu
NaClO	Sodyum hipoklorit
sm	Submetasentrik kromozom
st	Subtelosentrik kromozom
t	Telosentrik kromozom
EDT	Eski Dünya Taksonları
YDT	Yeni Dünya Taksonları

1. GİRİŞ

1.1 *Polygalaceae* Familyası

Polygalaceae familyası APG sistemine göre *Fabales* takımı içerisinde yer alır ve dört tribusa ayrılan, 29 cins ve kabul edilmiş 1200 taksondan oluşur [1]. Arktik zonlar, Antarktika ve Yeni Zelanda dışında kozmopolit yayılış gösteren bir familyadır [2], [3]. Tek yıllık ve aynı zamanda çok yıllık otsu formları ile çalı, yarı çalı, ağaç ve sarılıcı formlarda olabilirler [4]. Bu familyaya ait bitkilerin galatagog ve galaktojen içerdiğinden esinlenerek isimlendirildiği düşüncesi bilim dünyasında hakimdir [5]. *Polygalaceae*, *Fabales* takımı içerisinde temsil edilen takson sayısı bakımından *Fabaceae* familyasından sonra gelmektedir. *Fabaceae* familyası 773 cins ve kabul edilmiş 22.089 takson ile ekonomik önemi bakımından oldukça önemli familyalardan biridir [6]. Takım içerisindeki diğer familyalar *Surianaceae* ve *Quillajaceae* şeklinde sıralanmaktadır. Çoğunlukla Avustralya ve Güney Amerika kıtalarında yayılış gösteren bu iki küçük familya sınırlı sayıda takson ile temsil edilmektedir. *Surianaceae* familyası yalnızca dört cins ve altı takson ile temsil edilirken, *Quillajaceae* familyası tek cins ve kabul edilmiş iki takson ile temsil edilmektedir [7].

Polygalaceae familyasına ait bazı taksonların tıbbi bitki olarak kullanımı oldukça yaygındır. Özellikle saponin, ksanton, flavonoid, kumarin vb. bileşikleri içermelerinden dolayı tıbbi olarak ciddi bir öneme sahiptir [8]. Kuzey Amerika yayılışlı olan *Polygala senega* L. türünün kökleri organizmada inflamasyon gidermesi, diüretik etki göstermesi ve yılan ısırığının tedavisinde kullanılmasından dolayı geleneksel olarak yerel halk tarafından tedavilerde önemli rol üstlenmiştir. Bir başka tür olan Çin yayılışlı *Polygala tenuifolia* Willd.'nın kökleri ise içeriğinde bulunan yoğun saponin sebebiyle astım, bronşit ve öksürük tedavisinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır [8]. *P. tenuifolia*'nın kök ekstarktları aynı zamanda depresyon belirtilerini azaltmakta modern tıpta kullanılmaktadır [9]. Diğer taksonlardan *P. paniculata* L. ve *P. japonica* Houtt.'a ait ekstraktlarının da depresyon belirtilerini azaltıcı etki gösterdikleri raporlanmıştır [10]. Yalnızca *Polygala* taksonları değil familyaya ait diğer taksonların kimyasal bileşikleri de tıbbi olarak kullanılmaktadır. Avustralya'nın kuzeydoğu bölgesinde doğal yayılış

gösteren *Xanthophyllum fragrans* C.T. White'in yaprak ekstraktları, hastane mikrobiyotipi olarak da bilinen, antibiyotiğe dirençli suşları bulunan *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin büyümesini kısıtlayıcı özellik göstermektedir [11]. Afrika'da yayılış gösteren *Securidaca longepedunculata* Fresen.'nin oldukça fazla sayıda tıbbi özelliğe sahip olduğu ve çeşitli amaçlar için geleneksel tıpta kullanıldığı bilinmektedir; ağrı kesici olarak zührevi rahatsızlıkların tedavisi gibi çeşitli alanlarda kullanıldığı gibi, aynı zamanda *S. longepedunculata* HIV replikasyonu üzerinde selektif inhibisyona sahip olduğu yayınlanmıştır [12].

Ayrıca *Polygala myrtifolia* L. ve *Polygaloides chamaebuxus* (L.) O.Schwarz bahçe bitkisi olarak ekonomik öneme sahiptir.

1.2 Polygalaceae ve Polygala'nın Taksonomisi

Tez çalışmasına konu olan *Polygala* cinsi Linneaus tarafından, dünya ölçeğinde 22 türü olan bir cins olarak yayınlanmıştır [13]. *Polygala* genelinde ilk taksonomik düzenlemeyi Candolle (1824) *Polygala*'yı sekiz ayrı seksiyona ayırarak yapmıştır [14]. İlk kapsamlı taksonomik sınıflandırma çalışması Chodat (1891) tarafından yapılmış seksiyonlar, alt seksiyonlar, seriler ve alt serileri içeren, o güne kadar bilinen tüm *Polygala* taksonları için cins altı bir sınıflandırma önerilmiştir [15]. Başlangıçta, Chodat (1891) *Polygala*'yı on iki alt seksiyona ayırmış, 1893'te adlandırma çalışmalarını gerçekleştirmiştir [16]. 1896'da birkaç başka seri ve alt seksiyonu tanımlamış, familyayı *Polygaleae*, *Moutabeae*, *Xanthophylleae* olmak üzere üç ayrı tribusa ayırmıştır [17]. Daha sonra çeşitli araştırmacılar familyanın çeşitli taksonları üzerinde bazı taksonomik düzenlemeler gerçekleştirmiş, Eriksen 1993'te *Carpobodieae* tribusunu eklemiş böylece familyanın tribus sayısı dörde yükselmiştir [18]. *Polygalaceae* familyası moleküler çalışmaların öncesinde, zigomorfik ve özellikle kelebeksi çiçeklere sahip olmasından dolayı *Fabaceae* familyası ile benzer görülmüş fakat bu benzerlik yalnızca morfolojik-fenolojik gözleme dayalı olarak kalmıştır. *Polygalaceae* familyası zaman içerisinde *Malpighiales* veya *Polygalales* takımları altında *Krameriaceae*, *Trigoniaceae*, *Vochysiaceae*, *Tremandraceae* ve *Malpighiaceae* familyaları ile birlikte sınıflandırılmıştır. Moleküler sistematik çalışmalarının yürütülmesi ile beraber *Polygalaceae* familyasının *Fabaceae* familyası ile taksonomik bakımdan

bağlantılı olduğu tespit edilmiştir. Bu verilerin sonucu olarak *Polygalaceae* APG l'de *Fabales* takımının altına alınmıştır [19]. Uluslararası Alg, Mantar ve Bitki Adlandırma Yasası (2012 Melbourne Yasası)'nda yer alan güncelleme ile *Moutabeae* tribusunun ismi *Diclidanthereae* Reveal. olarak değiştirilmiştir [20]. Moleküler bitki sistematigi alanının yaygınlaşması taksonomi için oldukça faydalı sonuçlar doğurmuştur. Birçok familya gibi *Polygalaceae* içerisindeki taksonomik durumu karışık, şüpheli olan bazı taksonların moleküler filogenetik analizlerin yardımı ile taksonomik durumları yeniden değerlendirilmektedir bu yönde birçok çalışma mevcuttur [19], [2], [21], [23]. Bu taksonomik değerlendirme çalışmalarında en önemli aşama morfolojik ölçüm ve gözlemlerdir çoğu zaman filogenetik, anatomik, karyolojik vb. verilerin yardımından da yararlanır. Örneğin yapılan bir araştırmada Arjantin'e endemik *Polygala pterolopha* Chodat, *Bredemeyera colletioides* (Phil.) Chodat ve *B. microphylla* (Griseb.) Hieron. taksonları incelenmiştir. *P. pterolopha*, *Securidaca* türlerine benzeyen tek kanatlı samara tipi meyvelere sahip bir türken, *Polygala* cinsinin diğer türlerinde kapsül meyve tipinin görülmesi bu türün yanlış sınıflandırıldığı şüphesini doğurmaktadır. Diğer iki tür, *B. colletioides* ve *B. microphylla* çok kısa rasemlere sahip dikenli çalılardır, diğer tüm *Bredemeyera* taksonları ise panikülleri olan dikensiz bitkilerdir. Bu ve benzeri morfolojik farklılıklar baz alınarak ve moleküler filogenetik analizlerin yardımı ile söz konusu taksonların taksonomik basamakları sırasıyla *Monrosia pterolopha* (Chodat) Grondona, *Hualania colletioides* Phil., *Rhamphopetalum microphyllum* (Griseb.) J.F.B.Pastore & M.Mota, olarak değiştirilmiştir [24].

Coğrafi konumu itibariyle Türkiye, Avrasya bölgesinde yer almasından dolayı gerek Flora Europaea, gerekse Flora Orientalis eserlerinde ülkemizin florasına dair bilgiler de verilmiştir. Avrupa florasında yer alan 33 farklı *Polygala* türünün 7 tanesinin Türkiye'de de yayılış gösterdiği belirtilmiştir [25]. Doğu florasında ülkemizde de yayılış gösteren *P. monspeliaca*, *P. alpestris*, *P. comosa* gibi bazı türlerin ülkemiz ve çevre coğrafi bölgelerde yayılış gösterdiği belirtilmiştir [26]. Ülkemiz florası üzerine yürütülen çalışmalar doğrultusunda edinilen bilgilere göre *Polygalaceae* familyası ülkemiz için yalnızca *Polygala* cinsi ile temsil edilmektedir. *Polygala*'nın Türkiye'de doğal olarak yayılış gösteren taksonlarının

taksonomisi üzerinde Cullen'dan sonra yapılmış kapsamlı bir çalışma yoktur, Cullen, Türkiye Florası'nda 12 taksonu kabul etmiştir [27]. Türkiye Florası'nın ek birinci cildinde bu cinse üç yeni takson daha eklenerek sayı 15'e yükselmiştir [28]. Son kaynaklara göre ise yayınlanan yeni kayıtlarla beraber güncel doğal takson sayısı 19 olarak revize edilmiştir [29], [30], [31]. *Polygala myrtifolia* L.'nin ülkemizde bahçe ve peyzaj bitkisi olarak kullanıldığı fakat ülkemiz florasına ait doğal bir takson olmadığı bilinmektedir. Türkiye sınırları içerisinde bulunan *Polygala* taksonları Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1 Türkiye'de Yayılış Gösteren *Polygala* Taksonları

Türkiye'de Yayılış Gösteren <i>Polygala</i> Taksonları
1- <i>Polygala myrtifolia</i> L. Sp. Pl. 703 (1753). Kültür Bitkisi
2- <i>P. supina</i> Schreb., Icon. Descr. Pl. [Schreber] 19, t. 19 (1766)
3- <i>P. stocksiana</i> Boiss., Diagn. ser. 2(1): 59 (1853).
4a- <i>P. pruinosa</i> Boiss., Diagn. ser. 1(1): 8 (1843) emend. Diagn. ser. 2(1): 58 (1853). subsp. <i>pruinosa</i>
4b- <i>P. pruinosa</i> Boiss., Diagn. ser. 1(1): 8 (1843) emend. Diagn. ser. 2(1): 58 (1853) subsp. <i>megaptera</i> Cullen in Notes R.B.G. Edinb. 25: 46 (1963). ENDEMİK
5- <i>P. venulosa</i> Sm. in Sibth. & Sm., Fl. Graec. Prodr. 2: 52 (1813).
6- <i>P. major</i> Jacq., Fl. Austr. 5: 6 (1778).
7- <i>P. anatolica</i> Boiss. & Heldr., Diagn. Pl. Orient. ser. 2, 1: 57 (1854).
8- <i>P. transcaucasica</i> Tamamschian, Feddes Rep. 39: 325 (1935-36).
9- <i>P. papilionacea</i> Boiss., Diagn. Pl. Orient. ser. 1: 8 (1843).
10- <i>P. inexpectata</i> Peşmen & Erik, Notes R.B.G. Edinb. 38:435 (1980). ENDEMİK
11- <i>P. hohenackeriana</i> Fisch. & C.A.Mey. In Index Sem. Hort. Petrop. 4:42 (1838).
12- <i>P. comosa</i> Schkuhr, Bot. Handb. 2: 324 (1796).

13- <i>P. vulgaris</i> L, Sp. Pl. 702 (1753).
14- <i>P. alpestris</i> Reichenb., Iconogr. Bot. Pl. Crit.1: 25 (1823).
15- <i>P. peshmenii</i> Eren et al. Bot. J. Linn. Soc., 158, 82–86 (2008). ENDEMİK
16- <i>P. turcica</i> Dönmez & Uğurlu, Willdenowia 45: 430 (2015). ENDEMİK
17- <i>P. monspeliaca</i> L, Sp. Pl. 702 (1753)
18- <i>P. azizsancarpii</i> Dönmez, Phytotaxa 340 (3), 255-262 (2018). ENDEMİK

1.3 *Polygalaceae*'nin Biyocoğrafyası ve Dağılım Stratejisi

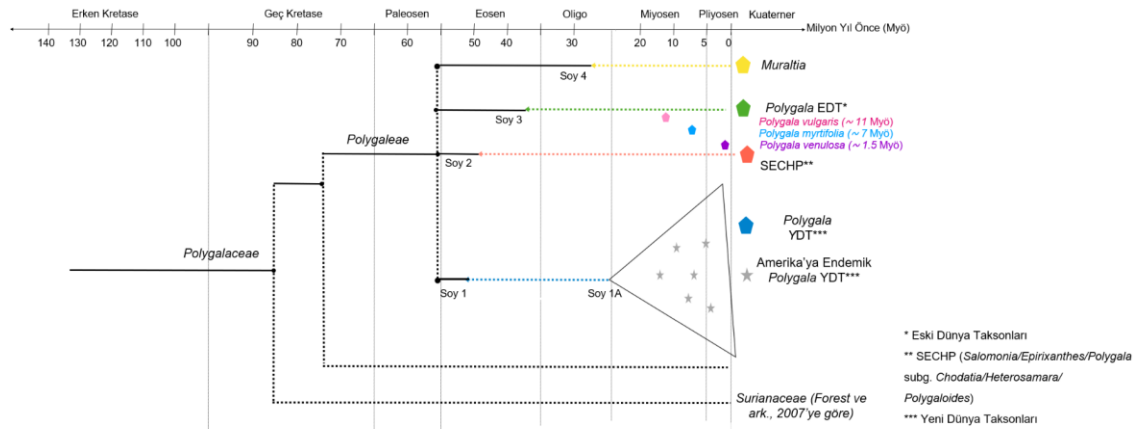
Familiya bazında bakılırsa *Polygalaceae* familyası birkaç istisna bölge hariç neredeyse Dünya genelinde yayılışa sahiptir [2]. *Polygala* özelinde ise Abbott [32] tarafından *Polygala* Yeni Dünya Taksonları (YDT) ve *Polygala* Eksi Dünya Taksonları (EDT) olarak iki ayrı soy belirtilmiştir. *Polygala* YDT, Kuzey ve Güney Amerika'da yer alan taksonları ifade ederken, *Polygala* EDT Asya, Avrupa, Afrika ve Avustralya kıtasındaki taksonları ifade etmektedir. Böyle geniş bir yayılım söz konusu olunca oldukça farklı morfolojik, karyolojik vb. çeşitlenmeler görülmesi oldukça olasıdır.

Polygala üzerinde yapılan bazı araştırmalar taksonların biyocoğrafik dağılımlarının karyolojik durumlarıyla ilişkili olabileceğini ortaya çıkarmıştır [33]. Çoğu Avrupa taksonu $x=17$ düzeyinde, birçok Afrika taksonu ise $x=19$ düzeyinde temel kromozom sayısına sahiptir [34]. Kuzey Amerika taksonları ise ($x = 6, 7, 8, 9, 10, 17, 23$) ile oldukça farklı temel kromozom sayılarını içerisinde barındırmaktadır [33], [35]. Bu ve benzeri karyolojik veriler biyocoğrafya konusunun bu tez çalışması için önemli bir parametre olduğunu gözler önüne sermektedir.

Forest ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre *Polygalaceae* ve kardeş taksonu *Surianaceae* arasındaki evrimsel ayrılma Geç Kretase'de yaklaşık 66.9 milyon yıl önce (myö) meydana gelmiş olmalıdır ve *Polygalaceae*'nin mevcut soyları bundan kısa bir süre sonra Geç Paleosen döneminde yaklaşık 60.4 myö ayrılmaya başlamıştır [21]. Fakat Pastore ve ark. gerçekleştirdiği çalışmada bu

çalışmanın aksine, *Xantophyllum* hariç *Polygalaceae* familyasının atasının, yaklaşık 84 myö Geç Kretase döneminde Asya, Orta Doğu, Avustralya ve Güney Amerika bölgelerini içeren bir bölgede ortaya çıktığını göstermişlerdir [2]. Bu sonuca göre *Polygalaceae* familyası sanılanın aksine daha uzun süredir yeryüzünde yaşamını sürdürmektedir.

Aynı çalışmaya göre *Polygaleae* tribusunun, Geç Kretase döneminde, 76 myö Güney Amerika'da ortaya çıktığı gösterilmiştir [2]. *Muraltia*, *Polygala* EDT ve SECHP (*Salomonial/Epirixanthes/Polygala* subg. *Chodatia/Heterosamara/Polygaloides*) soylarının atasının ise Eosen döneminde 55,5 myö Afrika'nın güneyinde ortaya çıktığını ortaya koymuşlardır. *Muraltia* soyu Oligosen döneminde, 28 milyon yıl önce Afrika'nın güneyinde ortaya çıkmıştır. Bu çalışmaya göre ülkemiz taksonlarının yer aldığı *Polygala* EDT'ye ait atasal formun Eosen döneminde 36,5 milyon yıl önce yine Afrika'nın güneyinde ortaya çıktığı belirtilmiştir. SECHP soylarının atasının ise Eosen döneminde 50 milyon yıl önce Afrika'nın güneyi ve Asya'da ortaya çıktığı belirtilmiştir. Amerika taksonlarının yer aldığı *Polygala* YDT ise Eosen döneminde 51,5 milyon yıl önce Güney Amerika'da ortaya çıkmıştır. Kuzey Amerika'ya endemik YDT içerisindeki *Polygala* soylarının ataları Oligosen döneminde 25,5 milyon yıl önce Kuzey ve Güney Amerika'da ortaya çıkmıştır (Şekil 1.1).



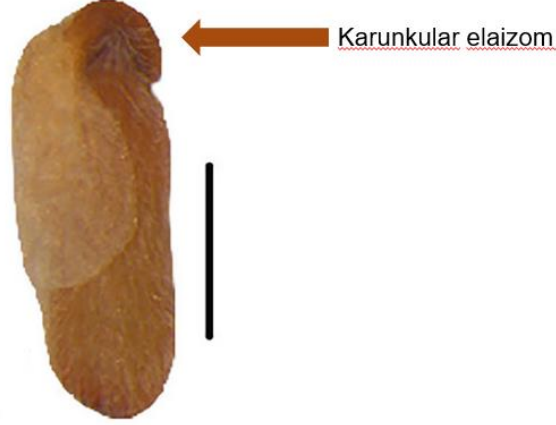
Şekil 1.1 *Polygalaceae* familyasına ait soyların jeolojik zaman içerisindeki oluşumu (Pastore ve ark., 2019).

1.3.1 Dağılım Stratejisi

Polygalaceae'nin biyocoğrafik analizi dispersal kavramı ile daha derin anlam kazanmaktadır. Zira *Polygalaceae*'nin neredeyse tüm dünyada yayılım gösterdiği ve çoğu taksonun tohumlarında elaiyom içeren yapılar bulundurulması mirmekokori (karıncalar ile dağılım) olgusunun önemini arttırmaktadır. Bitkiler bilindiği üzere nesillerinin devamını sağlamak için birbirinden farklı yapıda tohum oluşturmaktadırlar. Bu tohumların saçılımı rüzgâr veya su gibi doğal etmenler aracılığıyla olabildiği gibi, diğer canlıları cezbederek onların vasıtasıyla gerçekleşen bir dağılım da söz konusu olabilir [36]. Özellikle *Polygala* taksonlarında görülen elaiyom yapıları lipit ve protein bakımından oldukça zengin olduklarından dolayı karıncaların ilgisini çekmekte ve bu yapılar karıncalar tarafından besin olarak kullanılmaktadır [37]. Ayrıca Türkiye'de yayılış gösteren *Polygala* taksonlarının tohum ve kapsül morfolojisini inceleyen Uğurlu Aydın [38] elaiyom şeklinin *Polygala* türleri için önemli bir ayırt edici karakter olduğunu belirtmiş ve bunu oluşturduğu teşhis anahtarında kullanmıştır. Dolayısıyla elaiyom yapısı yalnızca dispersal için değil, cinsin taksonomisi için de önem taşımaktadır (Şekil 1.2). *Polygalaceae* familyasına mensup cinslerin yaklaşık %50'si, tüm türlerinin %87'si mirmekokori ile dağılmaktadır [37].

Mirmekokori olgusu incelenirken bu mutualist ilişkinin *Polygala* ile karıncaların birlikte evrildiği algısına yol açmaması için birkaç bilgi sunulmalıdır. Öncelikle karıncalar ile elaiyomlar arasında bir gecikme dönemi olduğu bilinmelidir. Karınca fosil kayıtları, Kuzey Yarı Küre'nin çeşitli yerlerinde bulunan ve şu anda soyu tükenmiş *Sphecomyrminae* alt familyasının kalıntıları ile Kretase dönemine, yani en az 100 milyon yıl öncesine dayanmaktadır [39]. Yeryüzündeki gruplara ait en eski fosil kayıtları ise, *Formicinae* alt ailesine atanan tek bir bireyle Geç Kretase'ye (Turoniyen, 93.5-89 myö) aittir [40, 41]. *Polygalaceae*'de karınca yayılmasında yer alan en yaygın elaiyom tipi olan karunkular elaiyom evriminin, Erken Eosen'de 54.0 myö ile 50.5 myö arasında gerçekleştiği ortaya

konulmuştur. İki canlı grubu arasındaki bu gecikme dönemine rağmen elaiozomların, son 40-50 myö artan küresel sıcaklıklarla ve karınca soy sayılarındaki belirgin bir artışla geniş ölçüde eşzamanlı olduğu ortaya konmuştur [37].

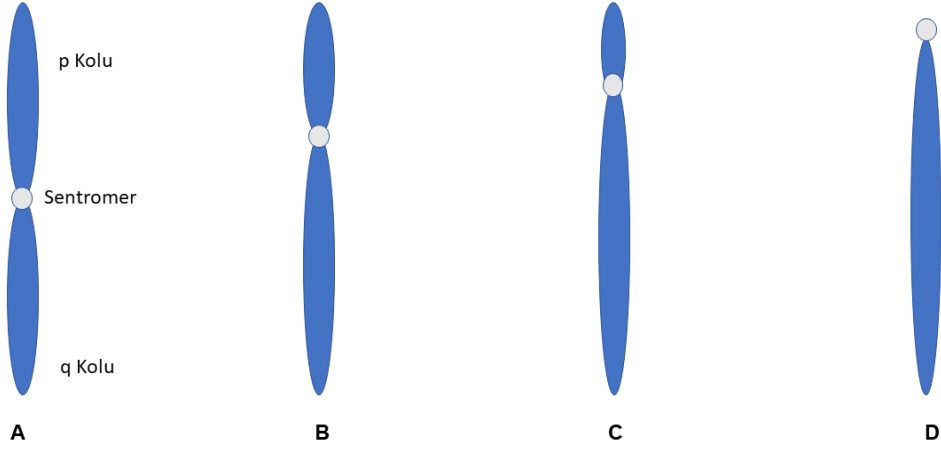


Şekil 1.2. *Polygala vulgaris* türüne ait tohum yapısı (Uğurlu Aydın, 2020), (Ölçek= 1 mm).

1.4. Kromozom Sayımı

Kromozomlar, canlıların genetik yapı taşlarını barındırdığı için tarih boyunca oldukça önemli çalışma materyalleri olarak değerlendirilmiştir. Walther Flemming 1882 yılında canlılardaki ilk kromatin varlığını keşfetmiş daha sonrasında keşfedilen bu yapı Wilhelm von Waldeyer-Hartz tarafından kromozom olarak isimlendirilmiştir [42]. Kromozomun keşfinden sonra yürütülen kromozom sayımı çalışmaları, canlıların ploidi seviyesini belirlemek için zaman içerisinde oldukça uygun, kolay ve işlevsel bir çalışma metodu olarak sitogenetik araştırmaların temelini oluşturmuştur. Sadece numerik bir veriden ibaret olmayan bu çalışma kolu, sentromer pozisyonuna göre kromozomların adlandırılmasıyla, karyogram ve idiogramların oluşturulmasıyla karyomorfoloji alanına dönüşmüştür [43], [44]. Sentromer pozisyonu, karyomorfolojik olarak oldukça önemli bir parametredir ve temel olarak metasentrik (m), submetasentrik (sm), subtelosentrik (st), telosentrik (t) olmak üzere dörde ayrılmaktadır (Şekil 1.3).

Günümüzde gelişen moleküler sitogenetik tekniklerle birlikte efektif bir şekilde kullanılmaktadır. Bitkilerin oldukça farklı sayıda ve yapıda kromozom bulundurması botanik alanında sitogenetik çalışmaların önemini oldukça arttırmıştır [45], [46]. Euploidik anomalilerin (kromozom setinin anormal biçimde katlanması 2x,4x vb.) ve standart olmayan kromozomların (B kromozomları) bitkilerde yaygın olması da bu çalışma alanının önemini arttırmaktadır [47].



Şekil 1.3. Sentromer bölgesine göre kromozomların adlandırılması (Levan ve ark., 1964). A: Metasentrik (m) B: Submetasentrik (sm) C: Subtelosentrik (st) D: Telosentrik (t).

Polygalaceae familyasının karyolojik durumu oldukça değişken niteliktedir. Familyaya ait temel bir kromozom sayısı belirtmek mümkün değildir. Literatür taramalarında çoğunlukla *Polygaleae* tribusu üzerinde karyolojik çalışmalar yürütüldüğü gözlemlenmiştir. Diğer tribuslardan *Carpobieae tribusuna* ait *Carpobibia alba* G. Don. (n=11), *Carpobibia lutea* G. Don. (n=10) ve *Atroxima liberica* Stapf. (n=9) kromozom sayılarına sahiptir, *Moutabeae* (Yeni ismiyle *Diclidanthereae*) tribusuna ait *Eriandra fragrans* P. Royen & Steenis taksonu ise n=14 kromozom sayısı olarak belirtilmiştir [48].

Xanthophylleae tribusuna ait herhangi bir kromozom sayısı yayınlanmamıştır. Meijden, *Xanthophyllum fragrans* üzerinde çeşitli araştırmalar gerçekleştirmiştir fakat türün kromozom sayısı belirlenememiş ve halen bilinmemektedir. Türün sınırlı yayılış göstermesi, petallerin cins içerisinde en geniş büyüklükte olması, cins içerisindeki en uzun anterlere sahip olması ve cins içerisindeki taksonlar arasında en büyük polen tanelerine sahip olması bakımından poliploid olabileceği düşünülmüştür. Özellikle kültür bitkilerinde görülen bu sıradışı oranlar sıklıkla poliploidi olgusuna yorumlanmaktadır [49].

Polygaleae tribusu üzerine yapılan karyolojik araştırmalarda çoğu cins için bir veya birkaç temel kromozom sayısı bilirse de *Polygala* cinsi içerisinde kromozom sayısı bakımından varyasyon oldukça fazladır. *Polygala* cinsinin *Chamaebuxus* seksiyonuna ait temel kromozom sayısı $x=7$ olarak belirtilmiştir. *Polygala chamaebuxus* L. olarak tanımlanan daha sonra *Polygaloides* cinsine aktarılan *Polygaloides chamaebuxus* türü $2n=6x=44$ kromozom sayısı ile hekzaploid olarak belirtilmiştir [50]. *Polygala*'ya ait bazı taksonların kromozom sayısı Çizelge 1.2.'de verilmiştir. Familyanın tip örneği olan ve ülkemizde de doğal olarak yayılış gösteren *P. vulgaris* birçok çalışmada $2n=4x=68$ tetraploid olarak belirtilmiştir. [51], [52], [53].

Literatür taramalarında yalnızca bir taksona ait karyomorfolojik verilere erişilebilmiştir. *P. tenuifloia* türünde yürütülen çalışma sonucunda $2n=28=26 m$ (2SAT) + 12 sm biçiminde karyotip formülü belirtilmiştir [54]. SAT satelit kromozomu ifade etmektedir. *Polygala* genelinde mitotik kromozomların oldukça küçük boyutlarda olması karyomorfolojik bir çalışma yürütülmesini oldukça zorlaştırmaktadır.

Çizelge 1.2. CCDB veri tabanındaki *Polygala* taksonlarına ait diploid ($2n$) kromozom sayıları (Rice ve ark., 2015, The Chromosome Counts Database (CCDB)).

Takson	Kromozom Sayısı ($2n$)	Referans
--------	--------------------------	----------

<i>Polygala carueliana</i> (A. W. Benn.) Caruel	16	Bechi ve ark., 1996 [55].
<i>P. dolichocarpa</i> S. F. Blake	16	Löve, Á., 1983 [56].
<i>P. scoparia</i> Kunth	16	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. boliviensis</i> A. W. Benn.	18	Marhold ve ark., 2019 [57]
<i>P. fishiae</i> Parry	18	Ornduff, 1968 [58]
<i>P. alba</i> Nutt.	24	Löve, Á., 1983 [56]
<i>P. apiculata</i> Porta	24	Peruzzi ve ark., 2005 [59]
<i>P. rivularis</i> Gürke	24	Moore, R.J., 1977 [60]
<i>P. vergrandis</i> W. H. Lewis	24	Löve, Á., 1983 [56]
<i>P. stenopetala</i> Klotzsch	26	Moore, R.J., 1977 [60]
<i>P. amara</i> L.	28	Glendinning, 1960 [51]
<i>P. boykinii</i> Nutt.	28	Cave, M. S., 1963 [61]
<i>P. crotalarioides</i> B. -Ham. ex DC.	28	Sharma & Mehra, 1978 [62]
<i>P. grandiflora</i> Walter	28	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. macrostigma</i> Chodat	28	Moore, R.J., 1977 [60]
<i>P. tweedyi</i> Britton ex Wheelock	~28	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. vayredae</i> Costa	28	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. reducta</i> S. F. Blake	30	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. anatolica</i> Boiss. & Heldr.	32	Löve, Á., 1988 [63]
<i>P. microphylla</i> L.	32	Zapatero & Rosello, 1985 [64]
<i>P. alpestris</i> Rchb.	34	Merxmüller & Heubl, 1983 [50]
<i>P. alpina</i> (DC.) Steud.	34	Merxmüller & Heubl, 1983 [50]
<i>P. amara</i> subsp. <i>brachyptera</i> Hayek	34	Merxmüller & Heubl, 1983 [50]

<i>P. amarella</i> Crantz	34	Merxmüller & Heubl, 1983 [50]
<i>P. calcarea</i> F. W. Schultz	34	Glendinning, 1960 [51]
<i>P. comosa</i> Schkuhr	34	Merxmüller & Heubl, 1983 [50]
<i>P. major</i> Jacq.	34	Letz ve ark., 1999 [65]
<i>P. mariana</i> Mill.	34	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. nicaeensis</i> Risso ex W. D. J. Koch	34	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. paucifolia</i> Willd.	34	Löve, Á., 1982 [66]
<i>P. rupestris</i> Pourr.	34	Dahlgren, 1971 [67]
<i>P. scoparioides</i> Chodat	34	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. senega</i> L.	34	Löve, Á., 1982 [66]
<i>P. serpyllifolia</i> Hosé	34	Glendinning, 1960 [51]
<i>P. tenuifolia</i> Willd.	34	Fu ve ark., 2007 [54]
<i>P. verticillata</i> L.	34	Löve, Á., 1982 [66]
<i>P. cruciata</i> L.	36	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. abyssinica</i> R. Br. ex Fresen.	38	Sharma & Mehra, 1978 [62]
<i>P. longifolia</i> Poir.	38	Sharma & Mehra, 1978 [62]
<i>P. monspeliaca</i> L.	38	Moore, R.J., 1977 [60]
<i>P. myrtifolia</i> L.	38	Glendinning, 1960 [51]
<i>P. triflora</i> L.	38	Federov, 1974 [68]
<i>P. curtissii</i> A. Gray	40	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. sibirica</i> L.	42	Stepanov, 1992 [69]
<i>P. nuttallii</i> Torr. & A. Gray	46	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. chinensis</i> L.	48	Löve, Á, 1967 [70]
<i>P. erioptera</i> DC.	48	Khaton, S. & S. I. Ali., 1993 [71]
	76	Sharma & Mehra, 1978 [62]

<i>P. multiflora</i> Poir.	52	Federov, 1974 [68]
<i>P. paniculata</i> L.	52-56	Federov, 1974 [68]
<i>P. ovatifolia</i> A. Gray	56-60	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. polygama</i> Walter	56	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. lutea</i> L.	68	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. nana</i> DC.	68	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. ramosa</i> Elliott	68	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. rugelii</i> Shuttlew. ex A. Gray	68	Lewis & Davis, 1962 [33]
<i>P. vulgaris</i> L.	28, 32, ~56	Lewis & Davis, 1962 [33]
	68	Merxmüller & Heubl, 1983 [50]
<i>P. chapmanii</i> Torr. & A. Gray	72	Cave, M. S., 1963 [61]
<i>P. praetervisa</i> Chodat	96	Cave, M. S., 1963 [61]

1.5. Akış Sitometri

Akış sitometri, orijinal ismi ile Flow cytometry (FCM) tekniği sitogenetik çalışmalar için oldukça önemli bir araştırma yöntemidir. Temel anlamda hücre veya parçacıkların fiziksel ve kimyasal özelliklerini tespit etmek/ölçmek için kullanılan bir teknik olan bu yöntem DNA içeriği, ploidi tespiti, polisomati analizi gibi oldukça farklı çalışma yöntemlerinde kullanılır [72]. Akış sitometri kendi içerisinde birçok farklı prensibe ait alanı (mühendislik, fizik, kimya, tıp, biyoloji vb.) birleştirmesinden dolayı tekniğin ortaya çıkışı hakkında net bir tarih belirtmek mümkün değildir [73]. Fakat yapılan literatür taramalarında bulunan en eski çalışma 1934 yılında Moldovan tarafından hücre sayımı amaçlı yürütülen çalışmadır [74]. Akış sitometri tekniği öncesinde kullanılan feulgen mikrospektrofotometri tekniği ile birçok çalışma yürütülmüştür fakat sonrasında araştırmacılar aynı amaçla kullanılan, daha hassas ölçüm yapabilen akış sitometri tekniğini benimseyip çalışmalarını yürütmüşlerdir. Zaman içerisinde gelişen teknolojiyle birlikte öncelikle sağlık sektörü tarafından yoğun bir şekilde

kullanılmış, sonrasında diğer bilim dalları da bu yöntemi kendi çalışmalarına adapte etmişlerdir [75, 76]. FCM, 1970'li yıllarda bitki biliminde kendi kimliğini kazanmış, botanik alanında ilk FCM analiz yayınını Heller 1973'te *Vicia faba* L. 'nın kök uçlarından hazırlanan örneğin çekirdek DNA içeriğini analiz ederek gerçekleştirmiştir [77]. Bennett, Smith ve Heslop-Harrison çok sayıda kapalı tohumlu bitkinin çekirdek DNA içeriğini hesaplamış ve yayınlamışlardır. Bu çalışmalar zengin veri kaynağı olarak sitogenetik araştırmalar için rehber niteliğindedir [78, 79]. 90'lı ve 2000'li yıllarda ise Çek bilim insanı J. Dolezel tarafından botanik sitogenetiği alanına metodoloji olarak önemli katkılar sunulmuştur [80, 81, 82].

Genom büyüklüğü (C değeri olarak da bilinir) canlının haploid genomu içerisindeki toplam DNA miktarıdır. Günümüze kadar genom büyüklüğü hesaplanan kapalı tohumlu bitkiler arasında yaklaşık 2400 kat fark olması genom büyüklüğünün botanik çalışmalar için önemini ortaya koymaktadır [83]. Bugüne kadar analizi gerçekleştirilen angiospermlerden en küçük genoma sahip bitki 0,13 pg (2C) büyüklüğüyle *Genlisea tuberosa* (*Lentibulariaceae*) taksonu olurken, en büyük genoma sahip takson 304,46 pg (2C) ile *Paris japonica* (*Melanthiaceae*) olmuştur [84, 85]. Bitkilerde akış sitometrinin en yaygın olarak kullanıldığı alan çekirdek DNA analizidir. Çekirdek DNA içeriği genom büyüklüğü bilinen standart bitki ile örneğin floresan yoğunluğunun kıyaslanmasıyla belirlenmektedir. Analiz öncesi standart materyal seçimi son derece önemlidir. Bu standart, çekirdek DNA içeriği bilinen herhangi bir bitki olabilir. Ancak standart olarak kullanılacak olan bitkinin genetik olarak stabil, bünyesinde fenolik bileşik bulundurmaması ve kolay erişilebilmesi arzu edilir [86]. Aynı tür içerisinde ploidi düzeyi ile çekirdek DNA içeriği arasında doğrusal bir orantı olmasından dolayı çekirdek DNA içeriğinin belirlenmesiyle bitkinin ploidi durumuyla ilgili yorum yapılabilmektedir [87]. Ayrıca klasik kromozom sayımı çalışmaları (ezme-yayma preparasyon vb.) yoğun zaman ve emek içeren çalışmalar olduğundan dolayı bu çalışmalar yerine daha pratik, hızlı ve güvenilir bir yöntem olan akış sitometri kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Çekirdek DNA içeriği türlerin genom yapılarının belirlenmesi, genom ilişkilerinin saptanması ve evrimlerinin anlaşılması konularında da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bütün bunların yanı sıra akış sitometri ile belirlenmiş olan genom büyüklüğü bu gün organizmaların genomlarının sekanslanmasında

uygun stratejilerin belirlenmesi, planlama, ve maliyetin saptanmasında da son derece yararlı olmaktadır.

Fabales takımına ait taksonların çekirdek DNA içerik analizlerine dair birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların çok büyük bir çoğunluğu, yüksek ekonomik öneme sahip olduğundan dolayı *Fabaceae* familyasına aittir. İslah çalışmaları ve diğer tarımsal çalışmalar öncesinde kısırlık, genetik uyumsuzluk gibi sorunlarla karşılaşmamak için tür teşhisinin net bir şekilde yapılmasına ihtiyaç duyulduğu bilinmektedir [87]. Çekirdek DNA içeriği ve ploidi düzeyinin sitotaksonomik bir teknik olarak kullanılması, akış sitometri çalışmalarının bu familyada neden çok fazla sayıda olduğunu açıklamaktadır. Örneğin familyaya ait önemli cinslerden biri olan *Vicia* taksonlarına ait çalışmalar incelendiğinde Türkiye’de de yayılış gösteren diploid *V. lunata* 3,70 pg ile en küçük 2C çekirdek DNA içeriğine sahipken, tetraploid *V. faba* örneği 54,80 pg ile en büyük 2C çekirdek DNA içeriğine sahiptir, bu iki taksonun DNA içeriği arasında yaklaşık 15 kat fark olduğu belirlenmiştir [79, 88].

Quillajaceae familyasına ait yalnızca bir türe ait çekirdek DNA içeriği bilinmektedir. Güney Amerika yayılışlı olan, ağaç formundaki *Quillaja saponaria* Molina’ nın 2C çekirdek DNA içeriği 0,84 pg olarak belirtilmiştir [89].

Surianaceae familyasına ait Avustralya yayılışlı, ağaç formundaki *Stylobasium spathulatum* Desf. taksonuna ait 2C çekirdek DNA içeriği 2,62 pg olarak belirtilmiştir [90].

Polygalaceae familyasında ise *Polygala* genusu üzerine çeşitli akış sitometri çalışmaları yürütülmüştür. Literatür taramalarında $2n=34$ kromozom sayısına sahip diploid *Polygala amara* subsp. *brachyptera* 0,84 pg ile en küçük 2C çekirdek DNA içeriğine sahiptir [91]. $2n=34$ kromozom sayısına sahip *P. paucifolia* 3,10 pg 2C çekirdek DNA içeriğine sahiptir [92]. Hojrales ve ark., *Polygala angustifolia*, *P. vulgaris* ile *P. microphylla* taksonlarının 2C çekirdek DNA içeriklerini belirlemek için analiz gerçekleştirmiş ve sırasıyla 0,85 pg, 0,89 pg, 1,05 pg sonuçlarını elde etmiştir [93]. Pustahija ve ark. ülkemizde de yayılış gösteren *P. supina* ve *P. major* taksonlarının 2C çekirdek DNA içeriğini sırasıyla 1,79 pg ve 1,07 pg olarak tespit etmiştir [94].

1.6. Sitotaksonomi

Taksonomi ve sitogenetik alanının ortak veri havuzu ile oluşan sitotaksonomi, bitkilerin sınıflandırılması için kıymetli veriler üretmektedir. Sitotaksonomi ifadesi ilk olarak 1964 yılında Sharma tarafından kullanılmıştır [95]. Sitogenetik analizler ile belirlenen kromozom boyu (kol uzunlukları, toplam boy vb.), ploidi seviyesi, çekirdek DNA içeriği, heterokromatik bantlar, rDNA bölgelerinin sayısı gibi oldukça farklı sayı ve nitelikteki verilerin yardımı ile taksonomik yorumlar yapılabilmektedir [96]. Örneğin yapılan bir çalışmada akrosentrik kromozomların uzun kollarının proksimal bölgesinde gözlenen CMA bantları *Nothoscordum macrostemon* türüne ait diploid ve tetraploid bireylerde görülürken, *N. nudicaule* türünün herhangi bireyinde gözlenmemiştir [97]. Bir başka çalışmada ise *Aristolochia* cinsine ait taksonlar üzerinde FISH analizi gerçekleştirilmiş, CMA/DAPI bantları ve 5S rDNA-45S rDNA bölgeleri belirlenmiştir. Poliploid *A. paucinervis* taksonunda üç tane 45S rDNA ve iki tane 5S rDNA bölgesi tespit edilmiştir. Bu bölgelerin poliploidizasyondan beri korunduğu kanıtlanmıştır çünkü diğer tüm diploid taksonlarda birer tane rDNA bölgesi bulunmuştur. Bir başka poliploid tür olan *A. serpentaria*'da ise üç tane rDNA bölgesi belirlenmiştir. rDNA bölgeleri üzerinden bakılacak olursa *A. serpentaria*'nın *A. paucinervis*'e göre daha eski bir poliploid olduğu yorumu yapılabilmektedir [98]. Dolayısı ile yalnızca bir sitogenetik parametre bile taksonomik olarak bir öneme sahip olabilmekte, sitotaksonomi alanının önemini göstermektedir.

Bütün bunların yanı sıra sitogenetik veriler taksonomik olarak karmaşık durumların çözülmesinde de kullanılmaktadır. Engler ve Prantl, *Pandanales* takımından üç cinsin -*Pandanus*, *Typha* ve *Sparganium*- monokotillerin antik ataları olduğunu belirtmişlerdir fakat daha sonra Hutchinson sucül ve karasal yaşam formlarını temel alarak *Typha* ve *Sparganium*'u bir grup olarak, *Pandanus*'u ikinci grup olmak üzere ayırmıştır. Ancak karyomorfolojik veriler Hutchinson'ın düşüncesinin aksine, her üç cinsin de benzer küçük kromozom setlerinden oluştuğunu ve hepsinin $x=15$ kromozom sayısı içerdiğini göstererek Engler ve Prantl'ı desteklemiştir [95].

Sabit morfolojik karakterler klasik taksonomi çalışmalarında araştırmacılara büyük ölçüde yardımcı olmaktadır. Fakat bu karakter ve karakter durumlarının diğer

çalışma alanlarıyla multidisipliner yönden incelenmesi, daha geçerli bir taksonomik karar alınmasını sağlayabilmektedir. Örneğin, *Ranunculaceae* familyası karpel sayısı ve karpel başına düşen ovül sayısı karakter durumları kullanılarak klasik taksonomistler tarafından üç alt familyaya ayrılmaktadır. Ancak karyolojik çalışmalar bu familyanın iki alt gruba ayrılmasını önermektedir. Birinci grup belirgin küçük kromozomlara sahip, sentromer bölgesindeki heterokromatik bantları içeren ve $x=6$ kromozom sayısına sahip cinsler, ikinci grup ise büyük kromozomlara sahip $x=6, 7, 8$ veya daha büyük olan cinsler olarak ayrılması gerektiği sitotaksonomistler tarafından önerilmektedir [95].

Tüm kromozomların çekirdek içerisinde yer aldığı bilgisi ışığında çekirdek DNA içeriği belirlenerek bitkinin ploidi seviyesi hakkında yorum yapılabilir [99]. Bitkilerin genom boyutu birçok faktör tarafından (poliploidizasyon, tekrarlı diziler, transpozonal elementler vb.) etkilenir ve bitki genomunun oldukça büyük bir kısmını milyonlarca kopyası bulunan tekrarlı elementler oluşturur [100]. Bu bilgiler doğrultusunda kromozom sayısı aynı olan yakın akraba taksonların genom büyüklüğünün aynı veya çok benzer olması beklenir fakat her zaman bu durum geçerli değildir. Örneğin *Passiflora* taksonları üzerinde sitotaksonomik tabanlı yürütülen çalışmalarda *Passiflora* alt cinsine ait taksonların hepsinin $2n=18$ kromozom sayısına sahip olduğu belirtilmiş, çekirdek DNA içeriği en küçük tür *Passiflora palmeri* (0,53 pg) olurken *P. quadrangularis* (5,36 pg) türü en büyük çekirdek DNA içeriğine sahip olduğu belirtilmiştir [101], [102]. Bu ve benzeri sonuçlar göstermektedir ki kromozom sayısı ile çekirdek DNA içeriği arasında her zaman geçerli olan bir oransal bağlantı bulunmayabilmektedir, karyolojik çalışmalar ile çekirdek DNA içerikleri daha anlamlı hale gelebilir.

Literatür taramalarında *Polygalaceae* özelinde hiçbir sitotaksonomik çalışmaya rastlanmamıştır. Özellikle *Polygala*'nın geniş yayılış alanlarına sahip olması ve karyolojik olarak farklı kromozom sayılarına sahip olmasından dolayı sitotaksonomik yönden çalışılması gereken önemli bir takson olduğu söylenebilir.

1.7. Amaç ve Hedefler

Polygala cinsi hakkındaki çoğu çalışma, Yeni Dünya Taksonları olarak belirtilen, Kuzey ve Güney Amerika bölgeleri içerisindeki taksonlar üzerine gerçekleştirilmiştir [2], [22], [24], [32]. Yakın geçmişimizde ise ülkemiz ve yakın coğrafi bölgelerde çeşitli taksonomik çalışmalar yayınlanmıştır [23], [29], [31], [101]. Yeni keşfedilen türlerin birçoğunun (*P. peshmenii* hariç hepsi) Pastore ve arkadaşlarının belirlediği doğu illerimizden geçen (Kars, Erzurum, Mardin hattı), *Polygala* soylarını birbirinden ayıran biyocoğrafik sınır ve çevresinde olması, cins için ayrı bir önem taşımaktadır [2]. Bu çalışmalar sonucunda tanımlanan yeni türlere ait kromozom sayıları, ploidi seviyeleri ve çekirdek DNA içerikleri bilinmemektedir. Ülkemizde bulunan on dokuz taksondan yedisine ait kromozom sayısı belirlenmiş, yalnızca üç taksona ait çekirdek DNA içeriği bilinmektedir [50, 51, 60, 63, 65, 93, 94]. *Polygala*'nın sitogenetik yönden araştırılması düşünülerek bu tez çalışması planlanmıştır. Tez çalışmasına konu olan taksonların kromozom sayısı ve 2C değerlerinin birbirinden ne düzeyde ayrıma ve farklılığa sahip olduğu bilinmemektedir. Yürütülecek analizler sonucunda sitotaksonomik yönden olası farklılıklar sonucunda taksonomik bir çıkarım yapılacaktır. Bu tez çalışması, *Polygala* cinsi içerisindeki bazı taksonların sitogenetik perspektif ile çalışılmasını amaçlamaktadır.

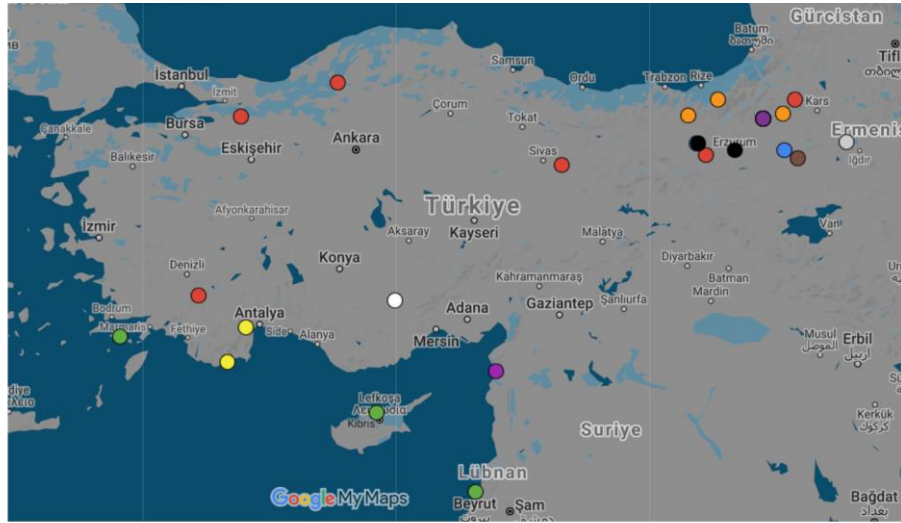
Bu tez çalışması kapsamında yapılması hedeflenenler aşağıda maddeler halinde verilmiştir. Bunlar:

1. Tez materyali olarak seçilen taksonların somatik kromozom sayılarının, ploidi düzeylerinin ve 2C çekirdek DNA içeriklerinin belirlenmesi.
2. Populasyonlar arası olası poliploidi durumunun araştırılması.
3. Elde edilen sitogenetik verilerin sitotaksonomik açıdan tartışılması.

2. MALZEMELER VE YÖNTEMLER

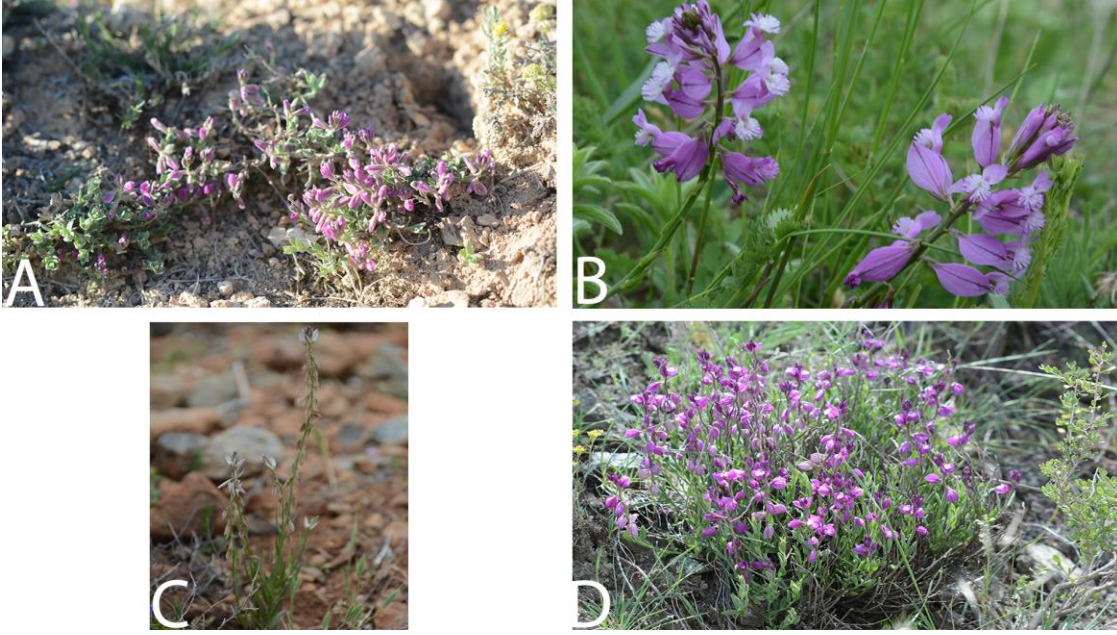
2.1 Arazi Çalışması

Tez çalışması için ve aynı zamanda devam eden proje kapsamında belirlenen *Polygala* taksonlarını toplamak amacıyla hem çiçekli hem de meyveli dönemde birçok arazi çalışması yapılmıştır. Çiçekli dönem arazileri teşhis çalışması ve taze yaprak temini için gerçekleştirilmiştir. Meyveli dönemde ise olgun tohum toplamak amacı ile arazi çalışmaları yapılmış ve olgun tohumlar toplanmıştır. Örnekler için lokalite bilgileri (koordinat, yükseklik, habitat vb.) kayıt altına alınmış, taksonların doğal populasyonları habitatlarında gözlemlenip fotoğraflanmıştır (Şekil 2.1., Şekil 2.2.). Tez çalışmasında kullanılan *Polygala* örneklerine ait bilgiler Çizelge 2.1’de verilmiştir. Toplanan bitki örnekleri presleme yöntemi ile kurutularak herbaryum materyali haline getirilmiştir. Daha sonra çimlendirilmek üzere olgun tohumlar ayıklanıp canlılıklarını korumaları için -40°C’deki dolapta muhafaza edilmiştir. Örneklerin teşhis çalışmaları danışman eşliğinde gerçekleştirilmiştir.



- | | | | |
|-------------------------|---------------------------|------------------------------|----------------------------|
| ● : <i>P. alpestris</i> | ○ : <i>P. inexpectata</i> | ● : <i>P. peshmenii</i> | ● : <i>P. papilionacea</i> |
| ● : <i>P. turcica</i> | ● : <i>P. vulgaris</i> | ● : <i>P. supina</i> | |
| ● : <i>P. anatolica</i> | ● : <i>P. monspeliaca</i> | ○ : <i>P. hohenackeriana</i> | |

Şekil 2.1. Tez çalışması kapsamında toplanan bitkilerin coğrafi dağılımı. (Google Haritalar 2021 ile yapılmıştır.)



Şekil 2.2. Üzerinde çalışılan bazı *Polygala* türlerine ait fotoğraflar. A: *P. inexpectata* AAD 20822, B: *P. anatolica* AAD 20807, C: *P. monspeliaca* AAD 20797, D: *P. turcica* AAD 20390 (Fotoğraflar: Ali Dönmez).

Çizelge 2.1 Tez çalışmasında kullanılan *Polygala* örneklerine ait lokalite bilgisi

Takson	Toplayıcı Numarası ve Lokalite
<p>1- <i>Polygala supina</i></p>	<p>A8 Bayburt: Bahtlı Dağı, Kop Geçidi yukarısı marn, kalker açıklığı 25.07.2020, A. A. Dönmez 20752- Y. Kaya</p> <p>A8 Erzurum: Tekman yolu Dadaş Köyü, Çan yaylası, yamaçta su çıkışı, çayırılık, 39 50' 39.6 K, 41 19' 53.7 D, 2476m, 20.07.2021, A. A. Dönmez 20879-S. Yüzbaşıoğlu</p>
<p>2- <i>P. anatolica</i></p>	<p>A8 Erzurum: Aşkale, Hacıhamza Köyü, yol ayrımı çevresi, 1898 m, 39°52'018"K, 40°38'223"D, 24.7.2019, A. A. Dönmez 20615- M. K. Şenova</p> <p>A9 Ardahan: Posof, Eminbey Köyünden sınıra 1.km, 26.7.2019, A. A. Dönmez 20651- M. K. Şenova</p> <p>A8 Bayburt: Bahtlı Dağı, Kop Geçidi yukarısı marn, kalker açıklığı 25.07.2020, A. A. Dönmez 20750- Y. Kaya, A. Sefalı</p> <p>B6 Sivas: Eski Divriği yolu Celalli-Kızılören-Esentepe köyleri arası, bozkır, 1650m, 39°67'9 K, 37°55'30D, 28.07.2020, A. A. Dönmez 20693</p>

<p>2- <i>P. anatolica</i></p>	<p>C2 Denizli: Acıpayam, Alaattin Köyü, 976m, 37°27'18.7"K, E029°18'08.7", 09.06.2021, M.K. Şenova 014</p> <p>C2 Denizli: Acıpayam, Alaattin Köyü, 976m, 37°27'18.7"K, E029°18'08.7", 09.06.2021, M.K. Şenova 015</p> <p>A3 Sakarya: Gevye, Çamlık Köyü yol ayrımı çevresi <i>Pinus nigra</i> açıklığı, 640m, 40 26' 35.4 30 22' 47, 18.06.2021, A. A. Dönmez 20856-E.O. Karahan</p> <p>A4 Karabük: Keltepe Kayak Merkezi yukarısı, 9.06.2018, A. A. Dönmez 19846</p> <p>A9 Ardahan: Göle, 22.06.2021, A. A. Dönmez 20910-S. Yüzbaşıoğlu</p>
<p>3- <i>P. papilionacea</i></p>	<p>A8 Bayburt: Bahtlı Dağı, Kop Geçidi yukarısı marn, kalker açıklığı 25.07.2020, A. A. Dönmez 20746- Y. Kaya, A. Sefalı</p> <p>A8 Erzurum: Horasan, İğdeli Köyü, 21.06.2021, A. A. Dönmez 20894-S. Yüzbaşıoğlu</p>
<p>4- <i>P. inexpectata</i></p>	<p>C5 Karaman: Aydos Dağı, Ayrancı Barajı çevresi, 18.5.2019, A. A. Dönmez 20373-Z. Aydın</p> <p>C5 Karaman: Ayrancı Barajı yanı, Harmanyurdu mevkii, marnlı bozkır, 10.05.2021 A. A. Dönmez 20820-E.O. Karahan</p>

<p>4- <i>P. inexpectata</i></p>	<p>C5 Karaman: Ayrancı-Erdemli yolu, Ayrancı Barajı'ndan Karaközü Köyü'ne 20. km marnlı yamaçlar, 10.05.2021, A. A. Dönmez 20822- E.O.Karahan</p>
<p>5- <i>P. hohenackeriana</i></p>	<p>A9 Iğdır: Turabi Köyü aşağısı, Aras vadisi, nehir yatağı, kumsal, 20.06.2003, Ali A. Dönmez 11415- B. Mutlu</p>
<p>6- <i>P. vulgaris</i></p>	<p>C5 Hatay: Samandağ, Işıklı Köyü'nden Kale'ye 4. km, <i>Pinus brutia</i> açıklığı, 185 m, 36-19-425-K, 35-47-710-D, 30.05.2010, A. A. Dönmez 16985- G. Zare</p> <p>A8 Erzurum: Oltu, Duralar Köyü yukarısı, 1765 m, 40°28'241"K, 41°54'292"D, 6.8.2019, A. A. Dönmez 20628- K. Şenova</p> <p>A8 Erzurum: Oltu, Duralar Köyü'ne varmadan Maden yolu, Maden'e 2. km, <i>Juniperus</i> açıklığı, killi yamaçlar, 1421 m, 40-29-29.9-K, 41-56-20.9-D, 25.7.2020, A. A. Dönmez 20743- Y. Kaya</p> <p>A8 Erzurum: Oltu, Duralar Köyü yukarısı, 21.06.2021, A. A. Dönmez 20896-S. Yüzbaşıoğlu</p>
<p>7- <i>P. alpestris</i></p>	<p>A8 Bayburt: Soğanlı Geçidi-Of yolu, Bayburt'tan Çaykara'ya 40. Km, çayırılık, 2271m, 40-31-52.1-K, 040-</p>

<p>7- <i>P. alpestris</i></p>	<p>13-46.41-D, 25.07.2020, A. A. Dönmez 20754-Y. Kaya</p> <p>A8 Rize: Çamlıhemşin, Ortaklar Köyü yukarısı-Tahpur Yaylası arası, 40-47-51.6-K, 40-53-13.8-D, 2212m, 24.06.2021, A. A. Dönmez 20927-S. Yüzbaşıoğlu</p> <p>A8: Erzurum: Şenkaya, Gülveren Köyü yaylası, yayla, 40-46-25.7K. 42-24-08.3D, 2308m, 22.06.2021, A. A. Dönmez 20906-S. Yüzbaşıoğlu</p>
<p>8- <i>P. peshmenii</i></p>	<p>C3 Antalya: Konyaaltı, Feslikan yaylası yolu, 301 m, 40°84'262"K, 36°27'751"D, 6.4.2019, A. A. Dönmez 20387</p> <p>C3 Antalya: Konyaaltı, Feslikan yaylası yolu, 301 m, 40°84'262"K, 36°27'751"D, 6.4.2019, A. A. Dönmez 20389</p> <p>C3 Antalya: Demre, Dirgenler Köyü'nden Demre'ye 4. km, kalker, kaya duvarı, makilik, 115m, 36-18-39.1-K, 029-50-08.6-D, 18.04.2021, A. A. Dönmez 20801- E. O. Karahan</p> <p>C3 Antalya: Demre, Dirgenler Köyü çıkışı, kalker, kaya duvarı, makilik, 139m, 36-20-01.6-K, 029-49-08.1-D, 17.04.2021, A. A. Dönmez 20798- E. O. Karahan</p>
<p>9- <i>P. turcica</i></p>	<p>A8 Erzurum: Horasan, İğdeli Köyü yol ayrımından Eleşkirt'e 1. km, 1794 m,</p>

9- <i>P. turcica</i>	39-55-913-K, 42-18-979-D, 25.6.2015, A. A. <i>Dönmez</i> 19552
10- <i>P. monspeliaca</i>	<p>Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti: Geçitköy, 74 m, A. <i>Cantaş Ünlü</i> 003</p> <p>Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti: Geçitköy civarı, 80 m, 19.04.2021, A. <i>Cantaş Ünlü</i> 004</p> <p>Lübnan: Beyrut, Arz Barouk, <i>Cedrus</i> açıklığı, kireçtaşı, 08.06.2010, A. A. <i>Dönmez</i> 16998- <i>Fareh</i></p> <p>C1 Muğla: Datça, Datça tarafından giriş, 1. km, Amazon Koyu karşısı, serpantin, bodur makilik, 6m, 36-48- 12.91-K, 028-03-41.2-D, A. A. <i>Dönmez</i> 20797- <i>E. O. Karahan</i></p>

2.2 Çimlendirme Çalışması

Çimlendirme çalışması farklı nitelikte materyallere (taze yaprak dokusu ve kök ucu dokusu) ihtiyaç duyulduğu için iki ayrı şekilde gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Çimlendirilen örnekler ve çimlendirme kabini. A: Petri kaplarında kök ucu dokusu eldesi için çimlendirilen tohumlar. B: İki haftalık *P. hohenackeriana* bireyi. C: On haftalık *P. hohenackeriana* bireyi. D: Çimlendirme kabini ve çimlendirilen örnekler.

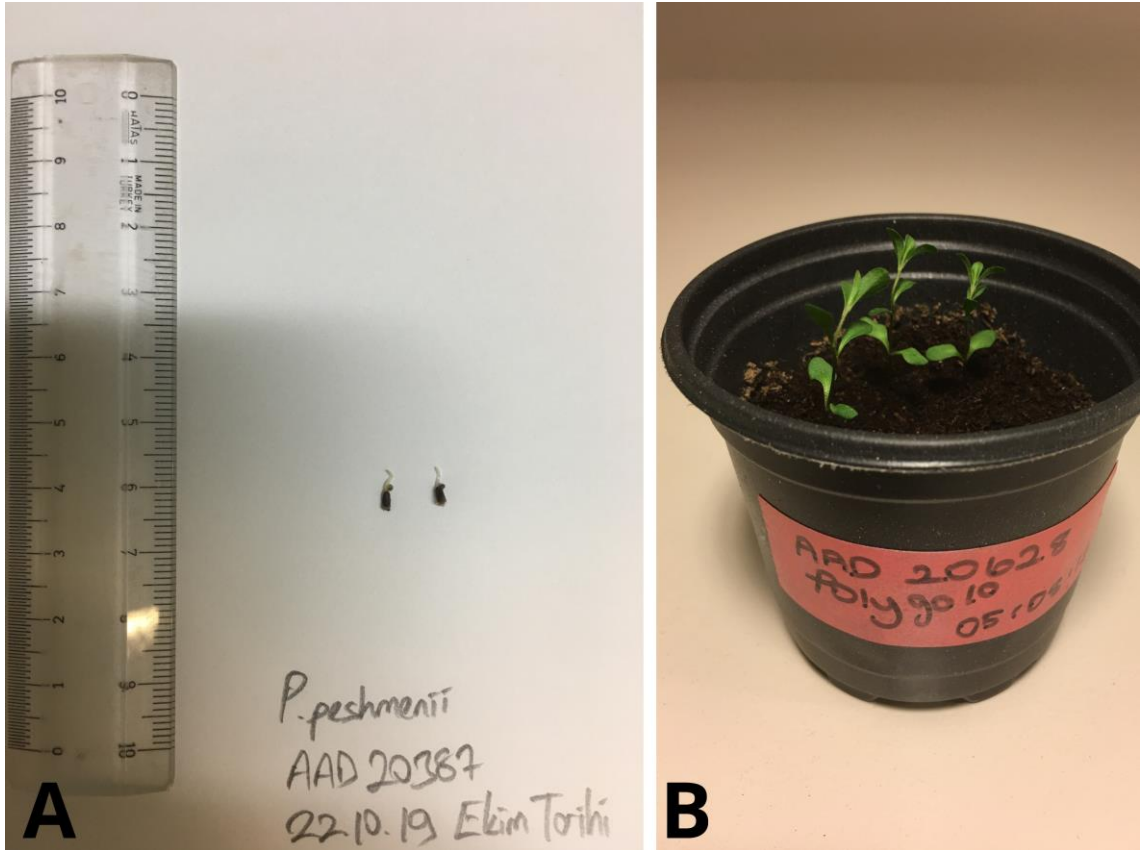
2.2.1 Petride Çimlendirme: -40 °C'de bekletilen tohumların yüzey sterilizasyonu sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisi ile yapılmıştır. Ardından steril petri kaplarında kurutma kâğıdı üzerinde çimlendirilmiştir. Petri kapları düzenli olarak dH₂O ile nemlendirilmiştir. 21 gün karanlıkta ve 4 °C sıcaklıkta bekleyen örnekler Çizelge 2.2'de bulunan koşullarda iklimlendirme kabinine alınmış ve kök ucu dokusu yaklaşık 10-12 mm uzunluğa erişince kromozom sayımı analizi için toplanmıştır (Şekil 2.3-A).

2.2.2 Viyolde Çimlendirme: -40 °C'de bekletilen tohumlar steril torf ile doldurulmuş olan viyoller içerisine ekilmiştir. Viyoller ihtiyaç duyuldukça şebeke suyu ile sulanmıştır. 21 gün karanlıkta ve 4 °C sıcaklıkta bekletilen viyoller

Çizelge 2.2.'de belirtilen koşullara sahip iklimlendirme kabineine transfer edilmiş, kotiledonların oluşumunu takiben bitkiye ait genç yaprak dokuları gelişim göstermiş ve bu dokular akış sitometri analizi için toplanmıştır (Şekil 2.4-B).

Çizelge 2.2. İklimlendirme kabini parametreleri

Parametre	Aydınlık Dönem	Karanlık Dönem
Sıcaklık (°C)	25	6
Nem (%)	90	20
Zaman (Saat)	18	6
Işık Şiddeti (LUX)	8000	-



Şekil 2. 4. Çimlendirme çalışmasında elde edilen materyaller. A: Petri kabında çimlendirilen *Polygala peshmenii* taksonuna ait kök ucu dokuları. B: Saksıda çimlendirilen *P. vulgaris* taksonuna ait bireyler.

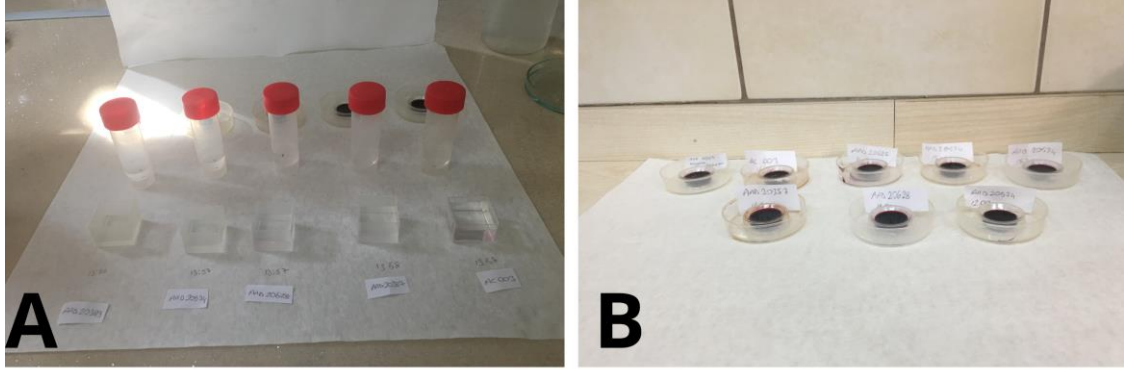
2.3 Kromozom Sayımı Çalışması

Kromozom sayımı çalışması üç alt başlıkta açıklanmıştır. Bu analiz Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Fakültesi Sitogenetik Laboratuvarı'nda, Prof. Dr. Esra Martin ve ekibinin katkılarıyla gerçekleştirilmiştir.

2.3.1 Analiz Öncesi Hazırlık Aşaması: Elde edilen kök ucu dokuları mitoz bölünmelerinin metafaz safhasını gözlemlemek için farklı zaman dilimlerinde α -monobromonaftalin'in dH_2O ile doymuş ($500\text{ cm}^3 dH_2O$ içerisine 8-10 damla) çözeltisine alınmıştır. Birçok deneme sonucunda en yoğun bölünmenin saat 16.30'da olduğu belirlenmiş ve her doku belirlenen bu saatte α -monobromonaftalin çözeltisine alınmıştır. 16 saat karanlıkta $4^\circ C$ sıcaklıkta bekleyen örnekler daha sonra Carnoy fiksatif solusyonuna alınmış, hücrelerin fiksasyonu bu şekilde sağlanmıştır. 24 saat karanlıkta $4^\circ C$ sıcaklıkta bekleyen örnekler %70 oranındaki etanol çözeltisine alınıp analiz işlemine kadar $4^\circ C$ 'deki dolap içerisinde karanlıkta muhafaza edilmiştir.

2.3.2 Analiz Aşaması: Örnekler öncelikle dH_2O ile yıkanmış, yüzeyleri etanolden arındırılmıştır. Ardından örneklerin hidroliz aşamasına geçilmiş bunun için farklı zaman dilimleri denenmiş, en uygun zamanın 12 dakika olduğu belirlenmiştir. Örnekler 1N HCl çözeltisinde 12 dakika oda sıcaklığında hidroliz edilmiş, ardından %2 oranında aseto-orsein boyası ile 2 saat boyunca boyanmıştır (Şekil 2.5-A, B). Boyanan örnekler keskin jilet yardımı ile lam üzerinde kesilmiş %45 oranındaki asetik asit ile beraber pirinç çubuk yardımı ile ezilmiştir. Hazırlanan preparat lamel ile kapatılmış ve görüntüleme aşaması için ışık mikroskopunda incelenmiştir.

2.3.3 Görüntüleme Aşaması: Mitotik metafaz evresindeki bölünen hücreler mikroskop üzerinde taranmış, gözlemlenen hücreler Bs200ProP görüntü analiz sistemi ile fotoğraflanmıştır (Şekil 2.5-C). Elde edilen görüntü üzerinde sayım yapılarak ilgili taksonların somatik kromozom sayıları belirlenmiştir.



Şekil 2.5. Kromozom sayım çalışması aşamaları. A: Örneklerin yıkanması ve hidroliz aşaması. B: Örneklerin aseto-orsein ile boyanması. C: Kromozom setinin Bs200ProP programı üzerinde fotoğraflanması.

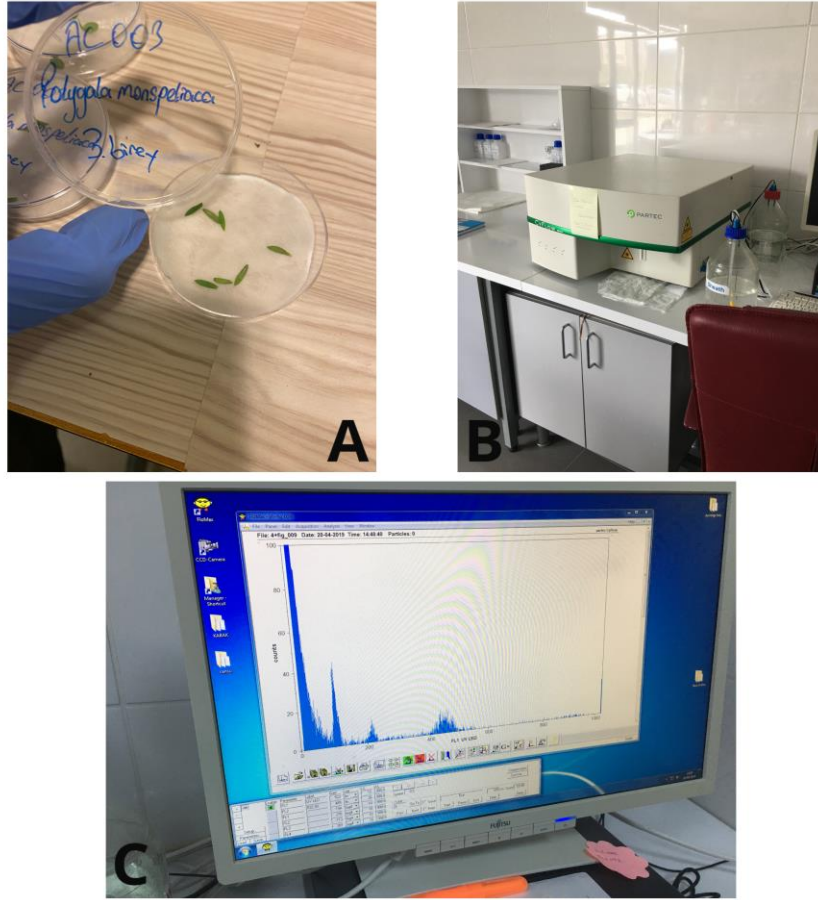
2.4 Akış Sitometri (Flow Cytometry – FCM) Çalışması

Bu analiz Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Bitki Genetiği ve Sitogenetiği Laboratuvarı'nda, Prof. Dr. Metin Tuna ve ekibinin katkılarıyla gerçekleştirilmiştir. Materyal olarak kullanılan *Polygala* bireyleri araziden doğrudan temin edilmiş ve aynı zamanda laboratuvar ortamında tohumdan yetiştirilmiştir. Standart bitkiler NKÜ Ziraat Fakültesi'ne ait tarladan temin edilmiştir.

Polygala bireyelerine ait gelişimini tamamlamış genç, sağlıklı ve taze nitelikte olan yaprak dokuları akış sitometri analizi için kullanılmıştır. Standart bitki materyali olarak mevsim şartlarından dolayı iki farklı tür (*Lycopersicon esculentum* Mill. (2C/DNA = 2 pg) veya *Vicia sativa* L. (2C/DNA = 3,65 pg)) kullanılmıştır. Yaklaşık 0.5 cm² büyüklüğündeki *Polygala* ve standart bitkiye ait yaprak dokuları aynı petri

kaplarına konup, üzerlerine 500 µl “nuclei extraction buffer” eklenmiştir. Keskin bir jilet yardımı ile dokular yaklaşık bir dakika boyunca parçalanmış ardından petri kabı içerisinde 10-15 saniye çalkalanmıştır. Çalkalama işleminden sonra örnekler 15-20 saniye boyunca bekletilip “30 µl CellTrics” filtreler ile süzülükten sonra cam şişelere aktarılmıştır. Cam şişedeki örneklerin üzerine 2 ml “staining” (Propidyum iyodid-PI) solüsyonu eklenmiştir ardından 30-60 dakika boyunca 4 °C’deki dolapta ve karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası örnekler PARTEC CyFlow Space marka-modelli cihazda analiz edilmiştir. Örnekler için 2C düzeyindeki çekirdek DNA içerikleri aşağıdaki formül aracılığı ile hesaplanmıştır (Şekil 2.6).

Çekirdek DNA içeriği: (örneğin floresan yoğunluğu (G1 pikinin değeri)) / (standardın floresan yoğunluğu (G1 pikinin değeri)) X standardın pikogram olarak bilinen DNA içeriği



Şekil 2.6 Akış sitometri analiz basamakları. A: Örneklerin analiz için temin

edilmesi. B: PARTEC marka akış sitometri cihazı. C: örneğin analizi sonucu elde edilen histogramın görüntüsü.

2.5 Veri Analizi

FCM cihazından elde edilen veriler açık kaynak erişime sahip R programlama diliyle (versiyon 4.05) R Studio [104] ortamında Bilim Uzmanı Yasin Kaya'nın katkıları ile analiz edilmiştir. 2C çekirdek DNA içeriği, standart bitkilerin floresan yoğunlukları ve örneklerin floresan yoğunlukları FactoMineR [105] ve factoextra [106] kütüphaneleri kullanılarak temel bileşenler analizleriyle (PCA; Principal Component Analysis) incelenmiştir (Şekil 3.18). Ardından standart olarak iki farklı bitki kullanılmasından dolayı standartların floresan yoğunlukları ve *Polygala* örneklerin floresan yoğunlukları ayrı ayrı analiz edilmiş, elde edilen en yüksek 2 bileşenin matrisleri Şekil 4.1-4.2'de verilmiştir. Temel bileşenlerin hiyerarşik kümelenmesi yine aynı paket kullanılarak analiz edilmiş, Şekil Y (Kümelenme görseli)'de verilerek taksonların 2C çekirdek DNA içeriği tartışılmıştır. DNA içeriği ve kromozom sayıları arasında Pearson korelasyon katsayısı ile Genel Lineer Modelleme (GLM; General Linear Model) kullanılarak değişkenler arasındaki korelasyon hesaplanmıştır. Bu analizde *P. supina*'nın çekirdek DNA içeriğine ait veri taksonun kromozom sayısı belirlenemediğinden dolayı hesaplama dahil edilmemiştir. Korelasyon hesaplamaları sonucunda elde edilen R değeri 0.45-0.50 üzerinde ise ılımlı bir korelasyon olabileceğini, altında ise negatif ya da hiçbir korelasyon olamayacağına işaret etmektedir. Ayrıca korelasyon analizinde anlamlılık skoru olan p-value değeri de bu hesaplama sonucunda ortaya çıkarılmıştır P değeri 0.05 ve aşağısının ($p < 0.05$) anlamlı bir değer olduğu bilinmektedir.

Örneklerin ortalama çekirdek DNA içerikleri ve standart sapmaları kullanılarak güven aralıkları (Confidence Intervaler (CI)) çevrimiçi hesaplayıcı [107] kullanılarak %95 güvenlilikle hesaplanmıştır.

3. SONUÇLAR

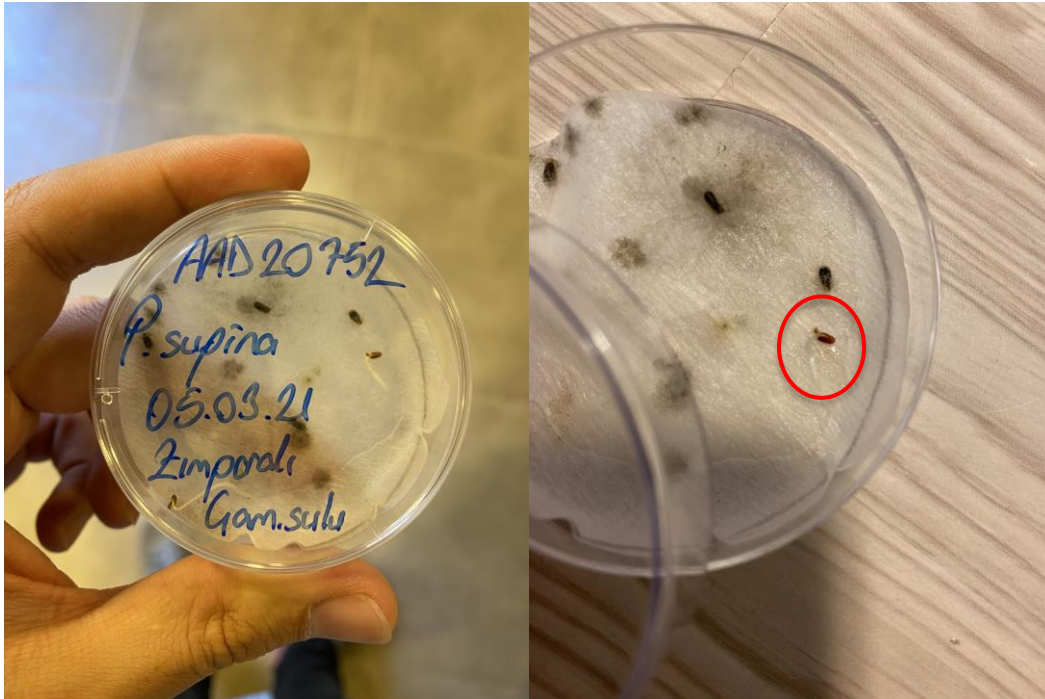
3.1. Karyolojik Bulgular

Tez çalışması kapsamındaki on farklı türün (*Polygala supina* hariç) karyolojik çalışması yürütülmüş ve somatik kromozom sayıları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre örneklerin kromozom sayıları $2n= 24$ ile *P. alpestris* ve $2n= 70$ *P. vulgaris* arasında dağılım göstermektedir.

Kromozom sayımı çalışması kapsamında diploid (2x) ve tetraploid (4x) olmak üzere iki farklı ploidi düzeyi belirlenmiştir. Sekiz takson diploid, bir takson tetraploid olarak tespit edilmiştir.

3.1.1. *Polygala supina*

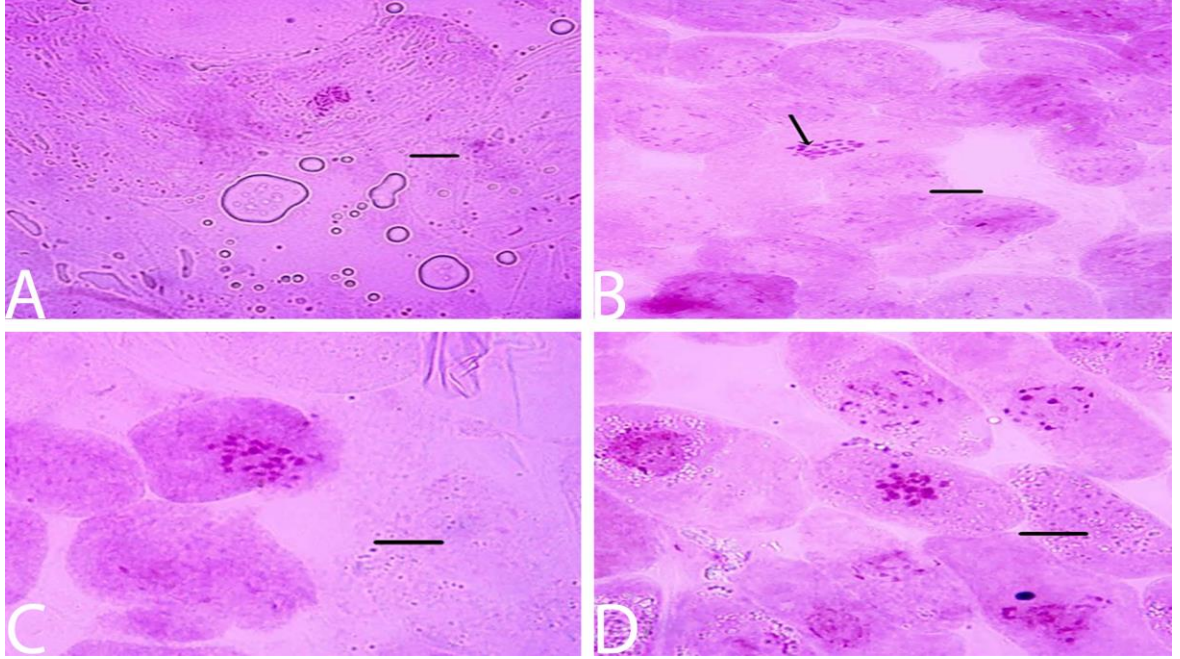
Birçok çimlendirme seti kurulmasına rağmen yalnızca AAD 20752 numaralı örnekten sadece iki kök ucu dokusu elde edilebilmiştir (Şekil 3.1). Bu kök uçlarından elde edilen meristem dokular ile hazırlanan iki sitolojik preparatta herhangi bir bölünen hücre gözlemlenmediği için taksona ait kromozom sayısı belirlenememiştir.



Şekil 3.1 AAD 20792 numaralı *P. supina* örneğine ait kök ucu dokusu.

3.1.2. *P. anatolica*

AAD 19846, AAD 20693, AAD 20651 ve AAD 20750 numaralı örnekler üzerinde gerçekleştirilen çalışmaya göre *P. anatolica* taksonuna ait üç farklı kromozom sayısı ($2n=24$, $2n=24+2B$ ve $2n=32$) belirlenmiştir.



Şekil 3.2. *P.anatolica* örneklerine ait somatik kromozom görüntüleri (Ölçek= 10 μ m).

A: AAD 19846 numaralı *P. anatolica* örneğine ($2n=32$) ait somatik kromozom görüntüsü.

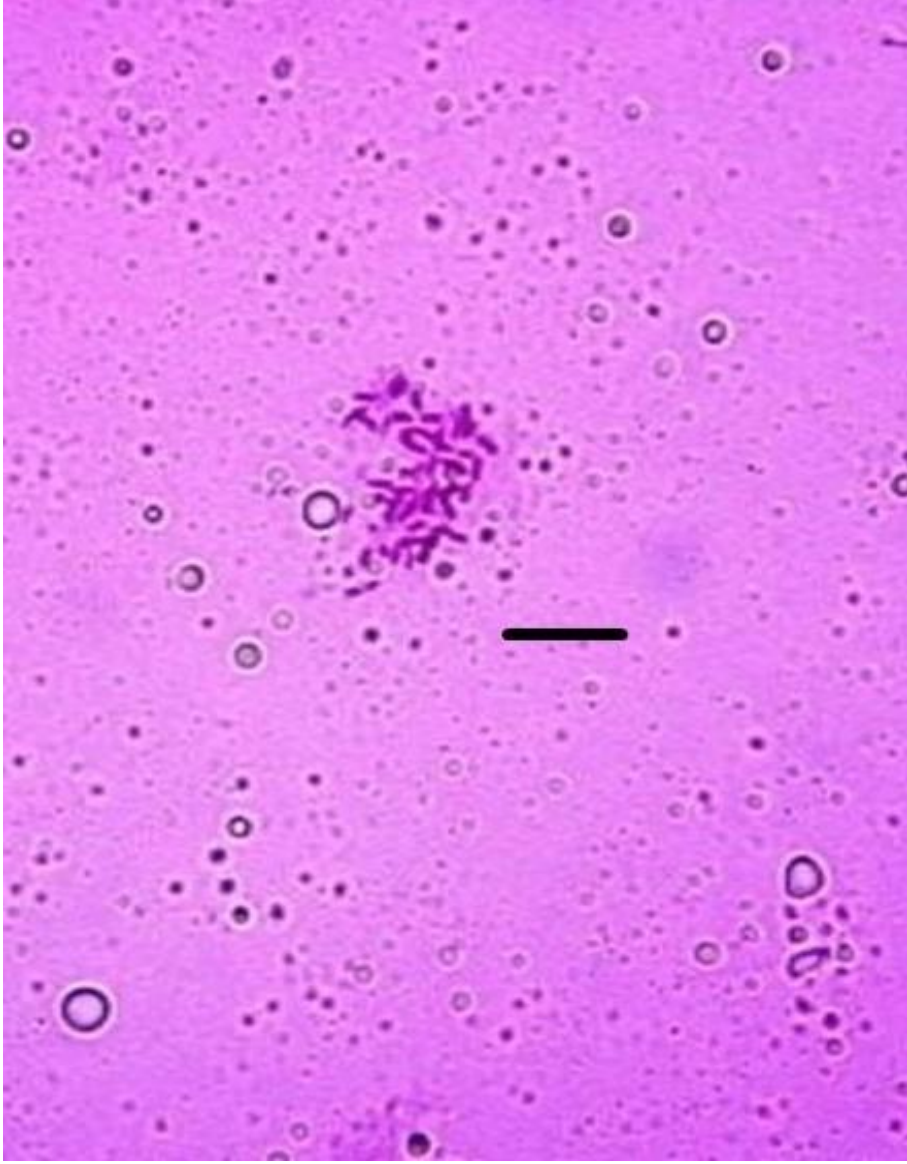
B: AAD 20750 numaralı *P. anatolica* örneğine ait ($2n=24+2B$) somatik kromozom görüntüsü. Ok, B kromozomlarını göstermektedir.

C: AAD 20651 numaralı *P. anatolica* örneğine ($2n=32$) ait somatik kromozom görüntüsü.

D: AAD 20693 numaralı *P. anatolica* örneğine ($2n=24$) ait somatik kromozom görüntüsü.

3.1.3. *P. papilionacea*

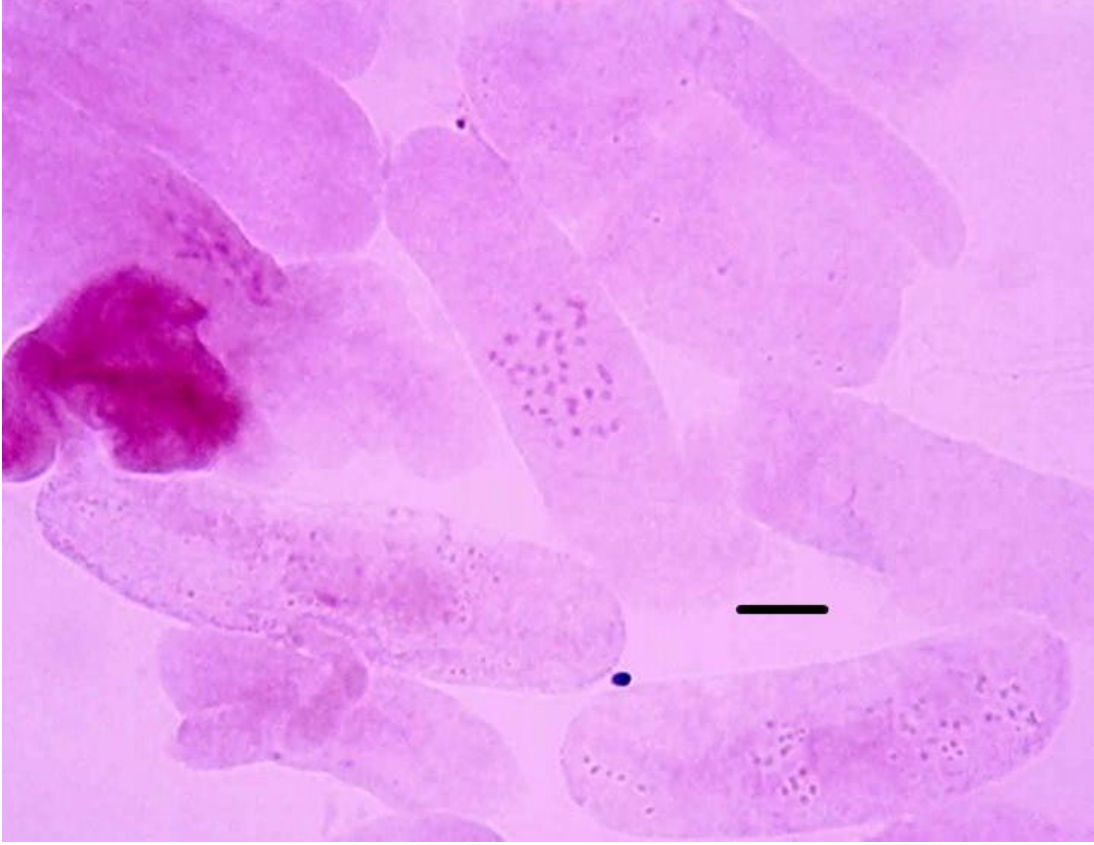
AAD 20746 numaralı örnek üzerinde gerçekleştirilen çalışmaya göre *P. papilionacea* taksonuna ait somatik kromozom sayısı $2n=42$ olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.3. AAD 20746 numaralı *P. papilionacea* örneğine ($2n=42$) ait somatik kromozom görüntüsü (Ölçek= 10 μ m).

3.1.4. *P. inexpectata*

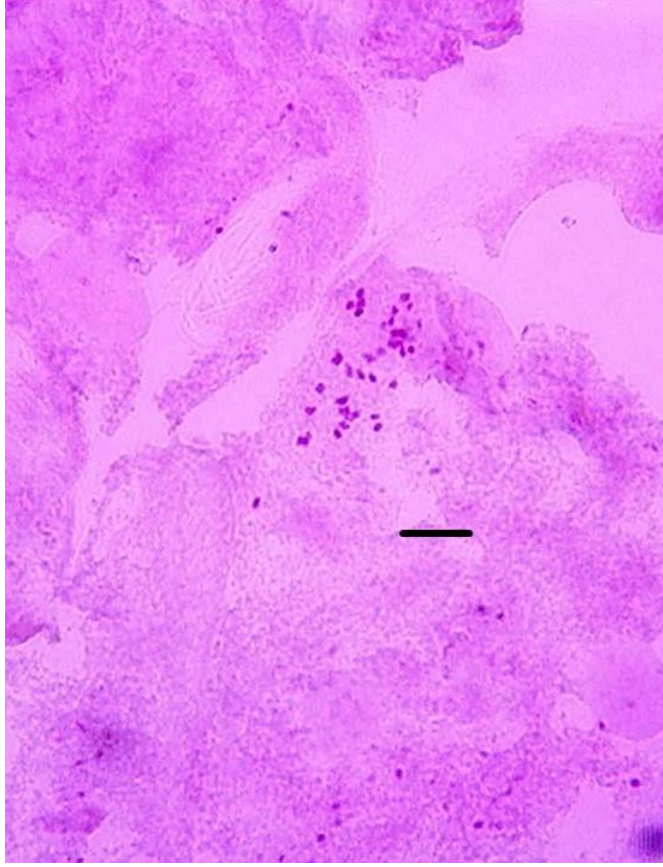
AAD 20373 numaralı örnek üzerinde gerçekleştirilen çalışmaya göre *P. inexpectata* taksonuna ait somatik kromozom sayısı $2n=34$ olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.4. AAD 20373 numaralı *P. inexpectata* örneğine ($2n=34$) ait somatik kromozom görüntüsü (Ölçek= 10 μ m).

3.1.5. *P. hohenackeriana*

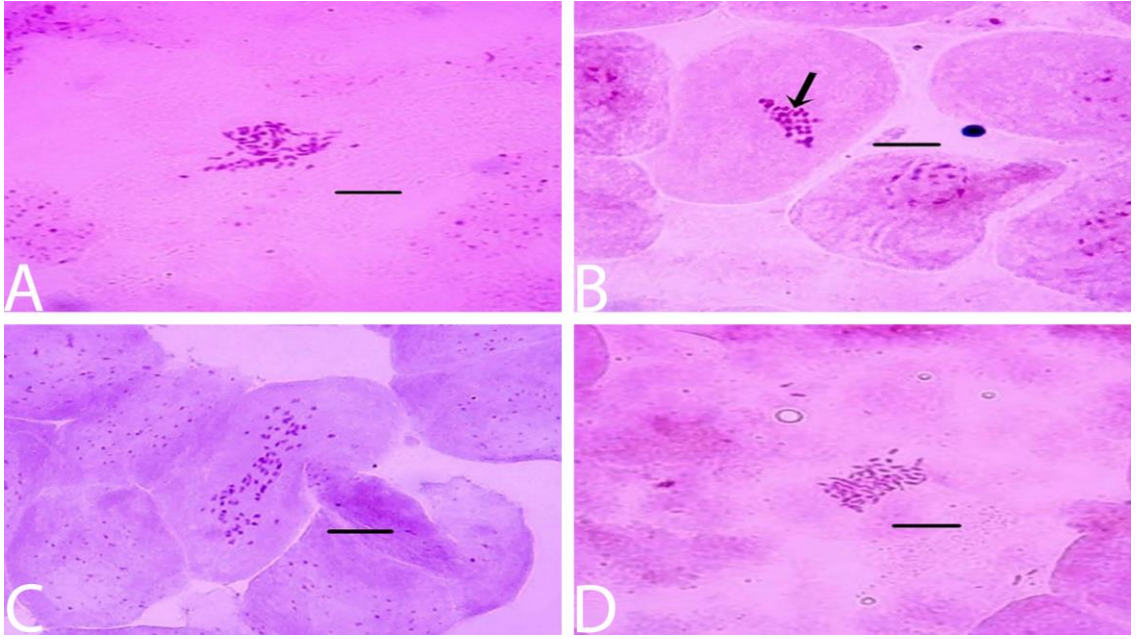
AAD 11415 numaralı örnek üzerinde gerçekleştirilen çalışmaya göre *P. hohenackeriana* taksonuna ait somatik kromozom sayısı $2n=34$ olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.5. AAD 11415 numaralı *P. hohenackeriana* örneğine ($2n=34$) ait somatik kromozom görüntüsü (Ölçek= 10 μm).

3.1.6. *P. vulgaris*

İncelenen *P. vulgaris* örneklerinde üç farklı sitotip gözlemlenmiştir. AAD 20743 numaralı örnek $2n=28+2B$ somatik kromozom sayısı ile diploid olarak belirlenmiştir. AAD 20628 ($2n=68$) ve AAD 16985 ($2n=68$, $2n=70$) numaralı örnekler ise tetraploid olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.6. *P. vulgaris* örneklerine ait somatik kromozom görüntüleri (Ölçek= 10 μ m).

A: AAD 20628 numaralı *P. vulgaris* örneğine ait ($2n=68$) somatik kromozom görüntüsü.

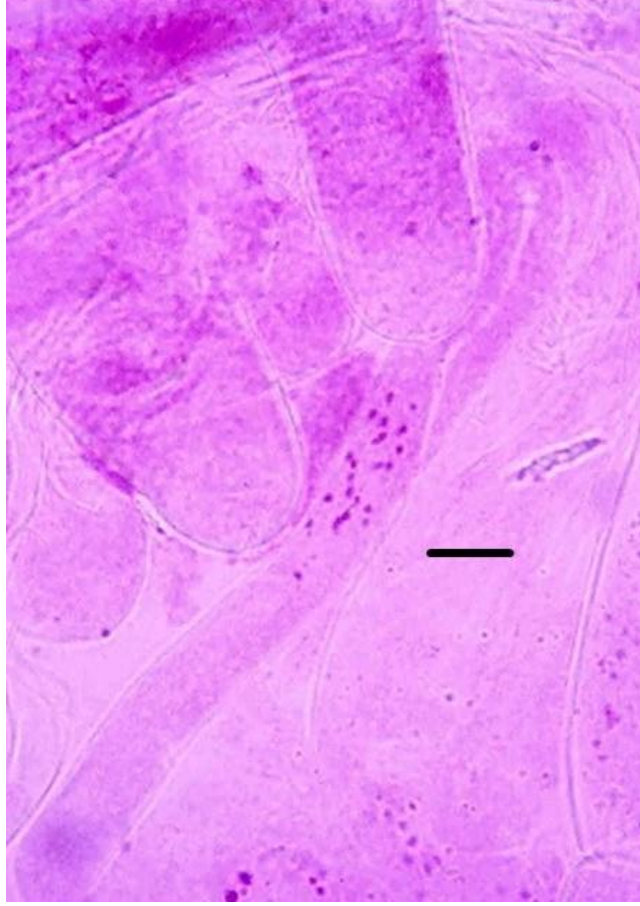
B: AAD 20743 numaralı *P. vulgaris* örneğine ait ($2n=28+2B$) somatik kromozom görüntüsü. Ok, B kromozomlarını göstermektedir.

C: AAD 16985 numaralı *P. vulgaris* örneğine ait ($2n=70$) somatik kromozom görüntüsü.

D: AAD 16985 numaralı *P. vulgaris* örneğine ait ($2n=68$) somatik kromozom görüntüsü.

3.1.7. *P. alpestris*

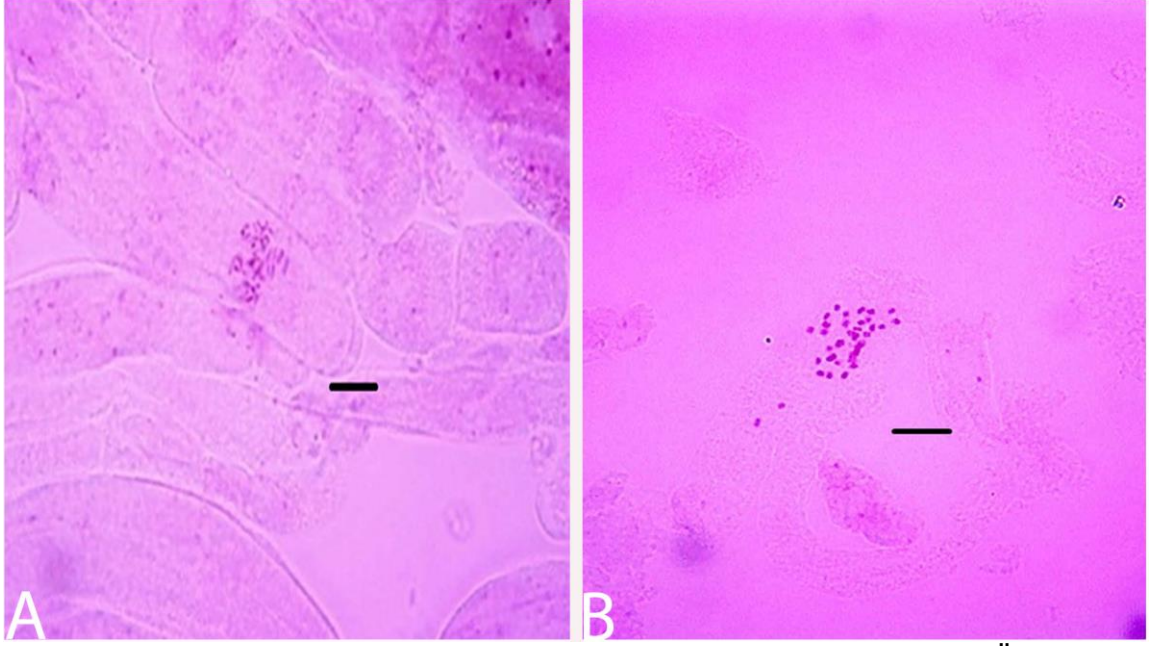
AAD 20754 numaralı örnek üzerinde gerçekleştirilen çalışmaya göre *P. alpestris* taksonuna ait somatik kromozom sayısı $2n=24$ olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.7. AAD 20754 numaralı *P. alpestris* örneğine ($2n=24$) ait somatik kromozom görüntüsü (Ölçek= 10 μ m).

3.1.8. *P. peshmenii*

AAD 20387 ve AAD 20389 numaralı örnekler üzerinde gerçekleştirilen çalışmaya göre *P. peshmenii* taksonuna ait somatik kromozom sayısı $2n=34$ olarak belirlenmiştir.



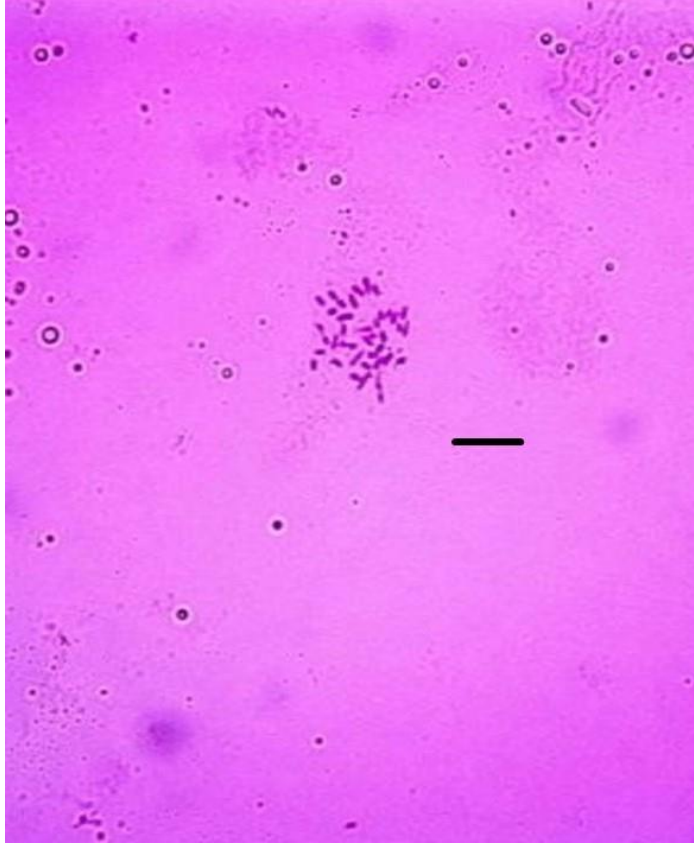
Şekil 3.8. *P.peshmenii* örneklerine ait somatik kromozom görüntüleri (Ölçek= 10 μ m).

A: AAD 20389 numaralı *P. peshmenii* örneğine ait ($2n=34$) somatik kromozom görüntüsü.

B: AAD 20387 numaralı *P. peshmenii* örneğine ait ($2n=34$) somatik kromozom görüntüsü.

3.1.9. *P. turcica*

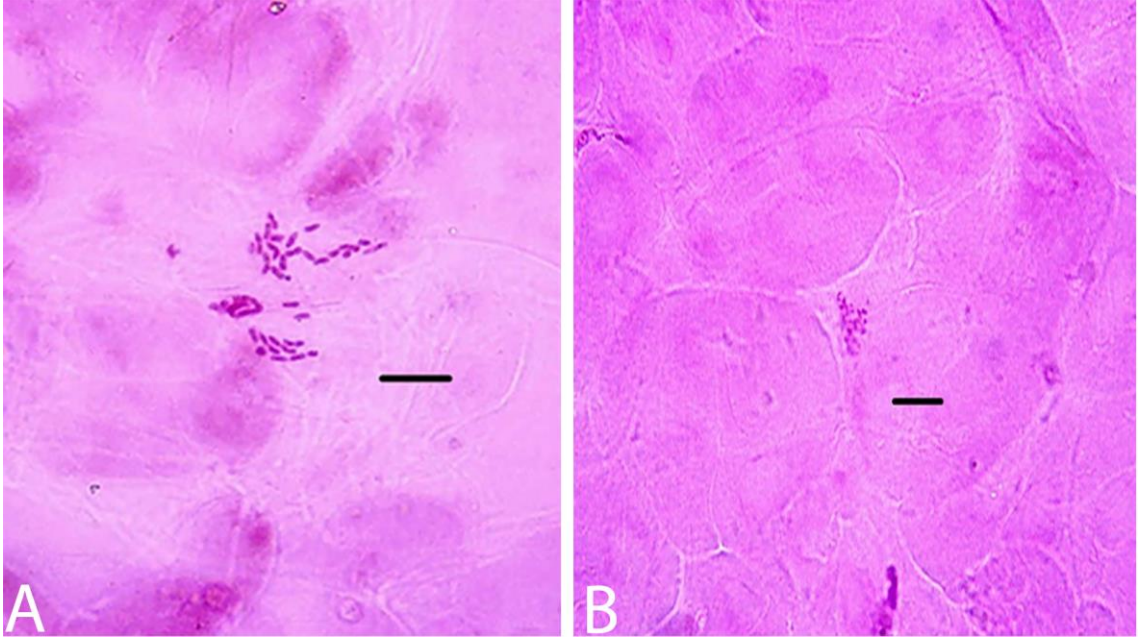
AAD 19552 numaralı örnek üzerinde gerçekleştirilen çalışmaya göre *P. turcica* taksonuna ait somatik kromozom sayısı $2n=38$ olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.9. AAD 19552 numaralı *P. turcica* örneğine ait ($2n=38$) somatik kromozom görüntüsü (Ölçek= 10 μm).

3.1.10. *P. monspeliaca*

AAD 16998 ve AC 003 numaralı örnekler üzerinde gerçekleştirilen çalışmaya göre *P. monspeliaca* taksonuna ait somatik kromozom sayısı $2n=34$ olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.10. *P. monspeliaca* örneklerine ait somatik kromozom görüntüleri (Ölçek= 10 µm).

A: AAD 16998 numaralı *P. monspeliaca* örneğine (2n=38) ait somatik kromozom görüntüsü.

B: AC 003 numaralı *P. monspeliaca* örneğine (2n=38) ait somatik kromozom görüntüsü.

3.2 Akış Sitometrik (Flov Sitometrik) Bulgular

Bu çalışma 24 farklı populasyon ve 66 farklı birey üzerinde gerçekleştirilmiştir. 2C çekirdek DNA içeriği en küçük takson 0,50 pg ile AC 003 numaralı *Polygala monspeliaca* olurken, 2C çekirdek DNA içeriği en büyük takson 2,42 pg ile AAD 20927-1 numaralı *Polygala alpestris* olmuştur. Bu iki örnek arasındaki büyüklük farkı 4,84 kat olarak hesaplanmıştır. Ayrıca megabaz (Mbp) cinsinden de sonuçlar hesaplanmıştır. Dönüşüm faktörü olarak 1 pg=978 Mbp olarak kabul edilmiştir [81].

3.2.1 *Polygala supina*

AAD 20879 numaralı *P. supina* örneğine tek populasyona ait üç farklı bireyin 2C çekirdek DNA içeriği belirlenmiştir. Bu örnekler için standart sapma 0.01 olarak hesaplanmıştır. Standart materyal olarak fiğ bitkisi (*Vicia sativa*) kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. *P. supina* örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler

Örnek No	Örneğin Floresan Yoğunluğu	Standartın Floresan Yoğunluğu	Standart DNA (pg)	Örnek DNA (pg)	Örnek DNA (Mbp)	Std. Sapma
AAD 20879-1	115,8	531,83	3,65	0,79	773	0,01
AAD 20879-2	114,36	521,12	3,65	0,80	782	
AAD 20879-3	117,47	530,14	3,65	0,81	792	

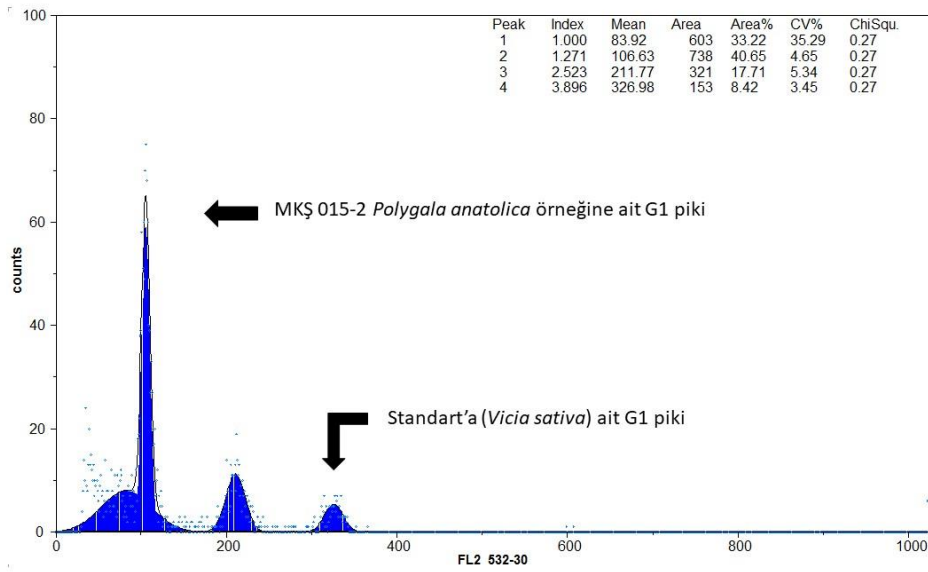
3.2.2 *Polygala anatolica*

P. anatolica taksonuna ait altı popülasyon, on altı bireyin 2C çekirdek DNA içeriği belirlenmiştir. Popülasyonlara ait standart sapma değerleri AAD 20651 popülasyonunda 0,06, AAD 20910 popülasyonunda 0,33, MKŞ 014 popülasyonunda 0,005, MKŞ 015 popülasyonunda ise 0,02 olarak hesaplanmıştır. Standart materyal olarak fiğ (*Vicia sativa*) ve domates (*Lycopersicon esculentum*) bitkisi kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. *P. anatolica* örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler.

Örnek No	Örneğin Floresan Yoğunluğu	Standartın Floresan Yoğunluğu	Standart DNA (pg)	Örnek DNA (pg)	Örnek DNA (Mbp)	Std. Sapma
AAD 20651-1	132,06	238,51	2	1,107	1086	0,06
AAD 20651-2	127,38	234,3	2	1,087	1066	
AAD 20651-3	151,65	305,52	2	0,99	968	
AAD 20693-1	168,58	504,08	3,65	1,22	1193	
AAD 20693-2	157,1	447,64	3,65	1,28	1252	
AAD 20910-1	199,95	536,28	3,65	1,36	1330	0,33
AAD 20910-2	116,43	541,78	3,65	0,78	763	
AAD 20910-3	162,53	433,73	3,65	1,37	1340	

AAD 20856-1	170,48	432,54	3,65	1,44	1408	
AAD 20856-2	130,81	521,29	3,65	0,92	900	
MKŞ 014-1	118,78	358,08	3,65	1,21	1183	0,005
MKŞ 014-2	110,09	331,64	3,65	1,21	1183	
MKŞ 014-3	112,32	337,18	3,65	1,22	1193	
MKŞ 015-1	109,44	327,95	3,65	1,22	1193	0,02
MKŞ 015-2	106,63	326,98	3,65	1,19	1164	
MKŞ 015-3	128,94	381,9	3,65	1,23	1203	



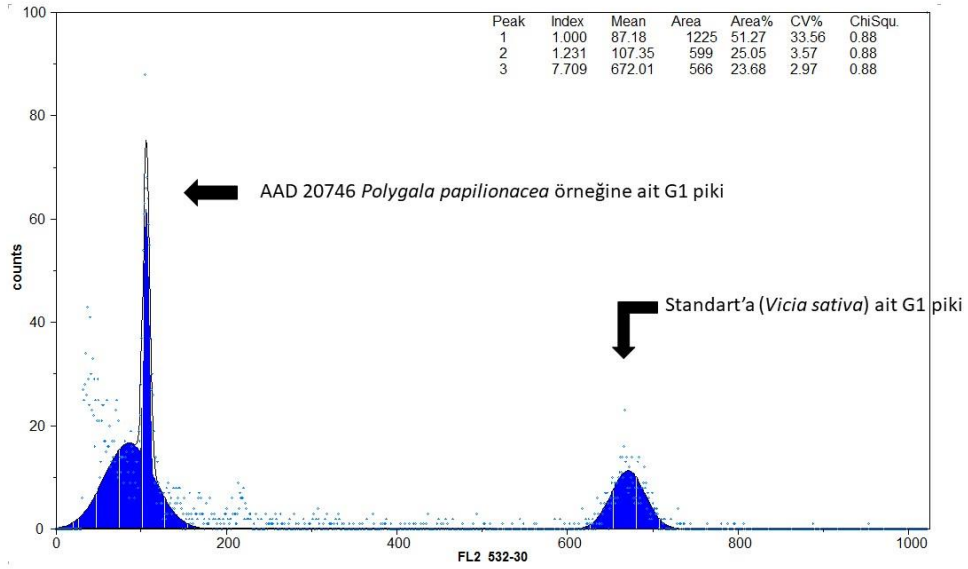
Şekil 3.11. MKŞ 015-2 numaralı *P. anatolica* örneği ve standart olarak kullanılan fiğ bitkisine (*Vicia sativa*) ait G1 piklerinin birbirine göre nispi pozisyonlarını gösteren FloMax analiz programından elde edilen histogram.

3.2.3 *Polygala papilionacea*

P. papilionacea taksonuna ait iki popülasyon, dört bireyin 2C çekirdek DNA içeriği belirlenmiştir. Popülasyon üzerindeki standart sapma AAD 20894 popülasyonunda 0,04 olarak hesaplanmıştır. Standart materyal olarak fiğ bitkisi (*Vicia sativa*) kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. *P. papilionacea* örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler

Örnek No	Örneğin Floresan Yoğunluğu	Standartın Floresan Yoğunluğu	Standart DNA (pg)	Örnek DNA (pg)	Örnek DNA (Mbp)	Std. Sapma
AAD 20746	107,35	672,01	3,65	0,58	567	
AAD 20894-1	110,11	731,47	3,65	0,55	538	0,04
AAD 20894-2	116,4	724,78	3,65	0,59	577	
AAD 20894-3	114,84	666,4	3,65	0,63	616	



Şekil 3.12. AAD 20746-1 numaralı *P. papilionacea* örneği ve standart olarak kullanılan fiğ bitkisine (*Vicia sativa*) ait G1 piklerinin birbirine göre nispi pozisyonlarını gösteren FloMax analiz programından elde edilen histogram.

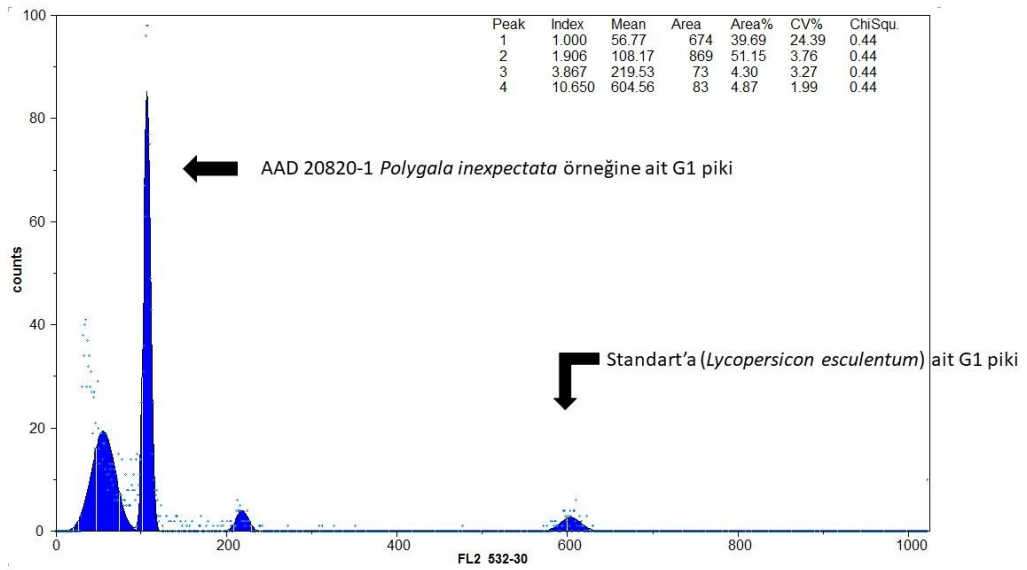
3.2.4 *Polygala inexpectata*

P. inexpectata taksonuna ait iki populasyon, altı bireyin 2C çekirdek DNA içeriği belirlenmiştir. Populasyonlar üzerindeki standart sapma AAD 20820 populasyonunda 0,03, AAD 20822 populasyonunda 0,02 olarak hesaplanmıştır. Standart materyal olarak fiğ bitkisi (*Vicia sativa*) kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. *P. inexpectata* örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler

Örnek No	Örneğin Floresan Yoğunluğu	Standartın Floresan Yoğunluğu	Standart DNA (pg)	Örnek DNA (pg)	Örnek DNA (Mbp)	Std. Sapma

AAD 20820-1	102,37	568,17	3,65	0,66	646	0,03
AAD 20820-2	98,1	505,12	3,65	0,71	694	
AAD 20820-3	108,17	604,56	3,65	0,65	636	
AAD 20822-1	121,46	655,85	3,65	0,68	665	0,02
AAD 20822-2	106,57	603,61	3,65	0,64	626	
AAD 20822-3	112,72	599,08	3,65	0,69	675	



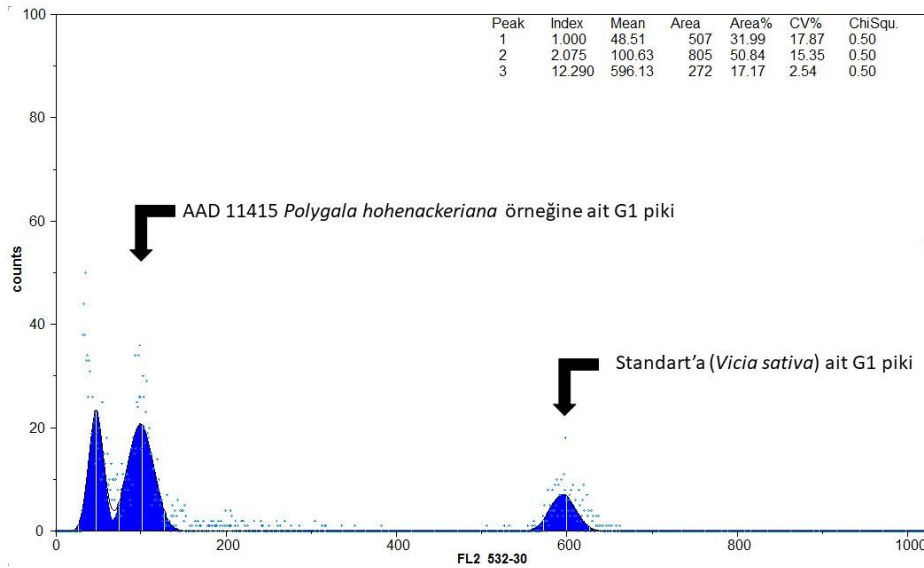
Şekil 3.13. AAD 20820-1 numaralı *P. inexpectata* örneği ve standart olarak kullanılan fiğ bitkisine (*Vicia sativa*) ait G1 piklerinin birbirine göre nispi pozisyonlarını gösteren FloMax analiz programından elde edilen histogram.

3.2.5 *Polygala hohenackeriana*

P. hohenackeriana taksonuna ait yalnızca bir populasyon ve tek bireye ait 2C çekirdek DNA içeriği belirlenmiştir. Standart materyal olarak fiğ bitkisi (*Vicia sativa*) kullanılmıştır.

Çizelge 3.5. *P. hohenackeriana* örneğine ait 2C çekirdek DNA içeriği ve akış sitometrik veriler

Örnek No	Örneğin Floresan Yoğunluğu	Standartın Floresan Yoğunluğu	Standart DNA (pg)	Örnek DNA (pg)	Örnek DNA (Mbp)
AAD 11415	100,63	596,13	3,65	0,62	606



Şekil 3.14. AAD 11415 numaralı *P. hohenackeriana* örneği ve standart olarak kullanılan fiğ bitkisine (*Vicia sativa*) ait G1 piklerinin birbirine göre nispi pozisyonlarını gösteren FloMax analiz programından elde edilen histogram.

3.2.6 *Polygala vulgaris*

P. vulgaris taksonuna ait üç populasyon, altı bireyin 2C çekirdek DNA içeriği belirlenmiştir. Populasyonlar üzerindeki standart sapma AAD 20628 populasyonunda 0,13 olarak hesaplanmıştır. Standart materyal olarak fiğ bitkisi (*Vicia sativa*) kullanılmıştır.

Çizelge 3.6. *P. vulgaris* örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler

Örnek No	Örneğin Floresan Yoğunluğu	Standartın Floresan Yoğunluğu	Standart DNA (pg)	Örnek DNA (pg)	Örnek DNA (Mbp)	Std. Sapma
AAD 20628-1	144,74	240,14	3,35	2,02	1976	0,13
AAD 20628-2	114,12	217,43	3,35	1,76	1721	
AAD 20628-3	126,58	234,02	3,35	1,81	1770	
AAD 20743	183,96	337,41	3,65	1,99	1946	
AAD 20896-1	217,71	385,22	3,65	2,06	2015	
AAD 20896-2	109,79	196,58	3,65	2,04	1995	

3.2.7 *Polygala alpestris*

P. alpestris taksonuna ait üç populasyon, altı bireyin 2C çekirdek DNA içeriği belirlenmiştir. Populasyonlar üzerindeki standart sapma AAD 20906

populasyonunda 0,02, AAD 20927 populasyonunda ise 0,93 olarak hesaplanmıştır. Standart materyal olarak fiğ bitkisi (*Vicia sativa*) kullanılmıştır.

Çizelge 3.7. *P. alpestris* örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler

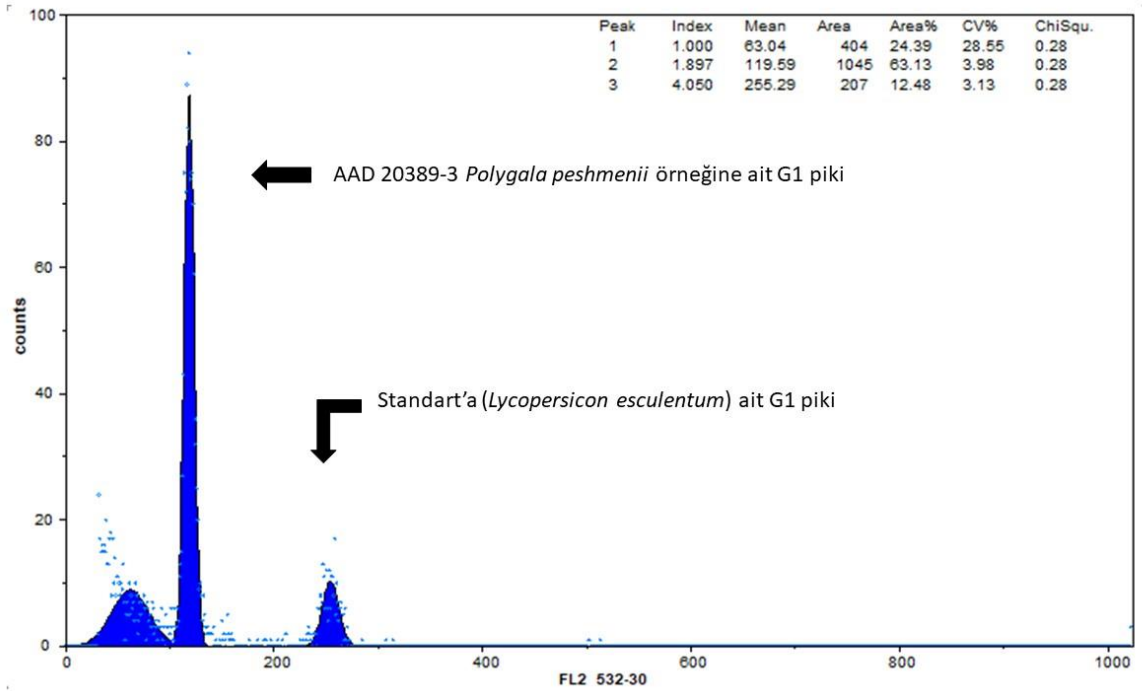
Örnek No	Örneğin Floresan Yoğunluğu	Standardın Floresan Yoğunluğu	Standart DNA (pg)	Örnek DNA (pg)	Örnek DNA (Mbp)	Std. Sapma
AAD 20906-1	136,25	471,95	3,65	1,05	1027	0,02
AAD 20906-2	111,09	400,95	3,65	1,01	988	
AAD 20906-3	112,1	395,88	3,65	1,03	1007	
AAD 20927-1	106,43	160,73	3,65	2,42	2369	0,93
AAD 20927-2	117,44	593,97	3,65	0,72	704	
AAD 20927-3	99,17	389,01	3,65	0,93	910	

3.2.8 *Polygala peshmenii*

P. peshmenii taksonuna ait üç populasyon, dokuz bireyin 2C çekirdek DNA içeriği belirlenmiştir. Populasyonlar üzerindeki standart sapma AAD 20389 populasyonunda 0,02, AAD 20798 populasyonunda 0,02 ve AAD 20801 populasyonunda 0,017 olarak hesaplanmıştır. Standart materyal olarak fiğ (*Vicia sativa*) ve domates (*Lycopersicon esculentum*) bitkisi kullanılmıştır.

Çizelge 3.8. *P. peshmenii* örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve "akış sitometrik veriler

Örnek No	Örneğin Floresan Yoğunluğu	Standardın Floresan Yoğunluğu	Standart DNA (pg)	Örnek DNA (pg)	Örnek DNA (Mbp)	Std. Sapma
AAD 20389-1	107,99	234,25	2	0,922	900	0,02
AAD 20389-2	126,74	259,31	2	0,978	958	
AAD 20389-3	119,59	255,29	2	0,937	919	
AAD 20798-1	105,68	399,35	3,65	0,97	949	0,02
AAD 20798-2	129,14	472,06	3,65	1,00	978	
AAD 20798-3	128,72	462,09	3,65	1,02	998	
AAD 20801-1	119,85	430,68	3,65	1,02	998	0,017
AAD 20801-2	134,7	469,38	3,65	1,05	1027	
AAD 20801-3	142,56	496,05	3,65	1,05	1027	



Şekil 3.15. AAD 20389-3 numaralı *P. peshmenii* örneği ve standart olarak kullanılan domates bitkisine (*Lycopersicon esculentum*) ait G1 piklerinin birbirine göre nispi pozisyonlarını gösteren FloMax analiz programından elde edilen histogram.

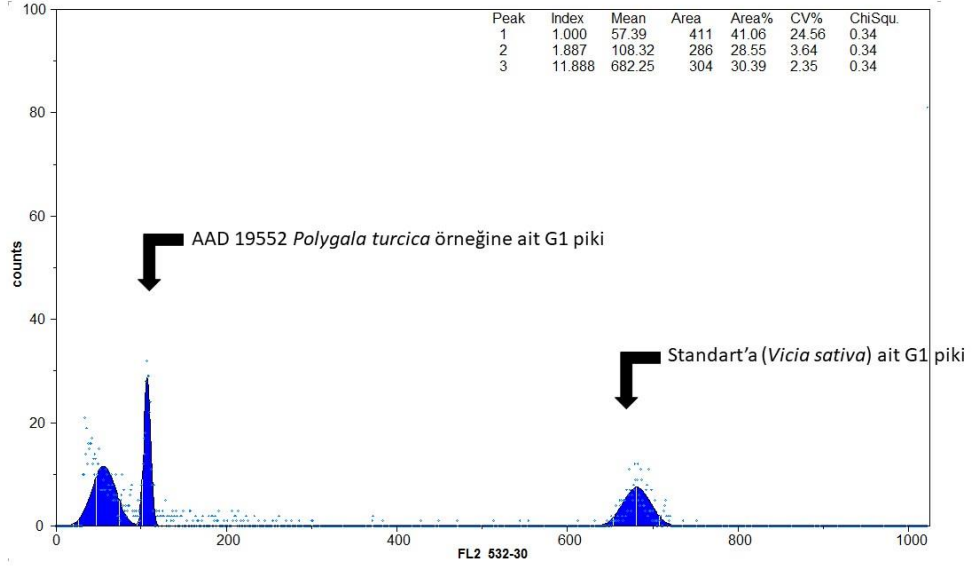
3.2.9 *Polygala turcica*

P. turcica taksonuna ait yalnızca bir populasyon ve iki bireye ait 2C çekirdek DNA içeriği belirlenmiştir. Standart materyal olarak fiğ (*Vicia sativa*) ve domates (*Lycopersicon esculentum*) bitkisi kullanılmıştır.

Çizelge 3.9. *P. turcica* örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler

Örnek No	Örneğin Floresan Yoğunluğu	Standartın Floresan Yoğunluğu	Standart DNA (pg)	Örnek DNA (pg)	Örnek DNA (Mbp)

AAD 19552-1	108,32	682,25	3,65	0,58	567
AAD 19552-2	128,81	496,22	2	0,52	509



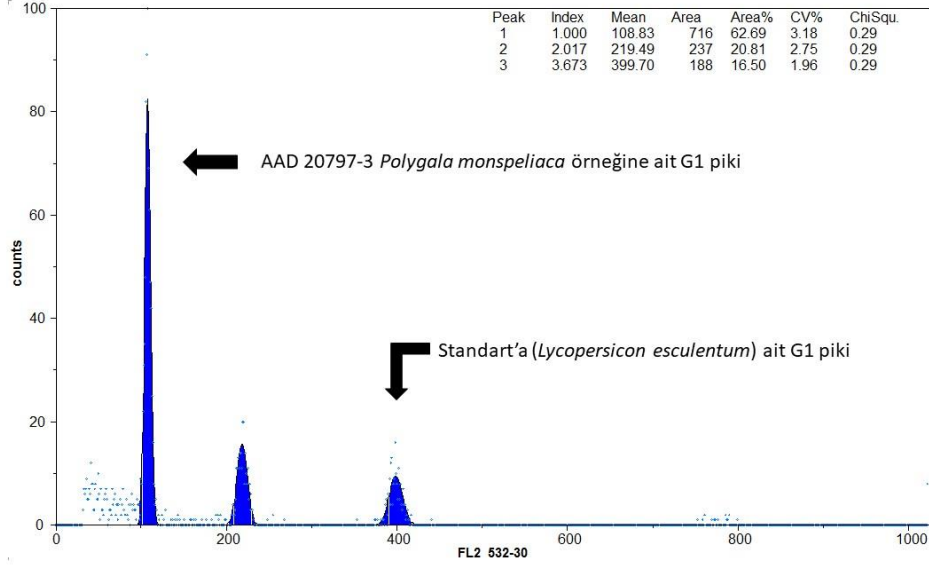
Şekil 3.16. AAD 19552-1 numaralı *P. turcica* örneği ve standart olarak kullanılan fiğ bitkisine (*Vicia sativa*) ait G1 piklerinin birbirine göre nispi pozisyonlarını gösteren FloMax analiz programından elde edilen histogram.

3.2.10 *Polygala monspeliaca*

P. monspeliaca taksonuna ait üç populasyon, on bir bireyin 2C çekirdek DNA içeriği belirlenmiştir. Populasyonlar üzerindeki standart sapma AC 003 populasyonunda 0, AAD 20797 populasyonunda 0,05 olarak hesaplanmıştır. Standart materyal olarak fiğ (*Vicia sativa*) ve domates bitkisi (*Lycopersicon esculentum*) kullanılmıştır.

Çizelge 3.10. *P. monspeliaca* örneklerine ait 2C çekirdek DNA içerikleri ve akış sitometrik veriler

Örnek No	Örneğin Floresan Yoğunluğu	Standardın Floresan Yoğunluğu	Standart DNA (pg)	Örnek DNA (pg)	Örnek DNA (Mbp)	Std. Sapma
AC 003-1	100,43	399,43	2	0,50	489	0
AC 003-2	106,19	423,74	2	0,50	489	
AC 003-3	103,63	410,98	2	0,50	489	
AC 003-1	104,62	691,23	3,65	0,55	538	0
AC 003-2	101,36	670,75	3,65	0,55	538	
AC 003-3	104,62	691,23	3,65	0,55	538	
AAD 16998-1	120,45	462,96	2	0,52	509	
AAD 16998-2	118,84	453,87	2	0,52	509	
AAD 20797-1	101,27	311,39	2	0,65	636	0,05
AAD 20797-2	111,57	387,12	2	0,58	567	
AAD 20797-3	108,83	399,7	2	0,54	528	

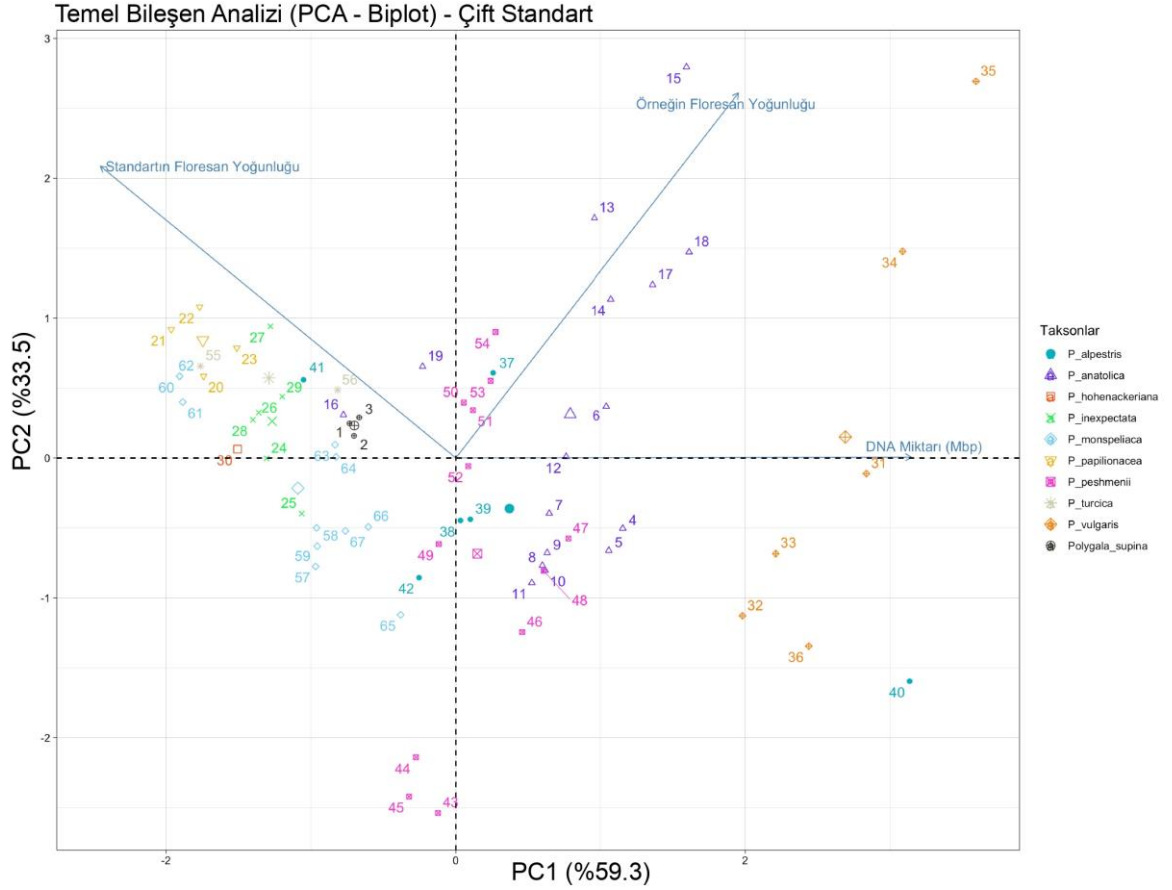


Şekil 3.17. AAD 20797-3 numaralı *P. monspeliaca* örneği ve standart olarak kullanılan domates bitkisine (*Lycopersicon esculentum*) ait G1 piklerinin birbirine göre nispi pozisyonlarını gösteren FloMax analiz programından elde edilen histogram.

Çizelge 3.11. Çalışılan örneklerin ortalama 2C çekirdek DNA içeriklerinin güven aralıkları

Takson	Örnek No	Ort. Çekirdek DNA İçeriği (pg)	Standart Sapma	Minimum Confidence İntervaler (CI Min.)	Maksimum Confidence İntervaler (CI Max.)
<i>P. supina</i>	AAD 20879	0,80	0,01	0,775	0,824
<i>P. anatolica</i>	AAD 20651	1,06	0,06	0,910	1,209
<i>P. anatolica</i>	AAD 20910	1,17	0,30	0,350	1,989
<i>P. anatolica</i>	MKŞ 014	1,21	0,005	1,197	1,222

<i>P. anatolica</i>	MKŞ 015	1,21	0,02	1,160	1,259
<i>P. papilionacea</i>	AAD 20894	0,59	0,04	0,490	0,689
<i>P. inexpectata</i>	AAD 20820	0,67	0,03	0,595	0,744
<i>P. inexpectata</i>	AAD 20822	0,67	0,02	0,620	0,619
<i>P. vulgaris</i>	AAD 20628	1,86	0,13	1,537	2,182
<i>P. alpestris</i>	AAD 20906	1,03	0,02	0,980	1,079
<i>P. alpestris</i>	AAD 20927	1,35	0,93	-1,009	3,709
<i>P. peshmenii</i>	AAD 20389	0,94	0,02	0,890	0,989
<i>P. peshmenii</i>	AAD 20798	1,00	0,02	0,950	1,049
<i>P. peshmenii</i>	AAD 20801	1,04	0,017	0,997	1,082
<i>P. monspeliaca</i>	AC 003 (Standart Domates)	0,50	0	0,50	0,50
<i>P. monspeliaca</i>	AC 003 (Standart Fiğ)	0,55	0	0,55	0,55
<i>P. monspeliaca</i>	AAD 20797	0,59	0,05	0,465	0,714



Şekil 3.18. Çekirdek DNA içeriği belirlenen tüm örneklere ait temel bileşenler analizi (Kullanılan parametreler: Standartın ve örneğin floresan yoğunluğu, örneğin çekirdek DNA miktarı).

Örneklere ait çekirdek DNA içerikleri, standart ve örneklere ait floresan yoğunluğu verisi kullanılarak temel bileşenler analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz sonucunda %92,8 değerinde yüksek ayırım gücü elde edilmiştir (Şekil 3.18). *P. supina*, *P. monspeliaca*, *P. vulgaris*, *P. papilionacea*, *P. turcica* ve *P. inexpectata* örnekleri populasyonlar düzeyinde DNA içerikleri ile orantılı olarak kümelenmiştir. *P. anatolica*, *P. peshmenii* ve *P. alpestris* örnekleri ise farklı bölgelerde dağılım göstermiş, diğer örneklerden daha geniş varyasyona sahiptir.

Çizelge 3.12. Tez çalışmasında kullanılan örneklerin genel sonuçları

Takson	Örnek Numarası	Kromozom Sayısı (2n)	Ploidi Seviyesi	2C Çekirdek DNA
--------	----------------	----------------------	-----------------	-----------------

				Seviyesi (pg)*
<i>P. supina</i>	AAD 20879	-	2x (?)	0,80
<i>P. anatolica</i>	AAD 20651	32	2x	1,05
	AAD 20693	24	2x	1,25
	AAD 20856	-	2x	1,18
	AAD 20910	-	2x	1,17
	MKŞ 014	-	2x	1,21
	MKŞ 015	-	2x	1,21
	AAD 20750	24+2B	2x	-
	AAD 19846	32	2x	-
<i>P. papilionacea</i>	AAD 20894	-	2x	0,58
	AAD 20746	42	2x	0,59
<i>P. inexpectata</i>	AAD 20373	34	2x	-
	AAD 20820	34	2x	0,67
	AAD 20822	34	2x	0,67
<i>P. hohenackeriana</i>	AAD 11415	34	2x	0,62
<i>P. vulgaris</i>	AAD 16985	68, 70	4x	-
	AAD 20628	68	4x	1,86
	AAD 20743	28+2B	4x	1,99
	AAD 20896	-	4x	2,05
<i>P. alpestris</i>	AAD 20906	-	2x	1,03
	AAD 20927	-	4x (?)	1,35
	AAD 20754	24	2x	-
	AAD 20387	34	2x	-

<i>P. peshmenii</i>	AAD 20389	34	2x	0,95
	AAD 20798	-	2x	0,99
	AAD 20801	-	2x	1,04
<i>P. turcica</i>	AAD 19552	38	2x	0,55
<i>P. monspeliaca</i>	AC 003	38	2x	0,50
	AAD 16998	38	2x	0,52
	AAD 20797	-	2x	0,59

*Analiz edilen bireylerin ortalaması kullanılmıştır.

4. TARTIŞMA

4.1 Karyolojik Değerlendirme

Çalışılan taksonlardan *P. anatolica*'ya ait somatik kromozom sayısı, AAD 20651 ve AAD 19846 numaralı örneklerden yapılan preparatlarda $2n=32$ olarak tespit edilmesi literatürle örtüşmektedir [63]. AAD 20693 numaralı örnekte gözlemlenen $2n=24$ somatik kromozom sayısı bu tez çalışmasının desteklediği proje kapsamında ilk kez belirlenmiştir. AAD 20750 numaralı örnekte gözlemlenen $2n=24+2B$ kromozom sayısı ise bulundurduğu B kromozomları daha önce çalışılan hiçbir *P. anatolica* örneğinde gözlemlenmemiştir.

P. anatolica, moleküler filogenetik çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre Lyskov ve ark. tarafından *Polygala major* tür kompleksi altında sinonim olarak tanımlanmıştır [23]. *P. anatolica* ve *P. major*'un morfolojik yönden birbirlerine çok benzer karakter ve karakter durumlarına sahip olmaları taksonomik olarak her iki taksonun tartışmalı bir durumda olmasına yol açmıştır [25]. *P. anatolica* taksonu içerisinde farklı sitotiplerin bulunması, *P. anatolica*'nın taksonomik ve sitotaksonomik prensipler benimsenerek daha detaylı analizler ile çalışılması gerektiğini göstermektedir.

P. vulgaris taksonunun bu tez çalışmasında belirlenen kromozom sayıları literatürle paralellik göstermektedir [50]. AAD 20628 örneğinde $2n=4x=68$, AAD 20743 numaralı *P. vulgaris* örneğinde $2n=2x=28+2B$ kromozom sayısı belirlenmiştir. Bu sonuca göre populasyon içerisinde diploid-tetraploid bireyler olduğu gözlemlenmiştir. Dolayısıyla ilgili lokalite olan Erzurum, Oltu, Duralar Köyü bölgesinin *P. vulgaris* populasyonları bakımından miksoploid bir populasyon olarak kabul edilebilir.

P. monspeliaca taksonunda AC 003, AAD 16998 numaralı örneklerin ikisinde de $2n=2x=38$ kromozom sayısı gözlemlenmiştir. Gözlemlediğimiz sonuçlar literatür ile eş sonuç göstermektedir [60]. AC 003 örneğinin lokasyonunun KKTC olduğu, AAD 16998 örneğinin lokasyonunun ise Lübnan olduğu bilinmektedir (Çizelge 2.1). Farklı coğrafi bölgelerdeki populasyonları temsil eden örneklerin aynı kromozom sayısına sahip olması, *P. monspeliaca*'nın ploidi seviyesinin ve aynı zamanda kromozom sayısının biyocoğrafik uzaklıkla değişmediğini

göstermektedir. Ayrıca *P. monspeliaca*'nın (diğer çoğu *Polygala* taksonundan farklı olarak) tek yıllık bir bitki olması çok geniş populasyonlar oluşturmamasına yol açmaktadır. Bu nedenle *P. monspeliaca* taksonunun sabit kromozom sayısı ve genom büyüklüğüne sahip olması olabileceği düşünülmektedir [108].

P. inexpectata, *P. peshmenii* ve *P. turcica* türleri ülkemize endemik bitkiler olup, ilgili taksonların lokaliteleri sırasıyla: Karaman, Antalya ve Kars illerimiz şeklindedir (Çizelge 2.1). Kromozom sayıları bu tez çalışmasının desteklediği proje kapsamında ilk kez belirlenmiştir. *P. inexpectata* $2n=34$, *P. peshmenii* $2n=34$, *P. turcica* $2n=38$ diploid kromozom sayıları olarak belirlenmiştir. Bu sonuca göre *P. inexpectata* ve *P. peshmenii* birçok Avrupa taksonu ile aynı temel kromozom sayısına sahipken, *P. turcica*, Afrika taksonlarının birçoğu ile aynı temel kromozom sayısına sahiptir [34].

P. papilionacea'nın diğer taksonlardan farklı olarak $2n=42$ kromozom sayısına sahip olduğu, ilk kez bu tez çalışmasının desteklediği proje kapsamında belirlenmiştir. Taksonun farklı populasyonlardan toplanan örnekleri incelenerek karyolojik durumunun detaylı araştırılması tarafımızca önerilmektedir.

P. hohenackeriana'nın $2n=34$ kromozom sayısı ilk kez bu tez çalışmasının desteklediği proje kapsamında belirlenmiştir. Taksonun populasyon büyüklüğü sınırlı olduğundan dolayı az sayıda materyal üzerinden çalışma yürütülmüştür. Taksona ait yeni populasyonların keşfedilmesiyle elde edilebilecek zengin örnek seti ile çalışılarak karyolojik durumuna ait detayların öğrenilmesi tavsiye edilmektedir.

P. alpestris'in kromozom sayısı $2n=24$ olarak belirlenmiştir ancak literatür çalışmalarında kromozom sayısı $2n=34$ olarak bilinmektedir [50]. Bu sonuç *P. alpestris*'in farklı bir sitotipinin ülkemizde olduğuna işaret etmektedir. Farklı populasyonlardan elde edilecek örneklerin karyolojik durumları incelenerek sitotip çeşitliliğinin aydınlatılması önerilmektedir.

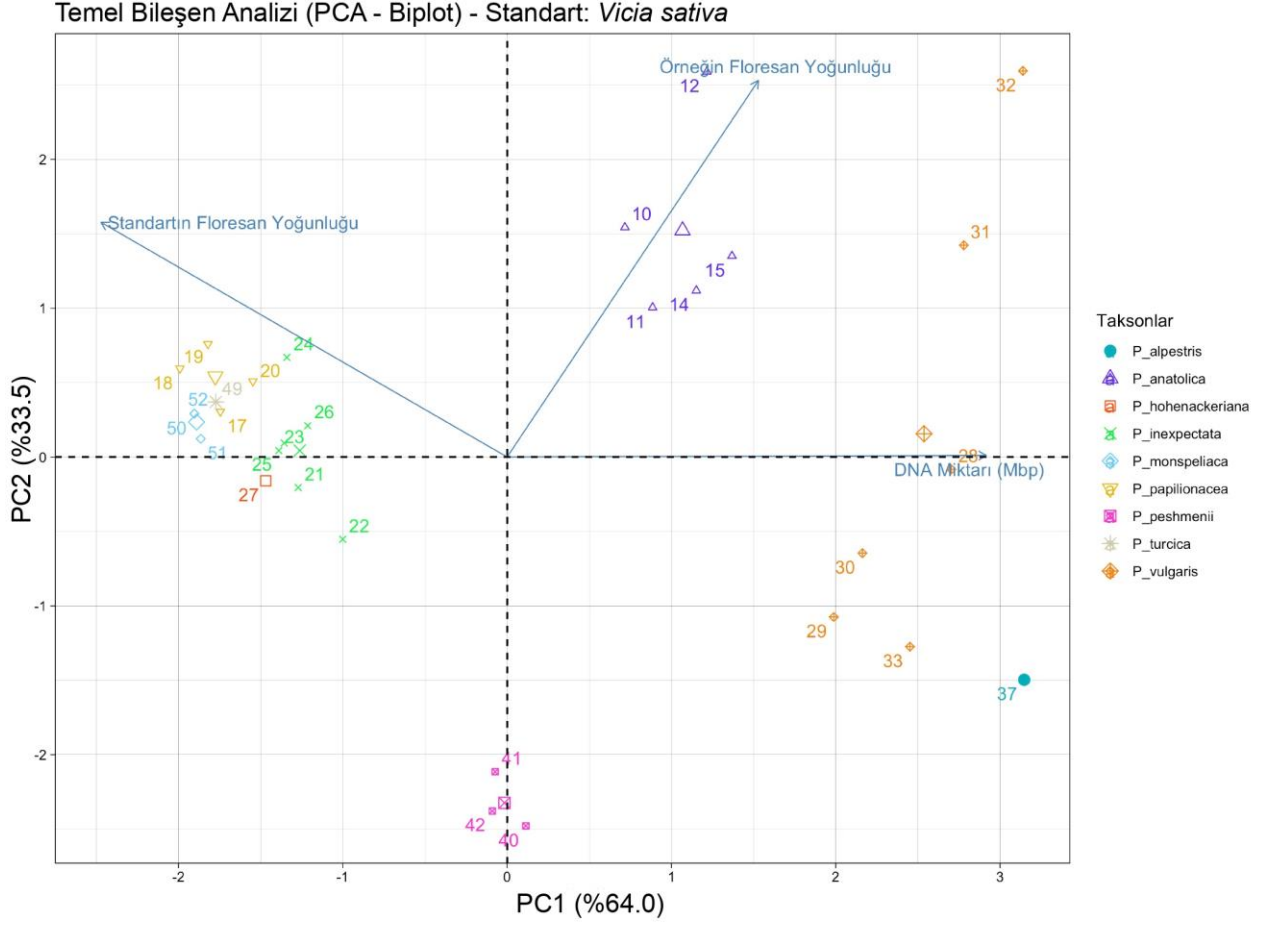
4.2 Akış Sitometrik Değerlendirme

P. supina türüne ait AAD 20879 numaralı bireylerde yürütülen bu çalışmada sırasıyla 0,79 pg, 0,80 pg, 0,81 pg değerinde 2C çekirdek DNA içeriği belirlenmiş olup standart sapması 0.01 olarak hesaplanmıştır. Literatür çalışmalarında yer alan *P. supina*'nın çekirdek DNA içeriği 1,79 pg/2C olarak hesaplanmıştır [94]. Tez çalışmasında elde edilen değerle örtüşmeyen bu sonuca göre *P. supina* üzerinde farklı populasyonların incelenmesi, olası sitotiplerin araştırılması önerilmektedir.

P. vulgaris türünün çekirdek DNA içeriğine dair Hojrales ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre 0,89 pg/2C değerini belirlemişlerdir [93]. Saptanan *P. vulgaris* örneklerinde (AAD 20743 örneği dışında) tetraploidi durumu gözlemlenmiş olmasından dolayı literatür ile tez sonucunun uyuşmaması kabul edilebilir. Hojrales ve arkadaşları, *P. vulgaris*'in muhtemel farklı bir sitotipini analiz etmiş olabileceği düşünülmektedir.

P. alpestris türüne ait AAD 20927 numaralı örneğin birinci bireyinde sıradışı bir veri elde edilmiştir (2,42 pg). İkinci ve üçüncü bireylerin sırasıyla 0,72 pg ve 0,93 pg çekirdek DNA içeriği hesaplanmıştır. Örnekler arasında güvenilir olmayan standart sapma sonucu (0,93) hesaplanmıştır. Bu farklılığın sebebi bireydeki karyolojik bir anomali olabileceği gibi insan kaynaklı deneysel bir hata olabileceği ihtimal dahilindedir. Bu nedenden dolayı örnek bu sonucun akabinde yeniden analiz edilmiş ve aynı sonuç elde edilmiştir. Dolayısı ile birey üzerinde daha detaylı incelemeler yapılması gerekmektedir.

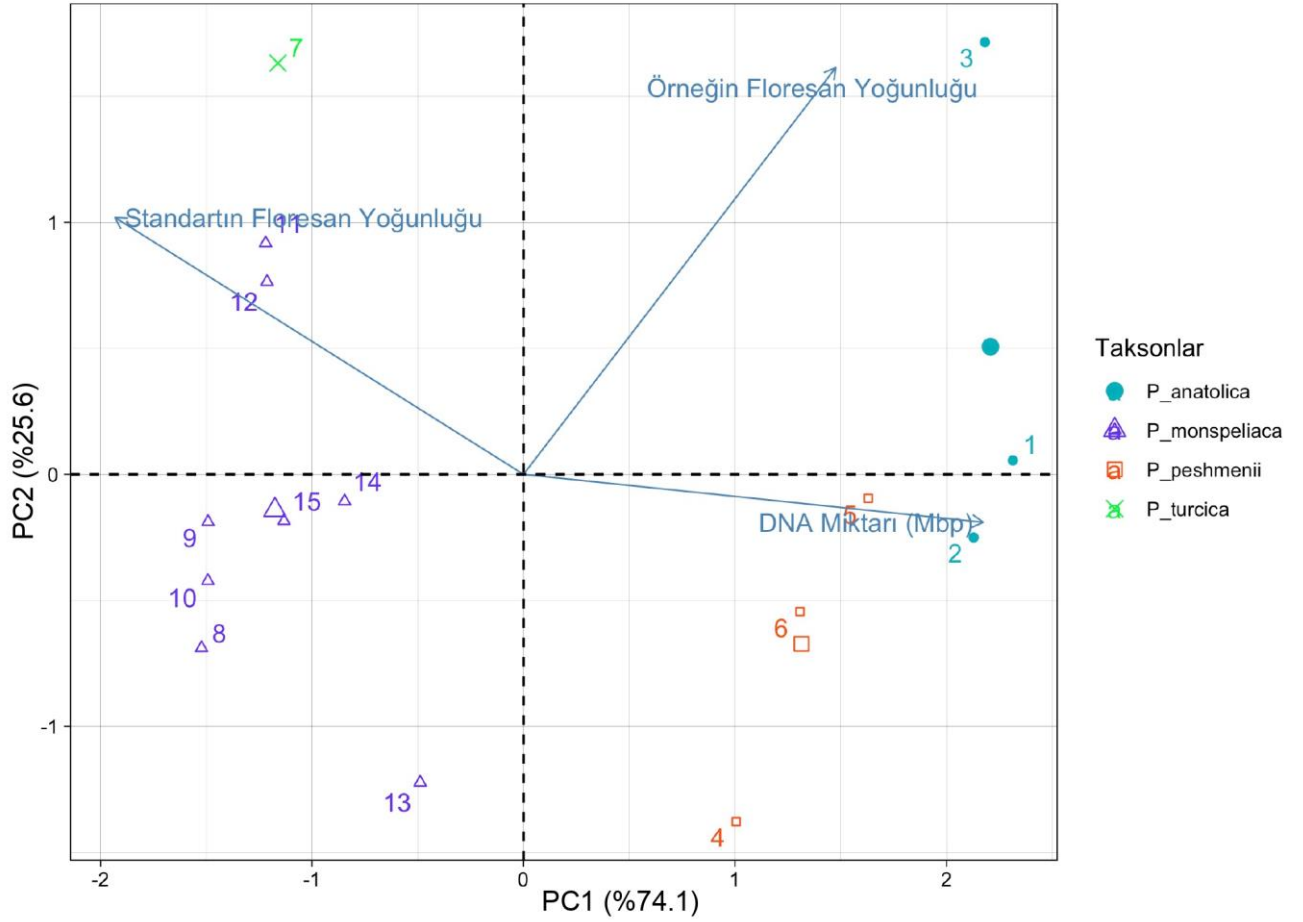
P. anatolica, *P. alpestris*, *P. turcica*, *P. inexpectata*, *P. peshmenii*, *P. hohenackeriana*, *P. papilionacea* ve *P. monspeliaca*'nın çekirdek DNA içeriklerine dair literatürde yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasının desteklendiği proje kapsamında söz konusu bu veriler ilk kez elde edilmiştir.



Şekil 4.1. Standart olarak fiğ bitkisi kullanılan örneklere ait temel bileşenler analizi (Kullanılan parametreler: Standartın ve örneğin floresan yoğunluğu, örneğin çekirdek DNA miktarı)

Örneklere ait çekirdek DNA içerikleri, standart fiğ bitkisi ve örneklere ait floresan yoğunluğu verisi kullanılarak temel bileşenler analizi gerçekleştirilmiştir. Bileşenlerin toplam ayrımı (PC1 ve PC2) %97,5 değerinde temsil edilmektedir (Şekil 4.1). *P. inexpectata*, *P. papilionacea* ve *P. monspeliaca*, örnekleri oldukça anlamlı bir dağılım göstermiş olup iki boyutlu düzleminde standart floresan yoğunluğuna yakın bir kümelenme göstermiştir. *P. peshmenii*, örnekleri diğer tüm örneklerden net bir ayrıma sahiptir. *P. anatolica* ve *P. vulgaris* örneklerinde geniş bir varyasyon saptanmıştır (Şekil 4.1). Bu durum *P. anatolica* ve *P. vulgaris* taksonlarının popülasyon gözetmeksizin tür içi geniş bir dağılıma sahip olabileceğini göstermektedir.

Temel Bileşen Analizi (PCA - Biplot) - Standart: *Lycopersicon esculentum*



Şekil 4.2. Standart olarak domates bitkisi kullanılan örneklere ait temel bileşenler analizi (Kullanılan parametreler: Standartın ve örneğin floresan yoğunluğu, örneğin çekirdek DNA miktarı)

Örneklere ait çekirdek DNA içerikleri, standart fiğ bitkisi ve örneklere ait floresan yoğunluğu verisi kullanılarak temel bileşenler analizi gerçekleştirilmiştir. Bileşenlerin toplam ayrımı (PC1 ve PC2) %99,7 değerinde temsil edilmektedir (Şekil 4.2). Dört farklı takson üzerinden yapılan bu analizde *P. monspeliaca*, *P. anatolica*, *P. peshmenii* ve *P. turcica* taksonları birbirinden net bir ayrım göstermektedir (Şekil 4.2). Bu durum *P. turcica* ve *P. monspeliaca* taksonlarının aynı kromozom sayısına sahip olmalarına rağmen farklı çekirdek DNA içeriği gösterebileceğine işaret etmektedir.

4.3 Sitotaksonomik Değerlendirme

Megabaz cinsinden genom hacmi (büyüklüğü) ile kromozom sayıları arasında korelasyon ilişkisi kurulmuştur. Anlamlılık skoru, "p value" olarak bilinen p anlamlılık değeri 0.0034 olarak hesaplanmıştır (şekil 4.3). Bu sonuca göre kromozom sayıları ve ekirdek DNA içeriği arasında anlamlı bir korelasyon saptanmıştır. Aynı bireye ait kromozom sayısı ve ekirdek DNA içeriği bu analiz için en güvenilir yöntemdir fakat tohumlarda sınırlı sayıda çimlenme gözlemlendiği için analiz bu şekilde gerçekleştirilememiştir.

şekil 4.3'de verildiği üzere en az kromozom sayısına sahip takson *P. alpestris*, bir örnek haricinde (AAD 20927-1) kısmen anlamlı bir dağılım göstermiştir (şekil 4.3).

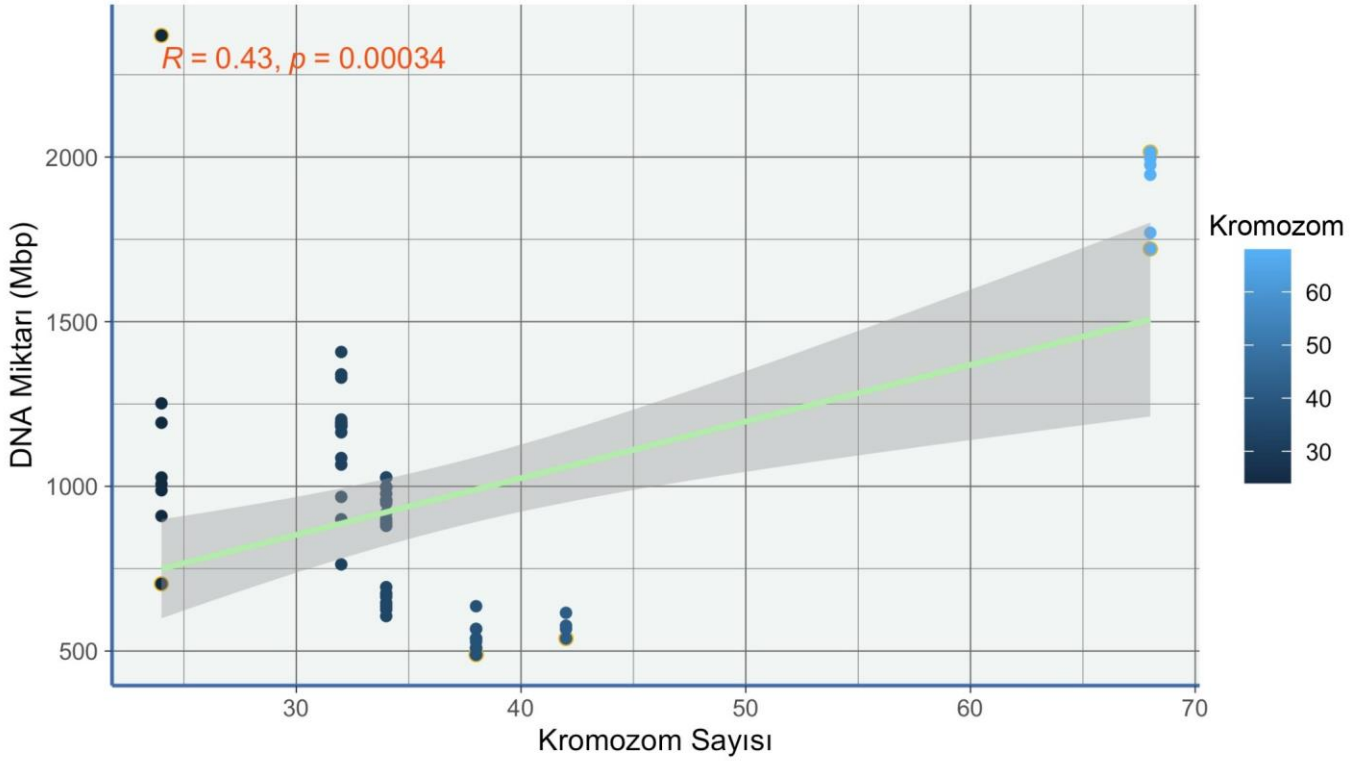
P. anatolica örnekleri ise 763 mbp ile 1408 mbp arasında geniş bir varyasyon göstermiş olmasına rağmen anlamlı bir sonuç vermiştir.

Örneklerin büyük bir çoğunluğu $2n=34$, $2n=38$ kromozom sayısı arasında yer almaktadır. $2n=34$ grubunda yer alan *P. peshmenii* DNA miktarı bakımından *P. inexpectata* ve *P. hohenackeriana*'dan net bir şekilde ayrılmaktadır. *P. hohenackeriana* yalnızca bir birey üzerinden çalışıldığı için *P. inexpectata*'dan çok net bir farklılık göstermese de, kısmen ılımlı bir ayırım göstermektedir.

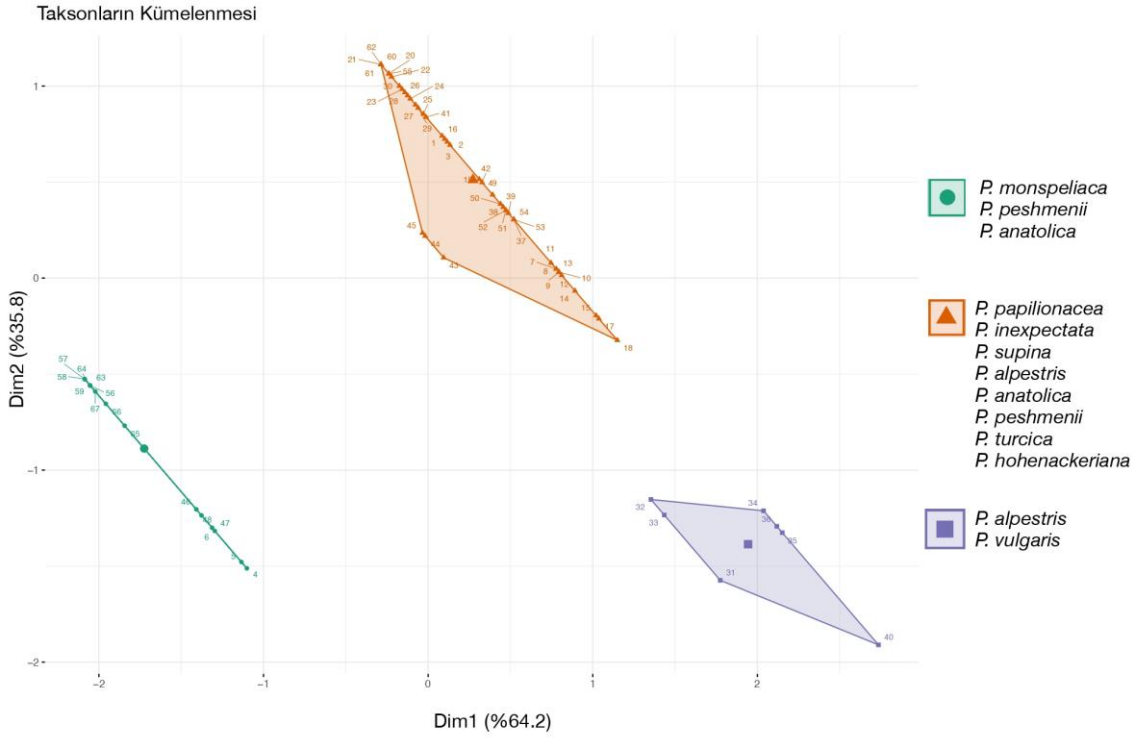
$2n=38$ grubunda yer alan iki takson *P. turcica* ve *P. monspeliaca*, gerek kromozom sayıları gerekse ekirdek DNA içerikleri bakımından benzer sonuç göstermektedir. *P. turcica*, yalnızca iki birey üzerinden analiz edilmiştir, farklı populasyon ve bireyler üzerinden gerçekleştirilecek çalışmalarla olası bir ayırım değeri bulunabileceği düşünülmektedir.

$2n=42$ kromozom sayısına sahip *P. papilionacea* türü kromozom sayısı ile diğer tüm taksonlardan farklılık göstermesine rağmen ekirdek DNA içeriği bakımından $2n=38$ grubuna yakın konumlandığı saptanmıştır (şekil 4.3.)

$2n=68$ kromozom sayısına sahip *P. vulgaris* türünün kromozom sayısı ve ekirdek DNA içeriği bakımından diğer tüm taksonlardan farklılaştığı saptanmıştır.



Şekil 4.3. Çekirdek DNA miktarının kromozom sayısına olan korelasyon matrisi



Şekil 4.4. Çekirdek DNA miktarına göre taksonların kümelenmesi

Taksonların çekirdek DNA içeriklerine göre kümelenmesi iki boyutlu düzlem üzerinde %100'lük ayırım ile sonuçlanmıştır. Bu sonuca göre taksonlar üç temel gruba ayrılmıştır (Şekil 4.4). *P. monspeliaca*, *P. peshmenii* ve *P. anatolica* ilk gruba ayrılmıştır. *P. monspeliaca*, *P. peshmenii* ve *P. anatolica* ikinci grupta da temsil edilirken, *P. monspeliaca* yalnızca ilk grup içerisinde yer alarak diğer tüm taksonlardan ayrılmıştır. Şekil 4.3'e göre $2n=38$ kromozom sayısına sahip *P. monspeliaca* ve *P. turcica* herhangi bir ayırım göstermemişken kümeleme analizinde her iki taksonun birbirinden ayrılması sıradışı bir sonuç olarak değerlendirilmektedir. İkinci grupta ise *P. papilionacea*, *P. inexpectata*, *P. supina*, *P. alpestris*, *P. anatolica*, *P. peshmenii*, *P. turcica* ve *P. hohenackeriana* taksonları yer almaktadır. Şekil 4.3 ile benzer bir dağılım gösteren bu taksonlar arasında *P. alpestris* üçüncü grupta da temsil edilmektedir. Üçüncü grupta ise tetraploid *P. vulgaris* taksonu ile beraber muhtemel poliploid *P. alpestris* taksonu birlikte yer almaktadır.

En düşük çekirdek DNA içeriğine sahip takson olan *P. monspeliaca* ile en yüksek çekirdek DNA içeriğine sahip olan *P. alpestris* ve *P. vulgaris* taksonları birbirlerinden oldukça uzak bir kümelenme göstererek diğer tüm analizleri doğrulayan bir sonuç göstermiştir (Şekil 4.4).

6. KAYNAKLAR

- [1] T. A. P. Group, M. W. Chase, M. J. M. Christenhusz, M. F. Fay, J. W. Byng, W. S. Judd, D. E. Soltis, D. J. Mabberley, A. N. Sennikov, P. S. Soltis, ve P. F. Stevens, An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV, *Bot. J. Linn. Soc.*, c. 181, sayı 1, ss. 1–20, **May. 2016**, doi: 10.1111/boj.12385.
- [2] J. F. B. Pastore, J. R. Abbott, K. M. Neubig, C. Van Den Berg, M. C. D. A. Mota, A. Cabral, ve W. M. Whitten, Phylogeny and biogeography of *Polygala* (*Polygalaceae*), *Taxon*, c. 68, sayı 4, ss. 673–691, **2019**, doi: 10.1002/tax.12119.
- [3] *Polygalaceae* Hoffmanns. & Link. <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-7000000487> (Erişim tarihi: **10 Mart 2021**).
- [4] B. Eriksen ve C. Persson, *Polygalaceae*, içinde *Flowering Plants · Eudicots: Berberidopsidales, Buxales, Crossosomatales, Fabales p.p., Geraniales, Gunnerales, Myrtales p.p., Proteales, Saxifragales, Vitales, Zygophyllales, Clusiaceae Alliance, Passifloraceae Alliance, Dilleniaceae, Huaceae, Picramniace*, K. Kubitzki, Ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, **2007**, ss. 345–363.
- [5] C. Delaude, Les *Polygalaceae* et leurs saponines, *Bull. la Société R. des Sci. Liège*, c. 61, sayı 3–4, ss. 245–288, **1992**.
- [6] *Fabaceae* Lindl. | Plants of the World Online | Kew Science. <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30000147-2> (Erişim tarihi: **17 Temmuz 2021**).

- [7] *Fabales* Bromhead. <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-9000000207> (Erişim tarihi: **17 Temmuz 2021**).
- [8] M. A. Lacaille-Dubois, C. Delaude, ve A. C. Mitaine-Offer, A review on the phytopharmacological studies of the genus *Polygala*, *J. Ethnopharmacol.*, c. 249, sayı November 2019, s. 112417, **2020**, doi: 10.1016/j.jep.2019.112417.
- [9] Y. Hu, P. Liu, D. H. Guo, K. Rahman, D. X. Wang, ve T. T. Xie, Antidepressant effects of the extract YZ-50 from *Polygala tenuifolia* in chronic mild stress treated rats and its possible mechanisms, *Pharm. Biol.*, c. 48, sayı 7, ss. 794–800, **2010**, doi: 10.3109/13880200903280034.
- [10] Y. Zhou, C. Ma, B. M. Li, ve C. Sun, *Polygala japonica* Houtt. reverses depression-like behavior and restores reduced hippocampal neurogenesis in chronic stress mice, *Biomed. Pharmacother.*, c. 99, sayı January, ss. 986–996, **2018**, doi: 10.1016/j.biopha.2018.01.133.
- [11] L. Mpala, G. Chikowe, ve I. E. Cock, *Xanthophyllum fragrans* C.T. White Leaf Extracts Inhibit the Growth of *Pseudomonas aeruginosa*, *Pharmacogn. Commun.*, c. 9, sayı 3, ss. 106–111, **2019**, doi: 10.5530/pc.2019.3.22.
- [12] N. Mahmood, P. S. Moore, N. De Tommasi, F. De Simone, S. Colman, A. J. Hay, ve C. Pizza, Inhibition of HIV infection by caffeoylquinic acid derivatives, *Antivir. Chem. Chemother.*, c. 4, sayı 4, ss. 235–240, **1993**, doi: 10.1177/095632029300400406.
- [13] vol. 2 - Caroli Linnaei ... *Species Plantarum* - Biodiversity Heritage Library. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/13830#page/14/mode/1up> ((Erişim tarihi: **2 Ağustos 2021**)).
- [14] A. P. de Candolle ve A. de Candolle, *Prodromus systematis naturalis regni*

vegetabilis, sive, Enumeratio contracta ordinum generum specierumque plantarum huc usque cognitarium, juxta methodi naturalis, normas digesta, c. v.1 (1824). Parisii : Sumptibus Sociorum Treuttel et Würtz, **1824**.

- [15] R. Chodat, *Sur la distribution et l'origine de l'espèce et des groupes chez les Polygalacées*. **1891**.
- [16] R. Chodat, *Monographia polygalacearum*, c. 31. Impr. Aubert-Schuchardt, **1893**.
- [17] R. Chodat, *Polygalaceae novae vel parum cognitae*. éditeur non identifié, **1896**.
- [18] B. Eriksen, Phylogeny of the *Polygalaceae* and its taxonomic implications, *Plant Syst. Evol.*, c. 186, sayı 1–2, ss. 33–55, **1993**, doi: 10.1007/BF00937712.
- [19] C. Persson, Phylogenetic relationships in *Polygalaceae* based on plastid DNA sequences from the trnL-F region, **2001**. doi: 10.2307/1223706.
- [20] J. L. Reveal, Newly required infrafamilial names mandated by changes in the code of nomenclature for algae, fungi, and plants, *Phytoneuron*, c. 33, ss. 1–32, **2012**.
- [21] F. Forest, M. W. Chase, C. Persson, P. R. Crane, ve J. A. Hawkins, The role of biotic and abiotic factors in evolution of ant dispersal in the milkwort family (*Polygalaceae*), *Evolution (N. Y.)*, c. 61, sayı 7, ss. 1675–1694, **2007**, doi: 10.1111/j.1558-5646.2007.00138.x.
- [22] J. F. B. Pastore, J. R. Abbott, K. M. Neubig, W. M. Whitten, R. B. Mascarenhas, M. C. A. Mota, ve C. Van Den Berg, A Molecular Phylogeny and Taxonomic Notes in *Caamembeca (Polygalaceae)*, *Syst. Bot.*, c. 42,

sayı 1, ss. 54–62, **2017**, doi: 10.1600/036364417X694935.

- [23] D. Lyskov, J. F. B. Pastore, ve T. Samigullin, One for all: molecular study of *Polygala major* complex (*Polygalaceae*) in Southwest Asia, *Plant Syst. Evol.*, c. 305, sayı 10, ss. 975–984, **2019**, doi: 10.1007/s00606-019-01618-x.
- [24] M. Mota, J. R. Abbott, R. M. Salas, K. M. Neubig, ve J. F. B. Pastore, Three lonely Argentines: Toward a new generic delimitation in *Polygalaceae*, *Taxon*, c. 68, sayı 3, ss. 522–536, **2019**, doi: 10.1002/tax.12090.
- [25] T. G. Tutin, V. G. Heywood, N. A. Burges, D. M. Moore, D. A. Valentine, S. M. Walters, ve D. A. Webb, *Flora Europaea: Volume 2 Rosaceae to Umbelliferae*, c. 2, **1968**, ss. 231–236.
- [26] E. Boissier ve R. (Robert) Buser, *Flora Orientalis: sive, Enumeratio plantarum in Oriente a Graecia et Aegypto ad Indiae fines hucusque observatarum*. Basileae: H. Georg, 1867.
- [27] Cullen, J. *Polygala* L. – Davis P. H., (ed.), “Flora of Turkey and the east Aegean Islands 1. Edinburgh University Press” Edinburgh, 533–539, **1965**.
- [28] Davis, P. H., Mill, R. R. & Tan, K. *Polygala* L. “Flora of Turkey and the east Aegean Islands 10. Edinburgh University Press” Edinburgh, 64–65, **1988**.
- [29] Ö. Eren, G. Parolly, T. Raus, Ve H. Kürschner, A new species of *Polygala* L. (*Polygalaceae*) from south-west Anatolia, *Bot. J. Linn. Soc.*, c. 158, sayı 1, ss. 82–86, **Eyl. 2008**, doi: 10.1111/j.1095-8339.2008.00842.x.
- [30] A. A. Dönmez, Z. U. Aydın, ve S. Işık, *Polygala turcica* (*Polygalaceae*), a new species from e Turkey, and a new identification key to Turkish polygala, *Willdenowia*, c. 45, sayı 3, ss. 429–434, **2015**, doi:

10.3372/wi.45.45309.

- [31] A. A. Dönmez ve Z. U. Aydın, *Polygala azizsancarii* (*Polygalaceae*), a new species from Mardin Province, SE Turkey, *Phytotaxa*, c. 340, sayı 3, ss. 255–262, **2018**.
- [32] J. R. Abbott, Phylogeny of the *Polygalaceae* and a revision of, **2009**.
- [33] W. H. Lewis ve S. A. Davis, Cytological observations of *Polygala* in eastern North America, *Rhodora*, c. 64, sayı 758, ss. 102–113, **1962**.
- [34] K. Larsen, On the cytological pattern of the genus *Polygala*, *Bot. Not*, c. 112, ss. 369–371, **1959**.
- [35] J. Paiva, El genero *Polygala* (*Polygalaceae*) en el Mediterraneo occidental, *Collect. Bot.*, c. 17, sayı 2, ss. 191–203, **1989**.
- [36] R. Cousens, C. Dytham, ve R. Law, Dispersal in Plants : A Population Perspective, *Dispersal Plants A Popul. Perspect.*, ss. 1–232, **2008**, doi: 10.1093/acprof:oso/9780199299126.001.0001.
- [37] S. Lengyel, A. D. Gove, A. M. Latimer, J. D. Majer, ve R. R. Dunn, Convergent evolution of seed dispersal by ants, and phylogeny and biogeography in flowering plants: a global survey, *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.*, c. 12, sayı 1, ss. 43–55, **2010**.
- [38] Z. U. Aydın, Comparative capsule and seed morphology of *Polygala* L. (*Polygalaceae*) species in Turkey with implications for taxonomy, *Plant Biosyst.*, c. 154, sayı 2, ss. 189–196, **2020**, doi: 10.1080/11263504.2019.1588177.
- [39] E. O. Wilson ve B. Hölldobler, The rise of the ants: a phylogenetic and

- ecological explanation, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, c. 102, sayı 21, ss. 7411–7414, **2005**.
- [40] D. Agosti, D. Grimaldi, ve J. M. Carpenter, Oldest known ant fossils discovered, *Nature*, c. 391, sayı 6666, s. 447, **1998**.
- [41] D. Grimaldi ve D. Agosti, A formicine in New Jersey Cretaceous amber (Hymenoptera: Formicidae) and early evolution of the ants, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, c. 97, sayı 25, ss. 13678–13683, **2000**.
- [42] N. Gill, C. S. Hans, ve S. Jackson, An overview of plant chromosome structure., *Cytogenet. Genome Res.*, c. 120, sayı 3–4, ss. 194–201, **2008**, doi: 10.1159/000121067.
- [43] G. Lewitzky, Experimentally induced alterations of the morphology of chromosomes, *Am. Nat.*, c. 65, sayı 701, ss. 564–567, **1931**.
- [44] A. Levan, Nomenclature for centromeric position on chromosomes, *Hereditas.*, c. 52, ss. 201–220, **1964**.
- [45] S. Khandelwal, Chromosome evolution in the genus *Ophioglossum* L., *Bot. J. Linn. Soc.*, c. 102, sayı 3, ss. 205–217, **1990**, doi: 10.1111/j.1095-8339.1990.tb01876.x.
- [46] C. Roberto, Low chromosome number angiosperms, *Caryologia*, c. 58, sayı 4, ss. 403–409, **2005**, doi: 10.1080/00087114.2005.10589480.
- [47] N. Jones, B chromosomes in plants, *Plant Biosyst. Int. J. Deal. with all Asp. Plant Biol.*, c. 146, sayı 3, ss. 727–737, **2012**.
- [48] A. Rice, L. Glick, S. Abadi, M. Einhorn, N. M. Kopelman, A. Salman-Minkov, J. Mayzel, O. Chay, ve I. Mayrose, The Chromosome Counts Database

(CCDB)—a community resource of plant chromosome numbers, *New Phytol.*, c. 206, sayı 1, ss. 19–26, **2015**.

- [49] R. Van der Meijden, *Systematics and Evolution of Xanthophyllum:(Polygalaceae)*, c. 7. Brill Archive, **1982**.
- [50] H. Merxmüller ve G. R. Heubl, Karyologische und palynologische Studien zur Verwandtschaft der *Polygala chamaebuxus* L, *Bot. Helv.*, c. 93, sayı 2, ss. 133–144, **1983**.
- [51] D. R. Glendinning, Cytology of Polygala, *Nature*, c. 188, sayı 4750, ss. 604–605, **1960**.
- [52] G. R. Heubl, Systematische Untersuchungen an mitteleuropäischen Polygala-Arten, *Mitteilungen der Bot. Staatssammlung, München*, **1984**.
- [53] A. Murín ve J. Májovský, Karyological study of the Slovak flora XIX., *Acta Fac. Rerum Nat. Univ. Comenianae, Bot.*, c. 34, ss. 3–20, **1987**.
- [54] M. L. Fu, Z. Y. Li, ve F. F. Hu, Cytogenetic analysis of *Polygala tenuifolia* wild by different staining techniques and fluorescent *in situ* hybridization, *Korean J. Genet.*, c. 29, sayı 3, ss. 307–314, **2007**.
- [55] N. Bechi, F. Garbari, ve P. Miceli, Indagini biosistematiche sulla flora apuana. VI contributo: risultati conseguiti e problemi aperti, *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat. Mem. Ser. B*, c. 103, ss. 35–42, **1996**.
- [56] Á. Löve, IOPB chromosome number reports LXXX, *Taxon*, ss. 504–511, **1983**.
- [57] K. Marhold vd., *IAPT chromosome data 31*, c. 68, sayı 6. **2019**.

- [58] Ornduff ve R., Index to Plant Chromosome Numbers., *Regnum Veg.*, c. 50, **1968**, Erişim: Haz. 10, 2021. [Çevrimiçi]. Available at: <https://ci.nii.ac.jp/naid/10006228142>.
- [59] L. Peruzzi, N. G. Passalacqua, ve D. Gargano, Re-evaluation of *Polygala apiculata* (*Polygalaceae*), a rare endemic of S Italy, *Willdenowia*, ss. 65–68, **2005**.
- [60] R. J. Moore, Index to plant chromosome numbers for 1967-1971., *Regnum Veg.*, c. 90, ss. 1–539, **1973**.
- [61] M. S. Cave, *Index to Plant Chromosome Numbers for 1962*. Berkeley,: California Botanical Society., **1963**.
- [62] M. L. Sharma ve P. N. Mehra, Chromosome numbers in some North West Indian species of *Polygala*., *Cytologia (Tokyo)*., c. 43, sayı 3/4, ss. 589–593, **1978**.
- [63] Á. Löve, Chromosome Number Reports Xcix, *Taxon*, c. 37, sayı 2, ss. 396–399, **1988**, doi: 10.1002/j.1996-8175.1988.tb00950.x.
- [64] M. González Zapatero ve J. Elena Roselló, Contribución al conocimiento cariológico de los brezales del centro-occidente español, c. 32, sayı 30, ss. 173–177, **1985**.
- [65] R. Letz, A. Uhrikova, ve J. Majovsky, Chromosomes numbers of several interesting taxa of the flora of Slovakia, *Sect. Bot.*, **1999**.
- [66] Á. Löve, Iopb Chromosome Number Reports Lxxv, *Taxon*, c. 31, sayı 2, ss. 342–368, **1982**, doi: 10.1002/j.1996-8175.1982.tb02378.x.
- [67] Dahlgren R., Studies on the flora of the Balearic Islands. I. Chromosome

- numbers in Balearic angiosperms, *Bot. Not.*, c. 124, ss. 249–269, **1971**,
(Erişim tarihi: **10 Haziran 2021**) <https://ci.nii.ac.jp/naid/10020700250>.
- [68] F. AnA, Chromosome numbers of flowering plants, *Acad. Sci. USSR. Komar. Bot. Institute, Leningr. (Reprint 1974)*, **1969**.
- [69] N. V Stepanov, Chromosome numbers in representatives of some families of higher plants, *Bot. Zhurnal (Sankt Peterburg)*, c. 77, ss. 113–114, **1992**.
- [70] Á. Löve, IOPB Chromosome Number Reports. XIII, *Taxon*, ss. 445–461, **1967**.
- [71] S. Khatoon ve S. I. Ali, *Chromosome atlas of the angiosperms of Pakistan*. Dept. of Botany, University of Karachi, 1993.
- [72] S. Castro, J. Loureiro, E. Rodriguez, P. Silveira, L. Navarro, ve C. Santos, Evaluation of polysomaty and estimation of genome size in *Polygala vayredae* and *P. calcarea* using flow cytometry, *Plant Sci.*, c. 172, sayı 6, ss. 1131–1137, **2007**.
- [73] J. Picot, C. L. Guerin, C. Le Van Kim, ve C. M. Boulanger, Flow cytometry: retrospective, fundamentals and recent instrumentation, *Cytotechnology*, c. 64, sayı 2, ss. 109–130, **2012**.
- [74] A. Moldavan, Photo-electric technique for the counting of microscopical cells, *Science (80-)*, c. 80, sayı 2069, ss. 188–189, **1934**.
- [75] P. J. Crosland-Taylor, A device for counting small particles suspended in a fluid through a tube, *Nature*, c. 171, sayı 4340, ss. 37–38, **1953**.
- [76] L. A. Kamensky ve M. R. Melamed, Spectrophotometric cell sorter, *Science (80-)*, c. 156, sayı 3780, ss. 1364–1365, **1967**.

- [77] F. O. Heller, DNS-Bestimmung an Keimwurzeln von *Vicia faba* L. mit Hilfe der Impulscytophotometrie 1, *Ber. Dtsch. Bot. Ges.*, c. 86, sayı 5-9, ss. 437–441, **1973**.
- [78] M. D. Bennett ve J. B. Smith, Nuclear DNA amounts in angiosperms, *Philos. Trans. R. Soc. London. B, Biol. Sci.*, c. 274, sayı 933, ss. 227–274, **1976**.
- [79] M. D. Bennett, J. B. Smith, ve J. S. Heslop-Harrison, Nuclear DNA amounts in angiosperms, *Proc. R. Soc. London. Ser. B. Biol. Sci.*, c. 216, sayı 1203, ss. 179–199, **1982**.
- [80] J. Doležel ve J. A. N. Bartoš, Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size, *Ann. Bot.*, c. 95, sayı 1, ss. 99–110, **2005**.
- [81] J. Doležel, J. Bartoš, H. Voglmayr, ve J. Greilhuber, Letter to the editor, *Cytom. Part A*, c. 51A, sayı 2, ss. 127–128, **Şub. 2003**, doi: <https://doi.org/10.1002/cyto.a.10013>.
- [82] J. Doležel, J. Greilhuber, ve J. Suda, Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry, *Nat. Protoc.*, c. 2, sayı 9, ss. 2233–2244, **2007**.
- [83] J. Pellicer, O. Hidalgo, S. Dodsworth, ve I. J. Leitch, Genome size diversity and its impact on the evolution of land plants, *Genes (Basel)*, c. 9, sayı 2, s. 88, **2018**.
- [84] A. Fleischmann, T. P. Michael, F. Rivadavia, A. Sousa, W. Wang, E. M. Temsch, J. Greilhuber, K. F. Müller, ve G. Heubl, Evolution of genome size and chromosome number in the carnivorous plant genus *Genlisea* (Lentibulariaceae), with a new estimate of the minimum genome size in angiosperms, *Ann. Bot.*, c. 114, sayı 8, ss. 1651–1663, **2014**.

- [85] J. Pellicer, M. F. Fay, ve I. J. Leitch, The largest eukaryotic genome of them all?, *Bot. J. Linn. Soc.*, c. 164, sayı 1, ss. 10–15, **2010**.
- [86] B. J. M. Zonneveld, Selected perennial plants do provide convenient standards for the determination of genome sizes with flow cytometry, *Plant Syst. Evol.*, c. 307, sayı 2, **2021**, doi: 10.1007/s00606-021-01747-2.
- [87] G. Savaş Tuna, H. Keleş, D. Göçmen, V. Güleryüz, İ. Nizam, E. Cabi, A. Yazıcı, Ş. Çakal, ve M. Tuna, Flow Sitometri ile Çok Yıllık Buğdaygil Yem Bitkisi Genetik Kaynaklarının Karakterizasyonu, *Tarla Bitk. Merk. Araştırma Enstitüsü Derg.*, c. 25, sayı ÖZEL SAYI-2, ss. 7–7, **2016**, doi: 10.21566/tarbitderg.281591.
- [88] N. Maxted, M. A. Callimassia, ve M. D. Bennett, Cytotaxonomic studies of Eastern Mediterranean *Vicia* species (*Leguminosae*), *Plant Syst. Evol.*, c. 177, sayı 3–4, ss. 221–234, **1991**, doi: 10.1007/BF00937959.
- [89] S. Garcia, T. Garnatje, O. Hidalgo, G. Mas De Xaxars, J. Pellicer, I. Sánchez-Jiménez, D. Vitales, ve J. Vallès, First genome size estimations for some eudicot families and genera, *Collect. Bot.*, c. 29, sayı 0, ss. 7–16, **2010**, doi: 10.3989/collectbot.2010.v29.001.
- [90] J. Pellicer ve I. J. Leitch, The Plant DNA C-values database (release 7.1): an updated online repository of plant genome size data for comparative studies, *New Phytol.*, c. 226, sayı 2, ss. 301–305, **2020**.
- [91] E. M. Temsch, W. Temsch, L. Ehrendorfer-Schratt, ve J. Greilhuber, Heavy Metal Pollution, Selection, and Genome Size: The Species of the Žerjav Study Revisited with Flow Cytometry., *J. Bot.*, **2010**.
- [92] C. Bai, W. S. Alverson, A. Follansbee, ve D. M. Waller, New reports of nuclear DNA content for 407 vascular plant taxa from the United States, *Ann. Bot.*, c. 110, sayı 8, ss. 1623–1629, **2012**.

- [93] M. Horjales, Cantidades de DNA nuclear en árboles y arbustos, *Nov. Acta Cient. Compostel.*, c. 13, ss. 23–33, **2003**.
- [94] F. Pustahija, S. C. Brown, F. Bogunić, N. Bašić, E. Muratović, S. Ollier, O. Hidalgo, M. Bourge, V. Stevanović, ve S. Siljak-Yakovlev, Small genomes dominate in plants growing on serpentine soils in West Balkans, an exhaustive study of 8 habitats covering 308 taxa, *Plant Soil*, c. 373, sayı 1, ss. 427–453, **2013**.
- [95] Y. Vimala, S. Lavania, ve U. C. Lavania, Chromosome change and karyotype differentiation—implications in speciation and plant systematics, *Nucl.*, c. 64, sayı 1, ss. 33–54, **2021**, doi: 10.1007/s13237-020-00343-y.
- [96] M. Guerra, Cytotaxonomy: The end of childhood, *Plant Biosyst.*, c. 146, sayı 3, ss. 703–710, **2012**, doi: 10.1080/11263504.2012.717973.
- [97] L. G. R. Souza, O. Crosa, P. Speranza, ve M. Guerra, Cytogenetic and molecular evidence suggest multiple origins and geographical parthenogenesis in *Nothoscordum gracile* (Alliaceae), *Ann. Bot.*, c. 109, sayı 5, ss. 987–999, **2012**, doi: 10.1093/aob/mcs020.
- [98] R. Berjano, F. Roa, S. Talavera, ve M. Guerra, Cytotaxonomy of diploid and polyploid *Aristolochia* (Aristolochiaceae) species based on the distribution of CMA/DAPI bands and 5S and 45S rDNA sites, *Plant Syst. Evol.*, c. 280, sayı 3–4, ss. 219–227, **2009**, doi: 10.1007/s00606-009-0184-6.
- [99] K. Lu, S. M. Kaepler, K. P. Vogel, K. Arumuganathan, ve D. J. Lee, Nuclear DNA content and chromosome numbers in switchgrass, *Gt. Plains Res.*, c. 8, sayı 2, ss. 269–280, **1998**.
- [100] D. Wang, Z. Zheng, Y. Li, H. Hu, Z. Wang, X. Du, S. Zhang, M. Zhu, L. Dong, G. Ren, ve Y. Yang, Which factors contribute most to genome size

variation within angiosperms?, *Ecol. Evol.*, c. 11, sayı 6, ss. 2660–2668, **2021**, doi: 10.1002/ece3.7222.

- [101] D. A. T. Ferreira, M. M. Praça-Fontes, A. T. Vieira, A. C. P. Nunes, ve W. R. Clarindo, Karyotype and nuclear DNA content variation in *Passiflora* L., *Sci. Hortic. (Amsterdam)*., c. 272, sayı March, **2020**, doi: 10.1016/j.scienta.2020.109532.
- [102] K. S. C. Yotoko, M. C. Dornelas, P. D. Togni, T. C. Fonseca, F. M. Salzano, S. L. Bonatto, ve L. B. Freitas, Does variation in genome sizes reflect adaptive or neutral processes? New clues from *Passiflora*, *PLoS One*, c. 6, sayı 3, s. e18212, **2011**.
- [103] A. Sarvi, M. B. Faghir, ve R. S. Shavvon, *Polygala mazandaranica* (*Polygalaceae*), a new species from Mazandaran Province, North Iran, sayı January 2021, **2020**.
- [104] RStudio | Open source & professional software for data science teams - RStudio. (Erişim tarihi: **2 Ağustos 2021**) <https://www.rstudio.com/>.
- [105] S. Lê, J. Josse, ve F. Husson, FactoMineR: An R package for multivariate analysis, *J. Stat. Softw.*, c. 25, sayı 1, ss. 1–18, **Mar. 2008**, doi: 10.18637/jss.v025.i01.
- [106] Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses • factoextra. (Erişim tarihi: **3 Ağustos 2021**) <https://rpkgs.datanovia.com/factoextra/index.html>.
- [107] Güven aralığı (Confidence Interval) hesaplayıcı - PEDro. <https://pedro.org.au/turkish/resources/confidence-interval-calculator/> (Erişim tarihi: **14 Eylül 2021**).

[108] H. Rees ve R. K. J. Narayan, Chromosomal DNA in higher plants, *Philos. Trans. R. Soc. London. B, Biol. Sci.*, c. 292, sayı 1062, ss. 569–578, **1981**, doi: 10.1098/rstb.1981.0051.