

Türkiye'deki Salep Orkideleri Üzerine Yapılan Bazı *In Vitro* Çalışmalar

Yasemin Kemeç Hürkan¹

Özet: Türkiye'deki tüm bölgelerde toplam 90 tür orkide ve bunların içinde 30 endemik orkide türü doğal olarak yetişmektedir. Orkidelerin çimlenmeleri doğada uzun yıllar almaktadır ve endosperm bakımından fakir olan orkideler çimlenmeleri için funguslarla mikorizal bir ilişki içinde olmaları gerekmektedir. Türkiye'de orkidelerle ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ancak, bu çalışmalar Türkiye orkidelerinin korunması ve sürdürülebilir kullanımını sağlayacak düzeyde olmamıştır. Orkidelerle ilgili yapılacak çalışmaların *in vitro* üretim yöntemleri optimize edilmeli ve türlerin korunmaları yönünde yoğunlaştırılmalıdır. *In vitro* çalışmalarda orkidelerin doğadaki yaşamsal döngüleri takip edilmeli ve çimlenme, protokorm oluşumu, bitki gelişimi ve aklimatizasyon zamanları bu döngüye göre düzenlenmelidir. CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) kapsamında yer alan endemik ve nesli tükenme tehlikesi altında olan orkidelerin yerleri yeniden belirlenmeli, yasal düzenlemeler ile orkide türlerinin korunmasına yönelik işlerlikleri artırılmalıdır. Endemik türlerin doğadan sökülmesi ve toplanmasına izin verilmemeli, *in vitro* üretim yöntemleriyle bunların çoğaltımı yapıp tekrardan doğaya kazandırılmaları sağlanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *in vitro*, orkide, salep, mikroçoğaltım, tahribat.

Some *In Vitro* Study Conducted on Sahlep Orchids in Turkey

Abstract: There are 90 orchids species contains 30 endemics naturally grow in Turkey. Orchid germination takes several years in nature and orchids that are poor in endosperm must have a mycorrhizal relationship with fungi for germination. There are various studies performed in Turkey on orchids. However, these studies are not enough for conservation and sustainable use of the orchids in Turkey. *In vitro* propagation should be optimized on conservation of orchid. *In vitro* studies should follow the natural cycle of orchids in nature and germination, protocorm generation, plant development and acclimatization times should be arranged according to this cycle. Locations of endemic and endangered orchids should be rearranged on CITES database. Legal regulations and the protection of orchid species should be rearranged strictly. Collection of endemic species should not be allowed from nature. They should reproduced and transferred to the nature by *in vitro* production methods.

Keywords: *in vitro*, orchid, salep, micropropagation, destruction.

¹ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Terzioğlu Kampüsü, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü.
kemecyasemin@gmail.com

GİRİŞ

Orchidaceae, yeryüzünde yayılış gösteren çiçekli bitkiler grubunun en zengin familyasıdır. Geofit bitkiler grubu içerisinde yer alan orkideler Türkiye’de 24 cins ve 170 takson ile temsil edilmektedir (Kreutz, 2009). Orkidelerin büyük bir çoğunluğu toprakta yaşamaktadır ve bunlara ılıman kuşak orkideleri ya da karasal orkideler adı verilmektedir. Karasal orkidelerin toprak altı organı yumru, kök ya da rizom olarak farklılık göstermektedir (Sezik, 1984). Orkide tohumları 0.25-1.2 mm uzunluğunda ve 0.09-0.27 mm genişliğindedir, ağırlıkları ise 0.3-1.4 µg’dır. Orkide tohumları çimlenebilmek için uygun sıcaklık, ışık, nem ve oksijenin yanı sıra “mikorhizal fungus” ile mutualiz bir ilişkiye ihtiyaç duymaktadır (Arditti, 1967). Endosperm bakımından yoksun olan orkide tohumları çimlendikten sonra tam bir bitkiye dönüşmeleri uzun yıllar almaktadır. Bu süre türden türe değişkenlik gösterip ortalama 2-16 yıldır (Sezik, 1984). Tohumları bu denli küçük olan, çimlenmeleri için çeşitli dış motivasyonlara ihtiyaç duyan ve gelişimi çok uzun yıllar alan orkideler ne yazık ki çeşitli sebeplerle tahrip edilmektedirler. Orkide yumruları yüzyıllardır gıda, ilaç, içecek, dondurma, parfüm yapımında hammadde olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde orkide yumrularından özellikle kış aylarında tüketimi oldukça fazla olan “salep” elde edilmektedir. Türkiye’de *Aceras*, *Anacamptis*, *Barlia*, *Comperia*, *Dactylorhiza*, *Himantoglossum*, *Neotinea*, *Ophrys*, *Orchis* ve *Serapias* cinslerine ait 120 civarında yumrulu orkide salep elde etmek amacı ile kullanılmaktadır (Sezik ve ark., 2007). Türkiye’de yayılış gösteren orkideler şehirleşme, tarım alanlarının genişletilmesi, tarımsal faaliyetler, sanayileşme, aşırı otlatma, yangınlar, turizm faaliyetleri, yurtdışı ve yurtiçi kullanım amacı ile doğadan sökülerek nesli tükenme tehlikesi altına girmektedir. Her yıl ortalama 30-50 ton orkide yumrusu doğadan sökülmektedir (Sezik, 1984). IUCN (The World Conservation Union International Union for Conservation of Nature and Natural Resources) kapsamında 12 orkide türü tehlike altında olan türler listesinde yer almaktadır (Tablo 1) (Kreutz, 2009; Ekim2000).

Tablo 1. Türkiye’de tehlike altında olan orkide türleri (Kreutz, 2009; Ekim, 2000)

Türler	Kategori (IUCN)
<i>Cephalanthera kotschyana</i>	LR(Ic)
<i>Dactylorhiza nieschalkiorum</i>	LR(Ic)
<i>Dactylorhiza osmanica</i> var. <i>anatolica</i>	LR (nt)
<i>Epipactis pontica</i>	LR(Ic)
<i>Himantoglossum caprinum</i> subsp. <i>caprinum</i>	LR(Ic)
<i>Ophrys amanensis</i> subsp. <i>amanensis</i>	LR(cd)
<i>Ophrys bornmuelleri</i> subsp. <i>carduchorum</i>	LR(nt)
<i>Ophrys holoserica</i> subsp. <i>heterochila</i>	VU
<i>Ophrys isaura</i>	EN
<i>Ophrys lycia</i>	EN
<i>Ophrys phrygia</i>	LR(Ic)
<i>Ophrys shegodes</i> subsp. <i>caucasica</i>	LR(Ic)

EN: Tehlikede **VU:** Zarar Görebilir **LR:** Az Tehtit Altında **cd:** Koruma Önemi Gerektiren **nt:** Tehtit Altına Girebilir **Ic:** En Az Endişe Verici

Türkiye’den yurtdışına salep ihracatı yüzyıllar boyunca devam etmiştir ve aşırı yumru sökümünün boyutları tahribat denilecek kadar fazla olunca 1974 yılında Tarım Bakanlığı, yapılan uyarıları dikkate alarak salep ihracatını yasaklamıştır (Sezik, 1984). Fakat günümüzde yurtiçi ihracat devam ederek dondurma ve sıcak içecek yapımı için sökümler devam etmektedir. Bu nedenle salep bitkisinin korunmasının yanı sıra değişik amaçlarla kullanımının sağlanması için kültüre alınarak çoğaltılması zorunlu hale gelmiştir.

Bu çalışmanın amacı, orkide türlerinin kültüre alınma ve çoğaltılması ile ilgili güncel bazı çalışmaları bir araya getirmek ve bunları değerlendirmektir.

Orkidelerin Mikroçoğaltımı İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Günümüzde gelişen teknoloji ile birçok biyoteknolojik yöntemle (Organogenesis, Somatik embriyogenesis, Protoplast kültürü, Haploid hücre kültürü, Meristem kültürü vb.) küçük bir bitki dokusundan milyonlarca bitki elde edilmektedir. Nesli tükenme tehlikesi altında olan türler, endemik türler, çoğaltılmasında sorun olan türler, ilaç, gıda, içecek hammaddesi olarak kullanılan türler söz konusu biyoteknolojik yöntemler kullanılarak çoğaltımları sağlanmaktadır.

Türkiye’deki orkidelerin mikroçoğaltımları üzerine yapılan çalışmalar Tablo 2’te verilmiştir. Bu çalışmalar genellikle bir bölge ile sınırlı kalmıştır ve olanakların kısıtlı olması nedeni ile sürdürülebilirliği mümkün olmamıştır. Bu çalışmalarda; *in vitro*, *in vivo*, simbiyotik, asimbiyotik koşullar ile tohum, yumru gibi çeşitli bitki kısımları kullanılmıştır.

Tablo 2. Türkiye’de orkidelerde in vitro çoğaltım ile ilgili olarak yapılan önemli çalışmalar

Çalışmalar İle İlgili Konu Başlıkları	Yazarlar	Yıl
Salep bitkilerinden <i>Orchis anatolica</i> Boiss. doku kültürleri ile üretimi	Gönülşen N.	1983
Toprak orkidelerinin doğal yetişme alanlarında bir vejetasyon süreci içerisindeki biyolojik ritminin gözlenmesi ve toprak orkidelerinin üretimi	Hatipoğlu ve ark.	1984
Bazı orkide türlerine ait tohumların çimlenmesi üzerine yüzeysel sterilizasyonda kullanılan sodyum hipokloritin etkisi	Özkoç İ.; Dalcı M.	1991
<i>Serapias vomeracea</i> (Burm fil.) Briq. subsp. <i>laxiflora</i> (Soo) Gözl et. Reinhard ve <i>Orchis laxiflora</i> Lam. (Orchidaceae) tohumlarının simbiyotik ve asimbiyotik kültürlerde çimlenme ve gelişmesi üzerinde araştırılması	Özkoç İ.	1991
İki farklı kültür ortamında <i>Serapias vomeraceae</i> (Orchidaceae) tohumlarının çimlenme ve gelişme üzerine bazı fungusların etkisi	Özkoç İ.; Dalcı M.	1992
<i>Orchis laxiflora</i> tohumlarının iki farklı ortamda çimlenmesi ve gelişmesi üzerine bazı fungusların etkisi	Özkoç İ.; Dalcı M.	1993
Bazı <i>Ophrys</i> L. (Orchidaceae) türlerinden simbiyotik fungusların izolasyonu ve <i>Ophrys apifera</i> Huds. tohumlarının asimbiyotik ve simbiyotik ortamlarda çimlendirilmesi üzerine bir araştırma	<i>Ophrys</i> Aytaş T.	1994
<i>Dactylorhiza urvilleana</i> (steudel) Bauman ve Künkele ve <i>D. iberica</i> (Bieb.Ex Willd) SOO (Orchidaceae) Türlerinin Köklerinden Fungusların İzole Edilmesi, Bu Türlerle Ait Tohumların Simbiyotik ve Asimbiyotik Kültür Ortamlarında Çimlenme ve Gelişme Üzerinde Bir Araştırma	Özdener Y.	1994
Kahramanmaraş bölgesinde doğal yayılış gösteren bazı salep orkidelerinin in vitro ortamda yumru oluşturma yeteneklerinin araştırılması	Özavcı A.	1995
Orkidelerde mikorizal fungusların orkide tohumlarının çimlenmesi ve büyümeleri üzerine etkisi	Vakkasoğlu F.	1995
Ege ve Doğu Akdeniz bölgelerinde doğal yayılış gösteren Orchidaceae familyasına ait bazı türlerin in vitro ve in vivo koşullarda üretimleri üzerinde araştırmalar	Gönülşen ve ark.	1996
Kahramanmaraş yöresinde doğal yayılış gösteren salep orkidelerinin in vitro da sürgün ucu kültürü ile çoğaltılma olanaklarını araştırmak	Çağlayan ve ark.	1997
Doğu Akdeniz bölgesinde yaygın olarak yetişen bazı salep orkidelerinin embriyo kültürü kullanılarak in vitro koşullarda çoğaltılmaları	Çağlayan ve ark.	1998
Ege bölgesi’nde doğal yayılış gösteren Orchidaceae familyasına ait bazı türlerin in vitro koşullarda üretimleri üzerinde araştırmalar	Önal K.	1999
Orkidelerde granuler polenler ve poliniumlar üzerinde in vitro çimlenme deneyleri	Aybeke M.	2002
Bazı orkide türlerine ait tohumların simbiyotik ve asimbiyotik olarak çimlendirilmesi ve fide gelişimi	Sazak A.	2004
Çeşitli salep (orkide) türlerinde mikoriza oluşturan fungusların izolasyonu ve tanımlanması ile inokulant olarak kullanım olanaklarının incelenmesi	Gezgin Y.	2004
Bazı orkide türlerinin in vitro koşullarda çoğaltılması, çiçeklenmesi	Yararbaş R.T.	2008
Batı Karadeniz Bölgesi’nde salep elde edilmesinde kullanılan bazı orkide türlerinin (Orchidaceae) çoğaltım yöntemleri üzerinde araştırmalar	Gümüş C.	2009
Kahramanmaraş doğal florasında yetişen ve salep üretiminde kullanılan bitkilerin kültüre alınabilme olanakları	Kısakürek ve ark.	2009
Van’da doğal olarak yetişen salep orkidelerinin simbiyotik ve asimbiyotik olarak in vitro ve in vivo ortamlarda çoğaltılması	Çığ A.	2012
In vitro pollen germination of orchids traditionally used to produce salep	Kemeç ve ark.	2015
Çanakkale çevresinde yayılış gösteren bazı salep orkidelerinin farklı besin ortamlarında in vitro çoğaltımı	Kemeç Y.	2015

Bazı Salep orkidelerinin <i>in vitro</i> ortamda çimlenme, protokorm ve bitkicik oluşumunu etkileyen faktörlerin araştırılması	Karakuş B.	2015
Salep orkidelerinin mikroçoğaltımı	Ekinoğlu N.D.	2017

Orkideler yaşamlarının belli dönemlerinde funguslara ihtiyaç duymaktadırlar. Çimlenmeleri zor ve buna bağlı olduğu için bir çok araştırmacı bu konu üzerine çalışmıştır.

Özkoç (1991), *Orchis laxiflora* ve *Serapias vomeracea* subsp. *laxiflora* türlerini asimbiyotik ve simbiyotik olarak çimlendirme çalışması yapmıştır ve simbiyotik kültür için en uygun ortamın yulaf besin ortamı olduğunu belirtmiştir. Fungal izolatlarla yapılan çalışmada yulaf ortamında %30.6 oranı ile, modifiye yulaf ortamında ise %9.1 oranı ile en iyi çimlenme oranı bulunmuştur. *In vitro* tohum çimlendirme çalışmalarında inorganik azot içermeyen, VWD, MS ve Knudson ortamları arasında en yüksek çimlenme oranı olduğunu belirtmiştir, fakat protokorm gelişimi gözlenmemiştir. En iyi çimlenme sonucu %53.8 oran ile MS-N ortamında olduğu belirtilmiştir. *Orchis laxiflora* ile yapılan çalışmada ise %13.4 oranı ile VWD-N ortamında çimlenme elde edilmiştir.

Özkoç ve Dalcı (1992) çalışmalarında, *Serapias vomeraceae* türünün köklerinden elde ettikleri fungal izolatlarla, yurtdışından temin ettikleri fungal izolatları kullanmışlardır. Kullanmış oldukları izolatların tohum çimlenmesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda yurtdışından temin ettikleri izolatlar çimlenme ve bitki gelişimine olumlu etkisinin olduğunu, *Serapias vomeraceae* türünün köklerinden elde ettikleri fungal izolatların çimlenmede olumlu etki göstermediklerini gözlemlemişlerdir.

Özkoç ve Dalcı (1993), *Orchis laxiflora* tohumlarını yulaf ve modifiye yulaf ortamlarına ekmişlerdir ve çimlendirme ve bitki gelişimi üzerine farklı ülkelerden temin edilen 11 mikorizal fungal izolatın etkisini araştırmışlardır. Tohum çimlenmesi ve bitki gelişimi üzerindeki en iyi sonucu yurtdışından temin ettiği 624 nolu, F 397 ve F 418 izolatları olmuştur, fakat iki Türk izolatında ise başarı elde edilememiştir.

Aytaş (1994) yapmış olduğu çalışmada, *O. sphegodes* ve *Ophrys apifera* türlerinin köklerinden izole ettiği ve yurtdışından almış olduğu fungal izolatlarla tohum çimlendirme çalışması yapmıştır, fakat bu çalışmada başarı elde edilememiştir. Sodyum hipokloriti değişik konsantrasyonlarda, farklı sürelerde uygulamış ve çimlenme oranı üzerindeki etkisini incelemiştir. Tohumların %1.5 'lik sodyum hipoklorit içinde 15 dakika bekletilmesinin sterilizasyon için yeterli olacağını belirtmişlerdir.

Özdener (1994), *Dactylorhiza urvilleana* ve *D. iberica* türlerinde asimbiyotik ve simbiyotik kültür ortamlarında çimlendirme çalışması yapmıştır ve bunun için bu türlerin köklerinden fungus izolasyonu yaparak bitki gelişimi üzerine bir araştırma yapmıştır. Asimbiyotik çimlendirme çalışmasında seyreltik ve konsantre kültür ortamları kullanmıştır ve seyreltik kültür ortamına eklenen şekerin çimlenme üzerine olumsuz etki yaptığını belirlemiştir. Çalışmanın sonucunda simbiyotik kültür çalışmalarında, besinsel

içeriğe göre fungal izolatların etkinlik derecelerinin değişebileceğini ortaya koymuştur. Konsantr VWD kültür ortamında inorganik azotun ve şekerin bitki gelişimi için önemli olduğunu gözlemlemiştir.

Vakkasoğlu (1995) çalışmasında, Doğu Akdeniz Bölgesi'nde doğal olarak yayılış gösteren salep eldesi için kullanılan orkidelerin yumrularındaki mikorhizal fungusları izole etmiş ve bu izole ettiği fungusların çimlenmesi ve bitki gelişimi üzerine etkilerini araştırmıştır. Çalışmanın sonunda *Orchis coriophora* ve *Ophrys vernixia* türlerine ait tohumlar *Rhizoctonia solani* fungusunun var olduğu ortamda bitki oluşturmuş, *Orchis anatolica* türünde ise bu fungusun varlığı ile sadece protokorm elde edildiği belirtilmiştir.

Sazak (2004) yapmış olduğu çalışmada, *D. romana* subsp. *romana*, *Dactylorhiza osmanica* var. *osmanica* ve *Spiranthes spiralis* türleri üzerinde, yurt dışından temin edilen fungal izolatlar ile Türkiye'de yayılış gösteren orkidelerin yumrularından izole edilmiş izolatların tohum çimlendirme ve bitki gelişimi üzerindeki etkilerini araştırmıştır. 624 kodlu fungal izolatin en etkili izolat olduğunu belirterek, inorganik azotun bitki gelişimi için önemli olduğunu vurgulamıştır.

Gezgin (2004) çalışmasında, Akdeniz ve Ege Bölgeleri'nde salep eldesi için kullanılan orkidelerin yumru ve köklerinden *Papulaspora*, *Rhizoctonia* ve *Fusarium* cinslerine ait toplamda 47 fungus izolatu elde etmiştir. Bunların içinden bir tanesinin *Papulaspora* cinsine ait, 2 tanesinin *Rhizoctonia* cinsine ait ve 44 tanesinin *Fusarium* cinsine ait olduğunu belirlemiştir.

Çığ (2012) yapmış olduğu araştırmada, Doğu Anadolu Bölgesinde salep eldesi için kullanılan 6 orkide (*Anacamptis pyramidalis* (L.) L.C.M. Richard, *Dactylorhiza iberica* (Bieb. ex Willd.) Soó, *Dactylorhiza romana* (Seb.) Soó subsp. *georgica* (Klinge) Soó ex Renz & Taub., *Dactylorhiza umbrosa* (Kar. et. Kir.) Soó, *Orchis palustris* Jacquin ve *Ophrys straussii* (Fleischm & Bornm.) Nelson) türünün tohumlarını *in vitro* ve *in vivo* koşullarda simbiyotik (YO-yulaf ortamı, MYO-modifiye yulaf ortamı, PDA-potato dekstrose agar) ve asimbiyotik (VWD-Van Waes & Debergh, KC-Knudson-C, MS-Murashige & Skoog, ½ MS ve 1/10 MS ortamı) koşullarda çalışmasını sürdürmüştür. Çalışma sonunda çimlenme, protokorm ve sürgün elde ettiği belirtilmiştir. Fakat aklimatizasyon sonucunda bitkiler canlılığını yitirmiştir.

Salep orkidelerinin polen ve polliniumları üzerine de *in vitro* çimlendirme çalışmaları yapılmıştır.

Aybeke (2002) çalışmasında, orkidelerdeki polen taneleri ve pollinium olarak bilinen bir kılıf ile sarılı olan polen keselerini *in vitro* koşullar altında çimlenmesini incelemiştir. Tane olarak bulunan polenlerde *in vitro* çimlenme çoğu *Angiosperm* üyelerindeki gibi olduğunu belirtmiştir. Polliniumlarda ise, kesenin içinde bulunanlarda değilde besin ortamı ile temas eden kısımlarda çimlenme olduğunu gözlemlemiştir.

Kemeç ve ark. (2015) yapmış olduğu çalışmada, *Ophrys mammosa*, *Orchis provincialis*, *Anacamptis morio* subsp. *morio*, *Orchis simia* and *Neotinea tridentata* türlerindeki polen ve

polliniumların *in vitro* çimlenmesini incelemiştir.Çalışmada Knudson, Orchimax ve özel bir ortam olan Svante Malmgren'in hazırlamış olduğu besin ortamlarını kullanmışlardır. En iyi polen çimlenme oranı %55 ile *Ophrys mammosa* türü, en iyi besin ortamı ise %50.5 ile Orchimax olduğunu tesbit etmişlerdir. En iyi pollinium çimlenme oranı yine %69 ile *Ophrys mammosa* türü olmuştur. Pollinium için en iyi vesin ortamı ise %61.3 ile Malmgren olduğu saptanmıştır. Çimlenmelerin genellikle polliniumların besin ortamı ile temas eden yerlerinde, polenlerin ise uç kısımlarında olduğu saptanmıştır.

Orkidelerin mikroçoğaltımı için en uygun ve en çok kullanılan doku parçası tohum olmuştur. Çalışmalar gerek bir proje kapsamında olsun, gerekse yüksek lisans ve doktora tezlerinde yürütülmeye çalışılmıştır.

Doku kültürü ile yapılan çalışmaların başında, Gönülşen (1983) tarafından *Orchis anatolica* türü ile yapmış olduğu çalışma gelmektedir. Araştırmacı, orkide türlerinin tohumlarının doğal yaşam ortamlarında çimlenmesinin zor olduğunu ve çimlenmeye yardımcı olması için birtakım besin maddeleri ve bitki büyüme düzenleyicileri ile birlikte, tohumların doğal ortamlarında olduğu gibi bazı funguslarla enfekte edilmesi gerekliliğinin altını çizmiştir. Çalışmada türün çeşitli vegetatif kısımları ile yapılan *in vitro* koşullardaki denemelerde olumlu sonuçlar elde edilememiştir. Kültür çalışmasının sonunda elde edilen kültürlerde hiçbir gelişme olmadan canlılığını yitirdikleri belirtilmiştir.

Hatipoğlu ve ark. (1984), *Orchis sancta* ve *Anacamptis pyramidalis* türlerini *in vitro* koşullar altında çimlendirilme çalışması yapmışlardır. Çalışmada Burgeff, Voth ve Fast üç farklı ortamı modifiye ederek kullanılmıştır. 20 gün süre sonunda Burgeff ortamındaki tohumların protocorm oluşturduğu ve 1 ay kadar sonra intermedica kültür solüsyonuna aktarılan fidelerin yeni yaprak oluşturdıkları gözlenmiştir. Çalışmada aklimatizasyona kadar olan süreçte başarı sağlanabilmiştir.

Özkoç ve Dalcı (1991) tarafından, *Serapias vomeracea* subsp. *laxiflora* ve *Orchis laxiflora* türlerinin tohumlarını hem konsantre hem de seyreltik besin ortamlarına ekmişlerdir ve her iki ortamda da çimlenmenin olduğunu gözlemlemişlerdir. Fakat sadece konsantre besi ortamında gelişmenin devam ettiğini ve ortamdan inorganik azotun çıkarılması durumunda çimlenmenin arttığını ortaya koymuşlardır.

Özkoç (1991), *Orchis laxiflora* ve *Serapias vomeracea* subsp. *laxiflora* türlerinde asimbiyotik ve simbiyotik çimlendirme çalışması yapmıştır ve yulaf ortamının simbiyotik kültürler için en uygun ortam olduğunu belirtmiştir. VWD-N ortamında *Serapias vomeracea* subsp. *laxiflora* türünün, 30 dakika %10 oranında sodyum hipoklorit uygulamasında %21.7 oranı ile en yüksek çimlenme; 5 dakika %20'lik sodyum hipoklorit %50.03; 10 dakika %30'luk sodyum hipoklorit ile %25.4 oranında çimlenme elde edildiğini belirlemiştir. Fungal izolatlarla yapmış olduğu çalışmada yulaf ortamında %30.6 oran ile en iyi çimlenme; modifiye yulaf ortamında ise %9.1 oranı bulunmuştur. *In vitro* tohum çimlendirme çalışmalarında inorganik azot içermeyen MS, VWD ve Knudson ortamlarını kullanmıştır. Bu ortamlarda

çimlenmede iyi sonuç alınırken, protokormlarda epidermal tüy gelişmemiştir. En iyi çimlenme sonucu %53.8 oran ile MS-N ortamında olduğu belirtilmiştir. *Orchis laxiflora* türünde %30'luk sodyum hipokloritde ile 15 dakika sterilizasyon işlemi yapılmıştır ve %13.4 oranı ile VWD-N ortamında çimlenme elde edilmiştir.

Özavcı (1995) tarafından, Kahramanmaraş'ta dondurma yapımı için kullanılan bazı orkide türlerinde (*Ophrys bornmuelleri*, *Himantoglossum affine*, *Orchis anatolica*, *O. phrigra*, *Serapias vomeraceae* ve *O. coriophora*) ve 22 farklı besin ortamında embriyo kültürü yaparak yumru oluşturmaya çalışmıştır. Sonuçta *O. anatolica* ve *Orchis coriophora* orkide türlerinde yumru elde etmede başarı sağlanmıştır. *O. coriophora* türünde ise VW&D+ Domates Ekstraktı + Aktif Karbon ortamında, *O. anatolica* orkide türünde ise VW&D besin ortamında en iyi sonuç elde edilmiştir.

Gönülşen ve ark. (1996) tarafından Ege ve Doğu Akdeniz Bölgesine arazi çalışmaları yapıp örnekler toplanmıştır. Ege Bölgesinde yapılan arazi çalışmasında toplanan örnekler; *Orchis italica*, *O. anatolica*, *O. sancta*, *O. papilionacea*, *O. laxiflora*, *O. mascula* ssp. *pinetorum*, *O. mario*, *Ophrys mammosa*, *O. reinholdii* ssp. *reinholdii*, *O. lutea* ssp. *minor*, *O. halosericea*, *O. bornmuelleri*, *O. ferrum-equinum*, *O. umbilicata* ssp. *umbilicata*, *O. fusca*, *O. speculum*, *Dactylorchiza romano*, *Serapias vomeracea*, *S. vomeracea* ssp. *laxiflora*, *Aceras antropophorum*, *Anacamptis pyramidalis* türleri belirlenmiştir. Embriyo kültüründe *Orchis laxiflora*, *O. sancta* ve *Serapias vomeracea* türlerinde başarılı sonuç alınmıştır. Doğu Akdeniz Bölgesinden toplanan örnekler, *Orchis anatolica*, *O. coriophora*, *O. italica*, *O. tridentata*, *O. punctulata*, *Ophrys bornmuelleri*, *O. transhyrcana*, *O. vernixia*, *O. apifera*, *O. umbilicata* ssp. *umbilicata*, *O. holoserica*, *Platanthera chlorantha*, *Anacamptis pyramidalis*, *Himantoglossum affine*, *Serapias vomeracea*, *Dactylorchiza* spp. türleri belirlenmiştir. *Orchis anatolica*, *Ophrys bornmuelleri*, *Serapias vomeraceae* ve *O. coriophora* orkide türleri embriyo kültüründe başarılı bir şekilde üretilmiştir. Sürgün ucu kültüründe *Himantoglossum affine* ve *O. anatolica* orkide türlerinde çoğalmasında başarı sağlanmıştır, fakat bitkideki aşırı kararmalar sonucunda bitki elde edilemediği belirtilmiştir.

Çağlayan ve ark. (1997), Kahramanmaraş'ta salep yapımı için en yaygın kullanılan orkidelerin *Ophrys bornmuelleri*, *Orchis coriophora*, *Ranunculus ficaria* ve *Serapias vomeracea* olduğunu belirlemişlerdir ve *in vitro* koşullar altında yapmış oldukları sürgün ucu çoğaltma çalışmasından herhangi bir sonuç alamamışlardır. Araştırmacılar *Himantoglossum affine* ve *Orchis anatolica* türlerinde ise çoğaltmayı başarmışlar, *O. anatolica* türünde bitkicik oluşumu gözlemlemişlerdir.

Çağlayan ve ark. (1998) yılında yapmış oldukları çalışmada, nesli tükenme tehlikesi altında olan *Orchis anatolica*, *O. phrigra*, *O. coriophora*, *Ophrys bornmuelleri*, *Serapias vomeraceae* ve *Himantoglossum affine* türlerinin embriyolarını *in vitro* koşullarda kültüre almışlardır. Çalışma için 14 farklı besin ortamı kullanmışlardır. Çimlenme ve protokormdan bitki oluşum oranlarını hesaplamışlardır ve en yüksek oran %2.39 ve %1.86, en yüksek yumru oluşum oranı ise %2.45 olduğunu belirtmiştir.

Van Waes Debergh + Domates Ekstraktı + Aktif Karbon ortamlarının çimlenme, protokorm ve yumru oluşumuna etkilerinin daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Önal (1999) tarafından yapılan araştırmada, *Aceras*, *Anacamptis*, *Ophrys*, *Orchis*, *Serapias* ve *Dactylorhiza* cinslerine ait 21 orkide türü Ege Bölgesi'nden toplanmıştır. *Orchis sancta*, *Serapias vomeracea* ve *O. laxiflora* embriyo kültürü yapılmış ve bunda başarı sağlanmıştır, fakat diğer 18 orkide türünde başarı sağlanamamıştır. *Orchis sancta* ve *O. laxiflora* türlerinde "5°C'de ve karanlık koşullarda" yumru elde etme oranı daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Aynı türler için en uygun dış ortama aktarma zamanının ağustos ayı olduğu saptanmıştır. *O. laxiflora* türü %10 patates ekstraktı+Knudson C ortamında %80 oran ile en yüksek çimlenme yüzdesini; *O. sancta* türünde yine aynı ortamdan %100 oran ile ve *S. vomeracea* türünde ise %10-20 muz ekstraktı+Knudson C ortamında %40 oran ile elde edilmiştir. *O. laxiflora* türü 46,7 adet bitki ile %10 Hindistan cevizi sütü+Knudson C besin ortamında; *O. sancta* türü 49.5 bitki adeti ile %20 patates ekstraktı+KC ortamında ve *S. vomeracea* türü ise 37 bitki adeti ile Van Waes&Debergh+0.2mg/L GA3 besin ortamından en iyi sonuç elde edildiği belirtilmiştir.

Yararbaş (2008) yapmış olduğu çalışmada, salep orkidesi tohumlarına ultrason uygulayarak *in vitro* koşullar altında çimlendirmiştir. Besin ortamı olarak MS kullanmıştır. En iyi sterilizasyon oranı %1'lik sodyum hipokloritte 10 dakika olduğunu belirtmişlerdir. *Orchis italica* türünde 15 gün sonunda ultrason+sodyum hipokolit uygulamasında %81 oranında; kontrol grubunda ise 90 gün sonunda %89 oranında çimlenme elde edilmiş ve ilk yaprakların kısa bir süre sonunda oluşmaya başladığı gözlenmiştir. *Ophrys tenthredinifera* türünde ise 60 gün sonra 5 dakika şok+ultrason uygulamasında %5.3 oranında çimlenme elde edildiği belirtilmiştir.

Kısakürek ve ark. (2009) tarafından, Maraş'da doğal olarak yayılış gösteren ve salep ve dondurma yapımı için kullanılan, *Orchis coriophora*, *Orchis laxiflora*, *Himantoglossum affine*, *Orchis anatolica* ve *Orchis mascula* türlerinin tohumlarından *in vitro* koşullar altında çimlendirme çalışması yapmışlardır. Bu çalışmada üç farklı besin ortamı (VWDB, PF, KC) kullanılmış olup çimlenme oranının en yüksek çıktığı besin ortamı KC ortamına ekilen *Orchis coriophora* türünden elde edildiği belirtilmiştir, bu türü *O.laxiflora* ve *O.anatolica* türleri takip etmiştir. %18 oranı ile *O.mascula* türünün çimlenme yüzdesi diğer türlere göre düşük kalmıştır. *H. affine* türünde herhangi bir besin ortamında çimlenme meydana gelmediği belirtilmiştir.

Gümüş (2009) tarafından Batı Karadeniz bölgesinde nesli tükenme tehlikesi altında olan 16 türün (*Anacamptis pyramidalis*, *Dactylorhiza incarnate*, *D. romana*, *D. nieschalkiorum*, *Ophrys ferrumequinum*, *O. apifera*, *Orchis mascula* ssp. *pinetorum*, *O. coriophora*, *O. laxiflora*, *O. pallens*, *O. morio*, *O. simia*, *O. tridentata*, *O. purpurea*, *Serapias vomeracea* ssp. *orientalis*, *Platanthera chlorantha*) *in vitro* ve *in vivo* kültürleri yapılmıştır. Farklı besin ortamı bileşenleri ve konsantrasyonları (MS, 1/2 MS, KC-N, KC, VW & DB.), besin ortamlarına GA3 bitki büyüme düzenleyicisinin farklı konsantrasyonları uygulanmıştır ve inkübasyon sırasında farklı aydınlatma rejimi uygulamaları

yapılmıştır; bu uygulamaların çimlenme, protokorm oluşumu ve bitki gelişim oranları üzerine etkilerini incelemişlerdir. En yüksek bitki oluşum oranı KC ortamından % 89.88 oran ile *O. morio* türünde; % 57.65 oran ile *S. vomeraceae* türünde; % 48.35 oran ile *O. coriophora* türünde ve % 14.57 oran ile *O. laxiflora* türünde; 0.5mg/L GA3 ilave edilen KC besin ortamında % 19.87 oran ile *D. nieschalkiorum* türünde en iyi çimlenme olduğu belirtilmiştir. Dış ortama aktarılan bitkiciklerin kısa bir süre sonunda canlılıklarını yitirdiği belirtilmiştir.

Kemeç (2015) yapmış olduğu çalışmada, Çanakkale çevresinde yayılış gösteren *Anacamptis pyramidalis* (L.) L.C. Rich, *Anacamptis morio* (L.) R.M. Bateman, Pridgeon & M.W. Chase subsp. *morio*, *Dactylorhiza romana* (seb.) Soo ve *Neotinea tridentata* (Scop.) R.M. Bateman, Pridgeon & M.W. Chase. türlerinde ve Svante Malmgren'in önermiş olduğu ortam (SV), Knudson-C (KC) ve Orchimax (ORC) ortamlarını kullanarak türlerin tohumlarından *in vitro* koşullarda doku kültürü çalışması yapmıştır. Çimlenme, protokorm oluşumu ve bitki gelişimi açısından en iyi tür *Anacamptis morio* subsp. *morio* olmuştur, oranları ise sırasıyla %94.00, %70.42, %55.87 olduğu belirtilmiştir. Aklimatizasyon sonucunda *Anacamptis pyramidalis*, *Anacamptis morio* subsp. *morio*, ve *Dactylorhiza romana* türlerinde yaprak gelişimi gözlenmiştir. En iyi sonuç %58.82 oranı ile SV ortamında yine *Anacamptis morio* subsp. *morio* türü olduğu belirtilmiştir.

Karakuş (2015), *Anacamptis pyramidalis*, *Serapias vomeracea*, *Orchis coriophora*, *Orchis italica*, *Orchis sancta* türlerinin tohumlarında *in vitro* koşullarda çimlenme, protokorm oluşumu ve bitki gelişimi üzerine çalışmıştır. Sterilizasyon için ön optimizasyon çalışmaları yapıldığı belirtilmiştir. Temel besiyeri olarak basit inorganik tuzlar ve çeşitli azot kaynakları farklı (Trypton, maya özütü, kasein hidrolizat, aminoasit solüsyonu) içeren ortamlar kullanılmıştır. Protokorm oluşturma oranı tripton içeren T1 ortamında *S.vomeracea* türünde % 28, *O.sancta* türünde % 48, *O.corriophora* türünde % 48 olarak belirtilmiştir. Elde edilen protokormlar alt kültüre alımdan sonra *O.sancta* türünde % 96 verimle, *O.corriophora* türünde % 98 verimle bitki elde edilmiştir. *O.italica* ve *A.pyramidalis* türlerinde tohumların canlılık özelliği göstermediğinden dolayı, çimlenme ve protokorm oluşumu sağlanamamıştır. *S.vomeracea* türünde ise protokorm oluşumu gözlenmiş fakat alt kültür sırasında kontaminasyon sonucunda elenmiş olduğunu belirtmiştir.

Orkidelerin *in vitro* çoğaltımı konusunda yumrularından sürgün elde etme çalışması da yapılmıştır. Bu konudaki çalışmayı Ekinoğlu (2017) yüksek lisans tezinde yapmıştır. Salep elde edilen ve nesli tükenme tehlikesi altında olan *Orchis laxiflora* türünün yumrularından elde edilen sürgünler eksplant kaynağı olarak kullanılıp *in vitro* ortamda yumru elde edebilmeyi amaçlamıştır. Murashige Skoog (MS) besin ortamı kullanılmıştır ve farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri (Benzil Amino Pürin (BAP)'ın iki farklı konsantrasyonu (0,5 mg/L ve 1 mg/L) ile Naftalin Asetik Asit (NAA), Pikloram(P), İndol Asetik Asit (IAA), İndol Bütirik Asit (IBA) ve Diklorofenoksi asetik asit (2,4D) bitki büyüme düzenleyicilerin (BBD)) kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda 30 gün sonra yumru oluşmaya

başlamıştır. Yumru oluşumu açısından en etkin konsantrasyon 0,5mg/L BAP ile 0,05mg/L NAA BBD' lerinin birlikte kullanılmasıyla sağlanırken, en az etki gösteren BBD' ler ise 2,4D ve IBA olduğu belirtilmiştir.

SONUÇ

Ülkemiz üç floristik bölgenin kesişim noktasında bulunduğu için bitki biyoçeşitliliği bakımından oldukça zengin bir ülkedir. Bu çeşitlilik içinde orkidelerin payı oldukça geniş yer kaplamaktadır. Türkiye'de 5 cinse ait 30 orkide türü endemiktir (Tablo 3). Ne yazık ki ülkemizde son yıllarda artan şehirleşme, aşırı otlatma ve tarımsal faaliyetler ve en önemlisi salep toplayıcıları yüzünden orkidelerin nesli tükenme tehlikesi altında olan türler arasında yer almaktadır. Orkideler ülkemizde bazı yasal kurallar çerçevesinde korunmaya çalışılsada ülke iç tüketimi için her yıl ortalama 15 ton yumru toplanmaktadır (Sezik, 1984).

Tablo 3. Türkiye'de endemik olan orkide türleri (Kreutz, 2009)

Cins	Türler
<i>Epipactis</i>	<i>E. helleborine</i> subsp. <i>bithynica</i> <i>D. saccifera</i> subsp. <i>bithynica</i> <i>D. urvileana</i> subsp. <i>ilgazica</i>
<i>Dactylorhiza</i>	<i>D. saccifera</i> subsp. <i>taurica</i> <i>D. nieschalkiorum</i> <i>D. osmanica</i> var. <i>anatolica</i> <i>D. umbrosa</i> var. <i>chuhensis</i>
<i>Serapias</i>	<i>S. vomeracea</i> var. <i>artemisiae</i>
<i>Himantoglossum</i>	<i>H. caprinum</i> subsp. <i>robustissimum</i> <i>O. fusca</i> subsp. <i>thracica</i> <i>O. fusca</i> subsp. <i>phaseliana</i> <i>O. bornmuelleri</i> subsp. <i>carduchorum</i> <i>O. holoserica</i> subsp. <i>aramaeorum</i> <i>O. cardica</i> subsp. <i>lyciensis</i> <i>O. oestrifera</i> subsp. <i>karadenizensis</i> <i>O. oestrifera</i> subsp. <i>hygrophila</i> <i>O. oestrifera</i> subsp. <i>akcakarae</i> <i>O. kreutzii</i> <i>O. isaura</i> <i>O. umbilicata</i> subsp. <i>khuzestanica</i> <i>O. umbilicata</i> subsp. <i>calycadniensis</i> <i>O. amanensis</i> subsp. <i>amanensis</i> <i>O. amanensis</i> subsp. <i>antalyensis</i> <i>O. amanensis</i> subsp. <i>iceliensis</i> <i>O. transhyrcana</i> subsp. <i>paphlagonica</i> <i>O. argolica</i> subsp. <i>madalyana</i> <i>O. climacis</i>

O. lycia

O. straussii var. *leucotaenia*

O. konyana

Salep orkideleri ülkemizde hemen her yerde yaşam ortamı bulmalarına rağmen, korunaklı alanlarda (milli parklar), ormanlarda ve özellikle mezarlıklar gibi kullanımı kısıtlı alanlarda varlıklarını daha rahat sürdürmektedirler. Ülkemizde orkideleri korumaya yönelik çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. En iyi koruma yöntemi çeşitli biyoteknolojik yöntem ve teknikler kullanılarak *in vitro* mikroçoğaltım tekniğidir. *in situ* ve *ex situ* koruma tekniğinde kullanılmaktadır, fakat bunların başarısı tartışılır. Doku kültürü çalışmaları belli bir aşamaya kadar gelmiş fakat, bazı yetersizliklerden dolayı ilerleyememiştir. Bunun üzerine yapılan çalışmalara devlet desteğini daha fazla alarak geliştirme çalışmaları yapılmalıdır. Orkidelerin doğal olarak yetiştikleri ortamdan toprak alarak analizleri yapıp, onlara özgü besin ortamları hazırlanmalıdır. Besin ortamlarına ilave edilen organik substratın (domates, patates ekstratı, hindistan cevizi sütü, ananas suyu vb.) çimlenme, protokorm oluşumu ve bitki gelişimi bakımından katkısı çok fazladır. Bu yüzden çeşitli organik substrat kullanımı arttırılmalıdır. Orkide çalışanların dikkat etmesi gereken en önemli konu ise, onların doğadaki yaşamsal döngüleridir. *In vitro* koşulları ona göre ayarlamak başarı için son derece önemlidir. Çalışılan türe göre tohum ekimi ve bitki aklimatizasyon çalışmasının zamanını doğadakiyle benzer tarihlerde yapılması gerekmektedir. Özellikle sıcaklığı doğada tohumun toprağa ilk düştüğü zamandan, yaprağının çıktığı ilk zamana kadar taklit edilmesi gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda genellikle aklimatizasyon kısmında başarı elde edilemediği gözlenmiştir. Bunun sebebi ise belli büyüklüğe gelen bitkinin aklimatizasyon işlemi yapıldıktan sonra yaprakları kuruyor ve altında yumru dormansi durumunda kalıyor. Dormansi durumundaki yumru bu süreci tamamladıktan sonra ilk yapraklarını verecektir. Ayrıca aklimatizasyonda doğada yayılış gösterdiği topraklara ekiminin yapılması tavsiye edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Arditti J., 1967. Factors Afecting of Orchid Seeds. *Bot. Rev.*, 33, 1-97.
- Aybeke M., 2002. Orkidelerde Granuler Polenler ve Poliniumlar Üzerinde *In Vitro* Çimlenme Deneyleri. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 15: 71-80.
- Aytaş T., 1994. Bazı *Ophrys* L. (Orchidaceae) Türlerinden Simbiyotik Fungusların İzolasyonu ve *Ophrys apifera* Hudson Tohumlarının Asimbiyotik ve Simbiyotik Ortamlarda Çimlendirilmesi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Çağlayan K., Özavcı A., Eskalen A., 1997. Kahramanmaraş Yöresinde Doğal Yayılış Gösteren Salep Orkidelerinin *In Vitro*'da Sürgün Ucu Kültürü ile Çoğaltılabilme Olanakları Üzerinde Araştırmalar. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2: 11-24.
- Çağlayan K., Özavcı A., Eskalen A., 1998. Doğu Akdeniz Bölgesinde Yaygın Olarak Yetişen Bazı Salep Orkidelerinin Embriyo Kültürü Kullanılarak *In Vitro* Koşullarda Çoğaltılmaları. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 22: 187-191.

- Çığ A., 2012. Van’da Doğal Olarak Yetişen Salep Orkidelerinin Simbiyotik ve Asimbiyotik Olarak *In Vitro* ve *In Vivo* Ortamlarda Çoğaltılması. Doktora Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Ekim T., Koyuncu M., Vural M., Duman H., Aytaç Z., Adıgüzel N., 2000. *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı*, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Yayınları, Ankara. 246.
- Ekinoğlu N.D., 2017. Salep Orkidelerinin Mikroçoğaltımı . Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Elazığ.
- Gezgin Y., 2004. Çeşitli Salep (Orkide) Türlerinde Mikoriza Oluşturan Fungusların İzolasyonu ve Tanımlanması ile İnokulant Olarak Kullanım Olanaklarının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Gönülşen N., Yıldızgördü K., Önal K., Şekeroğlu E., Ercan N., Biçici M., Eskalen A., 1996. Ege ve Doğu Akdeniz Bölgelerinde Doğal Yayılış Gösteren *Orchidaceae* Familyasına Ait Bazı Türlerin *In Vitro* ve *In Vivo* Koşullarda Üretimleri Üzerinde Araştırmalar. Proje No: TBGAG-52, İzmir.
- Gümüş C., 2009. Batı Karadeniz Bölgesi’nde Salep Elde Edilmesinde Kullanılan Bazı Orkide Türlerinin (*Orchidaceae*) Çoğaltım Yöntemleri Üzerinde Araştırmalar (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara.
- Hatipoğlu A., Ringe F. ve Korkut A., 1984. Toprak Orkidelerinin Doğal Yetiştirme Alanlarında Bir Vejetasyon Süreci İçerisindeki Biyolojik Ritminin Gözlenmesi Ve Toprak Orkidelerinin Üretimi. Ege Üniversitesi, İzmir ve Justus Liebig Üniversitesi Giessen İşbirliği Haftası ve Sempozyumu.
- Karakuş B., 2015. Bazı Salep Orkidelerinin *In Vitro* Ortamda Çimlenme, Protokorm ve Bitkicik Oluşumunu Etkileyen Faktörlerin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.
- Kemeç Y., 2015. Çanakkale Çevresinde Yayılış Gösteren Bazı Salep Orkidelerinin Farklı Besin Ortamlarında *In Vitro* Çoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Kemeç Y., Hürkan K. Ve Akı C., 2015. *In Vitro* Pollen Germination Of Orchids Traditionally Used To Produce Salep. European Journal of Environmental Sciences, Vol. 5, No. 2, pp. 148–152.
- Kısakürek Ş., Arpacı B.B., Özdemir A., Dalfesoğlu K., Ergun N. ve Kaya Y., 2009. Kahramanmaraş Doğal Florasında Yetişen ve Salep Üretiminde Kullanılan Bitkilerin Kültüre Alınabilme Olanakları. 12 s.
- Kreutz K. (C.A.J.), 2009. Türkiye Orkideleri. Rota Yayınları, İstanbul. 848 s.
- Önal K., 1999. Ege Bölgesi’nde Doğal Yayılış Gösteren *Orchidaceae* Familyasına Ait Bazı Türlerin *In Vitro* Koşullarda Üretimleri Üzerinde Araştırmalar. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23: 1057-1064.
- Özavcı A., 1995. Kahramanmaraş Bölgesinde Doğal Yayılış Gösteren Bazı Salep Orkidelerinin *In Vitro*’da Yumru Oluşturma Yeteneklerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Özdener Y., 1994. *Dactylorhiza urvilleana* (steudel) Bauman ve Künkele ve *D. iberica* (Bieb.Ex Willd) SOO (Orchidaceae) Türlerinin Köklerinden Fungusların İzole Edilmesi, Bu Türlerle Ait Tohumların Simbiyotik ve Asimbiyotik Kültür Ortamlarında Çimlenme ve Gelişme Üzerinde Bir Araştırma. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

- Özkoç İ., Dalcı M., 1993. *Orchis laxiflora* Tohumlarının İki Farklı Ortamda Çimlenmesi ve Gelişmesi Üzerine Bazı Fungusların Etkisi. *Doğa Türk Biyoloji Dergisi*. 17(1): 23-28.
- Özkoç İ., 1991. *Serapias vomeracea* (Burm fil.) Briq. subsp. *laxiflora* (Soo) Gözl et. Reinhard ve *Orchis laxiflora* Lam. (Orchidaceae) Tohumlarının Simbiyotik ve Asimbiyotik Kültürlerde Çimlenme ve Gelişmesi Üzerinde Araştırılması. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Özkoç İ., Dalcı M., 1991. Bazı Orkide Türlerine Ait Tohumların Çimlenmesi Üzerine Yüzeysel Sterilizasyonda Kullanılan Sodyum Hipokloritin Etkisi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3: 116-122.
- Özkoç İ., Dalcı M., 1992. İki Farklı Kültür Ortamında *Serapias vomeraceae* (Orchidaceae) Tohumlarının Çimlenme ve Gelişme Üzerine Bazı Fungusların Etkisi. *Turkish Journal of Biology*, 16: 158-164.
- Sazak A., 2004. Bazı Orkide Türlerine Ait Tohumların Simbiyotik ve Asimbiyotik Olarak Çimlendirilmesi ve Fide Gelişimi. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Sezik E., İşler S., Orhan Ç., Deniz G. İ., Güler N., Aybeke M., Üstün O., 2007. Salep ve Orkidelerin Tahribi. TÜBİTAK Araştırma Projesi. Proje No: TBAG-Ç.SEK/23(103T008). Ankara.
- Vakkasoğlu F., 1995. Orkidelerde Mikorizal Fungusların Orkide Tohumlarının Çimlenmesi ve Büyüme Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Yararbaş R.T., 2008. Bazı Orkide Türlerinin *In Vitro* Koşullarda Çoğaltılması, Çiçeklenmesi. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova, İzmir.