



## Anatomical, micromorphological and karyological studies on *Rindera cetineri* Yıldırım (Boraginaceae)

Gülşen KARAÇOBAN<sup>1</sup>, Gürkan SEMİZ\*<sup>1</sup>, Esra MARTİN<sup>2</sup>  
ORCID: 0000-0003-2285-6355; 0000-0003-0276-8542; 0000-0002-5484-0676

<sup>1</sup> Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Denizli, Türkiye

<sup>2</sup> Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Konya, Türkiye

### Abstract

In this study, the anatomical, micromorphological and karyological features of *Rindera cetineri* Yıldırım (Boraginaceae), an endemic species in Denizli, were investigated. In anatomical studies, cross sections for root and stem measurements, and cross and superficial sections for leaf measurements (base and stem leaf) were taken. The stomatal index was calculated by counting the stomata and epidermis cells on the upper and lower surfaces of the superficial sections taken from the leaves. In micromorphological studies, pollen type and surface ornamentation, seed shape, and surface ornamentation were determined. The pollen type of *R. cetineri* is 6-heterocolpate, the pollen shape is prolate-spheroidal, subprolate and the surface ornamentation is microgranulate. As a result of the karyological study, the somatic chromosome number of *R. cetineri* was determined as  $2n=24$ .

**Keywords:** Anatomy, karyology, micromorphology, *Rindera cetineri*

----- \* -----

## *Rindera cetineri* Yıldırım (Boraginaceae) üzerinde anatomik, mikromorfolojik ve karyolojik araştırmalar

### Özet

Bu çalışmada Denizli’de yayılış gösteren lokal endemik *Rindera cetineri* Yıldırım türünün anatomik, mikromorfolojik ve karyolojik özellikleri incelenmiştir. Anatomik çalışmalarda kök ve gövde ölçümleri için enine kesitler, yaprak (taban ve gövde yaprağı) ölçümleri için enine ve yüzey kesitler alınmıştır. Yapraklardan alınan yüzey kesitlerde alt ve üst yüzeyde bulunan stoma ve epidermis hücreleri sayılarak stoma indeksi hesaplanmıştır. Mikromorfolojik çalışmalarda ise polen tipi ve yüzey ornamentasyonu ile tohum şekli ve yüzey ornamentasyonu belirlenmiştir. *R. cetineri* türünün polen tipi 6- heterokolpat olup polen şekli prolat-sferoidal, subprolat ve yüzey ornamentasyonu ise mikrogranulattır. Karyolojik çalışmalar sonucunda, *R. cetineri* türünün somatik kromozom sayısı  $2n=24$  olarak belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Anatomi, karyoloji, mikromorfoloji, *Rindera cetineri*

### 1. Giriş

Boraginaceae familyası Avrupa, Asya ve özellikle Akdeniz Bölgesi’nde yayılış gösteren ve dünya çapında 148 cins ve 2700’den fazla tür içeren geniş bir familyadır [1,2]. Bu familya Türkiye’de farklı habitatlara dağılmış, endemizm seviyesi yüksek 44 cins ve 375 türü içerisinde barındırmaktadır [3]. *Rindera* Pall. cinsi Boraginaceae familyasının *Cynoglosseae* DC. tribusuna aittir ve çoğunlukla Orta ve Batı Asya’da yayılış gösteren toplamda 20-25 tür içermektedir [4]. *Rindera* cinsine ait bitkiler çok yıllık ve bozkır/yarı çöl kuşağının kuru ve karasal iklim gösteren alanlarında daha çok yayılış göstermektedir [4]. Ülkemizde *Rindera* cinsi altı takson [*Rindera albida* (Wettst.) Kusn., *R. caespitosa* (A. DC.) Bunge, *R. dumanii* Aytac & R. R. Miller, *R. lanata* (Lam.) Bunge var. *lanata*, *R. lanata* (Lam.) Bunge var. *canescens* (A. DC.) Kusn. ve *R. cetineri* Yıldırım] ile temsil edilmektedir. Bu taksonlardan üçü (*R. dumanii*, *R. caespitosa* ve *R. cetineri*) ülkemize endemiktir [5, 6]. *Rindera* cinsi morfolojik olarak; tüpsü korollalar, genellikle korolla boğazında

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +902582963582; Fax.: +902582963535; E-mail:gsemiz@pau.edu.tr

bulunan staminal filamentlere sahip uzun anterler, korolladan dışarı çıkmış stilus ve geniş membranöz kanatlı, gloşitsiz merikarplar ile karakterize edilir [4]. Yıldırım (2019) çalışmasında morfolojik ve palinolojik incelemeler sonucunda *Rindera cetineri* türünü, Türkiye için yeni bir tür olarak tanıtmış ve Türkçe ismini de “*Denizli Yünlügelini*” olarak belirlemiştir [6]. Bu çalışmanın amacı, lokal endemik *R. cetineri* türünün detaylı anatomik, mikromorfolojik ve karyolojik özelliklerinin belirlenmesi olup, *Rindera* cinsi ve *R. cetineri* türü ile ilgili ileride yapılacak olan çalışmalara katkı sağlanmasını amaçlamaktadır.

## 2. Materyal ve yöntem

*R. cetineri* türüne ait örnekler Denizli'nin Çameli ilçesi sınırları içinde kalan Akdağ'da bulunan 2200 rakımlı Karkın Yaylası'ndan toplanmıştır. Arazi çalışmaları, 2020-2021 yılında bitkinin çiçeklenme dönemi olan haziran ve tohumlanma dönemi olan temmuz aylarında yapılmıştır (Şekil 1). Toplanan bitki materyallerinin bir kısmı herbaryum materyali haline getirilmiş (Kayıt no: GSE2143), bir kısmı da anatomik çalışmalarda kullanılmak üzere %70'lik alkolde muhafaza edilmiştir. Toplanan örneklerin teşhisi mevcut literatürler kullanılarak [5,6,7,8] Prof. Dr. Gürkan SEMİZ tarafından yapılmış ve herbaryum örnekleri Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kimyasal Ekoloji Laboratuvarı Herbaryumu'nda saklanmaktadır.



Şekil 1. *R. cetineri* türünün habitusu: **A.** Çiçek durumu, **B.** Meyve

### 2.1 Anatomik çalışmalar

Anatomi çalışmalarında bitkinin kök, gövde, taban ve gövde yaprakları kullanılmıştır. Kök ve gövdeden enine, taban ve gövde yapraklarından ise hem enine hem de yüzeyel kesitler alınmıştır. Çalışmada parafine gömme metodu kullanılarak elde edilen bloklardan, rotary mikrotomla 15-20 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Kesitleri alınan örnekler safranin-fast green boyama metoduyla boyanmış ve entellan ile kapatılarak kalıcı preparat haline getirilmiştir. *R. cetineri* türünün anatomik ölçümü yapılan karakterleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Hazırlanan daimi preparatlar BAB-LAM marka ışık mikroskobu altında BsCamera sistemi ile görüntülenmiştir. Hücre sayım ve ölçümleri BsCap programı kullanılarak yapılmıştır. Yapraklardan alınan yüzeyel kesitlerden, adaksiyal ve abaksiyal düzlemlerdeki 1mm<sup>2</sup>'ye düşen stoma ve epidermis hücre sayıları belirlenerek, stoma indeksleri hesaplanmıştır.

### 2.2 Mikromorfolojik çalışmalar

*R. cetineri* türüne ait herbaryum örneklerinden temin edilen polenlerin preparatları Wodehouse (1935) metoduna uygun olarak hazırlanmıştır [9]. Polen morfolojilerine ait polar eksen (P), ekvatorial eksen (E), polen şekli, kolpus uzunluğu (Clg), kolpus genişliği (Clt), pseudokolpus uzunluğu (Pclg), pseudokolpus genişliği (Pclt), apertür tipi, ekzin, intin, por uzunluğu (Plg) ve por genişliği (Plt) karakterleri belirlenmiştir. Polen örneğinin yüzey ornamentasyonunun belirlenmesi için; Quorum Q150R ES marka kaplama cihazında %80 altın-%20 paladyum (Au/ Pd) ile kaplanmış ve Zeiss Supra (40VP) SEM ile Pamukkale Üniversitesi İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde görüntülenmiştir.

Tohumların en/boy ve gaga uzunluğu ölçümleri yapılarak ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak tohum morfolojisine ait şekil, renk, ornamentasyon karakterleri belirlenmiştir.

### 2.3 Karyolojik çalışmalar

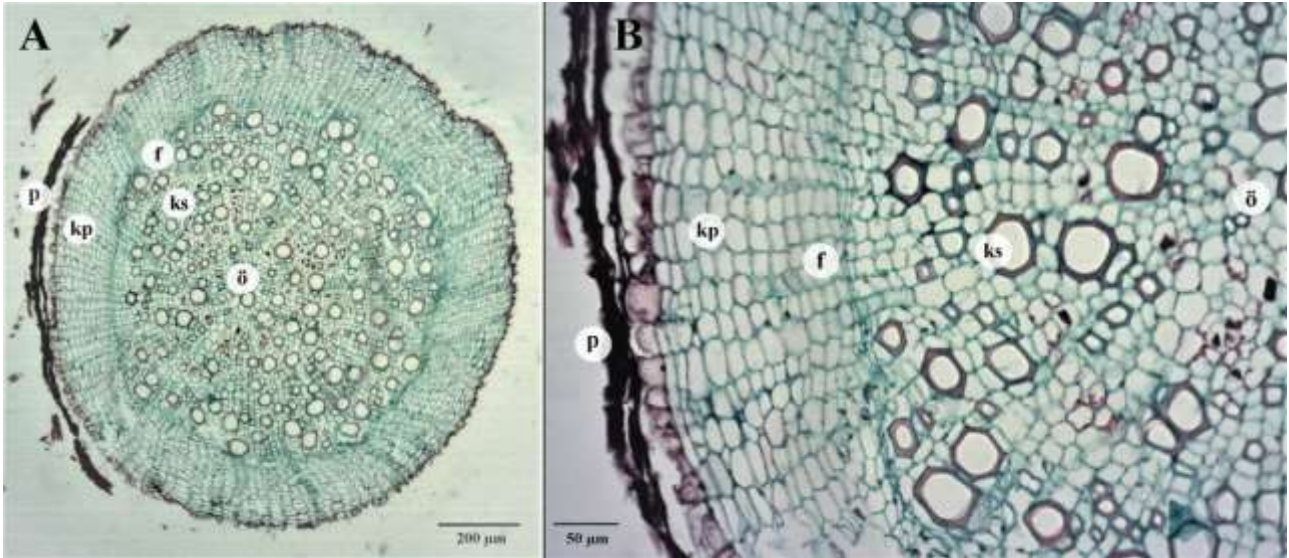
Çimlendirme çalışmaları için 3-5 adet tohum cam petri içerisine ekilmiştir. Çimlenen kök uçlarından 1-1,5 cm uzunluğunda kesit alarak 16 saat +4 °C'de  $\alpha$ -monobromonaftalde muamele edilmiştir. Daha sonra 24 saat +4 °C'de Carnoy çözeltisinde muamele edilmiştir. Tespitten alınan kök uçları 1N hidroklorik asitte (HCl) 12 dakika boyunca hidroliz edilmiştir. Daha sonra %2'lik aseto-orsein boyası ile boyanarak %45'lik asetik asit ile ezme-yayma preparatları hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatlar Olympus BX51 mikroskopunda görüntülenmiştir. İdeogramlar, on adet iyi yayılmış metafaz plakasının büyütülmüş mikrografları üzerinde alınan ölçümlerle hazırlanmıştır. Yazılım Görüntü Analizi ile kromozomların sınıflandırılması için, uzun ve kısa kol uzunluğu, kol oranı, sentromerik indeks ve bağıl kromozomal uzunluklar ölçülmüştür (Bs200ProP). Görüntülenen kromozomlar Levan terminolojisi kullanılarak sınıflandırılmıştır [10].

## 3. Bulgular

### 3.1 Anatomik bulgular

#### 3.1.1 Kök

Kökte en dış kısımda periderm tabakası bulunmaktadır. Periderm tabakası altında 8-10 katmanlı korteks tabakası bulunmaktadır. Korteks parankimasını oluşturan parankimatik hücreler düzenli dizilim göstermekte ve yassılaştırmış hücrelerden oluşmaktadır. Hücrelerin boyu floeme yaklaştıkça küçülmektedir. Floem tabakası dar bir alan kaplamakta ve hücre boyutları daha küçüktür. Kambiyum iki hücre sıralı kesintisiz bir tabaka şeklindedir. Floem altında ksilem elemanları bulunmaktadır. Ksilem trake ve trakeid elemanlarından oluşmakta ve öz bölgesine dağılmış haldedir. Öz bölgesi kaybolmuştur (Tablo 1, Şekil 2).

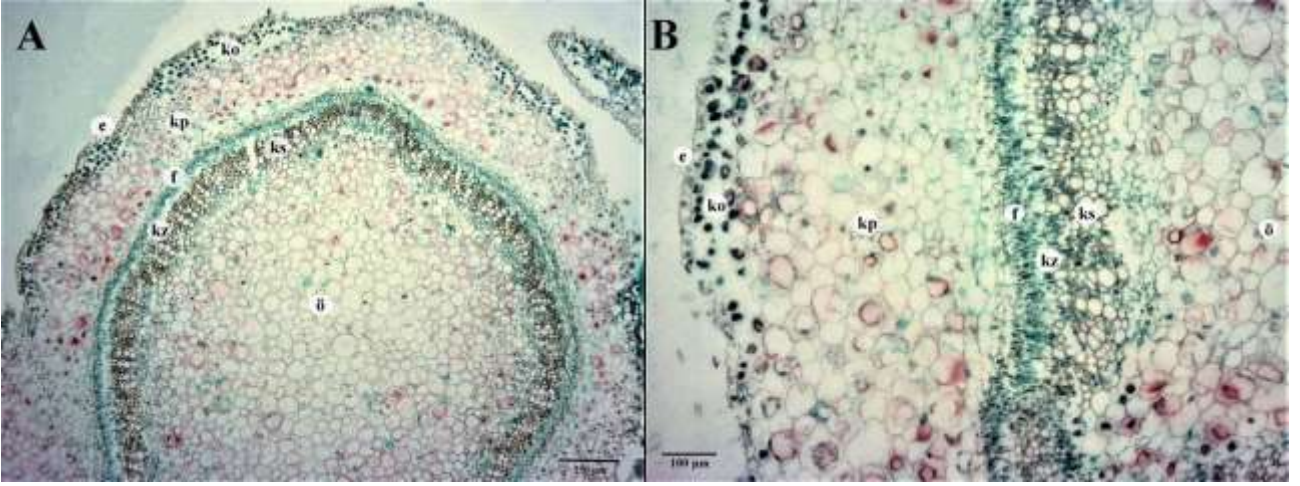


Şekil 2. *R. cetineri* türünün kök enine kesiti fotomikrografları: **A.** 4X büyütme, **B.** 20X büyütme (**p:** periderm, **kp:** korteks parankiması, **f:** floem, **ks:** ksilem, **ö:** öz)

#### 3.1.2 Gövde

Gövde en dış kısımda düzenli dizilim gösteren tek sıralı, ince çeperli kübik epidermis hücrelerinden meydana gelmiştir. Ayrıca gövde, epidermis tabakasından orijinlenmiş sık tüyler ile kaplıdır. Epidermis altında hücre şekilleri farklılık gösteren 3-5 sıralı kollenkima tabakası bulunmaktadır. Korteks katmanı kollenkima hücreleri ve korteks parankima hücrelerinden oluşmaktadır. Korteks parankima hücreleri genel olarak oval olup düzensiz bir dizilim göstermektedir. Korteks parankiması altında floem hücreleri bulunmaktadır. Floem tabakası ksileme göre daha dar bir alanı kaplamaktadır. Floem hücrelerinin şekli genel olarak beşgen, hücrelerin dizilimi düzenli olup boyutu ise birbirinden farklıdır. Floem ile ksilem arasında kambiyal zon bulunmaktadır. Ksilem trake ve trakeid elemanlarından oluşmakta ve hücre çeperleri kalınlaşma göstermektedir. Öz bölgesi dairemsi şekilli parankimatik hücrelerden oluşmakta ve geniş bir alan kaplamaktadır (Tablo 1, Şekil 3).



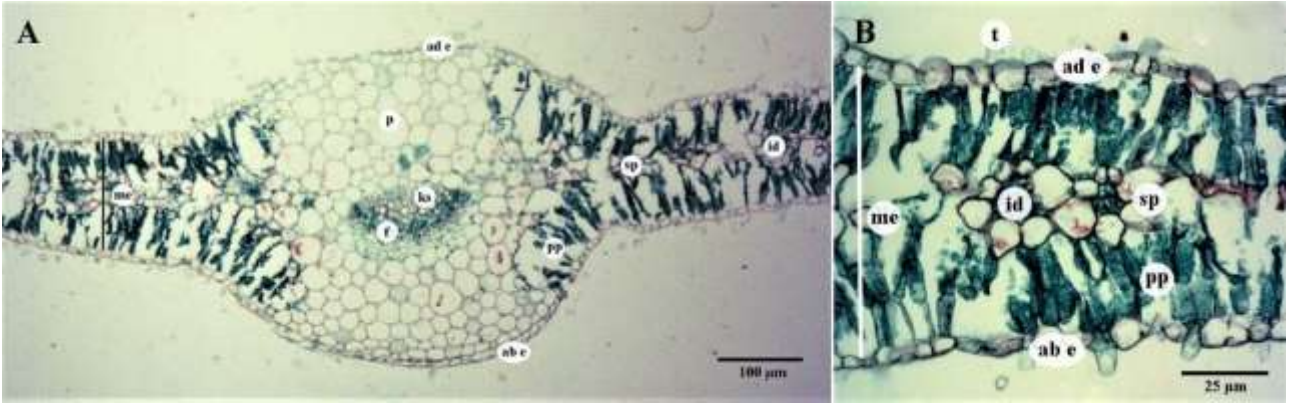


Şekil 3. *R. cetineri* türünün gövde enine kesiti: **A.** 4X büyütme, **B.** 10X büyütme (**e:** epidermis, **ko:** kollenkima, **kp:** korteks parankiması, **f:** floem, **kz:** kambiyal zon, **ks:** ksilem, **ö:** öz)

### 3.1.3 Yaprak

#### 3.1.3.1 Gövde yaprağı

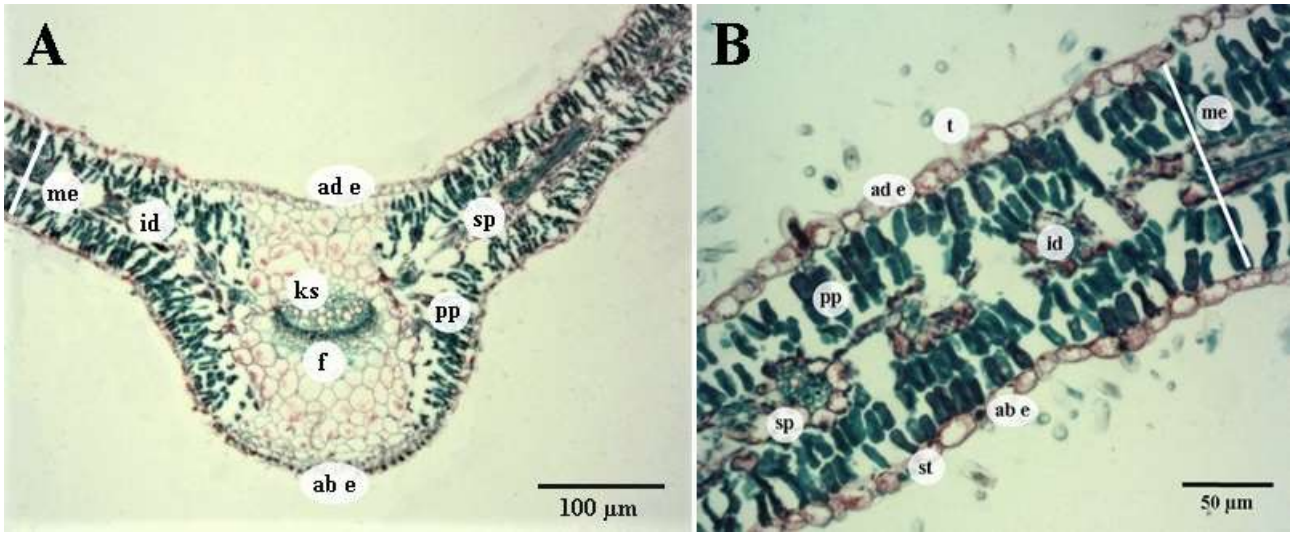
Yaprak lineer şekildedir. Yapraklar palizat ve sünger parankiması durumuna göre ekvifasiyal tiptedir. Gövde yaprağında, alt ve üst epidermis tabakaları tek katlı kübik hücrelerden meydana gelmiştir. Epidermis üzeri örtü tüyü ile kaplıdır. Yaprak amfistomatik tiptedir. Stomalar orta yoğunlukta ve mezomorf tiptedir. Palizat parankiması hem adaksiyal hem de abaksiyal eksen boyunca iki sıralı hücrelerden meydana gelmiştir. Palizat parankiması hücrelerinin şekli silindirik, uzun ve ince, bol kloroplastlı; genel olarak iki sıralı orta damara doğru üç sıralıdır. Palizat parankiması ile sünger parankiması belirgin bir şekilde ayrılmaktadır. Sünger parankima hücreleri 2-3 sıralı, yuvarlağa yakın şekilli hücrelerden oluşmaktadır. Parankima hücreleri arasında havalandırma boşluğu bulunmaktadır. Orta damardaki iletim demetleri kollateral tiptedir. Ksilem bölgesi floeme göre daha dar bir alan kaplamakta olup üst epidermise bakmaktadır (Tablo 1, Şekil 4).



Şekil 4. *R. cetineri* türüne ait gövde yaprağı enine kesiti fotomikrografları: **A.** 4X, **B.** 20X (**ad e:** üst epidermis, **p:** dolgu parankiması, **ks:** ksilem, **f:** floem, **pp:** palizat parankiması, **sp:** sünger parankiması, **id:** iletim demeti, **ab e:** alt epidermis, **me:** mezofil)

#### 3.1.3.2 Taban yaprağı

Yaprak lineer şekildedir. Yapraklar ekvifasiyal tiptedir. Taban yaprağında alt ve üst epidermis tabakaları tek katlı kübik hücrelerden meydana gelmiş ve örtü tüyleri ile kaplıdır. Yaprak amfistomatik tiptedir. Stomalar orta yoğunlukta ve mezomorf tiptedir. Palizat parankiması hücrelerinin şekli silindirik, uzun ve ince, bol kloroplastlı; genel olarak iki sıralı orta damara doğru üç sıralıdır. Palizat parankiması ile sünger parankiması belirgin bir şekilde ayrılmaktadır. Sünger parankiması iletim demetlerinin bulunduğu bölgelerde gözlenmektedir. Sünger parankiması hücrelerinin şekli yuvarlağa yakın olup, hücreler sayıca az ve düzensiz dizilim göstermektedir. Palizat ve sünger parankima yoğunluğu daha fazladır. İletim demetleri kollateral tiptedir. İletim demetleri orta damarda daha yoğun bulunmaktadır. Ksilem yaprağın üst yüzeyine, floem alt yüzeyine bakmaktadır. Ksilem floeme göre dar bir alanı kaplamaktadır. Ksilem ile floem arasında sınır belirgindir (Tablo 1, Şekil 5).



Şekil 5. *R. cetineri* türüne ait taban yaprağı enine kesiti fotomikrografları: **A.** 4X, **B.** 20X (ad e: üst epidermis, p: palizat, ks: ksilem, f: floem, pp: palizat parankiması, sp: sünger parankiması, id: iletim demeti, ab e: alt epidermis, me: mezofil, st: stoma)

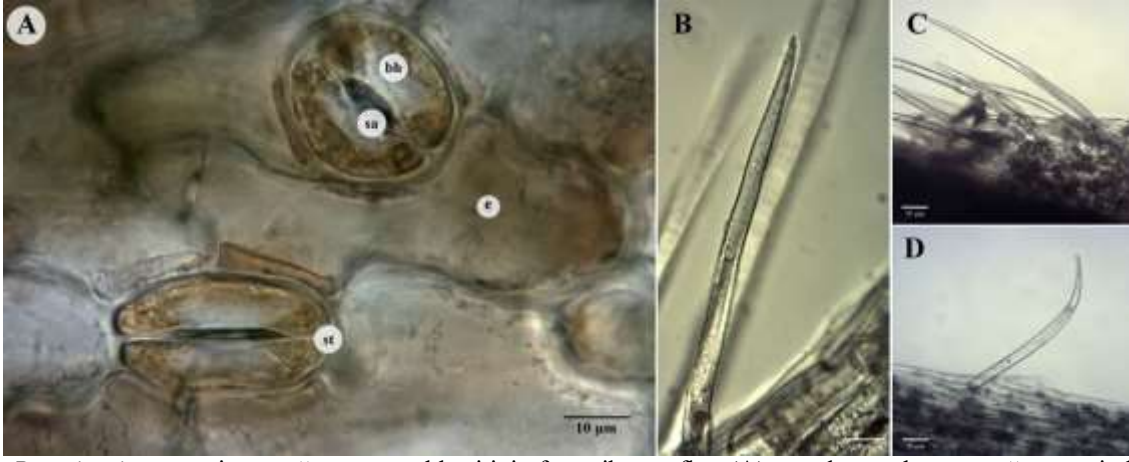
Tablo 1. *R. cetineri* türünün anatomik karakterlerinin ortalama ölçüm değerleri (n=20)

|                      | En (µm)<br>$\bar{x} \pm SD$ | Boy (µm)<br>$\bar{x} \pm SD$ | Çap (µm)<br>$\bar{x} \pm SD$ |              |
|----------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------|
| <b>KÖK</b>           | Peridermis                  | 55,68 ± 8,88                 |                              |              |
|                      | Epidermis                   | 29,66 ± 4,49                 | 19,48 ± 3,31                 |              |
|                      | Korteks hücresi             | 31,03 ± 3,48                 | 16,36 ± 2,54                 |              |
|                      | Kollenkima hücresi          | 41,62 ± 4,18                 | 26,42 ± 3,71                 |              |
|                      | Floem                       |                              | 12,07 ± 1,45                 |              |
|                      | Trake Hücresi               |                              | 25,63 ± 2,34                 |              |
|                      | Öz Hücresi                  |                              | 30,13 ± 4,71                 |              |
| <b>GÖVDE</b>         | Epidermis                   | 19,58 ± 3,37                 | 20,32 ± 5,70                 |              |
|                      | Korteks Parankima Hücresi   |                              | 49,00 ± 5,04                 |              |
|                      | Korteks                     | 414,22 ± 58,24               |                              |              |
|                      | Floem                       |                              | 11,78 ± 2,32                 |              |
|                      | Trake Hücresi               |                              | 24,53 ± 4,62                 |              |
|                      | İletim Demeti               | 183,33 ± 14,68               |                              |              |
|                      | Öz Parankima Hücresi        |                              | 58,49 ± 8,62                 |              |
|                      |                             |                              | 1641,64 ± 29,80              |              |
| <b>GÖVDE YAPRAĞI</b> | Üst epidermis               | 26,15 ± 4,44                 | 22,21 ± 2,77                 |              |
|                      | Alt epidermis               | 26,07 ± 6,16                 | 22,68 ± 4,99                 |              |
|                      | Palizat parankiması         | 11,47 ± 2,35                 | 37,25 ± 6,38                 |              |
|                      | Sünger parankiması          |                              |                              | 27,13 ± 5,68 |
|                      | Floem                       |                              |                              | 8,20 ± 1,65  |
|                      | Ksilem                      |                              |                              | 19,14 ± 2,74 |
|                      | Mezofil                     |                              | 220,52 ± 38,12               |              |
| <b>TABAN YAPRAĞI</b> | Üst epidermis               | 28,74 ± 4,75                 | 19,89 ± 3,06                 |              |
|                      | Alt epidermis               | 28,00 ± 5,87                 | 19,27 ± 3,29                 |              |
|                      | Palizat parankiması         | 10,42 ± 1,46                 | 29,13 ± 5,72                 |              |
|                      | Sünger parankiması          |                              |                              | 22,85 ± 3,84 |
|                      | Floem                       |                              |                              | 6,27 ± 1,20  |
|                      | Ksilem                      |                              |                              | 7,42 ± 3,11  |
|                      | Mezofil                     |                              | 213,73 ± 33,01               |              |

### 3.1.4 Stoma, epidermis ve tüy hücrelerinin özellikleri

Yapraklardan alınan yüzeysel kesitlerin ışık mikroskopundaki görüntülerine göre adaksiyal ve abaksiyal yüzeylerde bulunan epidermis hücreleri dalgali çeperli, hücrelerin çeperleri kalın ve belirgindir. Yapraklar amfistomatik, stomalar ise anomositik tiptedir. Gövde yaprağının üst yüzey stoma indeksi 17,23, alt yüzey stoma indeksi 18,52'dir. Taban yaprağı üst yüzey stoma indeksi 18,15, alt yüzey stoma indeksi ise 18,05'tir. Taban ve gövde yapraklarında bulunan stoma hücrelerinin ortalama boyları, epidermis ve stoma hücrelerinin birim karedeki sayıları Tablo 2'de verilmiştir. *R. cetineri* bitkisinin yüzeyi yoğun bir şekilde tüy ile kaplıdır. Tüyler basit ve örtü tüyü şeklindedir (Tablo 2, Şekil 6).





Şekil 6. *R. cetineri* türüne ait yaprağın yüzeysel kesitinin fotomikrografları (A), gövde ve taban yaprağı yüzeyinde bulunan örtü tüylerinin fotomikrografları (B, C, D) (bh: bekçi hücresi, e: epidermis, sa: stoma açıklığı, st: stoma).

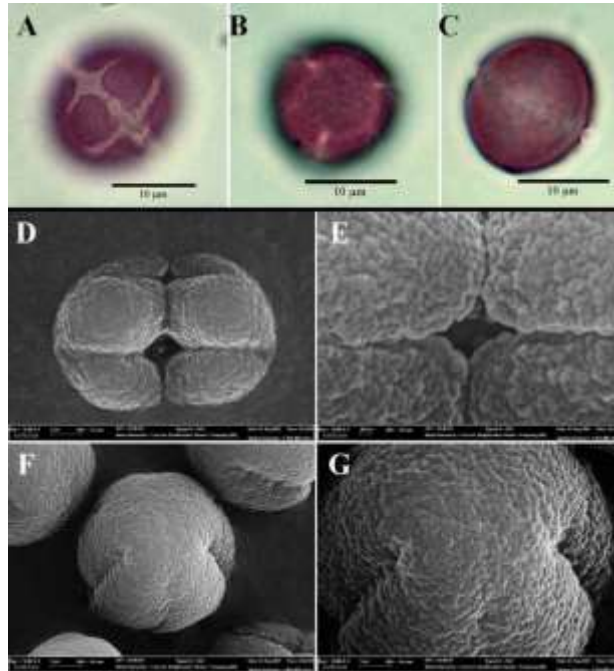
Tablo 2. *R. cetineri* türünün gövde ve taban yaprağı yüzeysel kesitlerinde yapılan ölçüm sonuçları (n=10)

|  | Gövde yaprağı<br>üst yüzey<br>$\bar{x} \pm SD$ | Gövde yaprağı<br>alt yüzey<br>$\bar{x} \pm SD$ | Taban yaprağı<br>üst yüzey<br>$\bar{x} \pm SD$ | Taban yaprağı<br>alt yüzey<br>$\bar{x} \pm SD$ |
|--|--|--|--|--|
| Stoma hücre sayısı (mm <sup>2</sup> )    | 171,50 ± 18,86                                 | 146,50 ± 19,59                                 | 120,50 ± 14,99                                 | 121,00 ± 31,87                                 |
| Epiderma hücre sayısı (mm <sup>2</sup> ) | 824,00 ± 73,67                                 | 644,50 ± 60,98                                 | 543,50 ± 67,62                                 | 549,50 ± 30,86                                 |
| Stoma hücreleri en (µm)                  | 18,48 ± 1,42                                   | 19,07 ± 1,76                                   | 17,58 ± 2,26                                   | 18,10 ± 1,48                                   |
| Stoma hücreleri boy (µm)                 | 23,75 ± 1,50                                   | 25,26 ± 1,18                                   | 28,45 ± 3,09                                   | 24,88 ± 1,73                                   |
| Stoma indeksi                            | 17,23  | 18,52  | 18,15  | 18,05  |

### 3.2 Mikromorfolojik Bulgular

#### 3.2.1 Palinolojik bulgular

*R. cetineri* türünün polenlerinden elde edilen verilere göre polar eksen  $15,40 \pm 0,81$  µm, ekvatorial eksen  $14,15 \pm 0,78$  µm'dir. Genel olarak polen şekli prolat-sferoidal görünümündedir, ancak subprolat görünüme sahip polenlerde gözlenmiştir (P/E: 1,00-1,31), (Şekil 7). *R. cetineri* polenlerinin apertür tipi 6-heterokolpattır. Ekzin  $0,53 \pm 0,16$  µm, İtin  $0,36 \pm 0,10$  µm kalınlıktadır. Kolpus uzunluğu (clg)  $10,66 \pm 1,00$  µm, kolpus genişliği (clt)  $2,77 \pm 0,16$  µm, pseudokolpus genişliği (pclt)  $2,48 \pm 0,21$  µm ve pseudokolpus uzunluğu (pclg)  $7,95 \pm 0,97$  µm'dir. Clg/Clt oranı ortalama 3,84'dür (Tablo 3).



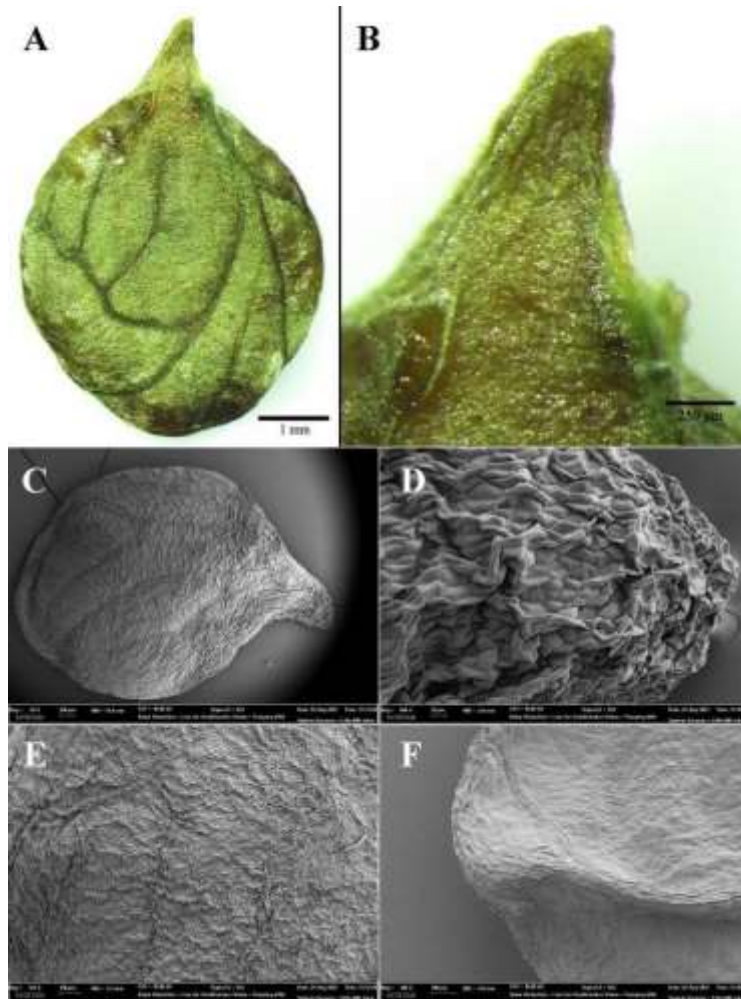
Şekil 7. *R. cetineri* türüne ait polenlerin ışık mikroskobu fotomikrografları (A, C: Ekvatorial görünüm, B: Polar görünüm) ve SEM mikrografları (D: Ekvatorial görünüm, E: Ekvatorial görünümünden por ornamentasyonu, F: Polar görünüm, G: Polar yüzeyden ekzin ornamentasyonu)

Tablo 3. *R. cetineri* türünün polenlerine ait ışık mikroskobu ölçümleri ( $\mu\text{m}$ )

|                               | Min.  | Max.                        | $\bar{X}$ | SD   |
|-------------------------------|-------|-----------------------------|-----------|------|
| Polar eksen (P)               | 14,26 | 17,75                       | 15,47     | 0,76 |
| Ekvatorial eksen (E)          | 12,79 | 16,05                       | 14,08     | 0,70 |
| P/E                           |       |                             | 1,10      | 0,07 |
| Kolpus genişliği (clt)        | 2,48  | 2,98                        | 2,77      | 0,16 |
| Kolpus uzunluğu (clg)         | 8,90  | 12,70                       | 10,66     | 1,00 |
| Clg/Clt                       |       |                             | 3,86      | 0,44 |
| Pseudokolpus genişliği (pclt) | 2,09  | 2,80                        | 2,48      | 0,21 |
| Pseudokolpus uzunluğu (pclg)  | 6,24  | 10,83                       | 7,95      | 0,97 |
| pclt/pclg                     |       |                             | 0,32      | 0,05 |
| Por uunluğu (plg)             | 2,66  | 5,16                        | 3,74      | 0,64 |
| Por genişliği (plt)           | 3,38  | 7,02                        | 5,70      | 0,94 |
| Ekzin                         | 0,34  | 0,94                        | 0,53      | 0,16 |
| İntin                         | 0,17  | 0,57                        | 0,36      | 0,10 |
| Apokolpiyum                   | 5,27  | 8,56                        | 6,85      | 0,88 |
| Polen şekli                   |       | Prolat-sferoidal, subprolat |           |      |
| Ornamentasyon                 |       | Mikrogranulat               |           |      |

### 3.2.2 Tohum morfolojisi

Tohum şekli, yuvarlağa yakın dairemsi,  $293,45 \pm 4,1 \mu\text{m}$  eninde,  $436,94 \pm 6,4 \mu\text{m}$  uzunluğunda gaga boyu ise  $110,16 \pm 1,0 \mu\text{m}$ 'dir. Rengi kahverengi-yeşil, yüzey ornamentasyonu basit retikulattır (Şekil 8).

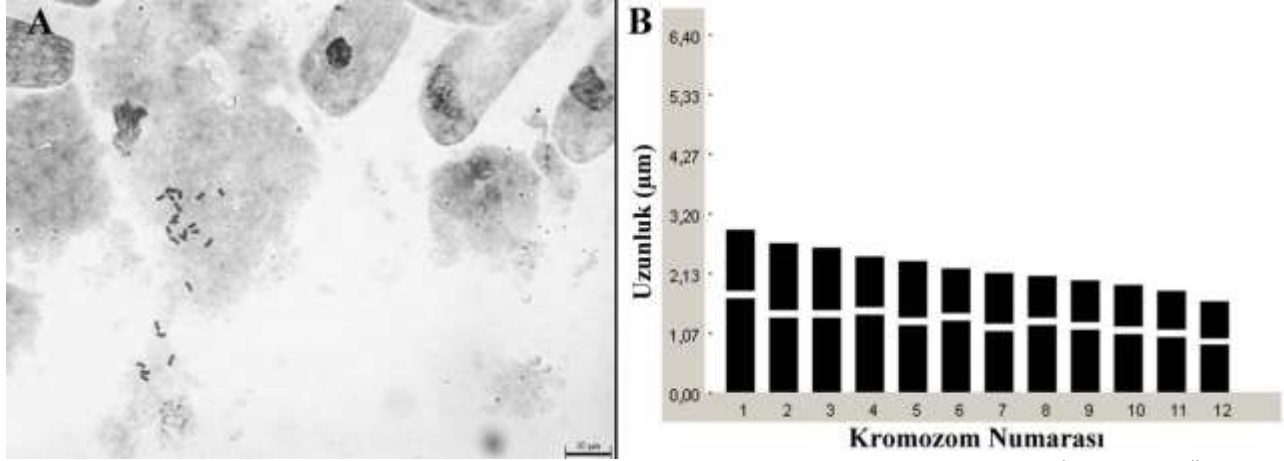


Şekil 8. *R. cetineri* türüne ait tohumların stereomikroskop altında çekilen fotomikrografları (A, B) ve SEM mikrografları (C, D, E, F)

### 3.3 Karyolojik bulgular

Yaptığımız bu çalışmada *R. cetineri* türünün karyotip analizi yapıлып, idiyoqramı ilk kez gösterilmiştir (Şekil 9). Metafaz safhasındaki kromozomların toplam uzunlukları, kol oranları, nispi boyları, sentromerik indeksi ve karyotip formülü Tablo 4'te verilmiştir. *R. cetineri* türünün somatik kromozom sayısı  $2n=24$ 'tür. *R. cetineri* türünün kromozomları  $1,50-2,77 \mu\text{m}$  boyunda, ortalama kromozom uzunluğu  $2,10 \mu\text{m}$ 'dir. Kromozomların kol oranları  $1,12-1,62$  arasında olup

karyotip formülü 12m'dir. Nispi boyları 5,97-11,01 arasında değişmektedir. *R. cetineri* türünün asimetrik indeksi 0,0004'tür [11]. Toplam haploid kromozom uzunluğu 25,12  $\mu\text{m}$ 'dir.



Şekil 9. *R. cetineri* türünün; **A.** Mitotik metafaz kromozomlarının fotomikrografı ( $2n=2x=24$ ), **B.** İdiyogram (Ölçek: 10  $\mu\text{m}$ )

Tablo 4. *R. cetineri* türü mitotik metafaz kromozomlarının karyolojik özellikleri

| Kromozom Çiftleri | Kromozom Kolları ( $\mu\text{m}$ ) |              | Toplam boy ( $\mu\text{m}$ ) | Kol oranı (U/K) | Sentromerik indeks | Nispi boy (%) | Kromozom tipi |
|-------------------|------------------------------------|--------------|------------------------------|-----------------|--------------------|---------------|---------------|
|                   | Uzun kol (U)                       | Kısa kol (K) |                              |                 |                    |               |               |
| 1                 | 1,67                               | 1,10         | 2,77                         | 1,52            | 4,37               | 11,01         | m             |
| 2                 | 1,34                               | 1,19         | 2,53                         | 1,12            | 4,75               | 10,08         | m             |
| 3                 | 1,33                               | 1,12         | 2,45                         | 1,19            | 4,46               | 9,75          | m             |
| 4                 | 1,39                               | 0,92         | 2,32                         | 1,51            | 3,68               | 9,22          | m             |
| 5                 | 1,21                               | 1,01         | 2,22                         | 1,19            | 4,03               | 8,84          | m             |
| 6                 | 1,27                               | 0,79         | 2,06                         | 1,62            | 3,12               | 8,19          | m             |
| 7                 | 1,10                               | 0,90         | 2,00                         | 1,23            | 3,57               | 7,95          | m             |
| 8                 | 1,20                               | 0,75         | 1,95                         | 1,60            | 2,99               | 7,76          | m             |
| 9                 | 1,13                               | 0,74         | 1,87                         | 1,52            | 2,95               | 7,45          | m             |
| 10                | 1,40                               | 0,75         | 1,79                         | 1,40            | 2,97               | 7,10          | m             |
| 11                | 0,98                               | 0,70         | 1,68                         | 1,40            | 2,79               | 6,67          | m             |
| 12                | 0,84                               | 0,66         | 1,50                         | 1,27            | 2,63               | 5,97          | m             |

Toplam haploid kromozom uzunluğu: 25,12  $\mu\text{m}$

(U: uzun kol, K: kısa kol, m: metasentrik)

#### 4. Sonuçlar ve tartışma

Bu çalışmada Denizli'de yayılış gösteren lokal endemik *R. cetineri* türünün anatomik, mikromorfolojik ve karyolojik özellikleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre *R. cetineri* türünün kök anatomisi incelendiğinde dıştan içe doğru sırasıyla periderm, korteks, floem, ksilem ve öz bölgesi gözlenmektedir. *R. cetineri* gövde anatomisinde ise epidermis, korteks, floem, kambiyum, ksilem ve öz tabakası mevcuttur. Boraginaceae familyasında yapraklar çoğunlukla ekvifasiyal tiptedir [12]. *R. cetineri* türünün de gövde ve taban yaprağı ekvifasiyal tiptedir. Akçin ve diğ. (2016) Boraginaceae familyasında genel olarak anizositik ve anomositik tip stoma olduğunu belirtmiştir [13]. *R. cetineri* türümüzde, mevcut literatüre uyumlu şekilde stomaların anomositik tipte olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmada stomalar orta yoğunlukta ve epidermis hücreleri ile aynı seviyede olmasından dolayı mezomorf tiptedir. Orta damardaki iletim demetleri kollateral tiptedir. Tür içinde gövde ve taban yapraklarının üst ve alt yüzeyleri karşılaştırıldığında stoma ve epidermis hücreleri bakımından farklılıklar gözlenmiştir. Gövde yaprağının üst yüzeyinde bulunan stoma ve epidermis sayıları alt yüzeyine göre daha fazladır. Taban yaprağında bulunan stoma ve epidermis hücre sayıları ise alt yüzeyde daha fazladır. Gövde ve taban yaprağı karşılaştırıldığında ise gövde yaprağında taban yaprağına göre daha fazla sayıda stoma ve epidermis hücreleri bulunmaktadır (Tablo 2). Gövde ve taban yaprağında bulunan stoma sayısının değişiklik göstermesinin nedeni, bitkinin bulunduğu habitatta zamanla kazandığı bir adaptasyon olabileceğini akla getirmektedir. Stoma indeksi güvenilir bir taksonomi karakteridir. Çünkü stoma yoğunluğu epidermis hücrelerinin büyüklüğüne bağlı olmaksızın çevresel faktörler tarafından belirlenir [12,14]. Boraginaceae familyasında hem salgı hem de örtü tüyleri bulunmaktadır [12]. *R. cetineri* bitkisinin yüzeyi yoğun bir şekilde tüy örtüsü ile kaplıdır. Tüyler basit ve örtü tüyü şeklinde olup salgı tüyüne rastlanmamıştır.

Attar ve diğ. (2019) yaptıkları çalışmada *R. lanata*, *R. albida* ve *R. bungei* Gürke türlerinin gövde ve yaprak anatomilerini incelemişlerdir [15]. *R. lanata* ve *R. albida* türleri izobilateral yapraklara sahip olmaları ile karakterize edilmiştir. Yapraklarda epidermis, palizat ve sünger parankiması gözlemlenmiştir. Gövdede ise epidermis altında



parankimatik hücrelerden oluşan kollenkima ve 4-5 katmanlı korteks, korteksin altında sırasıyla floem ve ksilem gözlemlenmiştir. Öz büyük ve silindirik parankimatik hücrelerden oluşmaktadır. *R. bungei* ve *R. lanata* 10-20 hücreden oluşan bazal eglanular trikoma sahiptir. Ancak *R. albida* ise belirgin bir tabana sahip olmayan tek hücreli eglanular trikomlara sahiptir. Yukarıda bahsedilen bu anatomi çalışmasında türler arasında çok büyük farklılıklar gözlemlenmemiştir. Fakat, yaprakta ve gövdede incelenen anatomik karakterlerin bazıları (örneğin yaprakların izobilateral olması gibi) bakımından *R. cetineri* türü ile benzer sonuçlar göstermektedir.

Bigazzi ve diğ. (2006) yaptıkları çalışmada *Rindera* cinsi içindeki yaygın görülen polen tipini “*Rindera tetraspis*” olarak adlandırmaktadır [4]. Erdtman (1966) bu tip polenleri prolat-sferoidal ve subprolat olarak tanımlamış (P/E = 1.06-1.25), ornamentasyon tipini ise (3-)6-heterokolpat ektosingulat olarak belirtmiştir [16]. *R. caespitosa*, *R. lanata*, *R. graeca* (A. DC.) Boiss. & Heldr., *R. umbellata* Bunge'nın polenleri “*Rindera tetraspis*” ve yüzey ornamentasyonu skabrattır. Yine aynı şekilde *R. cyclodonta* Bunge, *R. echinata* Regel, *R. ochroleuca* Kar. & Kir., *R. tetraspis* Pall.'in de polen şekli “*Rindera tetraspis*” ve yüzey ornamentasyonu mikrogranulattır. Attar ve diğ. (2018) yaptığı çalışmada *Rindera* cinsinin palinomorfolojik özelliklerini incelemiştir. Çalışma sonucunda *Rindera* cinsine ait bu türlerin polen şekli *R. lanata* ve *R. albida* türlerinde prolat, *R. bungei* ve *R. cyclodonta* türlerinde ise prolat-sferoidal'dir. Polen ornamentasyonu *R. albida*'da retikulat, *R. lanata*'da skabrat, *R. bungei*'de punktat-mikroretikulat, *R. cyclodonta*'da ise mikroretikulat olarak gözlenmiştir [17]. Yaptığımız çalışmada *R. cetineri* türünün polen şekli genel olarak prolat-sferoidaldir; ancak subprolat görünüme sahip polenler de gözlenmektedir. *R. cetineri* polenlerinin apertür tipi 6-heterokolpat, yüzey ornamentasyonu mikrogranulat olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda *Rindera* cinsi içinde yüzey ornamentasyonu açısından farklılıklar gözlenmiştir. Tektum ornamentasyonu, *Rindera*'daki en çeşitli palinolojik karakterdir. Polen yüzey şekilleri sistematikte, türlerin tanımlanmasında önemli bir karakteristik özelliktir ve türleri birbirinden ayırmamızı sağlamaktadır.

Aytaç ve diğ. (2005) yaptığı çalışmada *R. dumanii* türünün tohum şeklini dairesel, kanatlar küçük dişli, tüysüz, kenarları daralmış, armut şeklinde ve yeşilimsi renkte tanımlamıştır [8]. *R. cetineri* türünde ise tohumlar yuvarlağa yakın, kahverengi-yeşil renkli, yüzey ornamentasyonu basit retikulat olarak belirlenmiştir.

Gustavsson (1978) çalışmasında *Rindera graeca* türünün kromozom sayısını  $2n=24$  olarak belirtmiştir [18]. Ghaffari (1996) yaptığı çalışmada *R. albida* türünün kromozom sayısını  $n=12$  olarak vermiştir [19]. Yaptığımız çalışmada *R. cetineri* türünün diğer türler ile benzer kromozom sayısına sahip olduğu ( $2n=24$ ) gözlenmiştir.

Yıldırım (2019) yaptığı çalışmada *R. cetineri* populasyonunun 0,035 km<sup>2</sup>'lik alanda tahmini 400 birey ile temsil edildiğini belirtmiştir [6]. Türün yayılış alanlarının daha detaylı belirlenmesi amacıyla Fethiye, Altınyayla, Sandras Dağı ve Akdağ'daki potansiyel diğer bölgeler de araştırılmış ancak *R. cetineri*'ye ait başka bir yayılış alanı belirlenmemiştir. Çalışmamız sırasında türün bulunduğu tek lokalite olan bölgede mevcut populasyonun 400-500 birey arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Bölgede bulunan populasyon üzerinde yoğun bir otlama baskısı mevcuttur ve bu nedenle birey sayısının fazla artmadığı gözlenmiştir. IUCN (2016) kriterlerine göre *R. cetineri* “Kritik Tehlike Altında” (CR) olarak değerlendirilmektedir [6].

Bitkilerin taksonomik açıdan değerlendirilmesinde, türlere ait yapılan, anatomik, mikromorfolojik ve karyolojik özelliklerin incelenmesi türlerin sınırlarının belirlenmesinde daha kesin sonuçlar elde etmeye katkı sağlayacaktır [20]. Lokal endemik bir tür olan *R. cetineri* ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmayışı ileride yapılacak olan çalışmalara bilimsel literatür desteği sağlayacağı tarafımızca düşünülmektedir.

### Teşekkür

Bu çalışma, Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından (Proje No: 2020FEBE030) desteklenmiştir. Ayrıca *R. cetineri* türünün bilim dünyasına kazandırılması aşaması ve tarafımızca yapılan arazi çalışmaları sırasında destekleri için Orman Yüksek Mühendisi Rasim ÇETİNER'e; çalışmamızın laboratuvar çalışmaları sırasında büyük özveri ve destekleri için Arş. Gör. Batıkan GÜNAL'a ve Dr. Sevay Ayşe ULUBELİ'ye ve Pamukkale Üniversitesi, Kimyasal Ekoloji Laboratuvarı ekibine teşekkür ederiz.

### Kaynaklar

- [1] Ahmed, A., & Kordofani, M. A. (2012). Morphological and anatomical studies of *Cordia abyssinica* R. Br. and *Cordia sinensis* Lam. (Boraginaceae) in Sudan. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4(10), 4582–4588.
- [2] Özcan, T., & Süzerer, V. (2020). Variation of some seed oil components at altitudinal range in a widely distributed species, *Echium italicum* L. (Boraginaceae) from Turkey. *Journal of Materials and Environmental Science*, 11(4), 540–550.
- [3] Sezer, O. (2021). *Onosma onur-koyuncui* sp. nov. (Boraginaceae), A new species from Kütahya, Turkey. *Pakistan Journal of Botany*, 53(4), 1315–1323. [http://doi.org/10.30848/PJB2021-4\(33\)](http://doi.org/10.30848/PJB2021-4(33))

- [4] Bigazzi, M., Nardi, E., & Selvi, F. (2006). Palynological contribution to the systematics of *Rindera* and the allied genera *Paracaryum* and *Solenanthus* (Boraginaceae-Cynoglosseae). *Willdenowia*, 36(1), 37–46. <https://doi.org/10.3372/wi.36.36103>
- [5] Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., & Babaç, M. T. (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi. Damarlı Bitkiler*. İstanbul, Türkiye: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını.
- [6] Yıldırım, H. (2019). A new *Rindera* (Boraginaceae) species from Western Anatolia, Turkey. *Phytotaxa*, 427(4), 249–258. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.427.4.3>
- [7] Mill, R.R. (1979). *Rindera*. In P.H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands VI* (pp. 300–303). Edinburgh, UK: Edinburgh University Press.
- [8] Aytaç, Z., & Mill, R. R. (2005). Two new species of Boraginaceae (tribe *Cynoglosseae*) from Turkey. *Edinburgh Journal of Botany*, 61(2–3), 109–118. <https://doi.org/10.1017/S0960428605000284>
- [9] Wodehouse, R.P. (1935). *Polen Grains*, New York: USA, Mc Graw Hill.
- [10] Levan, A., Fredga, K., & Sandberg, A. A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52(2), 201–220.
- [11] Paszko, B. (2006). A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices. *Plant Systematics and Evolution*, 258(1), 39–48. <https://doi.org/10.1007/s00606-005-0389-2>
- [12] Metcalfe, C. R., & Chalk, L. (1979). *Anatomy of the Dicotyledons: Systematic Anatomy of Leaf and Stem, with a brief history of the subject* (Vol 1, 2<sup>nd</sup> Edition, pp. 100–106). Oxford: UK, Clarendon Press.
- [13] Akçin, Ö. E., Altıntaş, M. Y., & Aktaş, T. (2016). *Myosotis propinqua* (Fisch. et Mey. ex DC.) (Boraginaceae) Türünün Anatomik Özellikleri. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 6(13), 44–52.
- [14] Casson, S., & Gray, J. E. (2008). Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytologist*, 178, 9–23. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02351.x>
- [15] Attar, F., Esfandani- Bozchaloyi, S., Mirtadzadini, M., Ullah, F., & Zaman, W. (2019). Foliar and stem epidermal anatomy of the tribe *Cynoglosseae* (Boraginaceae) and their taxonomic significance. *Microscopy Research and Technique*, 82(6), 786–802. <https://doi.org/10.1002/jemt.23223>
- [16] Erdtman, G. (1966). Pollen morphology and plant taxonomy. *Angiosperms. (An Introduction to Palynology I)*. New York: USA, Hafner.
- [17] Attar, F., Esfandani-Bozchaloyi, S., Mirtadzadini, M., & Ullah, F. (2018). Taxonomic identification in the tribe *Cynoglosseae* (Boraginaceae) using palynological characteristics. *Flora*, 249, 97–110. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.10.003>
- [18] Gustavsson, L. A. (1978). Floristic reports from the high mountains of Sterea Ellas, Greece. II. *Botaniska Notiser*, 131, 201–213.
- [19] Ghaffari, S. M. (1996). Chromosome studies in some species of Boraginaceae from Iran. *The Iranian Journal of Botany*, 7(1), 81–93.
- [20] Koyuncu, O., Öztürk, D., Erkara, İ. P., & Kaplan, A. (2008). Anatomical and palynological studies on economically important *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae). *Biological Diversity and Conservation*, 1(1), 108–115.