

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ORCHIS SANCTA L. (ORCHIDACEAE) TOHUMLARININ SİMBİYOTİK
ÇİMLENMESİ

Burcu TURGUT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORCHIS SANCTA L. (ORCHIDACEAE) TOHUMLARININ SİMBİYOTİK
ÇİMLENMESİ

BURCU TURGUT

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SAMSUN
2019

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Burcu Turgut tarafından hazırlanan “*Orchis sancta* L. (Orchidaceae) tohumlarının simbiyotik çimlenmesi” adlı tez çalışması 01/08/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Yasemin Özdener Kömpe
Biyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri

Başkan Prof. Dr. Hamdi Güray Kutbay
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Biyoloji Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Tuğba Bayrak Özbucak
Ordu Üniversitesi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Üye Prof. Dr. Yasemin Özdener Kömpe
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Biyoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım. .../.../2019

Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, Bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

02/09/2019

Burcu Turgut

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ORCHIS SANCTA L. (ORCHIDACEAE) TOHUMLARININ SİMBİYOTİK ÇİMLENMESİ

Burcu Turgut

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yasemin Özdener Kömpe

Dünyada ve ülkemizde ekim alanı ve üretim miktarı yönünden önemli bir bahçecilik üretim grubunu oluşturan orkide bitkileri, tıbbi ve aromatik bir öneme sahiptir. Ekolojik bakımdan önemli orkide habitatlarının yok edilmesi üzerine orkide türlerinin çoğaltılması amacıyla araştırmacılar *in vitro* üretim yapmaktadır. Orkidelerin *in vitro* üretim programları arasında simbiyotik tohum çimlendirme yöntemleri etkin bir şekilde kullanılmaktadır. *In vitro* simbiyotik tohum çimlendirme yöntemleri, doku kültürü ve asimbiyotik tohum çimlenmesi yoluyla üretim yöntemlerine kıyasla genetik çeşitliliği artırması ve doğaya daha kolay adapte olması bakımından daha fazla avantaja sahiptir. Bu çalışmada *Orchis sancta* Lindley (Orchidaceae) tohumlarının simbiyotik yöntemler ile çimlenmesi ve gelişmesi incelenmiştir. *O. sancta* (L.)'nın köklerinden izole edilen F-Snct1 ve fungus kültür koleksiyonunda bulunan *F Rhizoctonia solani* AG A izolatları kullanılarak *O. sancta* tohumları *in vitro* simbiyotik kültür ortamında çimlendirilip fide gelişimi takip edilmiştir. *Orchis sancta*'nın yaprak, yumru ve köklü tam fideleri bu iki fungal izolat kullanılarak elde edilmiştir. Tohumlar fungal mikobiyontlar ile kültüre alındığında tohum çimlenme oranları ve protokorm gelişme seviyeleri artış göstermiştir. En yüksek çimlenme oranı F-Snct1 ile inoküle edilen tüplerde, en düşük çimlenme oranı ise fungus içermeyen kontrol grubunda gözlenmiştir. Fungus türleri çimlenme oranları üzerinde ortalamalar yönünden anlamlı bir farklılık göstermektedir. *O. sancta* fideleri *ex vitro* toprak transferi için agar kültüründen alınarak toprağa yerleştirilirken yapraklı ve köklü fideler seçilmiştir. Ancak simbiyotik tohum çimlenme yöntemleri ile üretilen yapraklı fideler genellikle mikoheterotrofik olduğundan toprağa transfer edildiklerinde hayatta kalma olasılıkları azalmaktadır. Araştırma bulgularına dayanarak simbiyotik tohum çimlendirme yöntemleri nadir bulunan karasal orkide türlerinin korunması noktasında başarılı sonuçlar vadetmektedir.

Ağustos 2019, 98 sayfa

Anahtar Kelimeler: Mikoriza, Orchidaceae, *Orchis sancta*, Simbiyotik çimlenme

ABSTRACT

Master's Thesis

GERMINATION OF THE SEEDS OF *ORCHIS SANCTA* L. (ORCHIDACEAE) IN SYMBIOTIC CULTURE MEDIUM

Burcu Turgut

Ondokuz Mayıs University
Graduate School of Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Yasemin Özdener Kömpe

Orchid plants which constitute an important horticultural production group in terms of planting area and production amount have medicinal and aromatic importance in the world and in our country. Destruction of ecologically important orchid habitats, researchers are *in vitro* production to increase orchid species. Among the *in vitro* production programs of orchids, symbiotic seed germination methods are effectively used. *In vitro* symbiotic seed germination methods have more advantages in terms of enhancing genetic diversity and easier adaptation to nature compared to production methods by tissue culture and asymbiotic seed germination. In this study, the germination and development of *Orchis sancta* Lindley (Orchidaceae) seeds by symbiotic methods were investigated. F-Snct1 isolated from the roots of *O. sancta* (L.) and F *Rhizoctonia solani* AG A isolates were germinated in *O. sancta* seeds in *in vitro* symbiotic culture medium and seedling growth was followed. Leaf, tuber and rooted complete seedlings of *Orchis sancta* were obtained by using these two fungal isolates. When terrestrial orchids are associated with mycorrhizal fungi, the fungi associated with *O. sancta* and different isolates are expected to promote germination if these fungi promote seedling formation. When the seeds were cultured with fungal mycobiont seed germination rates and protocol development levels increased. The highest germination rate was observed in tubes inoculated with F-Snct1 and the lowest germination rate was observed in the control group without fungi. The fungi species showed a significant difference in germination rates in terms of means. *O. sancta* seedlings were taken from agar culture for *ex vitro* soil transfer and were placed in the soil leafy and rooted seedlings were selected. However, as the leafy seedlings produced by symbiotic seed germination methods are generally mycoheterotrophic, their probability of survival decreases when they are transferred to the soil. Based on the research findings, symbiotic seed germination methods promise successful results for the conservation of rare terrestrial orchid species.

August 2019, 98 pages

Key Words: Mycorrhiza, Orchidaceae, *Orchis sancta*, Symbiotic germination

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Orchis sancta Lindley (Orchidaceae) tohumlarının simbiyotik çimlenmesi üzerine olan bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Tez çalışmam sırasında her zaman desteğini gördüğüm pek çok kişi oldu. Büyük bir istek ve heyecanla girdiğim bu yolda, araştırmalarımı yönetip bana yol gösteren, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yasemin Özdener Kömpe başta olmak üzere, çalışmalar sırasında alan tecrübesinden dolayı yardım istediğimde desteğini esirgemeyen hocam Sayın Dr. Vildan Akın Mutlu'ya teşekkür ederim.

Akademik çalışmalarımda maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim değerli anne babama, iki yaşımdan beri yanımda olan kardeşime, akıl danışmanım, beni en iyi anlayan dert ortağı can dostum, saygıdeğer, çok muhterem Sevgili Mitka Erverdi'ye, Uluslararası Biyoçeşitlilik Sempozyumu'nda sunduğum posterin bilişim hazırlığında desteğini esirgemeyen Bilişim Teknolojileri Öğretmeni Sayın Özkan Yetkin öğretmenime, lisansüstü öğrenimim sırasında tanıştığım değerli arkadaşlarım Sevim Demiray, Özge Durmaz ve Alper Durmaz'a ve ayrıca üniversite sınıf arkadaşım Sevgili Dr. Elif Fatma Topkara'ya gösterdikleri ilgi ve paylaşımlarından dolayı teşekkür ederim.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi İstatistik Bölümü Doktora öğrencisi Sayın Abdullah Çelik'e tezimin bulgular bölümündeki istatistik konusundaki yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Haziran 2019, Samsun

Burcu Turgut

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Orchidaceae Familyasının Genel Özellikleri	3
1.1.1. <i>Orchis sancta</i> (L.)'nin morfolojik özellikleri.....	25
1.2. Nesil Tükenme Tehlikesine Karşı Yapılan Simbiyotik ve Asimbiyotik Çimlendirme Faaliyetleri	25
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	33
2.1. Araştırmada Kullanılan Bitki Örneklerinin Toplanması ve Teşhislerinin Yapılması	33
2.2. Araştırmada Kullanılan Kültür Ortamlarının Hazırlanması.....	33
2.2.1. Fungus izolasyon ortamı	33
2.2.2. Patates dekstroz agar ortamı	35
2.2.3. Tohum çimlendirme ortamı	35
2.3. Köklerden Fungus İzolasyonunun Yapılması	36
2.4. Tohumların Yüzeysel Sterilizasyonu	37
2.5. Orkide Tohumlarının Çimlenme ve Gelişmesi Üzerine Fungal İzolatlarının Etkisinin Belirlenmesi	37
2.6. Hifal Büyümenin Mikroskopik İncelenmesi.....	38
2.7. Simbiyotik Kültür Ortamında Gelişen Fidelerin Sera Ortamına Aktarılması.....	39
2.8. Çimlenme ve Gelişme Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	39
3. BULGULAR.....	40
3.1. Mikorizal Fungusların Tohum Çimlenmesine Etkisi.....	40
3.2. Kullanılan Fungal İzolatların Morfolojik İncelenmesi	45
3.3. Fide Gelişimi.....	47
4. TARTIŞMA	52
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	56
KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	99

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. <i>Orchis sancta</i> (L.) tohumlarının 3. ayın sonunda fungus içermeyen kontrol grubu, F-Snct1 ve F <i>R. solani</i> AG A izolatu içeren deney grupları arasındaki çimlenme aktivitesinin karşılaştırılması.....	42
Şekil 3.2. <i>Orchis sancta</i> (L.) tohumlarının 3. ayın sonunda fungus içermeyen kontrol grubu ile F <i>R. solani</i> AG A izolatu içeren deney grubu arasındaki çimlenme aktivitesinin karşılaştırılması.....	43
Şekil 3.3. <i>Orchis sancta</i> (L.) tohumlarının 3. ayın sonunda fungus içermeyen kontrol grubu ile F-Snct1 izolatu içeren deney grubu arasındaki çimlenme aktivitesinin karşılaştırılması.....	44
Şekil 3.4. A) F-Snct1 izolatu için ayrılan canlı hif yumaklarını bulduran kök örnekleri B) Kök enine kesitinde incelenen canlı hif yumaklarının binoküler ışık mikroskobu görüntüsü.....	45
Şekil 3.5. F <i>R. solani</i> AG A izolatlarının ışık mikroskobu görüntüsü	46
Şekil 3.6. F-Snct1 izolatının ışık mikroskobu görüntüsü	47
Şekil 3.7. Tam bir <i>Orchis sancta</i> fidesinin genel kısımları.....	48
Şekil 3.8. F-Snct1 izolatu inoküle edilen simbiyotik tüplerde çimlenen <i>Orchis sancta</i> tohumları.....	49
Şekil 3.9. F <i>R. solani</i> AG A izolatu inoküle edilen simbiyotik tüplerde çimlenen <i>Orchis sancta</i> tohumları	50
Şekil 3.10. 3 aylık periyodun sonunda F <i>R. solani</i> AG A izolatlı simbiyotik kültür ortamından toprağa aktarılan <i>Orchis sancta</i> fideleri	51
Şekil 3.11. 3 aylık periyodun sonunda F-Snct1 izolatlı simbiyotik kültür ortamından toprağa aktarılan <i>Orchis sancta</i> fideleri	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Türkiye karasal orkidelerine ait yumrulu ve rizomlu cinsler.....	3
Çizelge 2.1. Fungus izolasyon ortamı	34
Çizelge 2.2. Patates dekstroz agar ortamı	35
Çizelge 2.3. Modifiye simbiyotik yulaf ortamı	35
Çizelge 2.4. Çimlenme aşamaları.....	38
Çizelge 3.1. <i>Orchis sancta</i> tohumlarının çimlenme ve fide gelişimi üzerine etkileri.....	40
Çizelge 3.2. Fungus türlerinin çimlenme evreleri üzerine etkisinin ortalamalar yönünden karşılaştırılması.....	41
Çizelge 3.3. 3 ay sonunda oluşan fidelerin kök ve yaprak sayıları ile uzunluklarının farklı izolat türlerine göre karşılaştırılması	48

1. GİRİŞ

Orchidaceae familyası, 25.000'den fazla tür ve beş tanınmış alt familya (Apostasioideae, Cyripedioideae, Epidendroideae, Orchidoideae ve Vanilloideae) ile iki büyük çiçekli bitki familyasından biridir (Luo vd, 2014). Çiçekli bitkiler içerisindeki Orchidaceae familyası epifitik türlerden karasal türlere, herdem yeşil türlerden klorofilsiz türlere kadar çok çeşitli yaşam stratejilerine sahip zengin bir familyadır (McCormick vd, 2004).

Türkiye, karasal orkideler bakımından zengin bir ülke olduğundan dolayı pekçok bilim insanının ilgisini çekmekte ve Orkideler üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Türkiye Karasal Orkideleri üzerine 1976 yılında Ekrem Sezik tarafından "Flora Orientalis", ardından 1984 yılında Renz ve Taubenheim tarafından "Flora of Turkey"de Orchidaceae familyasının bir bölümü ve Ekrem Sezik tarafından "Orkidelerimiz-Türkiye'nin Orkideleri" yayınlanmıştır. 11 ciltten oluşan "Flora of Turkey" 1965-2000 yılları arasında yayınlanmış olup son cildin yayınlanmasından bu yana Türkiye florasına yeni türler eklenmiştir (Petrou vd, 2016).

Orkide habitatlarının tahrip edilmesi ve aşırı sömürülmesi yabani orkide türlerini tehdit etmektedir (Luo vd, 2014). Biyolojik çeşitliliği koruma mevzuatları kapsamında ülkeler nesilleri tehdit altındaki türleri listelemekte ve orkide türleri bu listeler kapsamına alınmaktadır (Backhouse ve Cameron 2005). Orchidaceae familyasında risk gruplarına göre tehdit altında, kritik tehlike altında, tehlike altında ve savunmasız türler bulunmaktadır (sensu IUCN, 2001). Salep ithalatı yapan büyük şirketlerin CITES yetkilileri tarafından satış izni alması gerekmektedir (Kasperek ve Grimm, 1999).

Karasal orkide türlerinin çiçekli bitkileri biri ergin diğeri yavru olmak üzere iki yumruya sahip olup ergin yumru Türkiye'de salep üretimi amacıyla toplanmaktadır (Sezik ve Özer, 1983; Sezik ve Baykal, 1988). Orkide yumruları % 50 oranında bitkisel musilaj, % 24 oranında nişasta, % 10 oranında protein ve % 1 oranında şeker içermekte olup musilaj yeni yumru üretimi için gerekli olan yedek besin görevi görmektedir (Kasperek ve Grimm, 1999).

Bitki doku kültürü teknikleri, araştırma ve geliştirmede çok çeşitli temel ve uygulamalı problemlerin izlenmesi için hayati önem kazanmıştır (Miller ve Murashige, 1976). 100 yıldan uzun süreden beri bilinmekte olan bitki doku kültürü yöntemleri bitki doku ve hücrelerinden izole edilen kısımların kullanılmasıyla gerçekleştirilmekte olup farklı çeşitleri bulunmaktadır (Guimarães vd, 2013). Orkidelerin *in vitro* doku kültürü çalışmaları 1922’de başlamıştır (Hürkan vd, 2018). Orkidelerde simbiyotik ve asimbiyotik tohum çimlendirme yöntemleri doğada çimlenme şansı bulamayan tohumlardan eşeyli üretim amacıyla uygulanmaktadır (Idowu vd, 2009). Simbiyotik tohum çimlendirme yöntemleri *in vitro* doku kültürü ile üretimde en etkili araç olarak uygulanmaktadır (Zettler, 1997a; Zettler, 1997b; Clements vd, 1986; Dixon, 1987).

Tohum devamlılığı, bitkilerin varlığı ve bolluğu dolayısıyla bitki örtüsü üzerinde etkili olan önemli bir husustur (Long vd, 2014). Restore edilen habitatlarda orkidelerin uzun süre hayatta kalabilmesi, tohum çimlenmesi, fide oluşumu ve bitki besin desteği uygun fungal mikobiyotlar ile mikorizal birlik kurulmasını gerektirmektedir (Zettler, 1997a).

Bitkiden fungusa Karbon kaynakları ve fungustan bitkiye topraktaki su ve minerallerin alınmasını sağlayan bitkiler ile funguslar arasındaki karşılıklı yarara dayalı olan simbiyotik birlikteliğe “Mikoriza” denmektedir (Taylor ve Bruns, 1997; López – Chávez vd, 2016). Orchidaceae familyası genellikle *Rhizoctonia* cinsi Basidiomycetous fungusları ile mikoriza kurmaktadır (Taylor ve Bruns, 1997). Orkideler protokorm evresinden fide oluşumuna kadar mikoheterotrofik olup pek çok türde mikoheterotrofluk yaşam boyu devam etmektedir (Rasmussen, 2002). Mikoheterotrofik orkideler tohum çimlenmesi, protokorm ve fide gelişimini teşvik eden endofitik mikorizal fungusları karbon kaynağı olarak tüketmektedir (Arditti, 1966; Clements, 1988; Rasmussen, 1995). Karasal orkideler epifitik orkidelere göre çimlenebilmek için mikorizal funguslara daha fazla bağımlı olmaları karasal orkidelerin *in vitro* olarak çimlenmesini zorlaştırmaktadır (Warcup, 1971; Warcup ve Talbot, 1971; Warcup, 1973; Stoutamire, 1974).

Orkide tohumları embriyolarının indirgenmesi ve endospermilerinin olmamasıyla rüzgârla tozlaşmaya adapte olmuştur (Johri vd, 1992; Leroux vd, 1997; Werker, 1997).

Çimlenebilmek için toprak, nem, ışık, sıcaklık ve mikorizal funguslar gibi birçok faktöre bağımlı olan Akdeniz bölgesindeki karasal orkide tohumlarının en iyi çimlenme dönemleri Eylül-Ekim ayları, çimlenen tohumların protokormlarının gelişmeye başlamaları Kasım-Aralık ayları, ilk yaprakların çıkmaya başlaması ise Nisan-Mayıs aylarıdır (Hürkan vd, 2018).

Işık enerjisini CO₂ özümlemede kullanarak karbon kaynağı gereksinimini sağlayan organizmalarda “fotoototrofi”, organik maddeyi hazır olarak tüketenlerde “heterotrofi” ve bunların her ikisini eş zamanlı olarak birleştirebilen organizmalarda “miksotrofi” görülmektedir (Julou vd, 2005). Karasal orkideler bakımından zengin bir ülke olan Türkiye’de rizomlu ve yumrulu orkidelere ait çok sayıda tür bulunmaktadır (Davis, 1984).

Çizelge 1.1. Türkiye karasal orkidelerine ait yumrulu ve rizomlu cinsler

YUMRULU ORKİDE	RİZOMLU ORKİDE
<i>Aceras</i>	<i>Cephalanthera</i>
<i>Anacamptis</i>	<i>Corallorrhiza</i>
<i>Barlia</i>	<i>Epipactis</i>
<i>Coeloglossum</i>	<i>Epipogium</i>
<i>Comperia</i>	<i>Goodyera</i>
<i>Dactylorhiza</i>	<i>Limodorum</i>
<i>Gymnedinea</i>	<i>Listera</i>
<i>Himantoglossum</i>	<i>Neottia</i>
<i>Neotinea</i>	
<i>Ophrys</i>	
<i>Orchis</i>	
<i>Platanthera</i>	
<i>Serapias</i>	
<i>Spiranthes</i>	
<i>Steveniella</i>	
<i>Traunsteinera</i>	

1.1. Orchidaceae Familyasının Genel Özellikleri

Orkideler büyük bir avantaja sahip olan ve dağılışı açısından çeşitlilik gösteren en etkileyici çiçek grubudur (Pant ve Raskoti, 2013; Pant vd, 2017). 25000 tür içeren en büyük bitki familyalarından biri olan, Orchidaceae kendine özgü mikorizal birliğe sahiptir. (Cribb ve Govaerts, 2005). Her yıl yaklaşık 800 tür tanımlanmakta ve familya listesine eklenmektedir (Atwood, 1986).

Bu türler üzerinde araştırmalar devam etmekte ve tür sayısının yaklaşık 30.000'e ulaşacağı tahmin edilmektedir (Nicoletti, 2003).

Tohumlar 0,18-3,85 mm uzunluğunda bir tohum kabuğuyula kaplanmıştır. Tohum kabuğu, 100-200 hücreye sahip farklılaşmamış embriyoyu sarmaktadır (Hadley, 1983). Tohumlar 0,31-2,4 µg ağırlığında 0,25-1,2 mm uzunluğunda 0,09-0,25 mm genişliğindedir (Arditti ve Ghani, 2000).

Tohum kapsülleri 1300-4000000 arasında tohum kapasitesine sahiptir (Arditti, 1967). Tek bir orkide tohum kapsülünde küçük, toz benzeri ve endospermsiz milyonlarca tohum bulunmaktadır (Kalimuthu vd, 2006). Tohumlar şekil olarak filiform (iplik şeklinde), fusiform (iğ şeklinde), klavat (uca doğru genişleyen şekilde) ve elipsoit şekilli olabilir (Molvray ve Kores, 1995). Embriyonun küçük olması ve endospermin yokluğu sayesinde orkide tohumları uzun süre havada kalmayı ve suda yüzmeyi sağlayıcı adaptasyonlara sahiptir (Prutsch vd, 2000). Orkide tohumlarının testası havayla dolu olduğu için embriyo tohumun çok küçük bir hacmini kaplamakta olup bu nedenle tohumlar minyatür balonlar olarak modellenmektedir (Arditti ve Ghani, 1999). Embriyo ve dişi gametofit hücre sayısındaki azalış ovaryumda çok sayıda megasporogenez olayının meydana gelmesine izin vermektedir (Arditti, 1992). Megasporogenez ile aynı zamanda gerçekleşen mikrosporogenez sırasında orkideler büyük polen keselerinde polen üretmektedir (Arditti, 1992). Arditti ve Ghani (1999) ve Arditti ve Ernst (1993) orkide embriyosunun basit olduğunu ve genellikle oval ya da küresel olduğunu belirtmiştir (Utami ve Hariyanto, 2019). Polenler, kütleler halinde stigmaya bırakılarak dölleme meydana gelmekte ve bir tozlaşma olayı binlerce tohum üretilmesini sağlamaktadır (Benzing, 1987).

Ayrıntılı olarak incelenen orkide tohumlarının testaları tohumun suda yüzmesini sağlayan su itici lipit tabakasıyla kaplı ve hava ile dolu olduğu belirlenmiştir (Arditti ve Ghani, 1999). Testa normalde dış integümentlerden meydana gelmektedir, ancak *Paphiopedilum delenatii*'de ise testa hem iç hem de dış integümentlerden meydana gelmektedir (Molvray ve Kores 1995; Lee vd, 2006). Çoğu türde testa genellikle yalnızca bir hücre kalınlığındadır ancak 20 ile 600 hücreden oluşmaktadır (Molvray ve Kores, 1995; Prutsch vd, 2000). Orkide tohumlarının testası çökmüş hücre duvarları nedeniyle havaya direnci artıran yüzeysel oyuklar bulundurmaktadır (Rauh vd, 1975; Barthlott, 1976; Boesewinkel ve Bouman, 1984).

Orchidaceae familyasının morfolojik özellikleri aşağıda sıralanmıştır:

- Tuberli,
- Çok yıllık,
- Otsu,
- Yapraklar almaşık (alternat), iki sıralı, karşılıklı, vertisillat,
- Çiçek durumu raşem (tek salkımlı), başak veya bileşik salkımlı,
- Zigomorf ve aktinimorf simetrlili,
- 2 daireden oluşan periyant (her bir dairede 3 tepal ve iç dairenin orta yaprağı dudak şeklinde),
- Andrekeum 1-2 stamenli,
- Ginekeum 3 bileşik karpelli,
- Ovaryum alt durumlu,
- Tohum taslağı çok sayıdadır.

Orchidaceae familyası kosmopolit yayılışa sahip (Novoa vd, 2006; Heywood vd, 2007) dünyanın en büyük çiçekli bitki familyalarından biridir (Dressler, 1993; Jones, 1995; Heywood vd, 2007; Reina-Rodriguez vd, 2010). En büyük orkide çeşitliliği Neotropik bölgede bulunmaktadır (Pridgeon ve Chase, 1995). Orkideler, tropik ve subtropik bölgelerde farklı yaşam formları ile yayılış göstermektedir (Cribb vd, 2003). Türkiye’de ülkenin kuzey, güney, kuzeydoğu ve doğu bölgelerinde oldukça yaygın olarak orkide bulunmaktadır. *Chlorea cuneata lindl.* Şili menşeli endemik ve kritik tehlike altındaki orkide türleridir (Novoa vd, 2006; Elortegui ve Novoa, 2009; Moreira, 2011). Bu tür dünyada sadece Şili’de Arakan bölgesinde nadir olarak bulunan karasal ve parazit olmayan bir orkidedir (Correa, 1969; Elortegui ve Novoa, 2009).

Pekçok karasal orkide, tohumlarında besin kaynağı olmaması sebebiyle karasal orkide türleri tohumlarının çimlenmesi ve fide gelişimi için fungal partnerlere bağımlıdır (Pereira vd, 2005a; Murguia ve Lee, 2007; Smith ve Read, 2008; Steinfort vd, 2010; Valadares vd, 2012).

Orkidelerde simbiyotik mikorizal çimlenmenin avantajlarından bazıları şu şekildedir:

- Mikorizal ilişki topraktaki su ve minerallerin alımını artırmakta ve çevresel strese karşı direç kazandırmaktadır (Rasmussen, 1995).
- Asimbiyotik çimlenmeye oranla simbiyotik çimlenmeden sonra gelişen protokormların büyüme ve gelişmeleri daha fazla olmaktadır (Hadley, 1983; Smreciu ve Currah, 1989; Anderson, 1991; Wang, 1995).
- Genç fidelerin köklerindeki mikorizal fungus varlığı patojenlere karşı koruma sağlamaktadır (Clements, 1985).
- Başarılı bir simbiyotik ilişki çimlenme ve fide gelişimini artırmaktadır (Hadley ve Williamson, 1971).

Orkidelerin bir kısmı toprakta yaşamakta bir kısmı da ağaçların gövdesinde epifit olarak yaşamaktadır (Pickering ve Hill, 2007; Ballantyne ve Pickering, 2013; Rankin vd, 2015). Orkideler tarihsel olarak karasal (toprakta yaşayan), epifitik (bitki yüzeyinde yaşayan) ve litofitik (kaya üzerinde yaşayan) türler olarak 3 temel tipe ayrılmıştır (Dressler, 1993). Epifitik orkideler orkide tür çeşitliliğinin önemli bir kısmını oluşturmakta olup dünya çapındaki damarlı epifitlerin % 69'u orkidelerdir (Zotz ve Winkler, 2013; Perez-Escobar vd, 2017). Karasal orkidelerin çoğu bahçecilik açısından önemli olmakla beraber çimlenme ve gelişme için simbiyotik (mikorizal) funguslara daha fazla bağımlı olmalarından dolayı epifitik türlere göre çoğaltılması daha zordur (Dixon, 1987). Epifit orkide türleri tropik iklimlerde iri kök sistemleri ile ağaçlara tutunarak yetişmektedirler (Arditti, 1992). Yeşil orkidelerin yetişkin olarak mikorizal olma dereceleri değişebilmektedir. Ekvatordaki epifitik orkidelerde enfekte olmayan köklerde bile farklı derecelerde fungal enfeksiyona rastlanmaktadır (Bermudes ve Benzing, 1989).

Ilıman kuşak veya karasal orkideler olarak bilinen türler ise genellikle yoğun organik madde ve humus barındıran topraklarda yetişmektedirler. Karasal orkidelerin kök yapısı epifit orkidelere benzemekle beraber bazı türleri salep yapımında kullanılan ve vejetatif büyümeyi sağlayan yumrulara sahiptirler. Karasal orkideler mevcut iklim değişikliğine bağlı olarak nesli tükenme tehlikesi altında olan bir yaşam formu sınıfını temsil etmektedir (Swartz ve Dixon, 2009).

Karbon, bitki büyüme ve gelişmesini sağlayan önemli bir besin elementidir (Yaseen vd, 2013). Yakın zamanda Gebauer ve Meyer (2003), Selosse vd (2004), Zimmer vd (2007), Merckx vd (2009) ve Selosse ve Roy (2009) tarafından orkideler karbon kullanımlarına göre tam ototrof, tam mikoheterotrof, yarı miksotrof olmak üzere 3 fizyolojik tipe ayrılmıştır:

i) Karbon kaynaklarını fotosentezle üreten klorofilli olan tamamen ototrofik türler (taksonların çoğunluğu) klorofilli olan ve yetişkinler gibi karbonlu bileşiklerini fotosentetik yollarla elde edenlerdir.

ii) Klorofilli orkide türleri fide aşamasından sonra ototroftir. Tam ototrof orkideler *Basidiomycota* funguslarını oluşturan *Rhizoctonia* fungusları ile bağlantılıdır (Bernard, 1909). Yaşam döngüleri boyunca karbon ihtiyacını funguslardan karşılayan mikoheterotrofik (MH) türler (Dünya çapında yaklaşık 200 tür; Leake, 1994; Leake, 2004). Tam Mikoheterotrofi Orchidaceae familyası içinde yaklaşık 20 kat gelişmiştir (Molvray vd, 2000). Damarlı bitkiler içerisinde tam mikoheterotrofik olanların yaklaşık % 50'si orkidelerdir (Leake, 1994). Tam Mikoheterotrofi Orchidaceae familyası içinde yaklaşık 20 kat daha fazla gelişmiştir (Molvray vd, 2000). Klorofil içermeyen saprofitik (mikoheterotrofik) orkidelerde, konağın hem enerji hem de besin gereksinimlerini sağlayan tamamen sömürücü mikorizal ilişkiler vardır (Leake, 1994). Mikoheterotrofik orkideler genellikle indirgenmiş köklere sahiptir (Leake, 1994). Mikoheterotrofik (MH) bitki adı verilen bazı tamamen heterotrofik bitkiler, mikorizal fungusları özel bir C kaynağı olarak kullanmaktadır (Leake, 2004; Hynson vd, 2013). Orkide tohumları çimlenme ve gelişme için gerekli endosperm dokusuna sahip olmadığı için pek çok orkide karbon alımı için mikroorganizmalara bağımlıdır (Gennaro vd, 2003; Zimmer vd, 2007). Orkideler ve mikorizal funguslar arasındaki özgülük diğer bitki gruplarına göre daha fazladır (Shefferson vd, 2007).

Juvenil gelişim evresi süresince orkide türleri arasında zorunlu mikoheterotrofluk görülmektedir (Bernard, 1899; Rasmussen, 1995). Orkidelerin yeşil yaprakları fotosentezle besin üretmeye başladıktan sonra ne kadar süre daha fungal partnerlerinden karbonhidrat karşıladıkları konusu araştırılmaktadır (Harley ve Smith, 1983).

Mikoheterotrof erken fide gelişim evresinde karbon ve besin ihtiyacını fungal partnerlerinden karşılayan orkideler daha sonraki gelişim evrelerinde yeşil yapraklarıyla fotosentez yaparak ototrofik hale geçerler (Smith ve Read, 2008). Bazı karasal orkideler yıllarca toprak altında kaldığı için karbon kaynaklarını funguslardan karşılamak zorundadır (Summerhayes, 1951; Wells, 1967). Alexander ve Hadley (1985) *Goodyera repens*'in karbon bağımlı yeşil bir bitki olduğunu belirtmiştir. Orkide fideleri fide aşamasındayken karbonhidrat ve diğer organik maddeleri endofit funguslardan karşıladıklarından dolayı heterotroftur (Andersen ve Rasmussen, 1996). Klorofilli orkideler gelişme dönemlerinde, fotosentetik safhaya kadar mikorizal funguslara bağımlıdırlar (Alexander ve Hadley, 1985). Klorofilsiz orkideler büyüme ve besin gereksinimlerini karşılamak için tamamen endofit partnerlere bağımlıdır (Smith ve Read, 1996). Bitkilerin beslenme amacıyla funguslarla simbiyotik olarak yaşamasına mikoheterotrofi denir (Selosse vd, 2009). Fotosentez yapamadıkları için yaşamları boyunca uygun mikorizal funguslara bağımlı kalan klorofilsiz orkidelere “tam mikoheterotrof orkideler” denmektedir (Waterman ve Bidartondo, 2008). Bu yüksek bağımlılık nedeniyle, tam mikoheterotrofların, kısmi mikoheterotroflara oranla funguslarla etkileşimlerinde, daha fazla spesiflik sergiledikleri ileri sürülmüştür (Waterman ve Bidartondo, 2008).

Zorunlu mikoheterotrofik orkideler ağaçların kökleriyle ektomikoriza oluşturan funguslara yüksek derecede özgülüğe sahiptir (Taylor ve Bruns, 1997; McKendrick vd, 2002; Selosse vd, 2002; Taylor vd, 2003). *Epipogium aphyllum* klorofilsiz, mikoheterotrofik bir Avrasya orman orkidesidir (Roy vd, 2009; Yamato vd, 2005). *Achlorophyllous epipogium* (mikoheterotrofik bir orkide) rizomu bitkiye C sağlayan kelepçe ve dolipor (Basidiomycetes'te şişkin kenarlı delik) oluşturan endofit *Inocybe* türleri ile kolonize olmuş bir orkidedir (Rasmussen, 1995; Scrugli vd, 1995). Orkide-Fungus etkileşimi diğer bitki-fungus etkileşimlerine göre daha fazla mikoheterotrofik özgülük sergilemektedir (Brundrett, 2004). Orkide mikorizal etkileşimleri endofit türlerinin yayılış alanlarını sınırlandırmaktadır (Waterman ve Bidartondo, 2008). Orkideler, tüm vejetatif kıtalarda doğal olarak bulunmakla beraber (Dressler, 1981), bilinen tüm türlerin yaklaşık dörtte üçü (% 73).

Tropik bölgelerde epifit olarak bulunmaktadır (Atwood, 1986). Epifit orkideler, ağaçlarla beraber yaşarken ağaçlar çimlenme için uygun bir ortam sunmaktadır (Zettler vd, 2013).

Odunsu bitkiler ayrıca organik karbonu, orkide mikobiyontlarına çeşitli şekillerde ya köklerinden ektomikorizal (ECM) olarak ya da saprofit mikobiyontların kullanılabileceği odunsu organik atık olarak sağlamaktadır (Rasmussen vd, 2015). Orkide türlerinin çoğunluğu serbest yaşayan saprofitik funguslarla simbiyoz oluşturmaktadır (Rasmussen, 2002).

Orkideler ile ilişkili *Rhizoctonia* fungusları, bitki döküntülerinin parçalanmasını sağlayan bir dizi karbonhidrat parçalayıcı ve diğer enzim çeşitlerini üretmektedir (Rasmussen, 1995). Mikobiyontlar çimlenme sonrası besin alımında ve glikoz ve enzim üretimi yoluyla tohum çimlenmesinin uyarılmasında önemli bir araçtır (Manning ve Van Staden, 1987).

Rhizoctonia benzeri fungusların belirgin özellikleri şunlardır:

- Dallanma noktasında başlangıç noktasına yakın bir septum (Sneh vd, 1991)
- Septumda hif daralması (Sneh vd, 1991),
- Hiflerin dik açıyla dallanması (Sneh vd, 1991),
- Moniloid hücrelerin varlığı (Garcia vd, 2006; Pereira vd, 2014),
- β -1,3 glukoz (laminarin) ve kitin yapılı hücre duvarı (Chet vd, 1967; Bartnicki-Garcia, 1973).

Morfolojik incelemeler ve moleküler analizlere göre Orchidaceae familyası genellikle *Basidiomycota* (Currah vd, 1997; Taylor ve Bruns, 1997; Roberts, 1999; Rasmussen, 2002; Shefferson vd, 2007) ve *Ascomycota* (Bidartondo vd, 2004; Selosse vd, 2004; Ogura-Tsujita ve Yukawa, 2008; Shefferson vd, 2008) ile mikorizal ilişki kurmaktadır.

Orkide bitkileri protokorm evresinde karbon bileşiklerinin alınmasında simbiyotik funguslarla mutualist simbiyoz oluşturarak su ve mineral ihtiyacını fungal partnerlerinden karşılarken fungal partnerlerine de C kaynağı sağlamaktadır (Smith ve Read, 2008). Organik karbon kaynağı simbiyontlar arasındaki simbiyotik dengeyi etkileyebilmektedir (Hadley, 1969). Yetiştirilmesi zor ve nesli tükenmekte olan orkide türlerinden biri, Avrupa ve Kuzey Amerika'nın soğuk, çoğunlukla subarktik ve alpin koşullarında yetişen nispeten küçük, yumrulu bir bitki olan *Pseudorchis albida*'dır (Jersáková vd, 2011).

Mikorizal oluşumlar besin alımında emilim yüzeyini artırarak ve toprağın derinliklerine kadar kök sistemlerinin ulaştırılmasını sağlayarak bitkilere karbon, fosfor ve azot gibi minerallerin alınmasında yardımcı olmaktadır (Kauth vd, 2008). *Neottia nidus-avis*, *Epipactis helleborine*, *Serapias parviflora* ve *Pseudorchis albida* bitkilerinde fungustan konukçu bitkiye karbon ve azot transferi araştırıldığında *S. parviflora* ve *P. albida* bitkileri ile saprofit *Rhizoctonia* fungusları arasında, *E. helleborine* ve *N. nidus-avis* bitkileri ile ektomikorizal funguslar arasında özel mikorizal oluşumlar bulunduğu belirlenmiştir (Treseder vd, 1995).

Alexander ve Hadley (1985) çalışmalarında karbonun funguslardan konak bitkiye aktarılma hareketini izlemişler ve enfekte olan protokormun radyoaktif işaretli karbonu dış miselyumdan elde ettiğini göstermişlerdir.

Gebauer ve Meyer (2003) fungal oluşumlar aracılığıyla ototrofik *Cephalanthera damasonium* (Scacchi vd, 1991) tarafından karbon ve azot alımını göstermiştir. Fosfor, büyümenin ilk aşamalarından itibaren optimum mahsül üretimi, enerji metabolizması, solunum ve fotosentez için bitkilerin ihtiyaç duyduğu ve biyomolekül nükleik asitlerde bulunan önemli bir besin elementidir (Ozanne, 1980; Usada ve Shimogawara, 1993). Fosfor, toprakta inorganik (ortofosfat ve polifosfat), organik (organik olarak bağlı fosfat) ve fitat olmak üzere 3 formda bulunmaktadır (Schachtman vd, 1998).

Bitkiler fosforu topraktan,

- kendi taşıyıcı sistemleri aracılığıyla,
- mikorizal oluşumlar aracılığıyla olmak üzere 2 farklı şekilde karşılamaktadır (Li vd, 2013).

Fosfor, bütün besin elementlerinde olduğu gibi emilim yüzeyini artıran ve bitkiyi çevreleyen besin tüketim alanlarının ötesine kadar uzanan funguslarla kolonize edilen köklerde daha iyi emilmektedir (Hartnett ve Wilson, 2002). *Piriformospora indica* (*Hymenomyces*, *Basidiomycota*) fosfat emmesiyle iyi tanınan bir endofittir (Malla vd, 2004). *P. indica*, inorganik fosfatı organik fosfata dönüştüren asidik ve alkali fosfatlara sahip oluşuyla bitkilere çözülmüş fosfor sağlamaktadır (Shahollari vd, 2005).

Bitkiler fotosentez yetenekleriyle iyi bilinmesine rağmen pek çok tür fotosentez yeteneğini kaybetmiştir veya fotosentez yapabilmek için zayıf bir yetenek geliştirmiştir (Krause, 2008).

Yaprak sayısındaki azalışa bağlı olarak düşük miktarda klorofil içeriği ve klorofil yokluğu (Leake, 1994) nedeniyle fotosentezle karbon kaynaklarının üretiminde zorluk yaşanması sonucunda fotosentez yeteneği kaybolarak mikoheterotrofluk ortaya çıkmıştır (Rasmussen, 1995).

Mikoheterotrof bitkiler C ve N kaynağı için mikobiyontlara zorunlu bağımlı olan klorofilsiz bitkilerdir (Merckx, 2013). Albinizm, mikoheterotrof bitkilerin tanımlanmasında yararlı olabilmektedir (Selosse vd, 2009). Birkaç karasal orkide (Örneğin *Neottia*, *Corallorhiza*, *Rhizanthella*) ve en büyük orkide sarmaşıkları (Örneğin; *Galeola*, *Gastrodia*) klorofilsizdir.

Ektomikorizal ağaçlar, ekstraradikal hifleri aracılığıyla inorganik P'yi topraktan emen Basidiomycetes funguslarından yararlanmakta ve ektomikorizal funguslara fotosentetik ürünlerinin % 20'sini sağlamaktadır (Plassard ve Dell, 2010). Fotosentetik olmadığı için mikoheterotrof bitkiler genellikle gölgeli orman zeminlerinde yaşamaktadır (Gebauer ve Meyer, 2003; Bidartondo vd, 2004; Selosse vd, 2004).

Doğada orkideler tohum çimlenmesini hızlandırmak için enerji kaynağı olarak mikorizal funguslara bağımlıdır (Yam ve Arditti, 2009). Orkidelerin çoğunda fide ve olgun bitki evresindeki köklerde ve çimlenen tohumların embriyonik hücrelerinde fungal birliklikler meydana gelmektedir (Peterson vd, 1998). Tohum çimlenmesi ve fide gelişimini sağlayan Sebaciales ve Cantharellales'te Basidiomycete fungusları ile orkidelerle özellikle karasal orkidelerle bağlantılıdır (Warcup, 1971; McKendrick vd, 2002; Selosse vd, 2002; Taylor vd, 2003; Urban vd, 2003; Selosse vd, 2004; Julou vd, 2005).

Orkideler, protokorm ve fide gelişimi ve tohum çimlenmesini uyaran endofitik mikorizal fungusları parazitik bir ilişki içinde karbon kaynağı olarak tüketmektedir (Clements, 1988; Rasmussen, 1995; Arditti, 1996). Bu nedenle restore edilen habitatlardaki uzun yaşamlı orkideler bitki beslenme desteği ve fide güçlendirme amacıyla fungal mikobiyontuna gerek duymaktadır (Zettler, 1997a).

Bu olayları hızlandırmanın en etkili yolu ise simbiyotik tohum çimlendirmenin kullanılmasıdır (Zettler, 1997a; Zettler, 1997b; Clements vd, 1986; Dixon, 1987).

Orkideler ve mikorizal funguslar arasındaki özgüllük diğer bitki gruplarına göre daha fazladır (Shefferson vd, 2007).

Orkide türlerinin çoğunluğu serbest yaşayan saprofitik funguslarla simbiyoz oluşturmaktadır (Rasmussen, 2002). Orkideler ile ilişkili *Rhizoctonia* fungusları, bitki döküntülerinin parçalanmasını sağlayan bir dizi karbonhidrat parçalayıcı ve diğer enzim çeşitlerini üretmektedir (Rasmussen, 1995). Mikobiyontlar çimlenme sonrası besin alımında ve glikoz ve enzim üretimi yoluyla tohum çimlenmesinin uyarılmasında önemli bir araçtır (Manning ve Van Staden, 1987).

Morfolojik incelemeler ve moleküler analizlere göre Orchidaceae familyası genellikle *Basidiomycota* (Currah vd, 1997; Taylor ve Bruns, 1997; Roberts, 1999; Rasmussen, 2002; Shefferson vd, 2007) ve *Ascomycota* (Bidartondo vd, 2004; Selosse vd, 2004; Ogura-Tsujita ve Yukawa, 2008; Shefferson vd, 2008) ile mikorizal ilişki kurmaktadır. Orchidaceae familyası ile Glomeromycota arasındaki mikoriza çeşiti olan Veziküler Arbuskular Mikoriza (VAM) içeren bitkiler her yerde bulunmakta iken ektomikoriza (ECM) içeren bitkiler özellikle birkaç bitki familyasında bulunmaktadır (Brundrett ve Abbott, 1991; Brundrett ve Cairney, 2002).

iii) Miksotrofi (Kısmi Mikoheterotrofi): Hem kendi yaptığı fotosentez yoluyla hem de fungal simbiyontları aracılığıyla C kaynağı elde eden yeşil orkide türleri kısmi mikoheterotrof (Miksotrof) olarak adlandırılmaktadır (Gebauer ve Meyer, 2003; Merckx, 2013). Miksotrofi, pek çok orkide soyunda yaygın olarak bulunmaktadır (Gebauer ve Meyer, 2003; Bidartondo vd, 2005). Miksotrofik bitkiler karbon kaynaklarını fotosentez yoluyla ve mikorizal funguslardan hazır olarak karşılamaktadır (Bellino vd, 2014).

Olgun evrede karbon kullanımına bakılmaksızın tüm orkideler küçük ve endospermsiz tohumlu, çimlenmek için fungus birlikteliğine bağımlı, toprak altında heterotrofik büyüme ve protokorm adı verilen klorofilsiz evre gibi özelliklere sahiptir (Rasmussen, 1995; Smith ve Read, 2008).

Embriyo, orkide yaşam döngüsünün klorofilsiz ve heterotrof evresi olan protokormu oluşturmaktadır (Burgeff, 1959; Warcup, 1975; Arditti vd, 1990). Protokorm adı verilen kök ve sürgünden farklılaşan, geçici bir tüberkül çıkışıyla orkide embriyolarının çimlenmesi başlamaktadır (Cribb vd, 1999). Likopod gelişimindeki bir aşamayı tanımlamak üzere Treub tarafından “protokorm” terimi keşfedilmiştir (Arditti ve Krikorian, 1996).

Protokorm terimi orkide tohum çimlenmesinin soğan benzeri aşamasını (corm-like stage) tanımlamak üzere ilk defa Bernard tarafından kullanılmıştır (Arditti ve Krikorian, 1996).

Orkidelerin genelinde mikorizal kökler bulunmakta fakat bazı türlerde mikorizal enfeksiyon az veya hiç olmamaktadır (Salmia, 1989). Klorofilsiz orkidelerin endotrofik fungusları başka bir ototrof bitki ile parazit veya mutualist olarak birlikte yaşayabilmektedir. Fungus, heterotof orkide ve ototrof orkide arasındaki üçlü simbiyozda heterotrof orkidelerden ototrof orkidelere karbonun fungus yoluyla izlediği bir yol bulunmaktadır (Preiss ve Gebauer, 2008; Martos vd, 2009).

Campbell (1962, 1963, 1964, 1970) yeşil olmayan orkide cinsleri olan *Gastrodia* ve *Corallorhiza* cinslerine ait 3 tür için düzenlemeler tanımlamıştır. Örneğin; *Gastrodia cunninghamii* orkide türü *Armillaria mellea* orman ağaçlarının köklerindeki epiparazitik bir fungustur (Campbell, 1962).

Çoğalma kapasiteleri son derece sınırlı olan ve endosperm taşımayan orkide tohumlarının çimlenebilmesi için uygun sıcaklık, ışık, nem ve oksijenin yanısıra, ortamda uygun bir mikorizal fungus ile simbiyotik bir ilişki oluşturabilmesi gerekmektedir (Warcup, 1981a; Ramsay vd, 1986; Arditti vd, 1990). Olgun evrede karbon kullanımına bakılmaksızın tüm orkideler küçük ve endospermsiz tohumlu olup çimlenmek için fungus birlikteliğine bağımlıdır (Rasmussen, 1995).

Orkide embriyolarında bulunan sakkaroz, fruktoz, maltoz ve glikoz formundaki şekerler çimlenmeden önce tüketildiği için çimlenme sırasında bu şekerler yetersiz kalmaktadır (Manning ve Van Staden, 1987).

Orkide tohumları besin rezervleri içermemelerinden dolayı, dışarıdan bir karbonhidrat kaynağı sağlanmadıkça başarılı bir çimlenme gerçekleştirilememekte (Johnson vd, 2011; Ponert vd, 2011) ve protokorm gelişimi için kilit faktörlerden biridir (Liu vd, 2006; Ponert, 2009; Johnson vd, 2011).

Orkideler çok küçük tohumlara sahiptir ve tohum ile fide arasında protokorm adı verilen bir aşama vardır (Arditti, 1992). Funguslar embriyo suspensor dokuları veya epidermal tüylere doğru yerleşmekte ve kortikal hücrelere girmektedir (Andersen ve Rasmussen, 1996). Orkide tohumları çoğunlukla lipit ve protein olmak üzere az miktarda besin kaynağı içeren embriyolara sahiptir (Arditti, 1992).

Bununla birlikte birkaç orkide türünde şeker ve nişasta depoları da olduğu kanıtlanmıştır (Manning ve Van Staden , 1987; Yeung ve Law, 1992). Sonuç olarak orkide tohumları çimlenebilmek ve fide gelişimi için doğal şartlar altında karbon, su ve besin elementlerini sağlamak amacıyla endofitik mikorizal funguslara ihtiyaç duymaktadır (Arditti ve Ghani, 2000; Rasmussen ve Rasmussen, 2009). Embriyoya penetrasyonun ardından mikobiyotlar embriyoya su, karbonhidrat, mineral ve vitaminlerin alınmasını sağlamaktadır (Rasmussen, 1992; Yoder vd, 2000).

Asimbiyotik tohum çimlenme teknikleri ve *in vitro* hızlı fide çoğaltımı *Dendrobium friedericksianum* Rchb.f. (Orchidaceae)'a uygulanmış ve fideler asimbiyotik kültürde iyi yetişmesine rağmen doğaya taşınanlar nadiren hayatta kalmıştır (Prasertsivivatna ve Koolpluksee, 2011).

Orchidaceae familyası bitkileri doğal yaşam habitatlarında tehdit altında kalan korumasız bitkilerdir (Zhang vd, 2015). Nadir orkide türleri yoğun yangınlar, su taşkınları ve şiddetli iklimsel değişiklikler gibi doğal afetler nedeniyle doğal olarak nesli tükenmeye eğilimlidir (Dixon ve Barrett, 2002).

Orkidelerin önemli dekoratif ve tıbbi değerleri sebebiyle aşırı toplanması dışında belirli funguslara olan bağımlılıkları da yok olma tehdidi için bir faktördür (Phillips vd, 2014). Orkide polinatörleri az olduğundan orkideler dar bir yayılışa sahiptir ve nesli tükenme tehlikesiyle karşı karşıyadır (Phillips vd, 2011a). Güneybatı Avustralya'daki nadir orkideler üzerinde yapılan çalışmalarda, dar bir mikorizal fungus grubundaki yüksek özgüllüğün, fungusun çevrede yaygın olması halinde, nadirliğe yol açmadığı ileri sürülmektedir (Smith vd, 2010; Phillips vd, 2011b).

Mikorizal özgülüğü ve çevresel koşulların çeşitliliği orkide populasyonunu etkilemektedir (Swarts vd, 2010). Orkide koruma çalışmalarının başarısı ile doğal habitatlarının restorasyonu ve toprak mikrobiyotası artırılabilir (Smith vd, 2004; Kardol ve Wardle, 2010).

Polen tanelerinin polinyum içerisinde bir arada taşınımı oldukça fazla sayıdaki tohum taslaklarının birçoğunun döllenmesini garanti altına almak için açık bir uyumdur. Bazı türler tozlaşma için olağanüstü uyuma sahiptir. Polinyumlar veya yapışkan saplar (ya anterden ya da stigmadan köken alan) bir arada “pollinarium” olarak adlandırılmaktadır; bu yapı tozlaşma esnasında taşınma birimidir, anter konnektifi genellikle tozlaşmanın başında anteri kaplayan “operkulum”a (anter başlığı) dönüşmektedir.

Polen birçok familya üyelerinde tetrad birimlerinden ibarettir, fakat çeşitli gruplarda massula veya tek (monad) olabilmektedir (Henneresse vd, 2016). Ginekeum sinkarp, ovaryum alt durumlu, 3 karpelli ve 1-3 gözlüdür. Stilus tek ve terminal ve ginostemiumun ana bileşenidir “rostrellum” olarak adlandırılan ve stigmanın parçası olarak yorumlanan tek, genişlemiş bir lop stigma bölgesinin üzerinde yer alır. Rostellum tipik olarak ucu rostellum yüzeyinden yapışkan bir maddeye dönüşen (bu yapışkan madde “viscidium” olarak adlandırılır) pollinarium sapına bağlıdır. Plasentasyon pariyetal veya eksensel; tohum taslakları anatrop, genellikle bitegmik, karpel başına çok fazla sayıdadır (bazen bir milyon tane). Etkili tozlaşma için kütlelerdeki iplikler viskon tarafından polen tanelerinin erken gelişimi ve olgunlaşması, ovullerin tozlaşma sonrası gelişimi ve olgunlaşması, plamenta uzunluğu boyunca etkili döllenme için mikro ve mega gametogenezlerin eş zamanlaması, olgunlaşmış kapsüllerdeki olgunlaşmamış embriyonun doğaya salınımı önemli ve az bilinen bir özelliktir (Pijl ve Dodson, 1969).

Orkideler vanilya gibi özelleşmiş sekonder metabolitler, bilateral simetrik çiçekler, birleşik üreme organları ve özel tozlaşma sorunları gibi diğer evrimsel yeniliklere sahiptir (Joel vd, 2003; Moreira ve Isaias, 2008; Cai vd, 2015). Orkidelerde farklı tozlaşma sorunları bulunmaktadır (Pijl ve Dodson, 1966; van der Cingel, 2001; Jersáková vd, 2006). Charles Darwin, tozlaştırıcılarla orkideler arasındaki ilişkilerin adaptasyonu üzerine yazdığı “Türlerin Orjini” kitabından beri Orkideler evrim konularının bir parçası olmuştur (Darwin, 1862). Orkide taksonomisi her zaman dinamiktir.

Orchidaceae familyası büyük yapısal ve işlevsel çeşitliliği ve diğer organizmalarla birlikte evrimleşme ve biyolojik etkileşim özelliğinden dolayı bilim adamları ve doğaseverleri diğer bitki gruplarından daha fazla büyülemektedir (Rasmussen vd, 2015). Orkideler karmaşık aldatma stratejilerini kullanarak omurgalılarından omurgasızlara kadar pek çok tozlayıcıyı cezbetmektedir (Tremblay vd, 2005; Jersákova vd, 2006; Waterman ve Bidartondo, 2008). Hayvan polen taşıyıcılarına bağlı tozlaşma sorunları Darwin'den beri araştırılmakta ve biyolojik adaptasyonların merak uyandıran yeni keşiflerine devam edilmektedir (Kindlmann vd, 2005). Cinsel aldatıcı orkideler polenlerini erkek sineklere dişiymiş gibi bulaştırarak tozlaşma sorunlarını çözmektedir (Blanco ve Barboza, 2005).

Orkideler Liliales takımının bir parçası olarak çeşitli şekillerde sınıflandırılmıştır ve son zamanlarda Asparagales takımına yerleştirilmiştir (Lindley, 1826; Dressler, 1981; Pires vd, 2006).

Orchidaceae yakın zamanda beş alt familya içerisinde sınıflandırılmıştır. Bunlar, Apostasioideae (2-3 stamenli, aksillar plasentasyon, pollinyum yoktur), Vanilloideae (1 stamen, pariyetal plasentasyon), Cypridioideae (2 stamenli, pariyetal plasentasyon, polinyum yoktur) ve Orchidoideae ve Epidendroideae'dir (1 stamenli, pariyetal plasentasyon, polinyum var.) (Taiz ve Zeiger, 2015). Epidendroideae Cameron vd (2004, 2006) tarafından parafiletik "Düşük Epidendroid" ve monofiletik "Yüksek Epidendroid" olarak ikiye bölünmüştür. Vanilloideae'nin tek stamenli oluşu Cameron vd (2006) tarafından Orchidoideae-Epidendroideae'de bağımsız olarak evrimleştiği varsayılmıştır (Taiz ve Zeiger, 2015). Familya üyeleri dünyanın her tarafına yayılmıştır (Dressler, 2005). Ekonomik öneme sahip olanlar arasında büyük oranda bahçecilik işinde parasal olarak oldukça değerli olan kültüre alınan süs bitkileri gelmektedir (Taiz ve Zeiger, 2015). *Vanilla planifolia*'nın fermente edilen kapsülleri vanilya tatlandırıcısının kaynağıdır (Gallage, 2014). *Angraecum sesquipedale* Thouars 45 cm uzunluğa ulaşan uzun mahmuzu ile bilinmekte olup bu orkideler spurunun uzunluğu boyutundaki hortuma (proboscise) sahip güveler tarafından tozlaştırılmaktadır (Wasserthal, 1997). Bu gerçek Charles Darwin tarafından bu güvenin keşfinden önce tahmin edilmiştir (Taiz ve Zeiger, 2015).

Dizileme teknolojisinin ortaya çıkması sonucunda filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde İnternal Transcribed Spacer (ITS) gibi moleküler veriler kullanılmaktadır. Cox vd (1997) ITS dizileme yöntemini kullanarak *Selenipedium*, *Cypripedium* ve *Paphiopedilum* cinslerinin *Phagmipedium* ve *Mexipedium*'dan oluşan bir soy hattının ardışık kardeş soylarından ayrıldığını bulmuştur. Li vd (2011) *Selenipedium*+*Cypripedium* hattı arasındaki alt ailedeki erken ayrılmayı ITS ve plastit genomundaki kodlanmayan 5 bölge birleştirme ile bulmuştur.

Orkideler çoğunlukla nemli ve gölgeli yerlerde bazıları ise litofit, saprofit ve karasal olarak bulunmaktadır (Black, 1973).

Türkiye'de karasal orkidelerdeki yeraltı yumruları bir toz haline getirilir ve sıcak içecek yapımında veya Türk Maraş dondurmasında kullanılır (Kaya ve Tekin, 2001; Dalar ve Konczak, 2012; Dalar ve Konczak, 2013). Dondurma, yoğurt, içecek karışımlarında kullanımı dışında tıbbi-aromatik ve kozmetik alanında kullanımı da mevcuttur.

Salep Eylem Planı (2014) ve (2018) bildirimlerine göre, gıda ve eczacılık alanlarında kullanımı salebin önemini artıran önemli kullanım alanlarıdır. Orkide bitkisinin hemen hemen tüm kısımları özellikle kök, yaprak ve yalancı yumrular romatizma, bronşit, sinir hastalıkları, mikrobiyal enfeksiyon ve kanserde tedavi etme potansiyeline sahiptir (Gutiérrez, 2010). Çin'de orkideler özellikle farklı hastalıkların tedavisinde kullanılan tıbbi bitki gruplarının bir parçasıdır (Pant ve Raskoti, 2013). *Gastrodia elata* Blume ve *Dendrobium officinale* Kimura ve Migo gibi bazı türler ise özellikle geleneksel Çin tıp bilimlerinde oldukça yüksek tıbbi değerlere sahiptir (Luo vd, 2003). *Dendrobium nobile*, *Bletilla striata* ve *Gastrodia elata* Blume geleneksel Çin Tıbbında rutin olarak kullanılmaktadır (Pant, 2013). *Anoectochilus formosanus* Hayata, *Anoectochilus koshunensis* Hayata ve *Anoectochilus roxburghii* Wall. Lindl gibi *Anoectochilus*'un çeşitli türleri, Çin halk ilaçlarında kullanılmaktadır (Pant, 2013). Güney Çin, Japonya, Sri Lanka, Hindistan ve Nepal'de (Li ve Zou, 1995) dağıtılan *Anoectochilus roxburghii* Wall Lindl. (Orchidaceae), Çin'deki “Kral Tıp” olarak da adlandırılır (Tseng vd, 2006).

Kuzey Amerika'da farklı etnik gruplar tarafından *Cypripedium* türleri sakinleştirici ve antispazmodik özelliklerinden dolayı uykusuzluk ve sinir gerginliği rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Wilson, 2007). Pant (2013) tarafından *Ophrys apifera* Hudson, *Ophrys muscifera* Huds., *Ophrys fuciflora* F. W. Schmidt, *Ophrys sphegodes* Mill. I., *Orchis simia* Lamarck, *Orchis mascula* Lindley, *Himantoglossum hircinum* Lindley, *Serapias vomeracea* Burm. Briq., *Serapias lingua* Lindley ve *Dactylorhiza majalis* Rchb. f. Hunt ve Summerh. gibi tıbbi olarak Avrupa çapında kayıt altına alınan türlerin iyileştirici özellikleri olmaları nedeniyle afrodisyak olarak kullanıldığı ifade edilmektedir.

Doğadaki en güzel ve çeşit çeşit bitki türlerinden biri olan orkideler tohumlarının endosperm bulundurmaması nedeniyle çimlenme, büyüme ve adaptasyon olaylarında endofitlere bağımlıdır (Burgeff, 1909; Curtis, 1939; Warcup, 1971; Batty vd, 2002; Rasmussen, 2002). Smith ve Read (1997) ve Batty vd (2002), orkidenin ototrofik veya heterotrofik yaşam tarzına göre mikorizal bağımlılığın değiştiğini öne sürmüşlerdir.

Orkide tohumlarının çimlenme fizyolojisi biyolojinin en ilginç olgusudur. Orkideler 60'lı yılların başında ilk defa tohumla ve bitki doku kültürü teknikleriyle ticari amaçla *in vitro* olarak çoğaltılan ilk bitkilerdir (Arditti, 1967; Pant, 2013).

Morel, sürgün ucu kültürünü kullanarak *Cymbidium* orkidesinden virüs taşımayan büyük bir bitki klonu üretmiştir (Arditti, 1967). Morel'den kısa bir süre sonra sürgün ucu, kök ucu ve embriyo kültürü yoluyla 22 cins orkide üretilmiştir (Murashige, 1974).

Bu avantajlarına rağmen *in vitro* doku kültürüyle üretilen bitkiler araziye alındığında yüksek ölüm oranı göstermesiyle bir dezavantaja sahiptir. *In vitro* yöntemle üretilen bitkiler narin, kırılabilir ve zayıf immün sistemlerine sahip oluşları nedeniyle ortama uyum sağlamakta zorlanmakta ve birçoğu ölmektedir (Bonfante vd, 2010). Orkidelerin kütleli yayılışında biyolojik araç olarak endofitlerin kullanılması ile umut verici sonuçlar elde edilmektedir.

Endofitler bitkilerin hayatta kalma oranlarını yükselterek bitki dokularının kuvvetlenmesi ve ortama alışma süreçleri gibi arazi problemlerinin üstesinden gelmektedir (Ding vd, 2014).

Endofitler çok eskiden beri orkide tohumlarının çimlenmesini, bitkinin büyüme ve gelişmesini ve bitkisel hormonların üretimini teşvik etmek amacıyla kullanılmaktaydı (Zhang vd, 2013).

Nükleotit dizileme, morfolojik ve filogenetik analizler kullanılarak *Dendrobium lancifolium* (A. Rich)'un köklerinde *Rhizoctonia* benzeri bir kök endofiti tespit edilmiştir (Agustini vd, 2016).

Zi vd (2014) *Dendrobium aphyllum* (Roxb.) Fisch.'un tohumundan *Tulasnella* sp. ve *Trichoderma* sp. funguslarını izole etmiştir. *Tulasnella* cinsi funguslar tohum çimlenmesini % 13,6 oranında, protokorm oluşumunu % 85,7 oranında ve fide gelişimini % 45,2 oranında artırmıştır. *Trichoderma* cinsi funguslar tohum çimlenmesini % 26,4 oranında artırmıştır.

Cymbidium manni'den izole edilen *Epulorhiza* tohum çimlenmesini % 6,5 oranında ve protokorm gelişimini % 20,3 oranında artırmıştır. *Dendrobium aphyllum* (Roxb.) Fisch., *Dendrobium devonianum* (Yunnan) ve *Cymbidium manni*'den *Tulasnella* sp. ve *Epulorhiza* sp.'ye ait çeşitli fungus tipleri belirlenmiştir.

Tulasnella sp. ve *Epulorhiza* sp. cinsi funguslar *Dendrobium aphyllum* ve *Dendrobium devonianum* Yunnan'un hem protokorm oluşumunu hem de fide gelişimini artırmıştır. Dan vd (2012) *Dendrobium nobile*, *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl. ve *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. orkidelerinden *Gliocladium*, *Epulorhiza*, *Fusarium*, *Moniliopsis*, *Cephalosporium* ve *Mycena* türlerini izole etmiştir.

Hou ve Guo (2009) çalışmalarında koyu septatlı (dark septat) bir endofit olan *Leptodontidium*'un *Dendrobium nobile* Lindl. fidelerinde büyümeyi teşvik etmesi üzerine yoğunlaşarak fungal kolonize bitkilerin, fungal kolonize olmayan bitkilere oranla sürgün uzunluğu, kök sayısı, kuru ağırlık bakımından daha büyük olduğunu belirtmektedir. *Sebacina vermifera* Oberw. Nova Hedwigia *Tulasnella calospora* (Boud.) Juel, *T. asymmetrica* (Warcup), *T. cruciata* (Warcup), *T. irregularis* (Warcup), *T. violea* (Quél.), *T. allantospora* (Wakef.) gibi endofitlerle farklı orkide türlerinde tohum çimlenmesi üzerine çalışan Warcup (1981a) endofitlerin başka etkileri de olduğunu belirtmektedir.

Mutlu vd (2014), Kömpe ve Mutlu (2017) tarafından bazı Türkiye orkidelerinin mikorizal fungusları belirlenmiş ve çoğunlukla *Tulasnella* cinsine d hil funguslarla mikorizal birlik kurdukları ortaya konmuştur.

Köklerden izole edilen fungus DNA'ları ve çekirdek ribozomal DNA dizileme yöntemleri kullanılarak fungus taksonomisi çalışılmaktadır (Seifert, 2009). Orkide mikorizasının fungus partnerleri doğrudan orkide protokormlarından, köklerinden, yumrularından ve rizomlarından tanımlanabilmektedir (Bougoure ve Dearnaley, 2005; Martos vd, 2009; Swarts vd, 2010).

Mikorizal kolonizasyon süreci fungusun türüne ve orkidenin cinsine bağlı olarak değişebilmekte ve kök, rizom ve diğer bitkisel yapılarda oluşabilmektedir (Rasmussen ve Whigham, 2002). Orkidenin kök, rizom, suspensor hücreleri ve epidermal tüylerinden fungusun girmesiyle hifal penetrasyon başlamaktadır (Williamson ve Hadley, 1970). Hifal penetrasyondan sonra hifler septa ve dallanmalar oluşurmaktadır (Steinfert vd, 2010). Bir miselyumda hif adı verilen substrat ve besin kaynaklarına uzanan, enzim salgılayan, kompleks substratları hücre duvarından geri emilebilen basit bileşenlere ayıran mikroskobik tübüler hücreler bulunmaktadır (Walker vd, 2018). Funguslar hiflerinin septalı veya septasız oluşlarına göre karakterize edilmektedir.

Septat hifleri oluşturan funguslarda, septada septal delikler olarak adlandırılan ve bir bölmeden diğerine sitoplazma ve organellerin hareketini sağlayan yapılar bulunmaktadır. Fungus bir protokorm, fide ya da yetişkin köküne ait parankima hücresine girdiğinde, orkide plazma zarı invajine olur ve hifler bu zar ile çevrelenmektedir (Rasmussen, 1995). Bitki plazma membranı invajinasyonu, büyük ölçüde artmış bir yüzey alanı sağlar ve bu nedenle, bitki hücresi yeni hücre membranının ve ilgili zar proteinlerinin sentezine gereksinim duymaktadır. Fungal hif tarafından enfekte olan orkide protokormlarında peloton adı verilen hif sarmalları oluşturulmaktadır (Yeh vd, 2019). Elektron mikroskobundan elde edilen bulgular, oluşan pelotonların etrafında ribozomların ve endoplazmik retikulum olduğunu ve pelotonlara bakan bitki zarının kıvrımlı bir görünüme sahip olduğunu göstermektedir (Uetake ve Ishizaka, 1995; Dearnaley ve McGee, 1996).

Mikorizal funguslar orkide tohumlarının çimlenme ve protokorm gelişimi ve fotosentetik olmayan orkide türlerinin mineral ve C ihtiyaını karşılama yönünden bitkiye destek olmaktadır (Yeh vd, 2019).

Mikorizal simbiyoz sırayla Şu aŐamalardan oluşmaktadır;

- Hifin parankima hücresine giriŐi
- Peloton (Hifal bobin) oluşumu
- Yıkılması.

Orkidelerin protokorm aŐamasındayken birçok fungusu parazitleŐtirdiĐi dűŐünölmektedir. Simbiyotik orkide protokormlarının önceki çalıŐmalarında çimlenme oranı, geliŐim evresi, büyüklük ve protokorm hacmi kriter olarak kullanılmıŐtır. Ayrıca orkide mikorizal fungusun simbiyotik potansiyelini deĐiŐtirmede i hifal alanlar kullanılmaktadır. Yıkılmasından geliŐimine kadar hifal yapıların farklı evrelerine rağmen simbiyotik orkide protokormları gözlenmiŐtir.

Fungusun giriŐi, hücre duvarında belirgin bir bozulma meydana gelmediğinden sadece enzimatik bir süreç gibi görünmektedir. Orkide hücre duvarının bu lokal bozunması, muhtemelen, Orkide mikorizal funguslar tarafından salgılanmakta olduğu bilinen ve *Tulasnella calospora* ve *Sebacina vermifera*'nın genomlarında son zamanlarda teŐhis edilen selülozlar, pektinazlar ve poligalakturonazlar gibi karbonhidrat-aktif enzimler (CAZymes) ile gerçekleştirilmektedir (Rasmussen, 1995; Kohler vd, 2015).

Ekosistemler onlarca veya yüzlerce kilometre karelik bir ölçekte faaliyet gösteren iklim bölgeleri ve bitki örtüsü toplulukları ile tanımlanmaktadır. Ancak fungus hifinin çapı 5-10 µm civarında olup çevre üzerindeki etkileri doğrudan bu hiflerin birkaç mikrometre uzaklığı ile sınırlıdır (Oberle-Kilic vd, 2013).

Ekosistemdeki diğer organizmalar ve funguslar arasındaki etkileŐimler, hifal aktiviteden ve moleküler verilerden çıkan sonuçlarla ilişki arasındaki hifal ağlar, hifal fonksiyon, spor popülasyonu arasındaki bağlantılar aracılığıyla gerçekleŐmektedir (Ramsay vd, 1987). Diğer orkide türlerinde olduğu gibi hayalet orkideleri de doğada çimlenebilmek için mikorizal funguslarla simbiyotik olarak enfekte edilmelidir (Rasmussen vd, 2015). *Rhizoctonia* cinsine ait Basidiomycetous fungusları Orchidaceae familyasının baskın mikorizal partnerleridir ve çoğunlukla toprak saprofitleri veya patojenleridir (Taylor ve Bruns, 1997).

Orkideler *Rhizoctonia* cinsinden (Otero vd, 2002; Duran vd, 2007; Otero ve Bayman, 2009; Steinford vd, 2010; Pereira vd, 2014) *Basidiomycota* fungusları ile ilişkilidir (Mclaughlin ve Spatafora, 2014). Bu ilişki bitkinin hayatta kalabilmesi için hayati bir öneme sahiptir (Otero ve Bayman, 2009) ve peloton adı verilen hif yumaklarının kök korteks hücrelerine yerleştiği olgun evrede de bu ilişki devam etmektedir (Pereira vd, 2014). Ototrofik orkidelerin en sık ve en yaygın mikobiyontları *Tulasnella* türleridir (Kottke ve Suárez, 2009; Dearnaley vd, 2012).

Arakan'da yayılış gösteren *Crataegus cuneata* Sanzashi, ile birlikte yaşayan bazı *Chlorae* cinslerine ait türlerin Tulasnellaceae'ye ait orkide funguslarıyla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Pereira vd, 2014).

Yeterli büyüme ve gelişme için bitkiler toprak, su ve atmosferden makro ve mikro elementleri almalıdır. Bu besin elementleri sadece iz miktarlarda gerekli olduğu için bitki büyüme ve gelişmesini doğrudan veya dolaylı olarak etkilemektedir. Aslında iz elementler bitki büyüme ve gelişmesini sınırlandırıcı faktör olarak görülmektedir.

Oksin, giberellin ve etilen gibi bitkisel hormonlar bitki büyüme ve gelişmesinde rol oynar ve mikrobiyal oluşumlar bu ve diğer hormonların metabolik yolunun düzenlenmesinde ve üretiminde yardımcı olur.

Patojenik *Rhizoctonia* izolatları orkide tohumlarını çimlendirmekte ve fonksiyonel mikoriza oluşturmaktadır (Hadley, 1970). Bazı çalışmalar orkide tohumlarının çimlenmesinde ve protokormların, fidelerin ve olgun bitkilerin gelişmesinde endofitlerin önemli olduğunu göstermektedir. *Vanda coerulea* (Griff. ex Lindl)'dan izole edilen *Rhizoctonia zaeae in vitro* tohum çimlenmesini ve fide büyümesini teşvik etmenin yanısıra ortama alışma döneminde hayatta kalma oranını artırmada önemli bir rol oynadığını gösterilmiştir (Aggarwal vd, 2012).

Mikrobiyal ilişki organogenez, hücre büyümesi, hücre bölünmesi, hücre farklılaşması ve gen regülasyonuunda rol oynayan oksin hormonunun üretimine yardımcı olur (Costacurta vd, 1993; Costacurta ve Vanderleyden, 1995; Patten ve Glick, 1996; Bonkowski, 2004).

Bazı bakteri ve funguslar bitkilerin çevresel olumsuzluklardan korunmalarını sağlayan bağışıklık sistemlerini değiştirmeye yardımcı olmaktadır (Schulz ve Boyle, 2005).

Orkideler sadece insanları ve tozlaştırıcı hayvanları değil cezbedici aromalı uçucu bileşik salgılamalarıyla mikroorganizmaları da büyülemekte olup mikroorganizmalar orkidelere çevresel zorluklarla yaşayabilme ve yüksek üreme hızı ve ortama uyum gibi olaylarda görev yapan bileşiklerin üretimini sağlamaktadır (Jacquemyn vd, 2013).

Araştırmacılar yüksek talepler nedeniyle süs, tıbbi ve yenilebilir ürünler sunan orkidelerin kullanım alanlarını belirlemiştir (Arditti, 1967; Hossain, 2011; Gutierrez, 2010; Pant, 2013).

Orkide tohumları çoğunlukla lipit ve protein olmak üzere az miktarda besin kaynağı içeren embriyolara sahiptir (Arditti, 1992). Bununla birlikte birkaç orkide türünde şeker ve nişasta depoları da olduğu kanıtlanmıştır (Manning ve Van Staden, 1987; Yeung ve Law, 1992). Pek çok orkide türünde mikorizal fungus enfeksiyonuna bağlı olarak embriyodan ziyade suspensör hücrelerinde nişasta deposu bulunmaktadır (Hadley, 1982). Fungus mikobiyontları orkide türlerine çimlenme ve protokorm gelişimini destekleyen mineraller, şeker, tiamin, folik asit gibi mineral maddeleri ve suyu sağlamaktadır. (Arditti, 1967; Hijner ve Arditti, 1973; Rasmussen, 1995; Bougoure vd, 2014). Orkide fidelerinin fide gelişimini destekleyen funguslara çimlenme mikobiyontu denmektedir. Fideler ve gelişmiş bitkiler mikobiyontlar ve mikorizada olmayan diğer endofitler tarafından istila edilebilir.

Çimlenme olayında biyotik ve abiyotik faktörler etkilidir. Orkideler açısından çimlenme alanı bir ağaç kabuğu, bir yosun yumağı, bir ağaç kökünün yüzeyi ve bir humus olabilir. Bu yüzden bir habitat çok az veya hiç çimlenme alanı içerebilir. Çimlenmeden sonra orkide fidesi organik karbonunu mikobiyonta bağlı olarak sağladığı fotosentetik olmayan bir evreden geçmekte ve bu bağımlılık genellikle kademeli olarak azalmaktadır (Rasmussen, 1995). Uzun ömürlü orkide fungus birlikteliği ana bitkinin kök sisteminin yakın çevresinde kurulur. Orkide türleri ana bitkiye çimlenme ihtiyacını gidermesi açısından farklılık göstermektedir. ECM (Ektomikoriza) fungusları saprofit olmaları bakımından ayrıştırıcılardan ayrılmaktadır (Cullings ve Courty, 2009). ECM oluşturan orkide mikobiyontları *Ceratobasidium*'daki saprotrofik orkide mikobiyontları ile yakından ilişkilidir (Veldre vd, 2013). Klorofilsiz bitkiler "Mikoheterotrofik bitkiler (MHP)" C kaynağı alımında özelleşmiştir (Leake, 1994). Fungus fide simbiyozu için gerekli karbon kaynağı köken olarak karıştırılmaktadır.

Saprotroflar ECM fungusları ve muhtemel patojenler orkide fide mikobiyontlarıdır (Rasmussen vd, 2015). Orkide fide fungusu *in vitro* olarak kompleks karbonhidratlarda gelişebilmekte ve çürüyen ağaç ve yaprak artıkları gibi organik döküntüler fungusun yaşama kapasitesini artırmaktadır (Tapwal vd, 2016). İri taneli mineral toprağında, az organik madde biriken ve kabuklu yüzeylerde gelişen orkide fideleri saprofit funguslar aracılığıyla organik maddelere ulaşmaktadır.

Epifitik orkideler organik karbon üretebilen liken, siyanobakteri ve alglerden oluşan epifitik hayatın diğer çeşitlerinde gelişmektedir. Epifitik orkide fideleri fotosentetik aktiviteye hızlıca geçebilmektedir. Ektomikoriza (ECM fungusu) olarak bilinen bazı orkide çimlendirme fungusları ağaçların köklerinde oluşmaktadır. ECM oluşturan bazı orkide mikobiyontları *Ceratobasidium*'daki saprofit orkide mikobiyontları ile ilişkilidir. ECM funguslarının saprofitik funguslardan geliştiğini gösteren diğer kanıtlar, bitki hücre duvarlarını sindirebilen enzimler üretimi ile sağlanmıştır, ancak bunlar genellikle saprofit funguslarına göre çok daha düşük seviyelerde ortaya çıkmaktadır (Bending ve Read, 1997; Kohzu vd, 1999). *Ceratobasidium-Thanatephorus* kompleksi, ürün patojenleri olarak bilinmekte, aynı zamanda orkide türleri ve ağaçlar ile mikoriza oluşturmaktadır (Tedersoo vd, 2010).

Rhizoctonia içindeki türler Tulasnellaceae (*Ceratobasidium* spp., *Thanatephorus* spp., *Ypsilonidium* spp. gibi Basidiomycetes ailesine ait büyük çeşitlilikte teleomorf göstermektedir (Warcup ve Talbot, 1980; Warcup, 1981b; Hadley, 1982; Harley ve Smith, 1983). *Rhizoctonia* benzeri funguslar eşeysiz anamorf cinsleri *Ceratorhiza*, *Epulorhiza*, *Moniliopsis* ve *Rhizoctonia* (Moore, 1988) ve eşeyli teleomorf cinsleri *Ceratobasidium*, *Thanatephorus*, *Tulasnella* ve *Sebacina*'dan oluşmaktadır (Warcup ve Talbot, 1966; Warcup ve Talbot, 1971).

Aphylophorales'e ait olan her iki "*Corticium catonii*" (Burgeff, 1936) ve *Favolaschia dybowskyana* (Jonsson ve Nylund, 1979) türlerinin orkidelerle mikorizal birliktelik kurduğu gösterilmiştir. *Rhizoctonia* anamorflarına sahip Ascomycetes fungusları Avustralya'daki *Pterostylis* türlerinden izole edilmiştir. Tropikal epifit orkidelerde endofit olarak Ascomycetes varlığı belirlenmiştir (Petrini ve Dreyfuss, 1981; Dreyfuss ve Petrini, 1984).

1.1.1. *Orchis sancta* (L.)'nin morfolojik özellikleri

Çok yıllık otsu bir bitkidir. Çiçeklenme zamanı nisan ile haziran ayları arasındadır. Yukarıya doğru uzayan 2 adet küremsi-elipsoid tuberleri vardır. Genellikle çimenli yerlerde ve kalkerli topraklarda, 0-450 m yükseklikleri arasında yetişirler (Wood, 1993). Yayılış alanı Doğu Akdeniz olan bu tür Yunanistan, Ege, Kıbrıs ve Batı Suriye bölgelerinde yaygın yayılış göstermektedir.

Türkiye'de genellikle Batı ve Güney Anadolu'da özellikle Antalya, Aydın, Hatay, Isparta, İçel, İzmir Manisa ve Muğla civarlarında yayılış göstermektedir (Sezik, 1967; Baytop ve Sezik, 1968; Davis, 1984; Sezik, 1984). *Orchis sancta* (L.)'da biri önceki yıldan kalan diğeri yetiştiği yılda oluşan 2 yumru bulunmaktadır. Kış mevsiminde önceki yıldan kalan yumruda depolanan besin tüketilmektedir. Yetiştirildiği yılda oluşan yumru ise bitkinin köklerinin kalınlaşması sonucu kök ucunda meydana gelmektedir. Eski yumrudaki depo besin maddeleri gelişmekte olan bitki tarafından kullanılmaktadır (Sezik, 1984).

1.2. Nesil Tükenme Tehlikesine Karşı Yapılan Simbiyotik ve Asimbiyotik Çimlendirme Faaliyetleri

Simbiyotik çimlenme uygun mikobiyontun yokluğu nedeniyle doğal olarak çimlenemeyen orkide türleri için avantaj sağlamaktadır (Rasmussen, 1995). Orkide mikorizal fungusları üzerine yapılan çalışmaların çoğu, yetişkin orkide köklerinden elde edilen fungus izolatları kullanılarak *in vitro* simbiyotik tekniklere odaklanmıştır (Chutima vd, 2011; Nontachaiyapoom vd, 2011).

Knudson (1916, 1922, 1924), Clement (1924, 1926) ve Ballion ve Ballion (1924), *in vitro* asimbiyotik orkide tohum çimlendirme yöntemlerini kullanarak makro ve mikro besin elementlerinin ve karbonhidratların çimlenme üzerine etkilerini araştıran ilk araştırmacılardandır (Stewart ve Kane, 2010).

Birçok araştırmacı tarafından orkide tohumu çimlenme fizyolojisi ve protokorm/fide beslenmesinin çeşitli yönlerini incelemek için asimbiyotik yöntemler kullanılarak *in vitro* mineral beslenmesi (Spoerl ve Curtis, 1948; Stenberg ve Kane, 1998; Kauth vd, 2006), bitki büyüme düzenleyicilerinin etkileri (de Pauw vd, 1995; Miyoshi ve Mii, 1998; Stewart ve Kane, 2006), fotoperyodun etkileri (Stewart ve Kane, 2006b; Johnson ve Kane, 2007; Dutra vd, 2008) ve simbiyotik orkide tohumu çimlenme ile karşılaştırmalı çimlenme yöntemi olarak (Cameron vd, 2007) asimbiyotik orkide tohumu çimlenme faaliyetleri gerçekleştirilmiştir.

Harrison ve Arditti (1978) epifitik orkide *Cattleya aurantiaca* (Bateman ex Lindley)'nin çimlenmesinde karbonhidrat kaynağının rolünü araştırmak için asimbiyotik çimlenme yöntemlerini kullanmıştır (Stewart ve Kane, 2014). *Dendrobium* cinsinde basit şekerlerin dokulara alımını göstermede asimbiyotik çimlenme yöntemleri kullanılmıştır (Hew ve Mah, 1989).

Rasmussen ve Whigham (1993) imlenme yeteneğine sahip fungusları değerlendirmek için büyüme mevsimi boyunca arazideki tohum paketlerinin gömülmesini kapsayan *in situ* tohum çimlendirme metotlarını geliştirmiştir. Rasmussen'e kadar yetişkin orkide köklerinde bulunan mikorizal fungusların tohum çimlenmesi için gerekli olan aynı fungus olup olmadığına açıklık getirilmemiştir. Türlere özgü mikorizalar orkidelerin gelişen protokormlarından izole edilmektedir (Chen vd, 2012; Dulićl vd, 2018). Protokormlar tohum gelişiminin evrelerinde ve çimlenme başarisında büyük bir etkiye sahiptir (Harley ve Smith, 1983; Masuhara ve Katsuya, 1992).

In situ tohum gömme yöntemleri kullanarak *D. fredericksianum* (Rchb.f)'un protokormlarındaki mikorizal ve mikorizal olmayan fungusları teşhis etmek ve izole etmek amacıyla yapılan bir çalışmada orkide üretimi ve korunması için değerli olabilecek kültürü yapılabilen mikorizal funguslar bulunmuştur.

Orchidaceae familyasındaki *Orchis* cinsine ait bazı türler yumruları salep sıcak ieeği üretiminde kullanıldığı için büyük ekonomik öneme sahiptir (Tamer vd, 2006). Doğadan gelişigüzel toplanmasından dolayı birçoğu nesli tehlike altında olan bu bitkiler yetiştirilmemektedir ve nesli tehlike altında olan bitkiler arasında listelenmiştir (Kasperek ve Grimm, 1999). Doğal orman arazilerinin tahribatı ve yasadışı yollarla toplanma gibi nedenler orkidelerin bölgesel populusyonlarının neslinin tükenmesi üzerinde gcl bir etkiye sahiptir (Salazar-Chvez ve Soto, 1996).

Ilıman bölgelerdeki karasal orkide tohumlarının *in vitro* asimbiyotik çimlenmesi son derece zor olup asimbiyotik çimlenme ortamlarında çok spesifik besin formülasyonları gerektirmektedir (Arditti, 1992). Bu nedenle, birçok yetiştirici ve araştırmacı, üretim için simbiyotik fungusları kullanmaktadır. Epifitik tropik orkidelerin asimbiyotik şartlarda üretimi simbiyotik üretime göre daha kolay olduğundan dolayı tropik orkide yetiştiricileri üretim için simbiyotik çimlenme yöntemlerini kullanmamaktadır (Knudson, 1922).

Ilıman bölgelerdeki karasal orkidelerin simbiyotik çimlenme etkileşimleri, Tropikal epifitik orkidelerinkinden çok daha iyi bilinmektedir (Rasmussen vd, 1990b; Rasmussen, 1992; Oddie vd, 1994; Zettler ve McInnis, 1994; Isahara vd, 2000; Johnson vd, 2007). Ancak Tropikal epifitik orkide tohumlarının simbiyotik çimlenmesi için olan teknikler, hem ticari hem de koruma amaçlı olarak bu orkidelerin yetiştirme başarısını arttırabilir.

Epifitik orkidelerin yaygın olarak Ceratobasidiaceae, Tulasnellaceae ve Sebacinales familyasından Basidiomycetes fungus familyaları ile ilişkili olduğu görülmektedir (Zettler vd, 2013). Epifitik orkidelerin yanı sıra açık habitatlar ve ormanlardaki karasal orkidelerin *Tulasnella*, *Ceratobasidium* ve *Sebacina* funguslarıyla mikorizal ilişki kurdukları bulunmuştur (Taylor vd, 2002a; Shefferson vd, 2005, 2007, 2008, 2010; Dearnaley, 2007; Suárez vd, 2008; Yagame vd, 2008; Waterman ve Bidartondo, 2008; Cruz vd, 2010; Roche vd, 2010; Schatz vd, 2010; Swarts vd, 2010; Wright vd, 2010).

Simbiyotik ve asimbiyotik çimlenme tekniklerinin tropikal epifitik orkide üretim programlarındaki başarısının karşılaştırılması amacıyla yapılan çalışmalarda simbiyotik çimlenme epifitik orkidelerin çoğaltımında bir aracı olmakla kalmayıp (Clements vd, 1986; Dixon, 1987) hif oluşturan fungusların fizyolojik rollerinin anlaşılmasını da sağlamaktadır (Zettler vd, 2007; Aggarwal vd, 2012; Bayman, 2012). Tehlike altındaki birçok orkide türü yaşlanmaya bağlı olarak yerli fide yetiştirilmesi ile kaybolmaktadır (Cribb vd, 2003). Bu durum orkide habitatlarının azaldığı yerlerde daha fazla gözlenmektedir. Orkide popülasyonu özellikle yetişkinlerin ölümleri ve habitatların tahrip edilmesine bağlı olarak azalmaktadır (Sahagian, 2000). Orkide tohumları rüzgârla uzaklara taşınabilmesine rağmen tohumların büyük çoğunluğu ana bitkinin yakınında yer almaktadır. Doğada, bir orkide fidesinin yetişkin bir bitki haline gelmesi yıllarca sürmektedir.

Patates dekstroz agarı, arpa mısır unu agarı, Dox-yeast agarı gibi ortamlar kullanılarak hazırlanan kültürlerden çok sayıda orkide fungusu elde edilmektedir (Burgeff, 1936; Curtis, 1939; Downie, 1959; Smith, 1966; Harvais ve Harley, 1967; Warcup ve Talbot, 1967; Hadley, 1970; Warcup, 1981a; Terashita vd, 1982; Alexander ve Hadley, 1983; Marchisio vd, 1985; Currah, 1987).

Doku kültürü yoluyla *in vitro* orkide üretiminde ayrıca ışık faktörü de önemli rol oynamaktadır (Arditti ve Ernst, 1993).

Doğadaki orkide türlerinden endofitlerin izolasyonu ve teşhisi doku kültüründe başarılı bir sonuca ulaşmada önemli bir biyolojik araçtır.

Mikorizal funguslar tohum çimlendirme paketlerinin toprağa gömülmesiyle veya bitkilerden elde edilebilir (Batty vd, 2001; Dearnaley vd, 2009). Nesli tükenme tehlikesi altındaki orkidelere verilen zarar kolonize gövdeden küçük bir parçanın alınmasıyla en aza indirilebilir (Wright vd, 2009; Smith vd, 2010) ve fungusları izole etmek için en iyi zaman yaprak dökümü ile çiçeklenme arasındaki evre olduğu gözlenmiştir (Huynh vd, 2004). İzole edilen orkide dokularının yüzey sterilizasyonu, bakteri kontaminasyonu ve hızlı büyüyen Ascomycetes miktarını azaltmaktadır (Huynh vd, 2009).

Orkide türleri, korunma altına alınmadıkça nesilleri neredeyse kesin bir yok olma tehlikesiyle karşı karşıya kalmaktadır (Zettler, 2013).

Özellikle orkideler için üreme ve hayatta kalma ihtiyaçları için bu bitkilerin diğer biyotik ajanlara (örneğin, tozlayıcılar, mikorizal funguslara) neslini devam ettirmek için üreme adaptasyonları açısından yeni stratejiler geliştirmek bir görev olacaktır (Zettler, 2013).

2014 CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) uluslararası türlerin kontrol listesine göre *Dendrobium friedericksianum* Rchb. f. Doğu Tayland tropikal yağmur ormanlarında bulunan yerli epifitik bir orkidedir. Güzel, parlak, altın sarısı çiçekleri nedeniyle orkideler toplayıcıları etkilemekte ve örnekler yasadışı ticaret için yüksek talep görmektedir (Jalal vd, 2012). Orkideler yabanî doğada aşırı otlatmalar, yasa dışı toplamalar, orman yangınları sebeplerinden dolayı ciddi tehlike altında bulunmaktadır (Koopowitz vd, 2003).

Orkide türlerinin üçte ikisi, epifitler ve litofitlerdir; kalan üçüncüyü içeren karasal türler, ancak Dünya Koruma Birliği'ne (IUCN, 1999) göre soyu tükenmiş türlerin neredeyse yarısı karasal otsu çok yıllıklardır (Swarts ve Dixon, 2009). Bu nedenle, karasal orkideler, özellikle mevcut iklim değişikliği senaryoları altında, tehdit edici işlemlerin çokluğu nedeniyle daha büyük bir tükenme riski yaşama olasılığı olan bir yaşam biçimi sınıfını temsil eder (Swarts ve Dixon, 2009). Orchidaceae, diğer bitki familyalarına göre nesli tükenmekte olan türler bakımından daha yüksek bir orana sahip olduğundan farklı tür ve bölgelerdeki Orkide Mikorizası topluluklarının doğru bir şekilde anlaşılması, koruma ve restorasyon stratejileri geliştirmek için önemlidir (Swarts ve Dixon, 2009).

Orkide populasyonları, doğal yaşam alanlarının tahribatı, süsleme ve ilaç kullanımı için aşırı toplanmaları nedeniyle azalmaktadır (Huang, 2011). Türkiye'de bunlara ek olarak salep üretimi amacıyla bol miktarda orkide toplanmaktadır. Salep, 10 farklı cinsden 38 farklı orkide bitkisinden elde edilmektedir (Tamer vd, 2006). Özellikle *Orchis*, *Anacamptis*, *Ophrys*, *Serapias*, *Himantoglossum* ve *Dactylorhiza* cinsleri salep üretiminde kullanılmaktadır (Tamer vd, 2006). Yabanî orkidelerin aşırı toplanması, toprağın yıkanması olayları Orkidelerin tür bolluğunu ve dağılımını sınırlandırıcı antropojenik tehdit edici süreçlerin bir yansıması olarak orkidelerde nadirlik görülmektedir (Koopowitz, 2001; Cribb vd, 2003).

Antropojenik süreçler, aynı zamanda, orkide populasyonlarını sürdürmek için gerekli çevresel koşulları olumsuz yönde etkileyen çevresel ve habitat değişimini de hızlandırır (Swarts ve Dixon, 2009).

İnsan nüfusunun artması ve artan kentleşme, su kaynaklarına olan talebi yoğunlaştırmakta ve sulak alan habitatlarının azalmasına ve bozulmasına neden olmaktadır (Malmqvist ve Rundle, 2002). Sulak alan orkideleri, mikorizal simbyontların potansiyel olarak sınırlı mevcudiyeti nedeniyle çevresel bozulmaya özellikle duyarlıdır. Karasal orkidelerin populasyonlarının yok oluşları, çoğu kez, kentleşme ve diğer insan etkilerinden kaynaklanan habitat kaybı veya bozulmasının bir sonucudur (Cowden ve Shefferson, 2013). Bu durum Orchidaceae'nin diğer familyalara göre daha yüksek oranda tehdit altında olan cins ve türlerinin olduğunu göstermektedir (Pillon ve Chase, 2007). Orkide türlerinin tehdit altında olmasından dolayı farklı ülkelerde farklı önlemler alınmaktadır.

Orchidaceae familyası CITES'te (Convention of international trade in endangered species of wild fauna and flora=Nesli tehlike altında olan yabanî hayvan ve bitki türlerinin uluslararası ticaretine ilişkin sözleşme, 2014) koruma altına alınan türler listesine dahil edilmiştir (Cribb vd, 2003).

Orkidelerin çoğu nesli tükenmekte olan türlerde uluslararası ticaret sözleşmesi'nde (CITES) listelenmiştir (Pant, 2013). CITES gibi uluslararası anlaşmalar sürdürülebilir olmayan yasadışı toplanmaları belirgin şekilde azaltsa dahi yasadışı toplanmalar ve özellikle Orkidelerce zengin bölgelerde doğal yaşam alanlarının tahribatı devam etmektedir (Koopowitz vd, 2003). Nepal'deki orkideler nesli tükenme tehlikesi altındadır (Subedi vd, 2013). Çinde; "Yerinde Koruma" yoluyla hedef türler, orijinal habitatları ve genetik çeşitliliği değişmeden koruma altına alınması gerektiği düşünülmektedir (Heywood ve Dulloo, 2005).

Japonya'da ise son 50 yılda, sulak alan habitat restorasyonu ile bitki koruma yöntemine karşı büyük ilgi duyulmakta ve yatırım yapılmaktadır (Nakamura vd, 2010). Türkiye'de Kuzey Anadolu (Kastamonu, Sinop), Güney Anadolu (Muğla, Antalya, Silifke), Güneydoğu Anadolu, (Kahramanmaraş, Gaziantep, Hatay) ve Doğu Anadolu (Elazığ, Van, Muş, Bitlis) bölgelerinde yayılış gösteren Salep orkideleri ile ilgili olarak 9.10.1991 tarih ve 21016 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Doğal Çiçek Soğanlarının Sökümü, Üretimi ve İhracatına Ait Yönetmelik ile ilgili olarak Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından yayınlanan tebliğde Orkide (salep) türlerinin ihracatı tamamen yasaklanmıştır (RG, 1991).

19 Temmuz 1998 tarih ve 23407 sayılı Resmi Gazetede Dış Ticaret Müsteşarlığı tarafından yayınlanan İhracat 96/31 Sayılı İhracı Yasak ve Ön İzne Bağlı Mallara İlişkin Tebliğ'de Değişiklik Yapılmasına Dair Tebliğ ile de salebin (toz, tablet ve her türlü formda) ihracı tamamen yasaklanmıştır (RG, 1998).

Türkiye'de orkideler, yumruları salep üretiminde kullanıldığı için özel öneme sahiptir. Yumrularının aşırı toplanması sebebiyle birçok tür yok olma tehlikesi ile karşı karşıyadır. Gerek ticari taleplere cevap verebilmek gerekse yok olma tehdidine karşı önlem alabilmek amacıyla çeşitli yöntemlerle üretimleri üzerinde yoğun araştırmalar yapılmaktadır (Özkoç ve Dalcı, 1994; Özdener, 1994; Sazak ve Özdener, 2006; Steinfort vd, 2010).

Tohumdan üretim çoğunlukla fungus kullanılarak (simbiyotik) ya da fungus kullanılmadan (asimbiyotik) yapılmaktadır (Magrini vd, 2012). Her iki yöntemde de başarılı sonuçlar alınsa da asimbiyotik yöntem ile elde edilen fidelerin doğal ortama adaptasyonu büyük ölçüde başarısızlıkla sonuçlanmaktadır (Mala vd, 2017).

Tohumların uygun bir fungus ile inoküle edilmesine dayanan simbiyotik yöntem ile elde edilen fidelerin doğaya adaptasyonunun daha başarılı olduğu belirtilmektedir (Rasmussen, 1995; Mala vd, 2017).

Orkide türlerinin sayısı, doğada düşük yayılma oranı ve doğadan sürekli toplanmalarından dolayı hızla azalmaktadır. Örneğin; Büyük Selvi Havzası ekolojik bölgesindeki hayalet orkide doğal yaşam alanlarının korunması üretim için çok önemli olacaktır. *Dendrobium*, Orchidaceae familyasında dünya çapında 1000 türle temsil edilen en büyük cinslerden biridir (Leitch vd, 2009). Uygun fungus bulunuşu orkide türlerinin coğrafik yayılışı, ekolojik nişi ve habitat seçimini etkilemektedir (Swarts vd, 2010; Jacquemyn vd, 2012; McCormick vd, 2012).

Dendrobium orkidesi önemli bir bahçecilik ürünüdür ve hasat sonrası yaşam uzunluğu yıl boyunca kullanılabilirliği, şekli, boyutları, çiçek rengi yelpazesinin fazlalığı ve çiçekli bolluğa sahip oluşuyla popülerliği sayesinde ticareti yapılmaktadır (Hossain, 2011). Pek çok *Dendrobium* cinsinin neslinin tükendiğinden şüphelenilmektedir. Çeşitli amaçlarla aşırı toplanması, habitatlarının yok edilmesi bu bitkileri, giderek artan şiddette tehdit altına almaktadır. Bu türlerin dikkatsiz toplanması, ciddi genetik ve ekolojik erozyona neden olmuştur.

Doku kültürü teknikleri, son on yıl içinde ticari olarak önemli birçok orkidenin çoğalması için yaygın olarak kullanılmaktadır (Chen ve Chang, 2000; Chen ve Chang, 2004). Knudson (1922) bir asimbiyotik çimlenme tekniği geliştirdiğinden, artan sayıda orkide türü üretilmiştir.

Doğal habitatların restorasyonu, tohum bankalarının oluşturulması, doğal ve milli parkların korunması gerekmektedir. Orkidelerin tohumlarını barındıran bir kapsülde binlerce tohum bulunmakta ve orkidelerin toz benzeri tohumları, türlerinin korunmasına imkân sağlamaktadır. Orchidaceae familyası ciddi tehlike altındaki dünya çapında yayılış gösteren ve koruma altına alınan bir bitki familyası olmakla beraber, Türkiye’de orkide tohum bankası yoktur. İzinsiz ve kaçak toplanmasına izin verilmemelidir.

Salep Eylem Planı (2014) ve Salep Eylem Planı (2018).bildirilerine göre bilimsel araştırmalarda kullanılması için gen bankaları oluşturulmalıdır. Salep'in kùltùre alınması hususundaki çalışmalar için en önemli tedbir, orkidelerin gen tür ve toplum zenginliğinin korunmasıdır. Laboratuvarda çimlendirilen tohumlar fide haline geldikten sonra doğal ortamlarına aktarılmalıdır. Sağlıklı orkide fertlerinin genleri çoğaltılmalıdır. Gen kaynağı olarak orkide tohum bahçeleri kurulmalıdır. Yerel halkın ve kaynak yöneticilerinin eğitimi ve farkındalıklarının artırılması neticesinde bu önemli doğal kaynağın yönetimi daha da kolaylaşacaktır. Salebin kùltürüne ve doğal ortamında geliştirilmesine dönük yapılan çalışmalar neticesinde elde edilecek deneyim ve bulgular geniş alanlarda üretimini mümkün kılacaktır.

Orchis sancta Lindley Türkiye'de Ege ve Akdeniz bölgesinde yayılış gösteren ve salep yapımı için yumruları en fazla toplanan türlerden biridir.(Kreutz, 2002; Kreutz, 2009; Tutar vd, 2017). Ayrıca diğer orkide türlerinden farklı olarak her yıl birden fazla yeni yumru üretebilmektedir (Sezik, 1984; Oğuz vd, 2005; Tekinşen ve Güner, 2010).

Ege ve Akdeniz'de yayılış göstermesinden daha öncelerde Avrupa ve Batı Asya orkidelerinin yumruları Türkiye, Yunanistan ve İnan'da salep yapımı amacıyla kullanılmıştır. Bu amaçla her yıl yumruların aşırı toplanması sebebiyle yumrulu orkidelerin birçoğu yok olma tehdidi ile karşı karşıya kalmaktadır. Ne yazık ki henüz kùltùre alınamamıştır. Tohumdan üretim çalışmaları ticari amaca cevap verememektedir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırmada kullanılan *Orchis sancta* türüne ait bitki örnekleri Ege Üniversitesi Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden alınarak simbiyotik tohum çimlenme deneyi amacıyla hazırlanan modifiye yulaf ortamında tohumları 3 ay süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Öncelikle *Orchis sancta*'nın köklerinden izole edilen fungus ile Mutlu (2014) tarafından domatesin köklerinden izole edilen *Rhizoctonia solani* AG A izolatları modifiye yulaf ortamına aşılansmıştır. Daha sonra *Orchis sancta*'nın tohumları modifiye yulaf ortamına aşılansmıştır. Modifiye yulaf ortamında bulunan uygun fungus ile başarılı bir çimlenme sağlanmıştır.

2.1. Araştırmada Kullanılan Bitki Örneklerinin Toplanması ve Teşhislerinin Yapılması

Bu araştırmada *Orchis sancta* (L.) türüne ait bireylerin köklerinden mikorizal fungusları izole etmek için çiçekli aşamadaki bitkiler ve çimlendirme deneyleri için bu orkidenin tohumları Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Kuru meyve kapsüllerinden çıkarılan tohumlar kahverengi şişelere konup buzdolabında saklanmıştır.

2.2. Araştırmada Kullanılan Kültür Ortamlarının Hazırlanması

Fungus kültür ortamı olarak FİO (Fungus İzolasyon Ortamı) ve PDA (Patates Dekstroz Agar) hazırlanmıştır. Besin ortamlarının içeriği ise şu şekildedir.

2.2.1. Fungus izolasyon ortamı

Orkide köklerinden mikorizal fungusların izolasyonu için kullanılan besin ortamı Clements vd (1986)'ya göre hazırlanmıştır.

Besin ortamlarının içeriği ise şu şekildedir:

Çizelge 2.1. Fungus izolasyon ortamı

Çözelti Bileşeni	Miktar
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O (Kalsiyum Nitrat)	0,5 gr
KH ₂ PO ₄ (Potasyum Dihidrojen Ortofosfat)	0,2 gr
KCl (Potasyum Klorür)	0,1 gr
MgSO ₄ (Magnezyum Sülfat)	0,1 gr
Yeast Ekstrakt	0,1 gr
Sükroz	5,0 gr
Agar	10,0 gr
Distile Su	1000 ml
pH	5,5

Laboratuvarında kullanılan yüksek sıcaklığa dayanıklı temper camdan üretilmiş bir şişeye hazırladığımız çözeltinin miktarına göre yarısı ölçüsünde (1000 ml çözelti için 500 ml saf su, 500 ml çözelti için 250 ml saf su, 250 ml çözelti için 125 ml saf su) saf su koyulmuştur.

Sükroz (Bioshop) ve agar (HMEDIA) dışında çözeltiyi oluşturan çözünen maddelerin miktarları hassas terazide her biri için ayrı ayrı ölçüldükten sonra tamamen çözünen kadar şişedeki su ile karıştırıldı. Yeast ekstrakt (Maya ekstraktı) maddesinin tartılıp ölçülerek şişedeki suya eklenmesi ile çözeltinin hacmi 1000 ml'ye tamamlanmıştır. pH metreyle (WTW pH315i, Eksper) çözeltinin pH'sı 5,8'e ayarlanmıştır.

Çözelti pH'sı 5,8'e ayarlandıktan sonra sükroz (Bioshop) ve agar (HMEDIA) sırayla tartılarak çözeltiye eklenmiştir. 1,5 Atm basınç altında, 121°C sıcaklıkta 30 dakika süreyle otoklavda (NUVE L 60) steril edilme işlemi gerçekleştirildi. Otoklavın sıcaklığı 121°C'den yaklaşık 50°C'ye düştüğünde içi %70'lik alkolle silinerek 15 dakika UV ışığa maruz bırakılarak steril edilen kabinde (NUVE LN 90) steril petrilere (ISOLAB 90/17 mm) dökülmüştür.

2.2.2. Patates dekstroz agar ortamı

Fungus kültür ortamı olarak kullanılan PDA hazırlanmıştır.

Besin ortamlarının içeriği ise şu şekildedir:

Çizelge 2.2. Patates dekstroz agar ortamı

Çözelti Bileşeni	Miktar
Patates Dekstroz Agar	39 gr
Distile Su	1000 ml

Yüksek sıcaklığa dayanıklı otoklavlanabilen temper camdan yapılmış bir erlen mayerde hazırlanması gereken miktara göre 1000 ml distile su için 39 gr Patates Dekstroz Agar eklendi. 121°C sıcaklıkta 1,5 atm basınçta 60 dk süreyle otoklavda (NUVE L 60) otoklavlanarak steril edilmiş ve steril kabinde (NUVE LN 90) steril petrilere (ISOLAB 90/17 mm) dökülmüştür.

2.2.3. Tohum çimlendirme ortamı

Tohum çimlendirme ortamı olarak Clements vd (1986)'nın Modifiye Yulaf Ortamı kullanılmıştır. Modifiye Yulaf Ortamının içeriği Çizelge 2.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. Modifiye simbiyotik yulaf ortamı

Çözelti Bileşeni	Çözünen Miktarı
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O (Kalsiyum Nitrat)	0,2 gr
KH ₂ PO ₄ (Potasyum Dihidrojen Ortofosfat)	0,2 gr
KCl (Potasyum Klorür)	0,1 gr
MgSO ₄ (Magnezyum Sülfat)	0,1 gr
Yeast Ekstrakt	0,1 gr
Sükroz	2,0 gr
Agar	10,0 gr
Distile Su	1000,0 ml
pH	5,8

1 litre çözelti hazırlamak için bir cam şişeye 500 ml distile su konulmuştur. Çizelge 2.3'teki agar (HMEDIA) ve sükröz (Bioshop) dışındaki kimyasal maddeler tartıldıktan sonra sırayla cam şişeye eklenmiştir. Çözelti oluşturmak için şişeye eklenen maddeler çalkalanarak çözdürülmüş ve sıradaki diğer maddeler eklenerek çözdürülmüştür. 1 litre çözelti hazırlamak için agar (HMEDIA) ve sükröz (Bioshop) dışındaki kimyasal maddeler eklendikten sonra pH 5,8'e ayarlanmıştır.

Çözeltinin pH'ı 5,8'e ayarlanarak agar (HMEDIA) ve sükröz (Bioshop) tartıldıktan sonra çözeltiliye eklenmiştir. Hazırlanan 1 litrelik çözelti otoklavda (NUVE L 60) 121°C sıcaklıkta 1,5 atm basınç altında 2 saat süreyle steril edilmiştir. Modifiye besiyeri simbiyotik kültür tüplerine eşit miktarda dökülüp tüplerin ağızları çift katlı Alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Simbiyotik kültür tüpleri tekrar otoklavda (NUVE L 60) 121°C sıcaklıkta 1,5 atm basınç altında 2 saat süreyle steril edilmiştir. Otoklavlanma süresi tamamlanınca simbiyotik kültür tüpleri 45°'lik açıyla tahta bir bloğun üzerinde katılaşmaya bırakılmışlardır.

2.3. Köklerden Fungus İzolasyonunun Yapılması

Ege Üniversitesi Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ndeki üretim sahasından toplanan *Orchis sancta* (L.) bireylerine ait taze kök örnekleri laboratuvara getirildikten sonra toprak kalıntılarında arındırılmak amacıyla akan musluk suyu altında kök sistemlerine zarar verilmeden yıkanarak % 1,5'lük NaOCl (Sodyum Hipoklorit) ile sterilize edilmiş ve steril saf su ile steril kabinde (NUVE LN 90) 3 kez durulanmıştır.

Steril kökler steril kabinde (NUVE LN 90) küçük parçalara ayrılıp içinde fungus izolasyon ortamı bulunan petrilere yerleştirilmiştir. Bu işlemden 1 hafta sonra fungus izolasyon ortamında kök kesitinden petri kabının çevresine doğru gelişen hifal zonun uç kısmından steril kabinde (NUVE LN 90) steril iğne seti yardımıyla parça alınıp yeni fungus izolasyon ortamı içeren petri kaplarına aktararak saflaştırılmıştır. Numuneler 25°C'de inkübe edilmiştir. Saf kültürün uzun süre saklanabilmesi için içinde fungus izolasyon ortamı bulunan stok tüplerine saf kültür aşılanmıştır. Fungus hifleri stok tüpünün içini tamamen doldurunca +4°C'de buzdolabına alınmıştır. *R. solani* AG A, Mutlu (2014) tarafından domatesin köklerinden izole edilen patojen bir fungustur. Çalışmamızda simbiyotik çimlenmeyi önemli ölçüde teşvik etmiştir.

Fungus kültür koleksiyon ortamında saklanan *R. solani* AG A izolatu uygun koşullarda saklandığı takdirde canlılığını kaybetmezken köklerden izole edilerek alınan funguslar bitkinin sindirmesi sonucu canlılığını kaybetmektedir.

Fungus İzolasyon ortamında uzun süre kalan hifler de aynı şekilde canlılığını kaybetmektedir. Canlı hif yumaklarına sahip kök parçalarından zaman kaybetmeden fungus izolasyonu yapılmıştır.

2.4. Tohumların Yüzeysel Sterilizasyonu

Tohumlar bir damla Tween 80 ile % 1,5'lük NaOCl (Sodyum Hipoklorit) içerisinde 15 dk boyunca yüzeysel sterilizasyon yapılmış ve steril saf su ile yıkanmıştır.

2.5. Orkide Tohumlarının Çimlenme ve Gelişmesi Üzerine Fungal İzolatlarının Etkisinin Belirlenmesi

2-3 cm² lik kurutma kağıtları arasına bir miktar tohum konulmuş ve uç kısımları dikilerek paketler hazırlanmıştır. Bu tohum paketleri 1 damla Tween 80 ve % 1,5 'lük NaOCl (Sodyum Hipoklorit) çözeltisi bulunan bir kavanozda 15 dk süreyle steril edilmiştir. Steril hava kabini (NUVE LN 90) tohum paketleri 15 dk sonunda 3 ayrı steril saf su içeren kavanozlara alınmış ve sırayla çalkalanarak çamaşır suyundan arındırılmıştır.

Tohum paketleri steril hava kabini (NUVE LN 90) steril bir cam petride steril iğne seti yardımıyla açılmıştır. Paketlerden steril öze ucu ile alınan tohumlar simbiyotik deney tüplerine ekilmiştir. Simbiyotik tüplere ekim işleminin ardından tüplerin ağzı çift katlı alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Karanlıkta 1 hafta süreyle 25±2°C sıcaklıkta inkübasyona bırakılmıştır.

F-Snct1 (*O. sancta*'dan *Rhizoctonia* benzeri izolat) ve *R. solani* AG A (Mutlu, 2014) izolatları 1 hafta sonra tohumların bulunduğu simbiyotik deney tüplerine steril koşullarda Simbiyotik deney tüpleri 3 ay süreyle iklimlendirme odasında 16:8 aydınlık/karanlık fotoperiyodunda inkübe edilerek çimlenme ve fide gelişmelerinin sayımına tohum ekiminden onbeş gün sonra başlanmış olup ilk üç sayım 48 saat ara ile yapılmış ve gözlemler bir deftere kaydedilmiştir. Daha sonra sayımlar 9-10 gün ara ile devam etmiş ve 3 ay sonra yüzde çimlenme ve gelişme safhalarına ulaşma oranları her deney serisinde hem ortalama hem de % olarak hesaplanmıştır.

Her bir fungus ile yapılan çimlendirme testleri ve kontrol uygulamaları iki bağımsız deney ve üçer tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir ve SPSS: istatistik programı (Statistical Pack age for the Social Sciences) kullanılarak çimlenmeler arasında anlamlı bir fark olup olmadığı belirlenmiştir. Tohum çimlenmesinden fide oluşumuna kadar gerçekleşen gelişme safhaları Steward ve Zettler (2002) tarafından belirtilen 0-5 dereceli gelişme indeksine göre aşağıdaki gibi gruplandırılmıştır.

Çizelge 2.4. Çimlenme aşamaları (Steward ve Zettler, 2002)

Çimlenme Aşaması	Açıklaması
0	Embriyolu çimlenmemiş tohum
1	Tohum kabuğu kırılmış
2	Epidermal tüyler (rhizoid) gelişmiş
3	Sürgün öncüsü oluşmuş protokorm
4	İlk gerçek yapraklı fide
5	Yapraklı ve köklü tam fide

2.6. Hifal Büyümenin Mikroskopik İncelenmesi

25⁰C oda sıcaklığında petri kaplarında fungus izolasyon ortamında fungusların hif uzunlukları 3-4 mm oluncaya kadar funguslar gelişmeye bırakılmıştır. Işık mikroskobu için steril bir mikroskop lamı (76x26 mm) ve lamel (24x50 mm) hazırlanmıştır.

Hifal uç büyümenin izlenebilmesi için hifal zonun çevresinden miselyum kısımları çıkarılmıştır. *Orchis sancta* (L.)'nın köklerinden izole edilen *Orchis sancta* (L.) çimlendirici *Rhizoctonia* benzeri izolatının hifal uçları ışık mikroskobuyla incelenmiştir. Septat fungusu olan Basidiomycetes'lerde büyüyen hifal uçlarla ilişkili apikal bir gövde bulunmaktadır. Fungusların hiflerinde büyüme zonu merkezden çevreye doğru büyüme apeksinin yuvarlanmasıyla gerçekleşmiştir. Hiflerin yoğunlaştığı yerlerde moniloid hücreler bulunmuştur. Fungus izolatında *Rhizoctonia* benzeri hif özellikleri ve moniloid hücrelerin varlığı görülmüştür.

2.7. Simbiyotik Kültür Ortamında Gelişen Fidelerin Sera Ortamına Aktarılması

Modifiye yulaf besiyeri olan simbiyotik tüplerde gelişen fideler toprak ve perlit karışımından oluşan toprak içeren saksılara aktarılmıştır.

2.8. Çimlenme ve Gelişme Sonuçlarının Değerlendirilmesi

3 ay süreyle takip edilen tüplerdeki tohumların çimlenme aşamaları Çizelge 2.4.'te belirtilen Steward ve Zettler (2002)'nin 0-5 dereceli gelişme indeksine göre binoküler ışık mikroskobu altında gözlemlenerek sonuçlar 48 saatte bir kaydedilmiştir. Her bir evredeki tohum sayıları hesaplanarak % olarak ifade edilmiştir.



3. BULGULAR

Orchis sancta tohumlarının iki farklı fungal izolatın *in vitro* koşullarda simbiyotik çimlenme ve fide gelişimi üzerine etkileri araştırılmıştır.

İstatistiksel analiz için fungus türleri, çimlenen tohumların çimlenme evreleri ve protokorm evresinden fide evresine ulaşanların sayısı kullanılmıştır. Çimlenme modelini etkileyen faktörleri test etmek için varyans analizleri (SPSS analiz programı) kullanılmıştır. Simbiyotik çimlenme ortamlarında tohumlarla kültüre alınan F-Snct1 ve F *R. solani* AG A izolatları arasında çimlenmeyi etkileme bakımından bir farklılık olup olmadığını belirlemek için ANOVA testi yapılmıştır.

3.1. Mikorizal Fungusların Tohum Çimlenmesine Etkisi

Çizelge 3.1'de görüldüğü üzere *O. sancta* türüne ait bireylerin köklerinden izole edilen fungus F-Snct1 hem tohum çimlenmesini hem de fide gelişimini teşvik etmiş ve 3 aylık çimlenme ve gelişme periyodu sonunda % 73,97 oranında çimlenmiş ve % 5,35'i köklü ve gerçek yapraklı fide aşamasına ulaşmıştır. Domates köklerinden izole edilen *R. solani* AG A izolatı da hem tohum çimlenmesini hem de fide gelişimini teşvik etmiştir. Fakat F-Snct1 ile kıyaslandığında *R. solani* AG A ile elde edilen çimlenme oranı F-Snct1 ile elde edilen çimlenme oranının yaklaşık yarısı kadar olmuştur. *R. solani* AG A ile elde edilen köklü fide (5. Safha) oranı da F-Snct1 ile elde edilen fidelerin yaklaşık yarısı kadar olmuştur.

Çizelge 3.1. *Orchis sancta* tohumlarının çimlenme ve fide gelişimi üzerine etkileri

	Gelişim Safhaları (%)						Çimlenme (%)
	0	1	2	3	4	5	
Kontrol	15,49± 8,93a	74,49± 10,28a	8,42± 5,36a	1,57± 3,86b	0,00±0 ,00b	0,00± 0,00b	10,00±6,10b
<i>R. solani</i> AG A	15,03± 6,87a	50,25±1 8,68ab	23,72± 19,59a	5,51± 4,34b	2,59± 1,59b	2,87± 1,90b	34,71±19,80b
F-Snct1	1,66± 2,37b*	24,35± 21,49c*	17,9± 4,97a*	34,36± 21,67a*	16,26± 10,14a	5,35± 3,65a*	73,97±24,26a*

±: Standart sapma. * p 0.05 seviyesinde önem derecesini ifade etmektedir. Benzer harfler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.

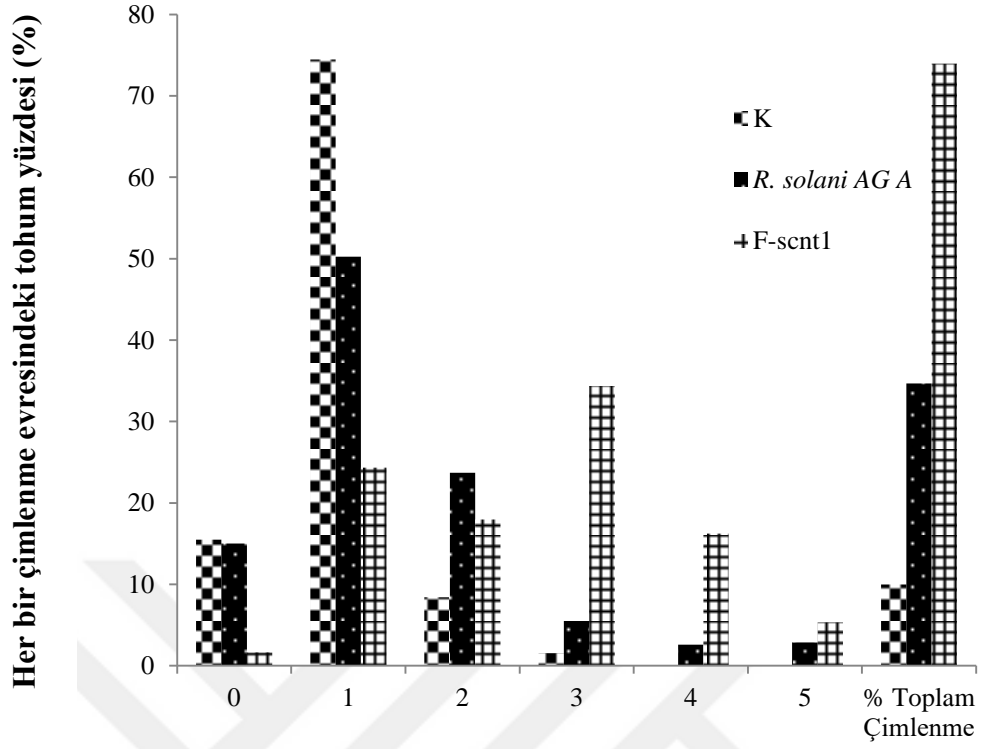
Çizelge 3.1’de görüldüğü üzere F-Snct1 ve *R. solani* AG A izolatları ile inoküle edilen tohumların 3 ay sonunda farklı oranlarda köklü ve yapraklı fide aşamasına ulaştıkları, fungus içermeyen ortamda (kontrol grubunda) ise birkaç tohumda sürgün öncüsü olduğu fakat daha ileri safhaya ulaşamadığı belirlenmiştir.

Bu sonuç *O. sancta* tohumlarının çimlenmesinde orkide-fungus arasında spesifik bir ilişki olmadığını işaret etmekte olup tohum çimlenmesi için uygun fungusun birden fazla olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 3.2. Fungus türlerinin çimlenme evreleri üzerine etkisinin ortalamalar yönünden karşılaştırılması

Fungus Türleri	G0 evresi
Kontrol grubu	Ab
<i>F R. solani</i> AG A	a *
F-Snct1	b *

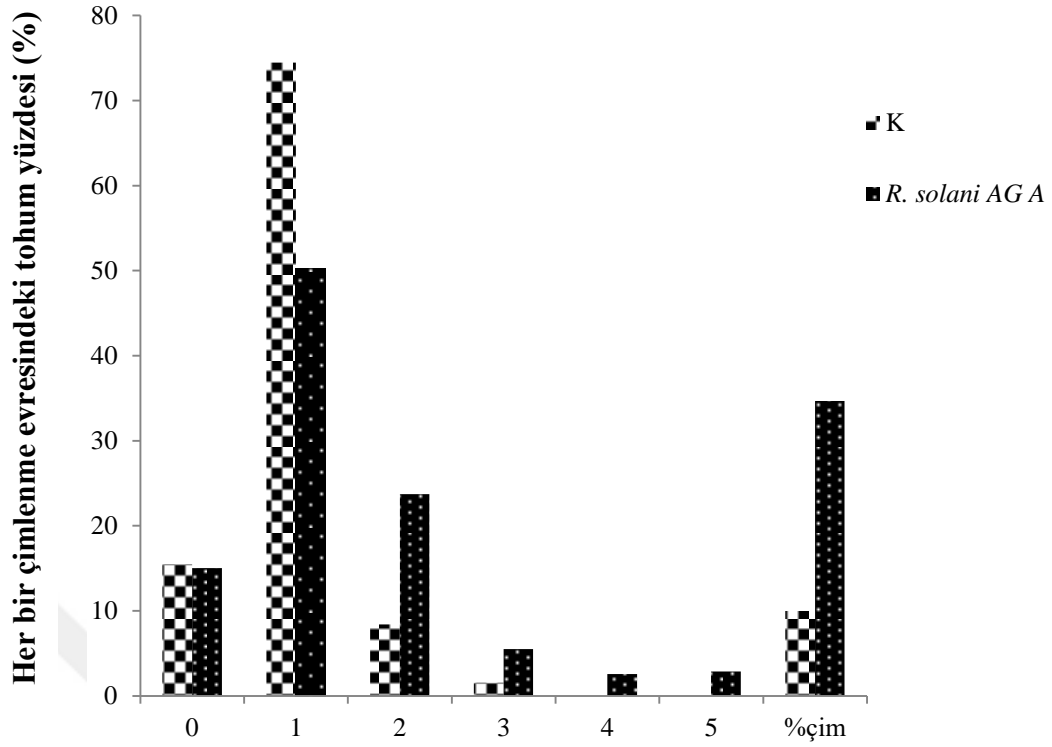
Çizelge 3.2’de fungus türlerinin çimlenme evresi üzerine etkilerinin ortalamalar yönünden ikili karşılaştırmaları görülmektedir ve sonuçlardan da görüldüğü üzere fungus türlerinin G0 çimlenme evresi üzerindeki etkisinin ortalamalar yönünden anlamlı bir farklılık olmasının sebebi *F R. solani* AG A ile F-Snct1 arasında anlamlı bir farklılık olmasıdır.



Steward ve Zettler, 2002’de belirtilen 0-5 dereceli gelişim indeksine göre *O. sancta* tohumlarının gelişim aşamaları

Şekil 3.1. *Orchis sancta* (L.) tohumlarının 3. ayın sonunda fungus içermeyen kontrol grubu, F-Snct1 ve F *R. solani* AG A izolatı içeren deney grupları arasındaki çimlenme aktivitesinin karşılaştırılması

Şekil 3.1’deki grafikte görüldüğü üzere F *R. solani* AG A ve *O. sancta*’nın kendi köklerinden izole edilen F-Snct1 izolatlarının çimlenme ve fide gelişiminin uyardığı fakat F-Snct1 izolatının daha yüksek oranda etki ettiği belirlenmiştir.



Steward ve Zettler (2002)'de belirtilen 0-5 dereceli gelişim indeksine göre *O. sancta* tohumlarının gelişim aşamaları

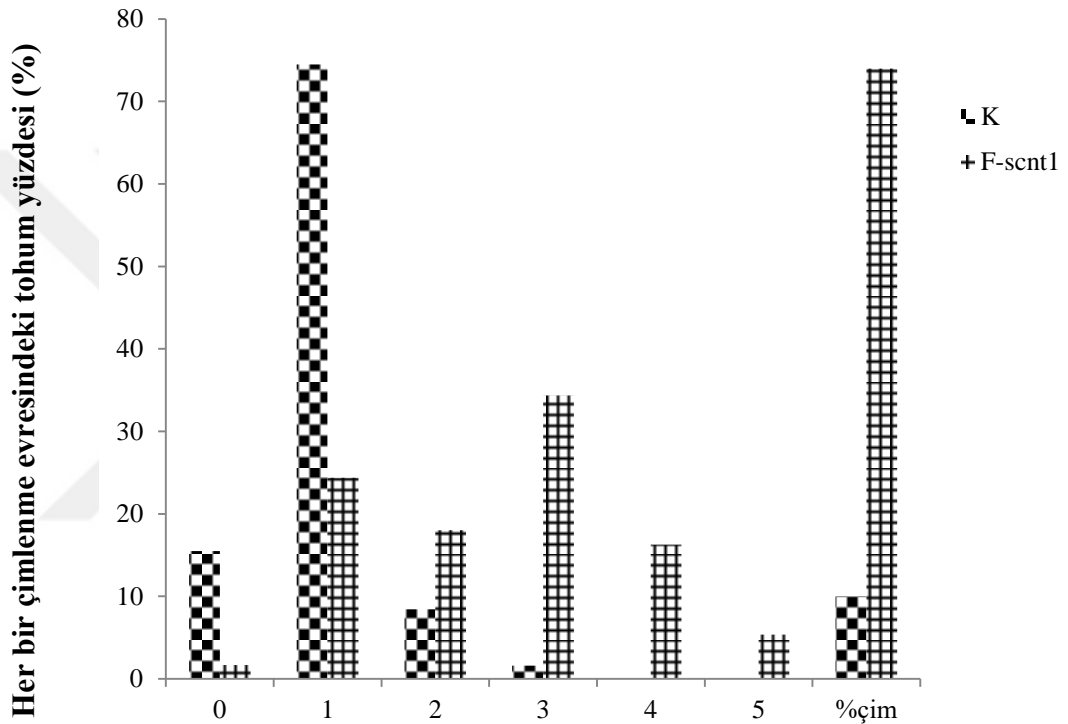
Şekil 3.2. *Orchis sancta* (L.) tohumlarının 3. ayın sonunda fungus içermeyen kontrol grubu ile F *R. solani* AG A izolatı içeren deney grubu arasındaki çimlenme aktivitesinin karşılaştırılması

Şekil 3.2'deki grafikte görüldüğü üzere *R. solani* ile elde edilen köklü fide oranı (5. Safha) oranı F-Snct1 ile elde edilen fidelerin yaklaşık yarısı kadar olmuştur. *R. solani* AG A ile karşılaştırıldığında kontrol grubunun çimlenmede daha az etkili olduğu görülmektedir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında *R. solani* AG A'nın çimlenmede daha etkili olduğu görülmektedir.

O. sancta tohumlarının F *R. solani* AG A izolatı ile çimlendiğinde % 34,71'inin çimlendiği ve çimlenen örneklerden % 2,87'sinin fideye dönüştüğü gözlenmiştir. Fungus içermeyen kontrol grubuna ait simbiyotik tüplerde çimlenmenin olmadığı ve protokorm oluşmadığı belirlenmiştir.

O. sancta ile yapılan denemelerde kullanılan izolatların çimlenmede başarılı sonuçlar vermesi çimlenme için *O. sancta*'nın uygun fungus spesifikliği göstermediğini ortaya koymaktadır.

O. sancta tohumlarının fungus ile inoküle edilmediği kontrol grubunda % 10'unun G3 evresine kadar çimlendiği ve çimlenen örneklerden % 0'ının fideye dönüştüğü gözlenmiştir.



Steward ve Zettler (2002)'de belirtilen 0-5 dereceli gelişim indeksine göre *O. sancta* tohumlarının gelişim aşamaları

Şekil 3.3. *Orchis sancta* (L.) tohumlarının 3. ayın sonunda fungus içermeyen kontrol grubu ile F-Snct1 izolatı içeren deney grubu arasındaki çimlenme aktivitesinin karşılaştırılması

Şekil 3.3'teki grafikte görüldüğü üzere *O. sancta* tohumlarının F-Snct1 izolatı ile inoküle edildiğinde % 73,97'sinin çimlendiği ve çimlenen örneklerden % 5,35'inin fideye dönüştüğü gözlenmiştir.

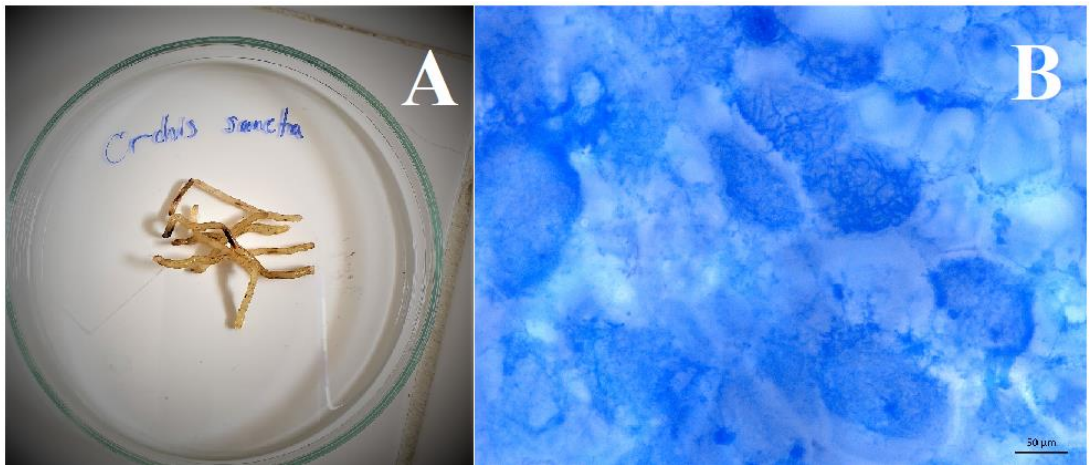
F-Snct1 ile karşılaştırıldığında kontrol grubunun çimlenmede daha az etkili olduğu görülmektedir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında F-Snct1'in çimlenmede daha etkili olduğu görülmektedir.

Fungus içermeyen kontrol grubuna ait simbiyotik tüplerde çimlenmenin olmadığı ve protokorm oluşmadığı belirlenmiştir. Orkide-fungus mikorizal etkileşiminin, protokorm oluşturma yüzdelere pozitif etkilerinin olduğu gözlenmiştir.

Orkide-fungus mikorizal etkileşiminin sürgün uzaması, yaprak oluşumu ve kök uzaması üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. En yüksek sürgün uzaması F-Snct1 içeren ortamda 2,7 cm ile gözlenmiştir. En yüksek kök uzaması F-Snct1 içeren ortamda 1,5 cm ile gözlenmiştir. Yaprak sayısı en fazla olan fidenin F-Snct1 içeren ortamda geliştiği ve 4 yaprak bulundurduğu belirlenmiştir.

3.2. Kullanılan Fungal İzolatların Morfolojik İncelenmesi

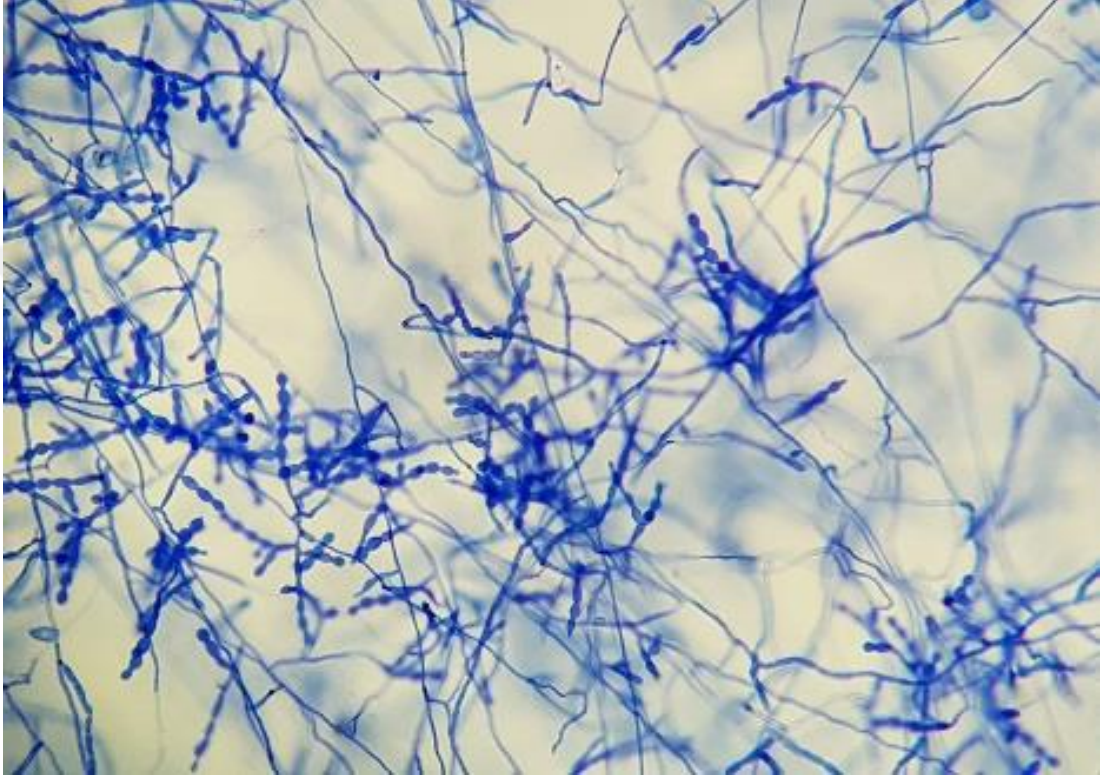
O. sancta bitkisinin kök kısımlarından yapılan ilk izolasyon sonucunda elde edilen F-Snct1 kod adlı fungusun morfolojik incelemeleri sonucunda *Rhizoctonia* benzeri bir fungus olduğu belirlenmiştir. *F. R. solani* AG A ve F-Snct1 funguslarının morfolojik incelemeleri sonucu saptanan hif yapıları ve monilioid yapıları Şekil 3.5 ve Şekil 3.6'da gösterilmiştir.



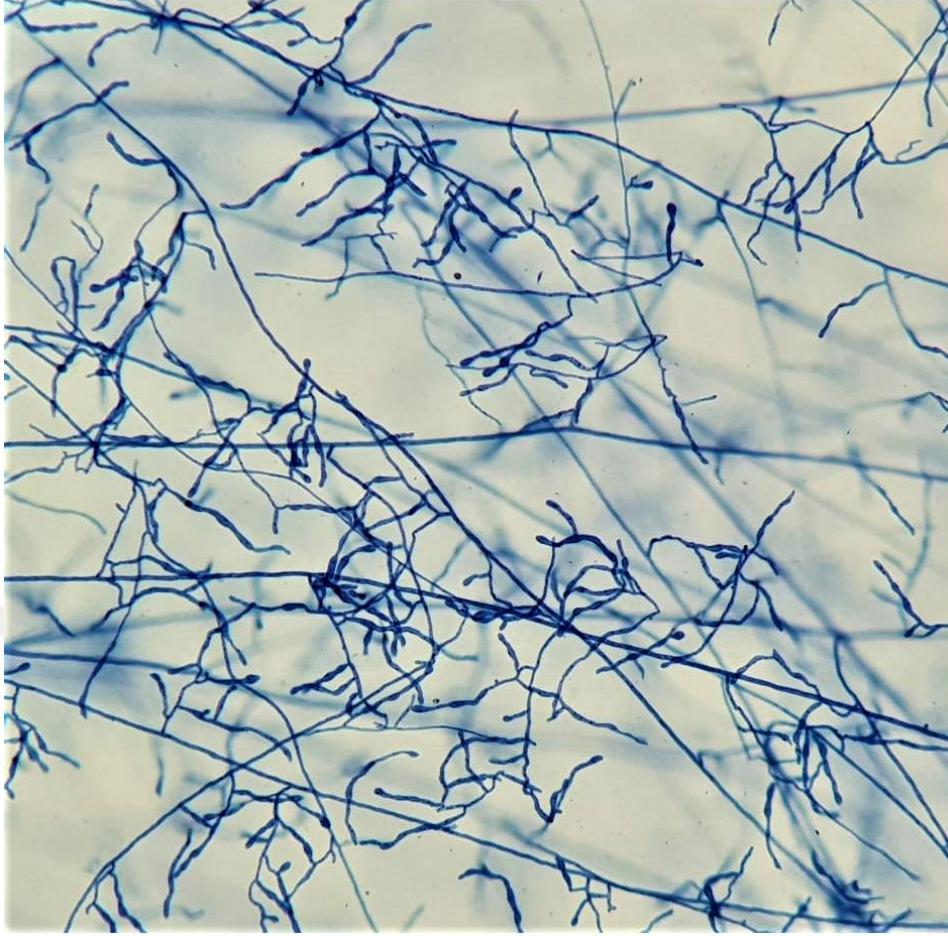
Şekil 3.4. A) F-Snct1 izolatu için ayrılan canlı hif yumaklarını bulunduran kök örnekleri

B) Kök enine kesitinde incelenen canlı hif yumaklarının binoküler ışık mikroskobu görüntüsü

Araziden alındıktan sonra zaman kaybetmeden kök örnekleri akan musluk suyu altında üzerindeki toprak kalıntılarında arındırılarak canlı hif yumakları bulundurup bulundurmadığı ışık mikroskobu altında incelendiğinde kök korteksinde konumlandığına bakılarak belirlenmiş ve uzun süre saklanması için fungus izolasyon ortamına aşılanmıştır.



Şekil 3.5. *F R. solani* AG A izolatlarının ışık mikroskobu görüntüsü



Şekil 3.6. F-Snct1 izolatının ışık mikroskobu görüntüsü

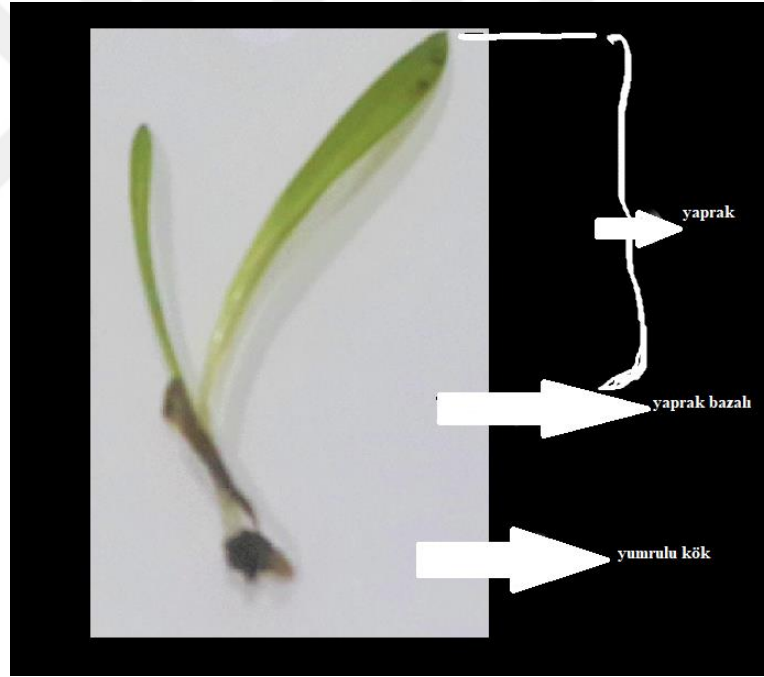
Orchis sancta tohumlarının *in vitro* simbiyotik çimlenmesinde kullanılan F-Snct1 ile *F. R. solani* AG A fungal izolatların morfolojik özellikleri Şekil 3.5 ve Şekil 3.6'da gösterilmiştir.

3.3. Fide Gelişimi

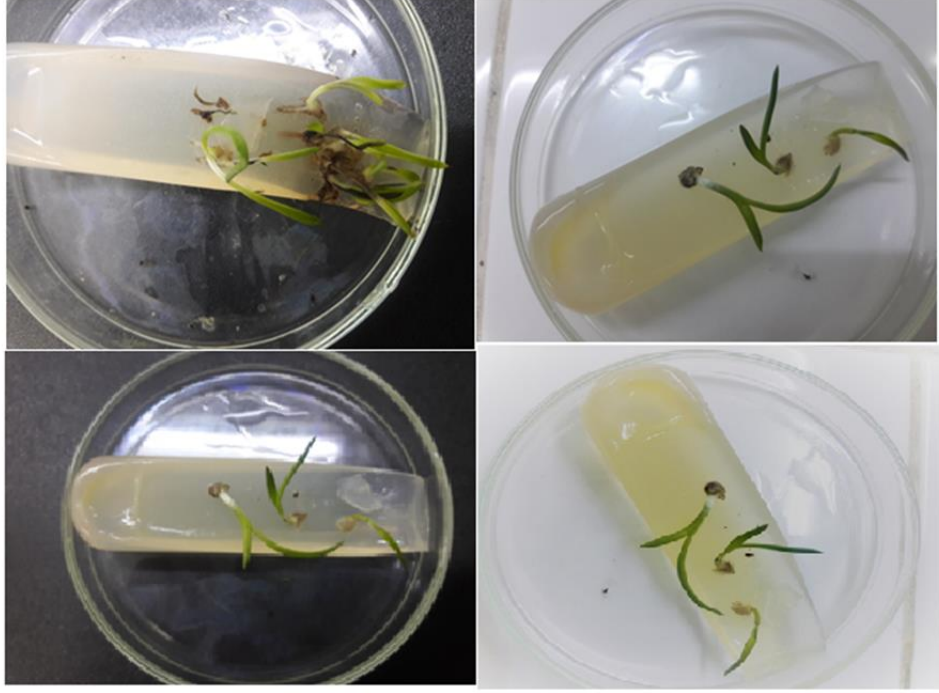
Fungal izolatların tohumların bulunduğu simbiyotik kültür ortamına aşılmasından 15 gün sonra tohum kabuğu çatlamış ve protokorm oluşumu görülmüştür. 3 ay sonunda çimlenen tohumlar tam bir fide oluşturmuştur. 3 ay sonunda oluşan fidelerin kök ve yaprak sayıları ile uzunlukları Çizelge 3.3'te gösterilmektedir.

Çizelge 3.3. 3 ay sonunda oluşan fidelerin kök ve yaprak sayıları ile uzunluklarının farklı izolat türlerine göre karşılaştırılması

	F-Snct1 izolatu ile çimlenen tohum ve gelişen fide	F <i>R. solani</i> AG A izolatu ile çimlenen tohum ve gelişen fide
Kök sayısı	1	1
En uzun kök uzunluğu	1,5 cm	0,7 cm
Yaprak sayısı	2	2
En uzun yaprak uzunluğu	2,7 cm	1,9 cm

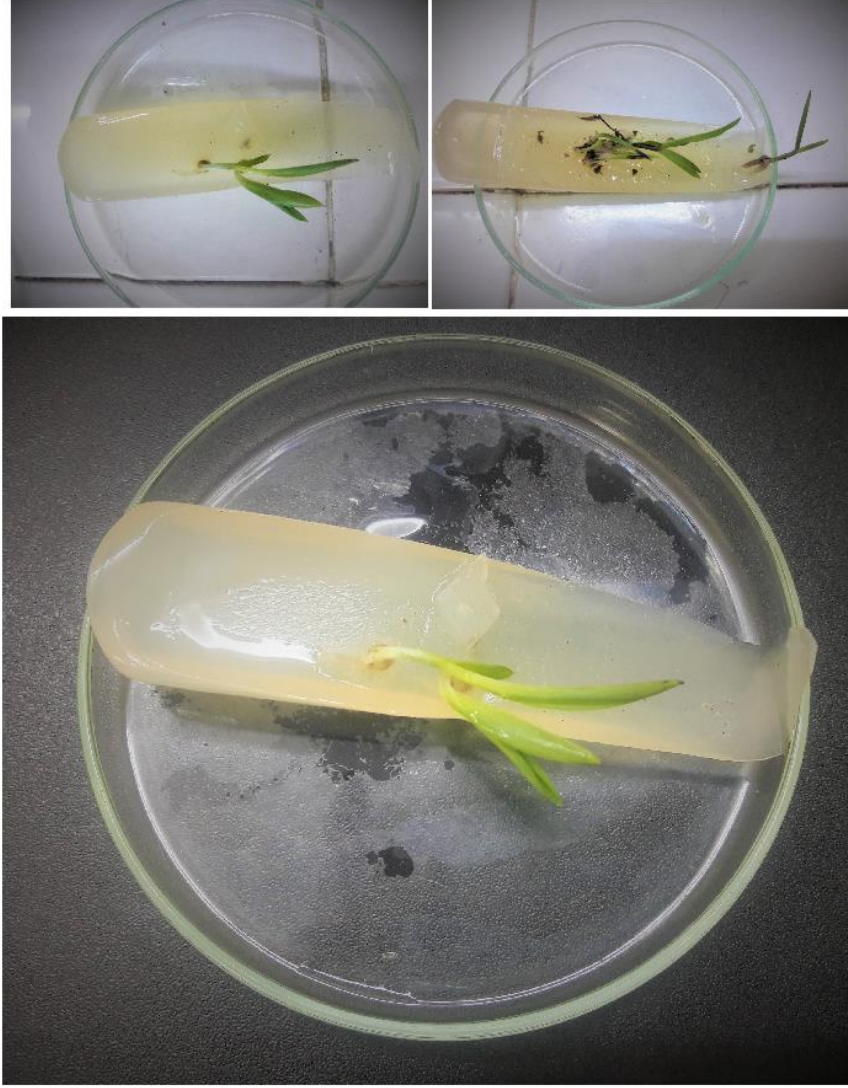


Şekil 3.7. Tam bir *Orchis sancta* fidesinin genel kısımları



Şekil 3.8. F-Snct1 izolatu inoküle edilen simbiyotik tüplerde çimlenen *Orchis sancta* tohumları

F-Snct1 izolatu ile çimlendirilen *O. sancta* tohumlarının % 73,97'sinde G2 ve daha ileriki gelişme evreleri görülmüştür. Çimlenme sonucu tohumların % 5,35'i ise köklü ve gerçek yapraklı fide aşamasına ulaşmıştır.



Şekil 3.9. *F. R. solani* AG A izolatu inoküle edilen simbiyotik tüplerde çimlenen *Orchis sancta* tohumları

F. R. solani AG A izolatu ile çimlendirilen *O. sancta* tohumlarının % 34.71'inde G2 ve daha ileriki gelişme evreleri görülmüştür. Çimlenme sonucu tohumların % 2,87'si ise köklü ve gerçek yapraklı fide aşamasına ulaşmıştır.



Şekil 3.10. 3 aylık periyodun sonunda F *R. solani* AG A izolatlı simbiyotik kültür ortamından toprağa aktarılan *Orchis sancta* fideleri

F-Snct1 ile karşılaştırıldığında F *R. solani* AG A ile elde edilen çimlenme oranı % 34,71 ile F-Snct1'inin yaklaşık yarısı kadar olmuştur. En uzun köklü fidenin kök uzunluğu 0,7 cm ve en uzun yapraklı fidenin yaprak uzunluğu 1,9 cm'dir.



Şekil 3.11. 3 aylık periyodun sonunda F-Snct1 izolatlı simbiyotik kültür ortamından toprağa aktarılan *Orchis sancta* fideleri

F *R. solani* AG A ile karşılaştırıldığında F-Snct1 ile elde edilen çimlenme oranı % 73,97 ile F *R. solani* AG A'nın yaklaşık iki katı kadar olmuştur. En uzun köklü fidenin kök uzunluğu 1,5 cm ve en uzun yapraklı fidenin yaprak uzunluğu 2,7 cm'dir.

4. TARTIŞMA

Türkiye’de orkideler, yumruları salep üretiminde kullanıldığı için özel öneme sahiptir. Yumrularının aşırı toplanması sebebiyle birçok tür yok olma tehlikesi ile karşı karşıyadır. Gerek ticari taleplere cevap verebilmek gerekse yok olma tehdidine karşı önlem alabilmek amacıyla çeşitli, yöntemlerle üretimleri üzerinde yoğun araştırmalar yapılmaktadır (Özkoç ve Dalcı, 1994; Özdener, 1994; Sazak ve Özdener, 2006; Steinfort vd, 2010). Tohumdan üretim çoğunlukla fungus kullanılarak (simbiyotik) ya da fungus kullanılmadan (asimbiyotik) yapılmaktadır. Her iki yöntemde de başarılı sonuçlar alınsa da asimbiyotik yöntem ile elde edilen fidelerin doğal ortama adaptasyonu büyük ölçüde başarısızlıkla sonuçlanmaktadır (Mala vd, 2017). Tohumların uygun bir fungus ile inoküle edilmesine dayanan simbiyotik yöntem ile elde edilen fidelerin doğaya adaptasyonunun daha başarılı olduğu belirtilmektedir (Rasmussen, 1995; Mala vd, 2017).

Çalışmamızda kullanılan orkide türü ve diğer orkide türleri üzerinde önceki yıllarda farklı araştırmacılar tarafından yapılmış araştırmalar bulunmaktadır. Bozdemir vd (2018) tarafından *Orchis sancta* (L.) tohumlarının farklı karbonhidrat çeşitleri bulunan kültür ortamlarındaki asimbiyotik çimlenme çalışmalarında en iyi çimlenme oranının maltoz içeren asimbiyotik ortamda gerçekleştiği ortaya konmaktadır.

Bozdemir vd (2018) tarafından *Orchis sancta* (L.) tohumlarının asimbiyotik çimlenme çalışmalarından elde edilen sonuçlar ile bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında *O. sancta* türünün asimbiyotik ve simbiyotik çimlenme protokolleri üzerine düzenlemeler yapılabilir.

Benzer şekilde Bektaş vd (2013) tarafından her birinde % 2 sükroz bulunan OM (Orchimax medium), POMM (Phytamax orchid multiplication medium), KCM (Knudson C orchid medium) ve LM (Lindeman orchid medium) olmak üzere 4 farklı temel ortamda *Orchis coriophora* tohumlarının asimbiyotik çimlenme çalışmalarında en etkili çimlenme oranı % 27,4 ile OM ortamında gözlenmiş ve asimbiyotik çimlenme başarıyla gerçekleştirilmiştir. Bektaş vd (2013) tarafından *Orchis coriophora* tohumlarından asimbiyotik çimlenme ile yapraklı ve köklü tam bir fide üretimi gerçekleştirilmiş olup bu araştırmada ise *Orchis sancta* tohumlarından simbiyotik çimlenme ile yapraklı ve köklü tam bir fide üretimi gerçekleştirilmiştir.

F *R. solani* AG A ve *O. sancta*'nın kendi köklerinden izole edilen F-Snct1 izolatlarının çimlenme ve fide gelişiminin uyardığı fakat F-Snct1 izolatının daha yüksek oranda etki ettiği belirlenmiştir. F *R. solani* AG A izolatının, *Spiranthes spiralis* tohumlarının çimlenme ve fide gelişiminde çok etkili olduğu ve aralarında kuvvetli spesifik bir ilişki bulunduğu yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur (Taylor ve Bruns, 1997; Selosse vd, 2002; Sazak ve Özdenler, 2006; Dearnaley vd, 2012; Kömpe ve Mutlu, 2017). Bu sonuç, her orkide türüne ait tohumların çimlenme ve fide gelişimini teşvik eden fungus ya da fungusların farklı olabileceğini ortaya koymaktadır.

Ayrıca bazı orkidelerle funguslar arasında kuvvetli bir spesifik ilişki olduğu halde bazılarında bu ilişkinin olmadığı ifade edilmektedir (Hadley, 1970; Warcup, 1985; Muir, 1989; Rasmussen, 1995; McCormick vd, 2004; Bonnardeaux vd, 2007). Nitekim Rasmussen (1995)'e göre kış aylarında yeşil olmayan bahar aylarında filizlenen bir orkide türü olan *Orchis purpurea* protokorm oluşumu ve gelişimi için spesifik fungal bağımlılığı göstermektedir.

Arakan bölgesi orkidelerinin *Thanatephorus* teleomorf'a ait funguslarıyla mikorizal spesifiklik gösterdiği belirlenmiştir (Currah vd, 1997; Corrêa vd, 2011; Pereira vd, 2014). Şili orkidelerinden olan *Chloraea collicensis* ve *Chloraea gavilu* *Rhizoctonia* benzeri fungusların bir ailesi olan Tulasnellaceae orkide funguslarıyla mikorizal spesifiklik göstermektedir (Pereira vd, 2014). Diğer Şili orkide türleri ise diğer *Basidiomycota* funguslarıyla mikorizal spesifiklik göstermektedir (Steinford vd, 2010).

Çalışmamızda F *R. solani* AG A izolatı, F-Snct1 izolatı ile karşılaştırıldığında çimlenme oranının F-Snct1 izolatına göre % 50 daha az olduğu ve kontrol grubunun ise çimlenmeyi hiçbir şekilde teşvik etmediği görülmektedir. Fungus izolatı içeren deney grupları kontrol grubuna kıyasla dikkat çekici bir şekilde çimlenmeyi teşvik etmektedir. 3 aylık inkübasyon sonucunda G0 evresinde kalan tohum sayılarını kıyasladığımızda en fazla sayının kontrol grubunda olduğu gözlenmiştir. Bu durum *O. sancta* tohumlarının çimlenebilmek için fungal bağımlı olduklarının kanıtıdır. Bir başka deyişle, fungus ile aşılamanın orkide tohumlarının çimlenmesinde ne kadar önemli olduğunu göstermektedir.

Orkide mikorizal fungusları genellikle *Rhizoctonia* benzeri özellikler göstermektedir (Garcia vd, 2006; Pereira vd, 2014). Fakat bazı araştırcılar orkide köklerinde mikorizal birliğe katılan fungusların *Rhizoctonia* dışı funguslar olabildiğini ortaya koymuşlardır (Richardson ve Currah, 1995; Bayman vd, 1997; Bayman ve Otero, 2006; Dearnaley, 2007; Kömpe ve Mutlu, 2017). Orkide köklerindeki *Rhizoctonia* dışı mikorizal fungusların tohum çimlenmesini teşvik ettiğine ve tam tersi teşvik etmediği yönünde araştırma bulguları farklı araştırcılar tarafından ortaya konmuştur (Richardson ve Currah, 1995; Bayman vd, 1997; Kömpe vd, 2018).

Epifitik orkidelerin yanı sıra açık habitatlar ve ormanlardaki karasal orkidelerin *Tulasnella*, *Ceratobasidium* ve *Sebacina* funguslarıyla mikorizal ilişki kurdukları bulunmuştur (Taylor vd, 2002b; Dearnaley, 2007; Shefferson vd, 2005, 2007, 2008, 2010).

Karasal orkideler doğal popülasyonlarda simbiyotik mikroorganizmalardan çeşitli şekillerde yararlanmaktadır (Girlanda vd, 2011). Zorunlu mikoheterotrofik bitkiler fotosentetik olmayan ve bütün hayatı boyunca organik C ihtiyacını mikorizal funguslardan karşılamak zorunda olan bitkilerdir (Leake, 1994). Zorunlu mikoheterotrofik bitkilerin mikorizal spesifiklik derecesinin düşük olduğu ifade edilmiştir (Leake, 2004; Bidartondo, 2005; Merckx vd, 2009; Hynson ve Bruns, 2010).

R. solani'nin bazı anastomoz grupları orkide dışındaki bitkiler için patojen olmasına rağmen orkidelerle başarılı bir simbiyotik ilişki kurmakta ve *in vitro* simbiyotik çimlenme deneylerinde çimlenmeyi teşvik etmektedir (Masuhara vd, 1993; Perkins ve McGee, 1995; Rasmussen, 1995; Carling vd, 1999; Shimura vd, 2009). Mutlu (2014) tarafından domatesin köklerinden izole edilen *R. solani* AG A zayıf bir patojen olarak bilinmektedir ve bu araştırmada *O. sancta* tohumları ile kuvvetli simbiyotik birlik kurmaktadır.

Sazak ve  zdener (2006) tarafından yapılan araştırmada, bin kleat *Rhizoctonia solani* AG A'nın *D. osmanica* var. *osmanica* ve *Spiranthes spiralis* orkide türleriyle de başarılı bir simbiyotik ilişki kurduğu belirlenmiş olup bulgular araştırmamızın sonuçları ile uyumludur.

Orkide türlerinden elde edilen izolatlarla çimlenmenin uyarılması ve protokorm gelişmesi her zaman görülmeyebilir. Bazı orkide türlerinde fungus ile simbiyotik uyum yoksa bir fungus parazit veya etkisiz olabilir ve tohumların ölümüne yol açabilir (Hadley, 1970; Beyrle vd, 1995; Zettler vd, 1999; Shimura ve Koda, 2005). Nitekim Aytaş (1994) tarafından yapılan bir araştırmada *Ophrys apifera* Hudson tohumlarının simbiyotik çimlenme denemelerinde çimlenme olmamıştır.

R. solani Kühn orkide köklerinde veya orkide dışı bitkilerin köklerinde bulunan embriyo gelişimi ve fide gelişimini uyaran bir endofittir (Downie, 1959). *R. solani* Kühn patatesten gümüş kepek hastalığı ve buğdayda göz leke hastalığına yol açan bir patojenik ajandır (Downie, 1957).

Thanatephorus cucumeris olarak da bilinen *Rhizoctonia solani* Kühn 13 anastomoz grubundan oluşan geniş ekim alanlarına sahip patates, domates ve pancar gibi bitkilerin köklerinde çürümeye neden olan toprak kaynaklı parazit ve saprofit bir bitki fungusudur (Naito, 2006).

Benzer şekilde orkide köklerinden izole edilen *Rhizoctonia stahlia* Burgeff'in *Dactylorhiza maculate* Lindley tohumlarının çimlenmesine yardımcı olduğu bildirilmiştir (Beyrle vd, 1985).

Farklı sebze ve tahıl bitkilerinde çeşitli hastalıklara yol açan *Rhizoctonia solani* farklı anastomoz gruplarının bazı orkide tohumlarının çimlenmesini ve fide gelişimini teşvik ettikleri ortaya konmuştur (Masuhara vd, 1993). AG-12, *R. solani* AG'leri arasında Avustralya orkidesi *Pterostylis acuminata* (R. Br) ile mikorizal etkileşimde bulunan bir anastomoz grubudur (Carling vd, 2002).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bitki doku kültürü geleneksel tarım ürünlerinin çoğaltılması ve geliştirilmesine önemli katkılarda bulunan köklü bir teknolojidir. *In vitro* morfogenezin biyolojik süreçlerinin fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yönleriyle anlaşılmasıyla *in vitro* doku kültürüyle bitki büyüme ve gelişmesi büyük ölçüde ilerleyecektir.

Deney grupları içerisinde en yüksek çimlenme oranının simbiyotik çimlenme ortamında F-Snct1 izolatu ile % 73,97 olduğu bulunmuştur. Simbiyotik çimlenme ortamında fungus içermeyen kontrol grubunda ise (% 0) olduğu bulunmuştur. *Orchis sancta* (L.)'nın köklerinden izole edilen fungusun çimlenme ve gelişmeyi teşvik ettiği belirlenmiştir. *In vitro* tohum çimlenme orkid fidesi üretiminde ve doğal habitatlarında doğal yollarla üremelerinde etkili bir metottur (Stewart ve Kane, 2006).

Türkiye'de salep üretimi ve ilaç yapımı amacıyla kullanılan orkideler doğadan izinsiz olarak toplanmaktadır. Çiçeklenme döneminde doğadan toplanan orkidelerin yeni yıla ait yumrusu süt, yoğurt veya suda kaynatılarak yumrunun içsel gelişimi durdurulmakta ve baharda yeni bir orkidenin oluşması engellenmektedir. Böylece doğadan bir birey eksilmektedir.

Türkiye'de orkidelerin etkili bir yöntem ile üretilmeleri hem nesli tehdit altında olan türlerin kültüre alınarak tahribatın iyileştirilmesi hem de ekonomik amaçla çok miktarda üretilebilmesi için acil olarak yapılması gereken bir eylemdir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçları kısaca özetlediğimizde *Orchis sancta* (L.) tohumlarının çimlenmesinde ve protokormlarının oluşmasında en etkili izolatu *Orchis sancta* (L.)'nın köklerinden izole edilen F-Snct1 kodlu fungus izolatu olduğu, kontrol grubunda çimlenme ve protokorm gelişiminin çok düşük olduğu ve ileri seviyede bir gelişme olmadığı belirlenmiştir.

Orchis sancta Lindley tohumlarının çimlenmesinde ve protokormlarının oluşmasında domatesin köklerinden izole edilen *F Rhizoctonia solani* AG A'nın *O. sancta* Lindley'nin köklerinden izole edilen F-Snct1 kodlu fungus izolatu oranla yarı yarıya etkili olmakla birlikte köklü ve yapraklı fide gelişimini teşvik ettiği belirlenmiştir. Ayrıca *F Rhizoctonia solani* AG A, bu orkidenin üretimi için alternatif fungus olarak düşünülebilecektir. *O. sancta*, Ege ve Akdeniz bölgelerinde salep ve dondurma katkı maddesi üretimi için en fazla kullanılan türlerden biridir.

Bunun yanı sıra Ege ve Akdeniz bölgeleri gözde turistik beldelere sahip olması sebebiyle ağır habitat tahribatı altındadır. Gerekli önlemler alınmadığı takdirde yakın gelecekte bu ve diğer orkideler yok olacaktır. Bu tehlikeye karşı en önemli tedbir orkide çeşitliliğini gen kaynakları seviyesinde korumak ve bu bitkileri tohumdan üreterek yeni orkide populasyonları oluşturmaktır.

Bu çalışmada uygulanan simbiyotik yöntem ile hem yüksek oranda çimlenme sağlanmış hem de gelişen fidelerin doğal ortama adapta olabildiği görülmüştür. Simbiyotik üretim yöntemi ile elde edilen fidelerin doğaya dikilmesiyle yeni *O. sancta* populasyonu oluşturulabilecektir.

Bu araştırmamızda *O. sancta* Lindley (Orchidaceae) tohumlarının simbiyotik olarak çimlendirilip fide gelişimi ve elde edilen fidelerin toprağa aktarılması incelenmiştir.

O. sancta'nın köklerinden izole edilen F-Snct1 ve fungus kültür koleksiyonunda bulunan *F. R. solani* AG A izolatları kullanılarak *O. sancta* tohumları *in vitro* simbiyotik kültür ortamında çimlendirilip fide gelişimi takip edilmiştir. *O. sancta* Lindley'nin yapraklı, yumrulu ve köklü tam fideleri *F. R. solani* AG A ve *O. sancta* Lindley'nin kendi köklerinden izole edilen F-Snct1 izolatları kullanılarak elde edilmiştir.

Araştırma bulgularına dayanarak simbiyotik tohum çimlendirme yöntemleri nadir bulunan karasal orkide türlerinin korunması noktasında başarılı sonuçlar vadetmektedir.

KAYNAKLAR

- Ackerman, J. D. and Montalvo, A. M. 1990. Short - and long - term limitations to fruit production in a tropical Orchid. *Ecological Society of America*, 71: 1, 263-272.
- Aggarwal, S. and Zettler, L. W. 2010. Reintroduction of an endangered terrestrial Orchid, *Dactylorhiza hatagirea* (D. Don) Soo, assisted by symbiotic seed germination: First report from the Indian subcontinent. *Nature and Science*, 8: 10, 139-145.
- Aggarwal, S. R. 2012. What's fueling the biotech engine-2011 to 2012. *Nature Biotechnology*, 30: 12, 1191-1197.
- Aggarwal, S., Nirmala, C., Beri, S., Rastogi, S. and Adholeya, A. 2012. *In vitro* symbiotic seed germination and molecular characterization of associated endophytic fungi in a commercially important and endangered Indian Orchid *Vanda coerulea* Griff. Ex Lindley. *European journal of environmental sciences*, 2: 1.
- Agustini, V., Sufaati, S., Suharno, S. and Suwannasai, N. 2016. *Rhizoctonia*-like fungi isolated from roots of *Dendrobium lancifolium* var. *papuanum* and *Calanthe triplicata* in Papua, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 17: 1, 377- 383.
- Alexander, C. and Hadley, G. 1983. Variation in symbiotic activity of *Rhizoctonia* isolates from *Goodyera repens* mycorrhizas. *Transactions of the British Mycological Society*, 80: 1, 99-106.
- Alexander, C. and Hadley, G. 1985. Carbon movement between host and mycorrhizal endophyte during the development of the orchid *Goodyera repens* R. Br. *New Phytologist*, 101: 4, 657-665.
- Andersen, T. F. and Rasmussen, H. N. 1996. The mycorrhizal species of *Rhizoctonia*. *Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control*, 14: 10, 379-390.
- Anderson, A. B. 1991. Symbiotic and asymbiotic germination and growth of *Spiranthes magnicamporum* (Orchidaceae). *Lindleyana*, 6, 183-186.
- Anonymous, 2017. World checklist of selected plant families facilitated by the Royal Botanic Gardens. <http://apps.kew.org/wcsp/> (Erişim tarihi: 10.07.2017)
- Arabacı, O., Tan, U., Yıldız, Ö. and Tutar, M. 2017. Effect of different harvest times on some quality characteristics of cultivated sahlep orchid *Serapias vomeracea* (Burm. fill.) Brig. *International Journal of Secondary Metabolite*, 4: 3, 445-451.
- Arditti, J. 1966. Orchids. *Scientific American*, 214: 1, 70-81.

- Arditti, J. 1967. Factors affecting the germination of Orchid Seeds. *The Botanical Review*, 33: 1, 1-97.
- Arditti, J. 1980. *Advances in Botanical Research* (Seventh edition). Academic Press, 422-638, London.
- Arditti, J. 1992. *Fundamentals of orchid biology*. John Wiley and Sons, 704, New York.
- Arditti J. 1996. Orchid micropropagation: the path from laboratory to commercialization and an account of several unappreciated investigations. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 122, 183-211.
- Arditti, J. and Ernst, R. 1993. *Micropropagation of orchids*. John Wiley and Sons, 640, New York.
- Arditti, J. and Ghani, A. K. A. 1999 Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytologist*, 145, 367–421.
- Arditti, J. and Ghani, A. K. A. 2000. Tansley Review No. 110. Numerical and physical properties of Orchid seeds and their biological implications. *The New Phytologist*, 145: 3, 367-421.
- Arditti, J. and Krikorian, A. D. 1996. Orchid micropropagation: the path from laboratory to commercialization and an account of several unappreciated investigators. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 122: 3, 183-241.
- Arditti, J., Ernst, R., Yam, T. W. and Glabe, C. 1990. The contribution of orchid mycorrhizal fungi to seed germination: a speculative review. *Lindleyana*, 5: 4, 249-255.
- Atala, C., Pereira, G., Romero, G. Muñoz-Tapia, L., Vargas, R. and Suz, L. M. 2015. Orchidoid fungi of the form-genus *Rhizoctonia* Associated with The roots of *Chloraea cuneata* Lindley from Araucanía, Chile. *Gayana – Botanica*, 72: 1, 145-148. doi:10.1093/treephys/tpq063
- Athipunyakom, P., Manoch, L., Piluek, C., Artjariyasripong, S. and Tragulrung, S. 2004. Mycorrhizal fungi from *Spathoglottis plicata* and the use of these fungi to germinate seeds of *S. plicata* *in vitro*. *Kasetsart Journal Natural Sciences*, 38: 1, 83-93.
- Atwood, J. T. 1984. The relationships of the slipper Orchids (Subfamily Cypripedioideae, Orchidaceae). *Selbyana*, 7: 2, 129-247.
- Atwood, J. T. 1986. The size of the Orchidaceae and the systematic distribution of epiphytic orchids. *Selbyana*, 9, 171-186.
- Aydın, O., Coşkunçelebi, K., Gültepe, M. and Güzel, M. E. 2012. A Contribution to taxonomy of *Centaurea* including *Psephellus* (Asteraceae) based on anatomical and molecular data. *Turkish Journal of Botany*, 37, 419-427.

- Aytaş, A. 1994. Bazı *Ophrys* L. (Orchidaceae) türlerinden simbiyotik fungus izolasyonu ve *Ophrys apifera* Hudson tohumlarının asimbiyotik ve simbiyotik ortamlarda çimlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Backhouse, G. and Cameron, D. 2005. Application of International Union for Conservation of Nature 2001 red list categories in determining the conservation status of native orchids of Victoria, Australia. *Selbyana*, 26: 58-74.
- Backhouse, G. N. 2007. Are our Orchids safe down under? A national assessment of threatened Orchids in Australia. *Assessment of threatened Orchids Australia*, 7: 1-2, 28-43.
- Ballantyne, M. and Pickering, C. M. 2013. Tourism and recreation: A common threat to International Union for Conservation of Nature red-listed vascular plants in Europe. *Biodiversity and Conservation*, 22, 3027-3044.
- Ballion, G. and Ballion, M. 1924. The non-symbiotic germination of orchid seed in Belgium. *Orchid Review*, 32, 305-309.
- Barreto, D. W. and Parente, J. P. 2006. Chemical properties and biological activity of a polysaccharide from *Cyrtopodium cardiochilum*. *Carbohydrate Polymers*, 64, 287-291.
- Barros, F., Vinhos, F. and Rodrigues, V. T. 2015. *Orchidaceae in lista de espécies da Flora do Brasil*. Rio de Janeiro, Brasil.
- Barthlott, W. 1976. Morphologie der Samen von Orchideen im Hinblick auf taxonomische und funktionelle Aspekte. Proceedings of the Eighth World Orchid Conference (WOC-8), 10-17 April, Book of Abstracts, 444-455, Frankfurt, Deutsche.
- Bartnicki-Garcia, S. 1973. *Symposium of the Society of General Microbiology* (Twenty Third edition). Cambridge University Press, 245-267, England.
- Batty, A. L., Dixon, K. W., Brundrett, M. and Sivasithamparam, K. 2001 . Constraints to symbiotic germination of terrestrial orchid seed In a Mediterranean Bushland. *New Phytologist*, 152: 3, 511-520.
- Batty, A. L., Dixon, K. W., Brundrett, M. C. and Sivasithamparam, K. 2002. Orchid conservation and mycorrhizal associations. *Microorganisms in Plant Conservation and Biodiversity*, 7, 195–226.
- Bauer, R., Mendgen, K. and Oberwinkler, F. 1995. Cellular interaction of the smut fungus *Ustacystis waldsteiniae*. *Canada Journal Botany*, 73, 867-883.
- Bayman, P. 2012. Growing epiphytic orchids from seed: a simple, nonsterile, symbiotic method. *Orchids*, 81: 9, 564-567.

- Bayman, P. and Otero, J. T. 2006. Microbial endophytes of orchid roots. *Springer*, 9, 153-177.
- Bayman, P., Lebron, L. L., Tremblay, R. L. and Lodge, D. J. 1997. Variation in endophytic fungi from roots and leaves of *Lepanthes* (Orchidaceae). *The New Phytologist*, 35: 1, 143-149.
- Baytop, T. and Sezik, E. 1968. Türk salep çeşitleri üzerinde araştırmalar. *Journal of the Faculty of Pharmacology*, 4, 61-68.
- Bektaş, E., Cüce, M., and Sökmen, A. 2013. *In vitro* germination, protocorm formation and plantlet development of *Orchis coriophora* (Orchidaceae), a naturally growing orchid species in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 37: 2, 336-342.
- Bellino, A., Alfani, A., Selosse, M. A., Guerrieri, R., Borghetti, M. and Baldantoni, D. 2014. Nutritional regulation in mixotrophic plants: new insights from *Limodorum abortivum*. *Oecologia*, 175: 3, 875-885.
- Bending, G. D. and Read, D. J. 1997. Lignin and soluble phenolic degradation by ectomycorrhizal and ericoid mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 101: 11, 1348-1354.
- Benzing, D. H. 1987. Vascular epiphytism: taxonomic participation and adaptive diversity. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 74, 183-204.
- Bermudes, D. and Benzing, D. H. 1989. Fungi in neotropical epiphyte roots. *BioSystems*, 23: 1, 65-73.
- Bernard, N. 1899. Sur la germination du *Neottia nidus-avis*. *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Séances de l'Académie Des Sciences*, 128, 1253-1255.
- Bernard, N. 1909. *Annales des sciences naturelles Botanique* (Ninth edition). Masson et Cie, 9, 1-196, Paris.
- Beyrle, H. F., Smith, S. E., Franco, C. M. M. and Peterson, R. L. 1995. Colonization of *Orchis morio* protocorms by a mycorrhizal fungus: effects of nitrogen nutrition and glyphosate in modifying the responses. *Canadian Journal of Botany*, 73: 8, 1128-1140.
- Beyrle, H., Pennigsfeld, F. and Hock, B. 1985. Orchid mycorrhiza: Symbiotic propagation of the some *Dactylorhiza* Species. *Zeitschrift-fur-Mykologie*, 51: 2, 185-198.
- Bidartondo, M. I. 2005. The evolutionary ecology of myco-heterotrophy. *New Phytologist*, 167: 2, 335-352.
- Bidartondo, M. I., Burghardt, B., Gebauer, G., Bruns, T. D. and Read, D. J. 2004. Changing partners in the dark: isotopic and molecular evidence of ectomycorrhizal liaisons between forest orchids and trees. *Biological Sciences*, 271: 1550, 1799-1806.

- Black, P. M. 1973. *Orquídeas*. Ao Livro Técnico, Rio de Janeiro, Brasil.
- Blanco, M. A. and Barboza, G. 2005. Pseudocopulatory pollination in *Lepanthes* (Orchidaceae: Pleurothallidinae) by fungus gnats. *Annals of Botany*, 95: 5, 763-772.
- Blechert, O., Kost, G., Hassel, A., Rexer, K. H. and Varma, A. 1999. *First remarks on the symbiotic interaction between Piriformospora indica and terrestrial orchids* (Second edition). Springer, 683-688, Berlin.
- Boesewinkel, F. D. and Bouman, F. 1984. *Embryology of Angiosperms*. Springer, 567-610, Berlin, Germany.
- Bonfante, P. and Genre, A. 2010. Mechanisms underlying beneficial plant – fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature communications*, 1: 4, 1-11. doi: 10.1038/ncomms1046
- Bonkowski, M. 2004. Abstract. *New Phytologist*, 162: 3, 617-631.
- Bonnardeaux, Y., Brundrett, M., Batty, A., Dixon, K., Koch, J. and Sivasithamparam, K. 2007. Diversity of mycorrhizal fungi of terrestrial Orchids: Compatibility webs, brief encounters, lasting relationships and alien invasions. *Mycological Research*, 111, 51-61.
- Bougoure, J. J. and Dearnaley, J. 2005. The fungal endophytes of *Dipodium variegatum* (Orchidaceae). *Australasian Mycologist*, 24: 1, 15-19.
- Bougoure, J., Ludwig, M., Brundrett, M., Cliff, J., Clode, P., Kilburn, M., and Grierson, P. 2014. High-resolution secondary ion mass spectrometry analysis of carbon dynamics in mycorrhizas formed by an obligately myco-heterotrophic orchid. *Plant, Cell and Environment*, 37: 5, 1223-1230.
- Bozdemir, H., Cig, A. and Türkoğlu, N. 2018. Effects of different concentrations of carbohydrate forms on *Orchis sancta* propagation *In vitro*. *Ecology and Environmental Research*, 16: 4, 4849-4864. doi:10.15666/aeer/1604_48494864
- Brundrett, M. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. *In Advances in Ecological Research Academic Press*, 21, 171-313.
- Brundrett, M. 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biological Reviews*, 79: 3, 473-495.
- Brundrett, M. C. 2007. Scientific approaches to Australian temperate terrestrial orchid conservation. *Australian Journal of Botany*, 55, 293-307.
- Brundrett, M. C. and Abbott, L. K. 1991. Roots of jarrah forest plants. I. Mycorrhizal associations of shrubs and herbaceous plants. *Australian Journal of Botany*, 39: 5, 445-457.

- Brundrett, M. C. and Cairney, J. W. 2002. *Ectomycorrhizas in plant communities and Microorganisms in Plant Conservation and Biodiversity*, Springer, 105-150. Dordrecht, Holland.
- Bunch, W. D., Cowden, C. C., Wurzburger, N. and Shefferson, R. P. 2013. geography and soil chemistry drive the distribution of fungal associations in lady's slipper Orchid, *Cypripedium acaule*. *Botany*, 91: 12, 850-856.
- Burgeff, H. 1909. *Die Wurzelpilze der Orchideen*. Fischer, 89, Germany.
- Burgeff, H. 1936. *Seed germination of the orchids and development of their seedlings with an attachment to practical orchid cultivation*. Gustav Fischer, 312, Germany.
- Burgeff, H. 1959. *Mycorrhiza of orchids*. Ronald Press, 361-395, New York.
- Burges, A. 1939. The Defensive Mechanism In Orchid Mycorrhizas. *New Phytologist*, 38: 3, 273-283.
- Cai, J., Liu, X., Vanneste, K., Proost, S., Tsai, W. C., Liu, K. W. and Zheng, Z. 2015. The genome sequence of the orchid *Phalaenopsis equestris*. *Nature genetics*, 47: 1, 65.
- Cameron, D. D. Preiss, K., Gebauer, G. and Read, D. J. 2009. The chlorophyll-containing Orchid *Corallorhiza trifida* derives little carbon through photosynthesis. *New Phytologist*, 183, 358–364 doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.02853.x
- Cameron, D. D., Johnson, I., Leake, J. R. and Read, D. J. 2007. Mycorrhizal acquisition of inorganic phosphorus by the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens*. *Annals of Botany*, 99: 5, 831-834.
- Cameron, D. D., Johnson, I., Leake, J. R. and Read, D. J. 2008. Giving and receiving: measuring the carbon cost of mycorrhizas in the green Orchid, *Goodyera repens*. *New Phytologist*, 180, 176-184.
- Cameron, D. D., Leake, J. R. and Read, D. J. 2006. Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant-fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens*. *New Phytologist*, 171, 405-416.
- Campbell, E. O. 1962. The mycorrhiza of *Gastrodia cunninghamii* Hook. f. *Transactions and Proceedings of the Royal Society of New Zealand*, 1: 289-296.
- Campbell, E. O. 1963. *Gastrodia minor* Petrie, an epiparasite of manuka. *Transactions and Proceedings of the Royal Society of New Zealand*, 2, 73-81.
- Campbell, E. O. 1964. The fungal association in a colony of *Gastrodia sesamoides* R. Br. *Transactions and Proceedings of the Royal Society of New Zealand*, 2, 37-246.

- Campbell, E. O. 1970. The fungal association of *Yoania australis*. *Transactions of the Royal Society of New Zealand*, 12, 5-12.
- Caramaschi, G. M. C. L. 2001. Propagação *in vitro* de *Cyrtopodium spp.* (Orchidaceae). Master's Thesis, Universidade de Brasília, 71, Brazil.
- Carling, D. E., Baird, R. E., Gitaitis, R. D., Brainard, K. A. and Kuninaga, S. 2002. Characterization of AG-13, a newly reported anastomosis group of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 92: 8, 893-899.
- Carling, D. E., Pope, E. J., Brainard, K. A. and Carter, D. A. 1999. Characterization of mycorrhizal isolates of *Rhizoctonia solani* from an Orchid, including AG-12, A new anastomosis group. *Phytopathology*, 89: 10, 942-946.
- Cevdet, G. and Sebnem, E. 2012. Seed germination and development of *Serapias vomeracea* (Burm. fil.) Briq. *spp. orientalis* greuter in tissue culture. *Research Journal of Biotechnology*, 7: 3, 4-8.
- Chai, D. and Yu, H. 2007. Recent advances in transgenic orchid production. *Global Science Books Orchid Science and Biotechnology*, 1: 2, 34-39.
- Chang, D. C. N. and Chou, L. C. 2001. Seed germination of *Habenaria discolor var. dawsoniana* and the use of mycorrhizae. *Symbiosis*, 30, 29-40.
- Chang, D. C. N. and Chou, L. C. 2007. Growth Responses, enzyme activities, and component changes as influenced by *Rhizoctonia* orchid mycorrhiza on *Anoectochilus formosanus* Hayata. *Botanical Studies*, 48, 445-451.
- Chen, J. T. and Chang, W. C. 2000. Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from callus cultures of *Oncidium* (Orchidaceae). *Plant Science*, 160: 1, 87-93.
- Chen, J. T. and Chang, W. C. 2004. Induction of repetitive embryogenesis from seed-derived protocorms of *Phalaenopsis amabilis var. formosa* Shimadzu. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 40: 3, 290.
- Chen, J., Wang, H. and Guo, S. X. 2012. Isolation and identification of endophytic and mycorrhizal fungi from seeds and roots of *Dendrobium* (Orchidaceae). *Mycorrhiza*, 22: 4, 297-307.
- Chet, I., Henis, Y. and Mitchell, R. 1967. Chemical composition of hyphal and sclerotial walls of *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Canadian Journal of Microbiology*, 13: 2, 137-141.
- Chutima, R., Dell, B., Vessabutr, S., Bussaban, B. and Lumyong, S. 2011. Endophytic fungi from *Pecteilis susannae* Lindley Rafin (Orchidaceae), a threatened terrestrial orchid in Thailand. *Mycorrhiza*, 21: 3, 221-229.
- Clement, E. 1924. Germination of *Odontoglossum* and other seed without fungal aid. *Orchid Review*, 32: 233-238.

- Clement, E. 1926. The non-symbiotic and symbiotic germination of orchid seeds. *Orchid Review*, 34, 165-169.
- Clements, M. A. 1985. *The Conservation of Australian Orchids*. International Press, 138-141, Miami.
- Clements, M. A. 1988. Orchid mycorrhizal associations. *Lindleyana*, 3, 73-86.
- Clements, M. A., Muir, H. and Cribb, P. J. 1986. A preliminary report on the symbiotic germination of European terrestrial orchids. *Kew Bulletin*, 41: 2, 437-445.
- Corrêa, A., Hampp, R., Magel, E. and Martins-Loução, M. A. 2011. Carbon allocation in ectomycorrhizal plants at limited and optimal N supply: an attempt at unraveling conflicting theories. *Mycorrhiza*, 21: 1, 35-51.
- Correa, M. N. 1969. *Chloraea* género sudamericano de Orchidaceae. *Darwiniana*, 15, 374-500.
- Costacurta, A. and Vanderleyden, J. 1995. Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 21: 1, 1-18.
- Costacurta, A., Michiels, K., Prinsen, E., Vanderleyden, J. and Van Onckelen, H. 1993. *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid biosynthesis: evidence for a non-tryptophan dependent pathway. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 6, 609-609.
- Cowden, C. C. and Shefferson, R. P. 2013. Diversity of root-associated fungi of mature *Habenaria radiata* and *Epipactis thunbergii* colonizing manmade wetlands in Hiroshima Prefecture Japan. *Mycoscience*, 54: 5, 327-334.
- Cox, A. V., Pridgeon, A. M., Albert, V. A. and Chase, M. W. 1997. Phylogenetics of the slipper orchids (Cypripedioideae: Orchidaceae): nuclear rDNA ITS sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 208, 197– 223.
- Cribb, B., Chisholm, L., Gould, R. and Whittington, I. 2003. Morphology, ultrastructure and implied function of ciliated sensory structures on the developmental stages of *Merizocotyle icopae* (Monogenea: Monocotylidae). *Microscopy research and technique*, 62: 3, 267-276.
- Cribb, P. and Govaerts, R. 2005. Just how many orchids are there? The 18th World Orchid Conference (WOW-18), 11-20 March, Book of Abstracts, 161–172, Dijon, France.
- Cribb, P. J., Kell, S. P., Dixon, K. W. and Barrett, R. L. 2003. *Orchid conservation: A global perspective*. Natural History Publications, 124, Kota Kinabalu, Malaysia.
- Cruz, C. D. 2008. *Programa Genes - Diversidade Genética*. (First edition). Universidade Federal de Viçosa Press, 1-278, Brasil.

- Cullings, K. and Courty, P. E. 2009. Saprotrophic capabilities as functional traits to study functional diversity and resilience of ectomycorrhizal community. *Oecologia*, 161: 4, 661-664.
- Currah, R. S., Sigler, L. and Hambleton, S. 1987. New records and New taxa of fungi from the mycorrhizae of terrestrial orchids of Alberta. *Canadian Journal of Botany*, 65: 12, 2473-2482.
- Currah, R. S., Smreciu, E. A. and Hambleton, S. 1989. Mycorrhizae and mycorrhizal fungi of boreal species of *Platanthera* and *Coeloglossum* (Orchidaceae). *Canada Journal Botany*. 68, 1171-1181.
- Currah, R. S., Zelmer, C. D., Hambleton, S. and Richardson, K. A. 1997. *Orchid Biology*. Springer, 117-170, Netherlands.
- Curtis, J. T. 1939. The relation of specificity of orchid mycorrhizal fungi to the problem of symbiosis. *American Journal of Botany*, 26: 6, 390-399.
- Çiğ, A., İşler, S. ve Öztürk, F. 2012. Salep Orkidelerinde yapılan bazı simbiyotik ve asimbiyotik çoğaltma çalışmalarının karşılaştırılması. Türkiye 2. Orkide ve Salep Çalıştayı, 25-26 Nisan 2012, Bildiri Özetleri Kitabı, 119-320, Menemen-İzmir.
- Dalar, A. and Konczak, I. 2012. Botanicals from Eastern Anatolia Region of Turkey: antioxidant capacity and phenolic constituents of endemic herbal medicines. *Journal of Herbal Medicine*, 2: 4, 126-135.
- Dalar, A. and Konczak, I. 2013. Phenolic contents, antioxidant capacities and inhibitory activities against key metabolic syndrome relevant enzymes of herbal teas from Eastern Anatolia. *Industrial Crops and Products*, 44, 383-390.
- Dan, Y., Meng, Z. X. and Guo, S. X. 2012. Effects of forty strains of Orchidaceae mycorrhizal fungi on growth of protocorms and plantlets of *Dendrobium candidum* and *D. nobile*. *African Journal of Microbiology Research*, 6: 1, 34-39.
- Darwin, C. 1862. On the two forms or dimorphic condition, in the species of *Primula* and on their remarkable sexual relations. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 6: 22, 77-96.
- Davis, P. H. 1984. Flora of Turkey and the East Aegean islands. *Edinburgh University Press*, 2, 5-8.
- De Pauw, M. A., Remphrey, W. R. and Palmer, C. E. 1995. The cytokinin preference for *in vitro* germination and protocorm growth of *Cypripedium candidum*. *Annals of Botany*, 75: 3, 267-275.
- Dearnaley, J. D. W. 2007. Further advances in orchid mycorrhizal research. *Mycorrhiza*, 17, 475-486.

- Dearnaley, J. D. W. and McGee, P. A. 1996. An intact microtubule cytoskeleton is not necessary for interfacial matrix formation in orchid protocorm mycorrhizas. *Mycorrhiza*, 6 : 3, 175-180.
- Dearnaley, J. D. W., Martos, F. and Selosse, M. A. 2012. *Orchid mycorrhizas: molecular ecology, physiology, evolution and conservation aspects. Fungal associations*. (Second edition) Springer, 207-230, Berlin Heidelberg.
- Dearnaley, J. D. W., Murray, A. J. and Mathieson, M. T. 2009. Molecular identification of a mycorrhizal Sebacinaceae from the endangered *Caladenia atroclavia* (black clubbed spider orchid). *Australasian Mycologist*, 28, 45-50.
- Dijk, E., Willemsĳf, J.H. and Andel, J. 1997. Nutrient responses as a key factor to the ecology of orchid species. *Royal Botanical Society of The Netherlands*, 46: 4, 339-363.
- Ding, R., Chen, X. H., Zhang, L. J., Yu, X. D., Qo, B., Duan, R. and Xu, Y. F. 2014. Mycorrhizal associations in *Liparis japonica*, *Plos One*, 9: 8, 1-8. doi:10.1371/journal.pone.0105573
- Dixon, K. 1987. *Raising Terrestrial Orchids from Seed*. Adelaidei, 47-100, Australia.
- Dixon, K. W. and Barrett, R. L. 2002. *Microorganisms in plant conservation and biodiversity*, Springer, 1-18, Netherlands.
- Dixon, K. W., Kell, S. P., Barrett, R. L. and Cribb, P. J. 2003. *Orchid Conservation*. Natural History Publications, 1–24, Kota Kinabalu, Sabah.
- Downie, D. G. 1957. *Corticium solani*—an orchid endophyte. *Nature*, 179, 160-160.
- Downie, D. G. 1959. *Rhizoctonia solani* and orchid seed. *Transactions of the Botanical Society of Edinburgh*, 37: 4, 279-285.
- Dressler, R. L. 1981. *The Orchids: Natural History and Classification*. Harvard University Press, Cambridge.
- Dressler, R. L. 1993. *Phylogeny and classification of the orchid family*. Cambridge University Press, 314, Cambridge.
- Dressler, R. L. 2005. How many orchid species?. *Selbyana*, 26, 155-158.
- Dreyfuss, M. and Petrini, O. 1984. Further investigations on the occurrence and distribution of endophytic fungi in tropical plants. *Botanica Helvetica*, 94: 33-40.
- Duggar, B. M. 2019. *Rhizoctonia crocorum* (Pers) D. C. and *R. solani* Kühn (*Corticium vagum* B. and C.) with notes on other species. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 2: 3, 403-458.

- Dulić, J., Ljubojević, M., Prlainović, I., Barać, G., Narandžić, T. and Ognjanov, V. 2018. Germination and protocorm formation of *Ophrys sphegodes* Mill. – *in vitro* protocol for a rare orchid species. *Contemporary Agriculture The Serbian Journal of Agricultural Sciences*, 67: 3-4, 196-201. doi:10.1515/contagri-2018-0028
- Durán, C., Rivero, M. and Seemann, P. 2007. Identification of endomycorrhizae in the native orchid *Gavilea araucana* (Phil.) Correa. *Agro Sur*, 35: 2, 67-69.
- Dutra, D., Johnson, T. R., Kauth, P. J., Stewart, S. L., Kane, M. E. and Richardson, L. 2008. Asymbiotic seed germination, *in vitro* seedling development and greenhouse acclimatization of the threatened terrestrial orchid *Bletia purpurea*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 94: 1, 11-21.
- Elórtegui, S. and Novoa, P. 2009. *Orquídeas de la Región de Valparaíso*. Taller la Era, Chile.
- Ernst, R. 1994. Effects of Thidiazuron on *in vitro* propagation of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis* (Orchidaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 39, 273-275.
- Erzurumlu, G. S., Sultana, N., Vural, M. and Serçe, S. 2018. Genetic and phenotypic variation among Turkish terrestrial orchid species as revealed by random amplified polymorphic DNA and morphological characteristics. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 42, 227-236. doi:10.3906/tar-1711-37
- Esitken, A., Ercisli, S. and Eken, C. 2005. Effects of mycorrhiza isolates on symbiotic germination of terrestrial orchids (*Orchis palustris* Jacq. and *Serapias vomeracea subsp. vomeracea* (Burm. f.) Briq.) in Turkey. *Symbiosis*, 38, 59-68.
- Fay, M. F. and Chase, M.W. 2009. Orchid biology: from Linnaeus via Darwin to the 21st century. *Annals of Botany*, 104: 3, 359-364.
- Gallage, N. J., Hansen, E. H., Kannangara, R., Olsen, C. E., Motawia, M. S., Jørgensen, K. and Møller, B. L. 2014. Vanillin formation from ferulic acid in *Vanilla planifolia* is catalysed by a single enzyme. *Nature communications*, 5, 4037. doi:10.1038/ncomms5037
- Gamborg, O. L., Murashige, T., Thorpe, T. A. and Vasil, I. K. 1976. Plant tissue culture media. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 12: 7, 473-478.
- García, V. G., Onco, M. P. and Susan, V. R. 2006. Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia*. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 4: 1, 55-79.
- Garrett, S. D. 1981. *Studying the soil fungus flora* (Second Edition). Soil fungi and soil fertility, 150, Pergamon, Oxford.

- Gebauer, G. and Meyer, M. 2003. ^{15}N and ^{13}C natural abundance of autotrophic and myco-heterotrophic orchids provides insight into nitrogen and carbon gain from fungal association. *New Phytologist*, 160: 1, 209-223.
- Gebauer, G., Preiss, K. and Gebauer, A. C. 2016. Partial mycoheterotrophy is more widespread among orchids than previously assumed. *New Phytologist*, 211: 1, 11-15.
- Gennaro, M., Gonthier, P. and Nicolotti, G. 2003. Fungal endophytic communities in healthy and declining *Quercus robur* L. and *Q. cerris* L. trees in Northern Italy. *Journal of Phytopathology*, 151, 529-534.
- Girlanda, M., Segreto, R., Cafasso, D., Liebel, H. T., Rodda, M., Ercole, E. and Perotto, S. 2011. Photosynthetic Mediterranean meadow orchids feature partial mycoheterotrophy and specific mycorrhizal associations. *American Journal of Botany*, 98: 7, 1148-1163.
- Gonneau, C., Jersáková, J. Tredern, E., Till-Bottraud, I., Saarinen, K., Sauve, M. Roy, M., Hájek, T. and Selosse, M. A. 2014. Photosynthesis in perennial mixotrophic *Epipactis* spp. (Orchidaceae) contributes more to shoot and fruit biomass than to hypogeous survival. *Journal of Ecology*, 102, 1183–1194. doi: 10.1111/1365-2745.12274
- Gow, W. P., Chen, J. T. and Chang, W. C. 2009. Effects of genotype, light regime, explant position and orientation on direct somatic embryogenesis from leaf explants of *Phalaenopsis* orchids. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31: 2, 363-369.
- Gönülşen, N., Önal, K., Ercan, N., Yıldızgördü, K., Şekeroğlu, E., Biçici, M. ve 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, 2). Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu, İzmir.
- Guimarães, F. A. R, Pereira, M. C and Felício, C. S. 2013. Symbiotic Propagation of Seedlings of *Cyrtopodium glutiniferum* Raddi (Orchidaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 27, 590-596.
- Gutiérrez, R. M. P. 2010. Orchids: A review of uses in traditional medicine, its phytochemistry and pharmacology. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4: 8, 592-638.
- Gümüş, C., Ellialtıoğlu, Ş. Ş. and Eman, Ş. B. 2017. Studies for obtaining the protocorms and plantlets in *Orchis pinetorum*, *Anacamptis pyramidalis* and *Dactylorhiza nischalkiorum* under *in vitro* conditions. *International Journal of Forestry and Horticulture*, 3: 3, 28-36.
- Hadley, G. 1969. Cellulose as a carbon source for orchid mycorrhiza. *New Phytologist*, 68: 4, 933-939.

- Hadley, G. 1970. Non-specificity of symbiotic infection in orchid mycorrhiza. *New Phytologist*, 69: 4, 1015-1023.
- Hadley, G. 1982. *Orchid Mycorrhiza*. Cornell University Press, 82-118, United States of America.
- Hadley, G. 1983. Symbiotic germination of orchid seed. *The Orchid Review*, 91, 44-47.
- Hadley, G. 1984. Uptake of [¹⁴C] Glucose by asymbiotic and mycorrhizal orchid protocorms. *New Phytologist*, 96: 2, 263-273.
- Hadley, G. and Williamson, B. 1971. Analysis of the post infection growth stimulus in orchid mycorrhiza. *New Phytologist*, 70, 445–455.
- Hajong, S., Kumaria, S. and Tandon, P. 2013. Compatible fungi, suitable medium and appropriate developmental stage essential for stable association of *Dendrobium chrysanthum*. *Journal of Basic Microbiology*, 53: 12, 1025-1033.
- Harley, J. L. 1969. *Mycorrhizal symbiosis and the biology of mycorrhiza* (Second edition). Leonard Hill, 1-334, London, United Kingdom.
- Harley, J. L. and Smith, S. E. 1983. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, 800, Cambridge.
- Hartnett, D. C. and Wilson, G. W. 2002. The role of mycorrhizas in plant community structure and dynamics: lessons from grasslands. *Plant and soil*, 244, 319-331.
- Harvais, G. 1973. Growth requirements and development of *Cypripedium reginae* in axenic culture. *Canadian Journal of Botany*, 51, 327-332.
- Harvais, G. and Hadley, G. 1967. The development of *Orchis purpurella* in asymbiotic and inoculated cultures. *New Phytologist*, 66: 2, 217-230.
- Hayakawa, S., Uetake, Y. and Ogoshi, A. 1999. Identification of symbiotic Rhizoctonias from naturally occurring protocorms and roots of *Dactylorhiza aristata* (Orchidaceae). *Journal of the faculty of agriculture Hokkaido University*, 69: 2, 129-141.
- Henneresse, T. and Tyteca, D. 2016. Insect visitors and potential pollinators of *Orchis militaris* (Orchidaceae) in Southern Belgium. *Journal of Insect Science*, 16: 1, 104; 1–7. doi: 10.1093/jisesa/iew088
- Hew, C. S. and Mah, T. C. 1989. Sugar uptake and invertase activity in *Dendrobium* tissues. *New Phytologist*, 111: 2, 167-171.
- Heywood, V. H. and Dulloo, M. E. 2005. *In situ conservation of wild plant species – A critical global review of good practices.*– International Plant Gen Resources Institute Technical Bulletin, 11, International Plant Gen Resources Institute, Rome.

- Heywood, V. H., Brummitt, R. K., Culham, A. and Seberg, O. 2007. *Flowering plant families of the world*. Firefly Books, 424, North America.
- Hijner, J. A. and Arditti, J. 1973. Orchid mycorrhiza: vitamin production and requirements by the symbionts. *American Journal of Botany*, 60: 8, 829-835.
- Hilton-Taylor, C. 1997. Red data list of Southern African plants. 2. Corrections and additions. *Bothalia*, 27: 2, 195-209.
- Hossain, M. M. 2011. Therapeutic orchids: traditional uses and recent advances-an overview. *Fitoterapia*, 82: 2, 102-140.
- Hossain, M. M., Sharma, M. and Pathak, P. 2013. *In vitro* Propagation of *Dendrobium aphyllum* (Orchidaceae) — Seed germination to flowering. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 22: 2, 157-167.
- Hou, X. Q. and Guo, S. X. 2009. Interaction between a dark septate endophytic isolate from *Dendrobium* sp. and roots of *D. nobile* seedlings. *Journal of integrative plant biology*, 51: 4, 374-381.
- Houri, N. M., Al-Zein, M. S., Westbury, D. B. and Talhouk, S. N. 2012. Reproductive success of the rare endemic *Orchis galilaea* (Orchidaceae) in Lebanon. *Turkish Journal of Botany*, 36: 6, 677-682.
- Huang, J. L., Zeng, C. X., Li, H. T. and Yang, J. B. 2011. Isolation and characterization of 15 microsatellite markers from the spring orchid (*Cymbidium goeringii*) (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 98: 4, 76-77.
- Hudson, H. J. 1986. Fungi as inhabitants of extreme environments. *Fungal Biology*, 298-300.
- Huynh, T. T., Lawrie, A. C., Coates, F. and McLean, C. B. 2004. Effect of developmental stage and peloton morphology on success in isolation of mycorrhizal fungi in *Caladenia formosa* (Orchidaceae). *Australian Journal of Botany*, 52: 2, 231-241.
- Huynh, T. T., Thomson, R., Mclean, C. B. and Lawrie, A. C. 2009. Functional and genetic diversity of mycorrhizal fungi from single plants of *Caladenia formosa* (Orchidaceae). *Annals of Botany*, 104: 4, 757-765.
- Hürkan, Y. K., Hürkan, K., and Akı, C. 2018. Comparative growth media performances on *in vitro* propagation of some salep orchids. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, 7: 1, 52-62.
- Hynson, N. A. and Bruns, T. D. 2010. Fungal hosts for mycoheterotrophic plants: A nonexclusive, but highly selective club. *The New Phytologist*, 185: 3, 598-601.

- Hynson, N. A., Madsen, T. P., Selosse, M. A., Adam, I. K., Ogura-Tsujita, Y., Roy, M. and Gebauer, G. 2013. *The Physiological Ecology of Mycoheterotrophy*. Springer, 297-342, New York.
- Idowu, P. E., Ibitoye, D. O. and Ademoyegun, O. T. 2009. Tissue culture as a plant production technique for horticultural crops. *African Journal of Biotechnology*, 8: 16, 3782-3788.
- Ingold, C. T. and Hudson, H. J. 1993. *The biology of fungi* (Sixth Edition). Chapman and Hall, 224, London.
- Irwin, M. J., Bougoure, J. J. and Dearnaley, J. D. W. 2007. *Pterostylis nutans* (Orchidaceae) has a specific association with two *Ceratobasidium* root-associated fungi across its range in Eastern Australia. *The Mycological Society of Japan and Springer*, 48, 231–239. doi:10.1007/s10267-007-0360-x
- Isahara, H., Ma, Q., Sornlertlamvanich, V. and Takahashi, N. 2000. Orchid: building linguistic resources in Thai. *Literary and Linguistic Computing*, 15: 4, 465-478.
- Jacquemyn, H. and Hutchings, M. J. 2010. Biological flora of The British Isles: *Spiranthes spiralis* Lindley Chevall. *Journal of Ecology*, 98: 5, 1253-1267.
- Jacquemyn, H., Brys, R., Lievens, B. and Wiegand, T. 2012. Spatial variation in below-ground seed germination and divergent mycorrhizal associations correlate with spatial segregation of three co-occurring orchid species. *Journal of Ecology*, 100: 6, 1328-1337.
- Jacquemyn, H., Brys, R., Vandepitte, K., Honnay, O., Roldán-Ruiz, I and Wiegand, T. 2007. A spatially explicit analysis of seedling recruitment in the terrestrial orchid *Orchis purpurea*. *New Phytologist*, 176, 448–459.
- Jacquemyn, H., Lenaerts, M., Tyteca, D. and Lievens, B. 2013. Microbial diversity in the floral nectar of seven *Epipactis* (Orchidaceae) species. *Microbiology Open*, 2: 4, 644-658.
- Jacquemyn, H., Vandepitte, K., Brys, R., Honnay, O., Roldán-Ruiz, I. 2007. Fitness variation and genetic diversity in small, remnant populations of The food deceptive orchid *Orchis purpurea*, *Biological conservation*, 139, 1-2, 203-210. doi:10.1016/j.biocon.2007.06.015
- Jalal, J. S., Kumar, P. and Rawat, G. S. 2012. *Nervilia pangteyana* sp. Nova Hedwigia. a terrestrial orchid from western Himalaya, India. *Nordic Journal of Botany*, 30: 4, 407-411.
- James, W. C. and McKenzie, A. R. 1972. The effect of tuber-borne sclerotia of *Rhizoctonia solani* Kühn on the potato crop. *American Potato Journal*, 49, 296-297.

- Jersákova, J., Johnson, S. D. and Kindlmann, P. 2005. Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. *Cambridge Philosophical Society*, 81, 219–235. doi:10.1017/S1464793105006986
- Jersáková, J., Malinová, T., Jeřábková, K. and Dötterl, S. 2011. Biological Flora of the British Isles: *Pseudorchis albida* Lindley Á. and D. Löve. *Journal of Ecology*, 99: 5, 1282-1298.
- Joel, D. M., French, J. C., Graft, N., Joel, D. M., Dixon, R. A. and Havkin-Frenkel, D. 2003. Research Briefs: A hairy tissue produces vanillin. *Israel journal of plant sciences*, 51: 3, 157-159.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book, 351-430, New York.
- Johnson, S. D., Peter, C. I., Ellis, A. G., Boberg, E., Botes, C. and Niet, T. 2011. Diverse pollination systems of the twin-spurred orchid genus *Satyrium* in African grasslands. *Plant systematics and evolution*, 292: 2, 95-103.
- Johnson, T. R., Kane, M. E. and Perez, H. E. 2011. Examining the interaction of light, nutrients and carbohydrates on seed germination and early seedling development of *Bletia purpurea* (Orchidaceae). *Plant Growth Regulation*, 63: 89-99.
- Johnson, T. R., Stewart, S. L., Dutra, D., Kane, M. E. and Richardson, L. 2007. Asymbiotic and symbiotic seed germination of *Eulophia alta* (Orchidaceae)—preliminary evidence for the symbiotic culture advantage. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 90: 3, 313.
- Johri, B. M., Ambegaokar, K. B. and Srivastava, P. S. 1992. *Comparative embryology of angiosperms*. Springer, 1221, Berlin.
- Jones, D. L. 1995. *Native orchids of Australia*. New Holland Publishers, 656, Australia.
- Jonsson, L. and Nylund, J. E. 1979. *Favolaschia dybowskyana* Singer (Aphylllophorales), a new orchid mycorrhizal fungus from tropical Africa. *New Phytologist*, 83: 1, 121-128.
- Julou, T., Burghardt, B., Gebauer, G., Berveiller, D., Damesin, C. and Selosse, M. A. 2005. Mixotrophy in orchids: insights from a comparative study of green individuals and nonphotosynthetic individuals of *Cephalanthera damasonium*. *New Phytologist*, 166, 2, 639–653. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01364.x
- Kabacaoğlu, E. and Karakaş, B. 2018. Detection and quantification of salep with real time Polymerase Chain Reaction utilizing the nr-ITS2 region. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99: 5. doi:10.1002/jsfa.9453
- Kalimuthu, K., Senthilkumar, R. and Murugalatha, N. 2006. Regeneration and mass multiplication of *Vanilla planifolia* Andrews. –A tropical orchid. *Current Science*, 91: 10, 1401-1403.

- Kardol, P. and Wardle, D. A. 2010. How understanding above ground–belowground linkages can assist restoration ecology. *Trends in ecology and evolution*, 25: 11, 670-679.
- Kasperek, M. and Grimm, U. 1999. European trade in Turkish salep with special reference to Germany. *Economic Botany*, 53: 4, 396-406.
- Kauth, P. J., Dutra, D., Johnson, T. R., Stewart, S. L., Kane, M. E. and Vendrame, W. 2008. Techniques and applications of *in vitro* orchid seed germination. *Floriculture, ornamental and plant biotechnology: Advances and Topical Issues*, 5, 375-391.
- Kauth, P., Vendrame, W. and Kane, M. E. 2006. *In vitro* seed culture and seedling development of *Calopogon tuberosus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 85: 1, 91–102.
- Kaya, S. and Tekin, A. R. 2001. The effect of salep content on the rheological characteristics of a typical ice-cream mix. *Journal of Food Engineering*, 47: 1, 59-62.
- Kısakürek, Ş., Arpacı, B. B., Özdemir, A., Dalfesoğlu, K., Ergun, N. and Kaya, Y. 2009. *Kahramanmaraş doğal florasında yetişen ve salep üretiminde kullanılan bitkilerin kültüre alınabilme olanakları*. (TAGEM Projesi Sonuç Raporu Rapor No. 12). Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Kindlmann, P. and Jersakova, J. 2005. Floral display, reproductive success and conservation of terrestrial orchids. *Selbyana*, 26, 136-144.
- Knudson, L. 1916. *Influence of certain carbohydrates on green plants*. Cornell University. Agricultural Experiment Station Memoir, New York.
- Knudson, L. 1922. Nonsymbiotic germination of orchid seeds. *Botanical gazette*, 73: 1, 1-25.
- Knudson, L. 1924. Further observations on nonsymbiotic germination of orchid seeds. *Botanical Gazette*, 77: 2, 212-219.
- Kohler, A., Kuo, A., Nagy, L. G., Morin, E., Barry, K. W., Buscot, F. and Colpaert, J. 2015. Convergent losses of decay mechanisms and rapid turnover of symbiosis genes in mycorrhizal mutualists. *Nature Genetics*, 47: 4, 410.
- Kohzu, A., Yoshioka, T., Ando, T., Takahashi, M., Koba, K. and Wada, E. 1999. Natural ¹³C and ¹⁵N abundance of field-collected fungi and their ecological implications. *New Phytologist*, 144, 323-330. doi: 10.1046/j.1469-8137.1999.00508.x
- Koopowitz, H. 2001. *Orchids and their conservation*, 584, 15-6.

- Koopowitz, H., Lavarack, P. S. and Dixon, K. W. 2003. The nature of threats to orchid conservation. *Orchid conservation*. Kota Kinabalu, Sabah: Natural History Publications, 25-42.
- Kottke, I. and Suárez, J. P. 2009. *Proceedings of the Second Scientific Conference on Andean Orchids*. Universidad Técnica Particular de Loja, 84-99, Loja, Ecuador.
- Kömpe, Y. O. and Mutlu, V. A. 2017. Mycorrhizal diversity in some species of *Dactylorhiza* genus (Orchidaceae). *Biological Diversity and Conservation*, 10: 1, 55-64.
- Kömpe, Y. Ö., Mutlu, V. A. and Demiray, S. 2018. *Serapias vomeracea subsp. laxiflora (Orchidaceae)'nın Mikorizal Funguslarının Çimlenme Üzerine Etkisi* (Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Projesi Rapor No. 114Z218). Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Temel Bilimler Araştırma Grubu, Samsun.
- Kraus, J. B., Kerbauy, G. B. and Monteiro, W. R. 2006. Desenvolvimento de protocormos de *Catasetum pileatum* Rchb. F. *in vitro*: Aspectos Estruturais e Conceituais. *Hoehnea*, 33, 177-184.
- Krause, K. 2008. From chloroplasts to “cryptic” plastids: evolution of plastid genomes in parasitic plants. *Current genetics*, 54: 3, 111-121.
- Kreutz, C. A. J. 2002. Contributions to the *Ophrys mammosa*-group of Cyprus, *Ophrys alasiatica* C. A. J. Kreutz, Segers and Walraven spec. Nova Hedwigia. *Journal Europäischer Orchideen*, 34, 463-492.
- Kreutz, C. A. J. 2009. *Orchids of Turkey, Botanical Properties, Ecological Requirements, Natural Spreading Sites, Vital Threats, Precautions for Protection*. Rota Publications, 55-848, Turkey.
- Kreutz, C. A. J. and Çolak, A. H. 2009. *Türkiye orkideleri*. Rota Yayınları, 848, İstanbul.
- Kristiansen, K. A., Rasmussen, F. N. and Rasmussen, H. N. 2001. Seedlings of *Neuwiedia* (Orchidaceae subfamily Apostasioideae) have typical Orchidaceous mycotrophic protocorms. *American Journal of Botany*, 88: 5, 956-959.
- Kull, T. 1999. *Cypripedium calceolus* L. *Journal of Ecology*, 87: 5, 913-924.
- Leake, J. R. 1994. The biology of myco-heterotrophic (‘saprophytic’) plants. *New Phytologist*, 127: 2, 171-216.
- Leake, J. R. 2004. Myco-heterotroph/epiparasitic plant interactions with ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal fungi. *Current opinion in plant biology*, 7: 4, 422-428.

- Lee, Y. I., Yeung, E. C., Lee, N. and Chung, M. C. 2006. Embryo development in the lady's slipper orchid, *Paphiopedilum delenatii*, with emphasis on the ultrastructure of the suspensor. *Annals of Botany*, 98: 6, 1311-1319.
- Lee, Y., Shan, T. H. and Yeung, E. C. 2013. Orchid protocorm-like bodies are somatic embryos. *American Journal of Botany*, 100: 11, 2121–2131.
- Leitch, I. J., Kahandawala, I., Suda, J., Hanson, L., Ingrouille, M. J., Chase, M. W. and Fay, M. F. 2009. Genome size diversity in orchids: Consequences and evolution. *Annals of Botany*, 104: 3, 469-481.
- Leroux, G., Barabé, D. and Vieth, J. 1997. Morphogenesis of the protocorm of *Cypripedium acaule* (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 205: 53-72.
- Li, M. and Zou, D. 1995. Study on pharmacology activity of *Anoectochilus roxburghii* from three sources. *Information Chinese Pharmacological Society*, 3, 26-28.
- Li, X., Mu, Y., Cheng, Y., Liu, X. and Nian, H. 2013. Effects of intercropping sugarcane and soybean on growth, rhizosphere soil microbes, nitrogen and phosphorus availability. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35: 4, 1113-1119.
- Lindley, J. 1826. *Orchidearum sceletos* (Second edition). Typis Ricardi Taylor, London, England.
- Liu, K. W., Liu, Z. J., Huang, L, Li, L. Q, Chen, L. J. and Tang, G. D. 2006. Pollination: self-fertilization strategy in an orchid. *Nature*, 441, 945–946.
- Long, R. L., Gorecki, M. J., Renton, M., Scott, J. K., Colville, L., Goggin, D. E., Commander, L. E., Westcott, D. A. Cherry, and Finch-Savage, W. E. 2015. The ecophysiology of seed persistence: A mechanistic view of the journey to germination or demise. *The Ecophysiology of Seed Persistence*, 90: 1, 31-59. doi: 10.1111/brv.12095
- López - Chávez, M. Y., Guillén - Navarro, K., Bertolini, V., Encarnación, S., Hernández - Ortiz, M., Sánchez - Moreno, I. and Damon, A. 2016. Proteomic and morphometric study of the *in vitro* interaction between *Oncidium sphacelatum* Lindl. (Orchidaceae) and *Thanatephorus* sp. RG26 (Ceratobasidiaceae). *Mycorrhiza*, 26: 5, 353-365.
- Luo, J., Hou, B. W., Niu, Z. T., Liu, W., Xue, Q. Y. and Ding, X. Y. 2014. Comparative chloroplast genomes of photosynthetic orchids: Insights into evolution of the Orchidaceae and development of molecular markers for phylogenetic applications. *PLoS One*, 9: 6, 7-22.
- Luo, Y. B., Jia, J. S. and Wang, C. L. 2003. A general review of the conservation status of Chinese orchids. *Biodiversity Science*, 11, 70–77.

- Magrini, S., Bronzo, F., Onofri, S. and Scoppola, A. Germinazione asimbiotica. 2012. *In vitro* di semi immaturidi *Orchis palustris* Jacq. Studi trent. *The Science of Nature*, 90, 159-164.
- Mala, B., Kuegkong, K., Sa-Ngiaemsri, N. and Nontachaiyapoom, S. 2017. Effect of germination media on *in vitro* symbiotic seed germination of three *Dendrobium* orchids. *South African Journal of Botany*, 112, 521-526.
- Malla, R., Prasad, R., Kumari, R., Giang, P. H., Pokharel, U., Oelmüller, R. and Varma, A. 2004. Phosphorus solubilizing symbiotic fungus: *Piriformospora indica*. *Endocyt Cell Research*, 15, 579–600.
- Malmgren, S. 1992. Large-scale asymbiotic propagation of *Cypripedium calceolus*: Plant physiology from a surgeon's point of view. *Botanic Gardens Micropropagation News*, 1, 59-63.
- Malmgren, S. 1996. Orchid propagation: Theory and practice. in North American native orchids: propagation and production. 3rd North American native Terrestrial Orchid Conference (NANTOC-3), 16-17 March, Book of Abstracts, 63-71, Germantown, Maryland.
- Malmqvist, B. and Rundle, S. 2002. Threats to the running water ecosystems of the world. *Environmental Conservation*, 29: 2, 134-153.
- Manning, J. C. and Van Staden, J. 1987. The functional differentiation of the testa in seed of *Indigofera parviflora* (Leguminosae: Papilionoideae). *Botanical Gazette*, 148: 1, 23-34.
- Marchisio, V. F., Berta, G., Fontana, A. and Mannina, F. M. 1985. Endophytes of wild orchids native to Italy: Their morphology, caryology, ultrastructure and cytochemical characterization. *New phytologist*, 100: 4, 623-641.
- Marschner, H. and Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 159, 89-102.
- Martos, F., Dulormne, M., Pailler, T., Bonfante, P., Faccio, A., Fournel, J. and Selosse, M. A. 2009. Independent recruitment of saprotrophic fungi as mycorrhizal partners by tropical achlorophyllous orchids. *New Phytologist*, 184: 3, 668-681.
- Martos, F., Munoz, F., Pailler, T., Kottke, I., Gonneau, C. and Selosse, M. A. 2012. The role of epiphytism in architecture and evolutionary constraint within mycorrhizal networks of tropical orchids. *Molecular Ecology*, 1-12. doi: 10.1111/j.1365-294X.2012.05692.x
- Masuhara, G. and Katsuya, K. 1992. Mycorrhizal differences between genuine roots and tuberous roots of adult plants of *Spiranthes sinensis* var. *amoena* (Orchidaceae). *The Botanical Magazine*, 105: 3, 453-460.

- Masuhara, G. and Katsuya, K. 1994. *In situ* and *in vitro* specificity between *Rhizoctonia* spp. and *Spiranthes sinensis* (Persoon) Ames. var. *amoena* (M. Bieberstein) Hara (Orchidaceae). *New Phytologist*, 127: 4, 711-728.
- Masuhara, G., Katsuya, K. and Yamaguchi, K. 1993. Potential for symbiosis of *Rhizoctonia solani* and Binucleate *Rhizoctonia* with seed of *Spiranthes sinensis* var. *amoena* *in vitro*. *Mycological Research*, 97: 6, 746- 752.
- McCormick, M. K., Lee Taylor, D., Juhaszova, K., Burnett Jr, R. K., Whigham, D. F. and O'Neill, J. P. 2012. Limitations on orchid recruitment: not a simple picture. *Molecular Ecology*, 21: 6, 1511-1523.
- McCormick, M. K., Whigham, D. F. and O'Neill, J. 2004. Mycorrhizal diversity in photosynthetic terrestrial orchids. *New Phytologist*, 163: 2, 425-438.
- McKendrick, S. L., Leake, J. R., Taylor, D. L. and Read, D. J. 2002. Symbiotic germination and development of the myco-heterotrophic orchid *Neottia nidusavis* in nature and its requirement for locally distributed *Sebacina* spp. *New Phytologist*, 154: 1, 233-247.
- McLaughlin, D. J. and Spatafora, J. W. 2014. Systematics and evolution. *Springer*. 7.
- Mead, J. W. and Bulard, C. 1975. Effects of vitamins and nitrogen sources on asymbiotic germination and development of *Orchis laxiflora* and *Ophrys sphegodes*. *New Phytologist*, 74, 33-40.
- Merckx, V. 2013. *Mycoheterotrophy*. Springer, 356, New York.
- Merckx, V. and Freudenstein, J. V. 2010. Evolution of mycoheterotrophy in plants: a phylogenetic perspective. *New Phytologist*, 185: 3, 605-609.
- Merckx, V., Bidartondo, M. I. and Hynson, N. A. 2009. Myco-heterotrophy: when fungi host plants. *Annals of Botany*, 104: 7, 1255-1261.
- Merckx, V., Stöckel, M., Fleischmann, A., Bruns, T. D. and Gebauer, G. 2010. ¹⁵N and ¹³C natural abundance of two mycoheterotrophic and a putative partially mycoheterotrophic species associated with arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 188: 2, 590-596.
- Miller, L. R. and Murashige, T. 1976. Tissue culture propagation of tropical foliage plants. *In vitro-Plant*, 12, 797-813.
- Mitchell, R. B. 1989. Growing hardy orchids from seeds at kew. *The Plantsman*, 152-169.
- Miyoshi, K. and Mii, M. 1998. Stimulatory effects of sodium and calcium hypochlorite, pre-chilling and cytokinins on the germination of *Cypripedium macranthos* seed *in vitro*. *Physiologia Plantarum*, 102: 4, 481-486.

- Molnár, A., Süveges, K., Molnár, Z. and Löki, V. 2017. Using traditional ecological knowledge in discovery of rare plants: a case study from Turkey. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 86: 3, 35-41. doi:10.5586/asbp.3541
- Molvray, M. and Kores, P. J. 1995. Character analysis of the seed coat in Spiranthoideae and Orchidoideae, with special reference to the Diurideae (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 82: 11, 1443-1454.
- Molvray, M., Kores, P. J., Chase, M. W. 2000. *Monocots: systematics and evolution*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation Publishing, 441–448, Melbourne, Australia.
- Moore, R. T. 1988. The genera *Rhizoctonia*-like fungi: *Ascorhizoctonia*, *Ceratorhiza*, genus, nova, *Eupulorhiza* genus. nova, *Moniliopsis* and *Rhizoctonia*. *Mycotaxon*, 29, 91-99.
- Moreira, A. and Isaias, R. 2008. Comparative anatomy of the absorption roots of terrestrial and epiphytic orchids. *Brazilian archives of biology and technology*, 51: 1, 83-93.
- Moreira, A. S. F. P. and Isaias, R. M. D. S. 2008. Comparative anatomy of the absorption roots of terrestrial and epiphytic orchids. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51: 1, 83-93.
- Moreira-Muñoz, A. 2011. *Plant Geography of Chile*. Springer, 87-128. Dordrecht, Holland.
- Muir, H. J. 1989. *Modern Methods in Orchid Conservation: The Role of Physiology, Ecology and Management*. Cambridge University Press, 39-56, Cambridge, England.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. *Annual Review of Plant Physiology*, 25: 1, 135-166.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962 A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- Murguía, G. J. and Lee, E. H. 2007. *Manual de producción de orquídeas*. Universidad Veracruzana, 75, Xalapa, México.
- Naito, S. 2006. Ecological studies on teleomorphic and anamorphic stages in *Rhizoctonia* Fungi. *The phytopathological society of Japan and Springer*, 72: 1, 400–403. doi:10.1007/s10327-006-0295-7
- Nakamura, M., Yabe, T., Ishii, Y., Kamiya, K. and Aizaki, M. 2010. Seasonal changes of shallow aquatic ecosystems in a Bird Sanctuary pond. *Journal of Water and Environment Technology*, 8: 4, 393-401.
- Nicoletti, B. 2003. *Number of orchids The physics factbook An Encyclopedia of Scientific Essays*. Elert, G, 891, New York.

- Nogueira, R. E., Pereira, O. L., Kasuya, M. C. M., Lanna, M. C. and Mendonça, M. 2005. Fungos micorrízicos associados e Orquídeas em Campos Rupestres na Região do Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais, Brasil. *Acta Botanica Brasílica*, 19, 417-424.
- Nontachaiyapoom, S., Sasirat, S. and Manoch, L. 2011. Symbiotic seed germination of *Grammatophyllum speciosum* Blume and *Dendrobium draconis* Rchb. f., native orchids of Thailand. *Scientia Horticulturae*, 130: 1, 303-308.
- Novoa, P., Espejo, J., Cisternas, M., Rubio, M. and Domínguez, E. 2006. *Guía de campo de las orquídeas chilenas*. Corma, 120, Chile.
- Oberle-Kilic, J., Dighton, J. and Arbuckle-Keil, G. 2013. Atomic force microscopy and micro-ATR-FT-IR imaging reveals fungal enzyme activity at the hyphal scale of resolution. *Mycology*, 4: 1, 44-53.
- Oddie, R. L. A., Dixon, K. W. and McComb, J. A. 1994. Influence of substrate on asymbiotic and symbiotic *in vitro* germination and seedling growth of two Australian terrestrial orchids. *Lindleyana*, 9: 3, 183-189.
- Oelmüller, R., Sherameti, I., Tripathi, S. and Varma, A. 2009. *Piriiformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. *Springer Science+Business Media*, 49, 1–17.
- Ogoshi, A. 1996. *Introduction - The genus Rhizoctonia*. Springer, 1-9, Dordrecht, Holland.
- Ogura-Tsujita, Y. and Yukawa, T. 2008. High mycorrhizal specificity in a widespread mycoheterotrophic plant, *Eulophia zollingeri* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 95: 1, 93-97.
- Oğuz, B., Sarı, A. O. and Bilgiç, A. 2005a. *Investigation of growing possibilities of some orchid varieties to be used in salep production in Aegean Region*. Turkish National Aegean Agricultural Research Institute Publishing, 10, İzmir, Turkey.
- Oğuz, B., Sarı, A. O. and Bilgiç, A. 2005b. *Ege Bölgesi'nde Yayılış Gösteren Bazı Salep Orkidelerinin Üretim Olanaklarının Araştırılması* (Tagem Proje Sonuç Raporu Proje No: Tagem/Ta/02/02/03/010). Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Olaya, G. and Abawi, G. S. 1994. Characteristics of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* species causing foliar blight and root rot on table beets in New York State. *Plant disease*, 78, 800-804.
- Otero J. T. and Bayman, P. 2009. Symbiotic and asymbiotic seed germination in epiphytic orchids. *Acta Agronómica*, 58: 4, 270-276.

- Otero J. T., Bayman, P. and Ackerman, J. D. 2005. Variation in mycorrhizal performance in the epiphytic orchid *Tolumnia variegata* *in vitro*: The potential for natural selection. *Evolutionary Ecology*, 19, 29-43.
- Otero, J. T., Ackerman, J. D. and Bayman, P. 2002. Diversity and host specificity of endophytic *Rhizoctonia* - like fungi from tropical orchids. *American Journal of Botany*, 89: 11, 1852-1858.
- Otero, J. T., Flanagan, N. S. Herre, E. A., Ackerman, J. D. and Bayman, P. 2007. Widespread mycorrhizal specificity correlates to mycorrhizal function in the neotropical, epiphytic orchid *Ionopsis utricularioides* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 94: 12, 1944-1950.
- Ovando, I., Damon, A., Bello, R., Ambrosio, D., Albores, V., Adriano, L. and Salvador, M. 2005. Isolation of endophytic fungi and their mycorrhizal potential for the tropical epiphytic orchids *Cattleya skinneri*, *C. aurantiaca* and *Brassavola nodosa*. *Asian Journal of Plant Sciences*, 4: 3, 309-315.
- Ozanne, P. G. 1980. *Phosphate nutrition of plants - A general treatise*. American Society of Agronomy Publishing, 559-589, Australia, Western Australia.
- Önal, K. 1999. *In vitro* propagation of some species from Orchidaceae family existing in the natural flora of Aegean region. *Turkish Journal of agriculture and forestry*, 23: 5, 1057-1064.
- Özdener, Y. 1994. *Dactylorhiza urvilleana* (Steudel) Bauman Künkele ve *Dactylorhiza iberica* (Bieb. Ex Willd) Soo (Orchidaceae) türlerinin köklerinden fungusların izole edilmesi, bu türlere ait tohumların simbiyotik ve asimbiyotik kültür ortamlarında çimlenme ve gelişmesi üzerinde bir araştırma. Doktora Tezi (Basılmamış), Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 136, Samsun.
- Özkoç, İ. 1991. *Serapias vomeracea* (Burmfil.) Briq. *Sub sp. laxiflora* (Soo) Gözl et. Reinhard ve *Orchis laxiflora* Lam. (Orchidaceae) tohumlarının simbiyotik ve asimbiyotik kültürlerde çimlenme ve gelişmesi üzerinde araştırılması. Doktora tezi (Basılmamış), Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Özkoç, İ. and Dalcı, M. 1994. M. Germination of the seeds of *Orchis laxiflora* Lam. (Orchidaceae) through asymbiotic culture techniques. *Turkish Journal of Botany*, 18, 461-464.
- Özkoç, İ. ve Dalcı, M. 1993. *Orchis laxiflora* tohumlarının iki farklı ortamda çimlenmesi ve gelişmesi üzerine bazı fungusların etkisi. *Doğa Türk Biyoloji Dergisi*, 17: 1, 23-28.
- Özkoç, İ., Özdener, Y. and Mutlu, V. A. 2013. Molecular characterization of endophytic fungi from the roots of *Spiranthes spiralis* in Turkey. Orchid Population dynamics. 5th International Orchid Workshop (IOW-5), 17-19 May, Book of Abstracts, Rende, Italy.

- Pan, M. J. and Van Staden, J. 1998. The use of charcoal in in vitro culture: A review. *Plant Growth Regulation* 26, 155–163.
- Pant, B. 2013. Medicinal orchids and their uses: tissue culture a potential alternative for conservation. *African Journal of Plant Science*, 7: 10, 448-467.
- Pant, B. and Raskoti, B. B. 2013. *Medicinal orchids of Nepal*. Himalayan map house, 104, Nepal.
- Pant, B., Shah, S., Shrestha, R., Pandey, S. and Joshi, P. R. 2017. *An Overview on Orchid Endophytes*. Springer, 503-524, Berlin.
- Pant, B., Shah, S., Shrestha, R., Pandey, S. and Joshi, P. R. 2017. *Mycorrhiza-nutrient uptake, biocontrol, Ecorestoration*. Springer, 503-524, Cham, Germany.
- Parmeter, J. R., Sherwood, R. T. and Platt, W. D. 1969. Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology*, 59: 9, 1270-1278.
- Patten, C. L. and Glick, B. R. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian journal of microbiology*, 42: 3, 207-220.
- Pereira, M. C., Coelho, I. S. and Valadares, R. B. S. 2014. Morphological and molecular characterization of *Tulasnella spp.* fungi isolated from the roots of *Epidendrum secundum*, a widespread Brazilian orchid. *Symbiosis*, 62, 111-121.
- Pereira, M. C., Kasuya, M. C. M., Pereira, O. L., Costa, M. D. and Rocha, R. B. 2009. Diversidade de fungos micorrízicos *Epulorhiza spp.* Isolados de *Epidendrum secundum* (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 33, 1187-1197.
- Pereira, M. C., Torres, D. P., Guimaraes, F. A. R., Pereira, O. L. and Kasuya, M. C. 2011. Germinação de Sementes e Desenvolvimento de protocormos de *Epidendrum secundum Jacq.* (Orchidaceae) em associação com fungos Micorrízicos do gênero *Epulorhiza*. *Acta Botanica Brasilica*, 25, 534-541.
- Pereira, O. L., Kasuya, M. C. M., Borges, A. C. and Araújo, E. F. 2005b. Morphological and molecular characterization of mycorrhizal fungi isolated from neotropical orchids in Brazil. *Canadian Journal of Botany*, 83, 54-65.
- Pereira, O. L., Kasuya, M. C. M., Rollemberg, C. and Borges, A. C. 2005a. *In vitro* symbiotic seed germination of *Oncidium flexuosum* (Orchidaceae) by Rhizoctonia - like mycorrhizal fungi. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 29: 2, 199-206.
- Pereira, O. L., Kasuya, M. C. M., Rollemberg, C. L. and Chaer, G. M. 2005c. Isolamento e identificação de fungos micorrízicos Rizoctonióides associados a três espécies de orquídeas epífitas neotropicais no Brasil. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 29, 191-197.

- Pereira, O. L., Rollemberg, C. L., Borges, A. C., Matsuoka, K. and Kasuya, M. C. M. 2003b. *Epulorhiza epiphytica* sp. nov. isolated from mycorrhizal roots of epiphytic orchids in Brazil. *Mycoscience*, 44, 153-155.
- Pereira, O. L., Rollemberg, C. L., Kasuya, M. C. M. 2003a. Association des mycorhizies dans les Orchidees - Perspectives D`utilisation dans les programmes de propagation symbiotique. *Orchidees*, 55, 24-27.
- Pérez-Escobar, O. A., Chomicki, G., Condamine, F. L., Karremans, A. P., Bogarín, D., Matzke, N. J. and Antonelli, A. 2017. Recent origin and rapid speciation of Neotropical orchids in the world's richest plant biodiversity hotspot. *New Phytologist*, 215: 2, 891-905.
- Perkins, A. J. and McGee, P. A. 1995. Distribution of the orchid mycorrhizal fungus, *Rhizoctonia solani*, in relation to its host, *Pterostylis acuminata*, in the field. *Australian Journal of Botany*, 43: 6, 565-575.
- Peterson, R. L., Uetake, Y. and Zelmer, C. 1998. Fungal symbioses with orchid protocorms. *Symbiosis*, 25, 29-55.
- Petrini, O. and Dreyfuss, M. 1981. Endophytische pilze in epiphytisechen Araceae, Bromeliaceae und Orchidaceae. *Sydowia*, 34: 135-145.
- Petrou, N., Petrou, M., Deniz, G., Sezik, E., Georgiadis, C. and Gletsos, M. 2016. *Current Status and Best Practice Analysis for Greek and Turkish Native Orchid. Flora Conservation* (Rapor No. ICON Csd-Iv-Env-Tr2011-0135/15-01-037). Interactive Conservation Platform for Orchids Native to Greece-Turkey (ICON), Athens/ Antalya.
- Petrova, A. S. and Venkova, D. Y. 2006. *Epipactis pontica* (Orchidaceae): a new species for the Bulgarian flora. *Phytologia Balcanica*. 12: 2, 249–253.
- Phillips, J. M. and Hayman, D. S. 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of The British Mycological Society* , 55, 158-161.
- Phillips, R. D., Barrett, M. D., Dixon, K. W. and Hopper, S. D. 2011b. Do mycorrhizal symbioses cause rarity in orchids?. *Journal of Ecology*, 99: 3, 858-869.
- Phillips, R. D., Brown, A. P., Dixon, K. W. and Hopper, S. D. 2011a. Orchid biogeography and factors associated with rarity in a biodiversity hotspot, the Southwest Australian Floristic Region. *Journal of Biogeography*, 38: 3, 487-501.
- Phillips, R. D., Peakall, R., Hutchinson, M. F., Linde, C. C., Xu, T., Dixon, K. W. and Hopper, S. D. 2014. Specialized ecological interactions and plant species rarity: the role of pollinators and mycorrhizal fungi across multiple spatial scales. *Biological Conservation*, 169, 285-295.

- Pickering, C. M. and Hill, W. 2007. Impacts of recreation and tourism on plant biodiversity and vegetation in protected areas in Australia. *Journal of Environmental Management*, 85: 4, 791-800.
- Pierik, R. L. M. 1987. *In vitro culture of higher plants*. Kluwer Academic Publishers, 149-158, Dordrecht.
- Pierik, R. L. M., Steegmans, H. H. M., Elias, A. A., Stiekema, O. T. J. and Velde, A. J. 1982. Effect of cytokinin and cultivar on shoot formation of *Gerbera jamesonii*. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 30, 341-346.
- Pijl, L. and Dodson, C. H. 1966. *Orchid flowers, their pollination and evolution Florida* (First edition). The University of Miami Press, 70, Florida, United Kingdom.
- Pijl, L. and Dodson, C. H. 1969. *Orchid flowers; their pollination and evolution*. The University of Miami Press, 214, Coral Gables, Florida.
- Pillon, Y. and Chase, M. W. 2007. Taxonomic exaggeration and its effects on orchid conservation. *Conservation Biology*, 21: 1, 263-265.
- Pires, J. C., Maureira, I. J., Givnish, T. J., Systma, K. J., Seberg, O., Peterson, G. and Chase, M. W. 2006. Phylogeny, genome size and chromosome evolution of Asparagales. *Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany*, 22: 1, 287-304.
- Plassard, C. and Dell, B. 2010. Phosphorus nutrition of mycorrhizal trees. *Tree Physiology*, 30, 1129–1139.
- Ponert, J. 2009. Early stages of development of terrestrial orchids: The effect of Saccharides and Phytohormones. Doctoral dissertation, Charles University, Prague.
- Ponert, J., Vosolsobě, S., Kmecová, K., and Lipavská, H. 2011. European orchid cultivation—from seed to mature plant. *European Journal of Environmental Sciences*, 1: 2, 95-107.
- Prasertsirivatna, S. and Koolpluksee, M. 2011. The study on optimization of growth conditions for *Dendrobium friedericksianum* Rchb. f. seedlings in aseptic culture. *Journal of Agricultural Technology*, 7: 3, 739-749.
- Preiss, K. and Gebauer, G. 2008. A methodological approach to improve estimates of nutrient gains by partially myco-heterotrophic plants. *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 44: 4, 393-401.
- Pridgeon, A. M, Cribb, P. J. and Chase, M. W. 1999. *Genera Orchidacearum: General introduction, Apostasioideae, Cypripedioideae* (First edition). Oxford University Press on Demand, 240, Oxford.

- Pridgeon, A. M. and Chase, M. W. 1995. Subterranean axes in tribe Diurideae (Orchidaceae): morphology, anatomy, and systematic significance. *American Journal of Botany*, 82: 12, 1473-1495.
- Prutsch, J., Schardt, A. and Schill, R. 2000. Adaptations of an orchid seed to water uptake and storage. *Plant Systematics and Evolution*, 220, 69-75.
- Quay, L., McComb, J. A. and Dixon, K. W. 1995. Methods for *ex vitro* germination of Australian terrestrial orchids. *American society for horticultural science*, 30: 7, 1445–1446. doi:10.21273/hortsci.30.7.1445
- Ramsay, R. R., Sivasithamparam, K. and Dixon, K. W. 1987. Anastomosis groups among *Rhizoctonia* - like endophytic fungi in Southwestern Australian *Pterostylis* species (Orchidaceae). *Lindleyana*, 2, 161-166.
- Ramsay, R. R., Dixon, K. W. and Sivasithamparam, K. 1986. Patterns of infection and endophytes associated with Western Australian orchids. *Lindleyana*, 1, 203-214.
- Rankin, B. L., Ballantyne, M. and Pickering, C. M. 2015. Tourism and recreation listed as a threat for a wide diversity of vascular plants: A review of continental scale. *Journal of Environmental Management*, 154, 293-298.
- Rasmussen, H. N. and Rasmussen, F. N. 2009. Orchid mycorrhiza: Implications of a mycophagous life style. *Oikos*, 118, 334-345.
- Rasmussen, H. N. 1990. Cell differentiation and mycorrhizal infection in *Dactylorhiza majalis* (Rchb. f.) Hunt and Summerh. (Orchidaceae) during germination *in vitro*. *New Phytologist*, 116: 1, 137-147.
- Rasmussen, H. N. 1992. Seed dormancy patterns in *Epipactis palustris* (Orchidaceae): Requirements for germination and establishment of mycorrhiza. *Physiologia Plantarum*, 86: 1, 161-167.
- Rasmussen, H. N. 1995. *Terrestrial orchids: from seeds to mycotrophic plant*. Cambridge University Press, 460, England.
- Rasmussen, H. N. 2002. Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. *Plant and Soil*, 244: 1, 149-163.
- Rasmussen, H. N. and Rasmussen, F. 2007. Trophic relationships in orchid mycorrhiza diversity and implications for conservation. *Lankesteriana international journal on orchidology*, 7: 1, 334-341.
- Rasmussen, H. N. and Whigham, D. F. 1993. Seed ecology of dust seeds in situ: a new study technique and its application in terrestrial orchids. *American Journal of Botany*, 80: 12, 1374-1378.
- Rasmussen, H. N. and Whigham, D. F. 1998. Importance of woody debris in seed germination of *Tipularia discolor* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 85: 6, 829–834.

- Rasmussen, H. N. and Whigham, D. F. 2002. Phenology of roots and mycorrhiza in orchid species differing in phototrophic strategy. *New Phytologist*, 154, 797–807.
- Rasmussen, H. N., Dixon, K. W., Jersáková, J. and Têšitelova, T. 2015. Germination and seedling establishment in orchids: A complex of requirements. *Annals of Botany*, 116, 391-402. doi:10.1093/aob/mcv087
- Rauh, W., Barthlott, W. and Ehler, N. 1975. Morphologie und Funktion der Testa staubförmiger Flugsamen. *Botanische Jahrbücher*, 96, 353-374.
- Reina-Rodríguez, G. A., Ospina-Calderón, N. H. H., Castaño, A., Soriano i Tomàs, I. and Otero, J. T. 2010. Catálogo de las orquídeas del Valle geográfico del río Cauca y su piedemonte andino bajo, Sur-occidente colombiano. *Cespedesia*, 32: 7-22.
- Reiter, N. Lawrie, A. C. and Linde, C. C. 2018. Matching symbiotic associations of an endangered orchid to habitat to improve conservation outcomes. *Annals of Botany*, 122, 947–959. doi: 10.1093/aob/mcy094
- Richardson, K. A. and Currah, R. S. 1995. The fungal community associated with the roots of some rainforest epiphytes of Costa Rica. *Selbyana*, 16: 1, 49-73.
- Richardson, K. A., Peterson, R. L. and Currah, R. S. 1992. Seed reserves and early symbiotic protocorm development of *Platanthera hyperborea* (Orchidaceae). *Canadian Journal of Botany*, 70, 291 -300.
- Robbirt, K. M. 2012. Phenological responses of British orchids and their pollinators to climate change: An assessment using herbarium and museum collections. *Journal of Ecology*, 99, 235–241.
- Roberts, P. 1999. *Rhizoctonia-forming fungi: A taxonomic guide*. Royal Botanic Gardens, 214-227, Kew, England.
- Roche, S. A., Carter, R. J., Peakall, R., Smith, L. M., Whitehead, M. R., and Linde, C. C. 2010. A narrow group of monophyletic *Tulasnella* (Tulasnellaceae) symbiont lineages are associated with multiple species of *Chiloglottis* (Orchidaceae): Implications for orchid diversity. *American Journal of Botany*, 97: 8, 1313-1327.
- Roy, M., Gonneau C., Rocheteau, A., Berveiller, D. Thomas, J. C. Damesin, C. and Selosse, M. A. 2013. Why do mixotrophic plants stay green? A comparison between green and achlorophyllous orchid individuals *in situ*. *Ecological Monographs*, 83: 1, 95–117.
- Roy, M., Watthana, S., Stier, A., Richard, F., Vessabutr, S. and Selosse, M. A. 2009. Two mycoheterotrophic orchids from Thailand tropical Dipterocarpacean forests associate with a broad diversity of ectomycorrhizal fungi. *BMC Biology*, 7: 51.

- Roy, M., Yagame, T., Yamato, M., Iwase, K., Heinz, C., Faccio, A., Bonfante, P. and Selosse, M. A. 2009. Ectomycorrhizal *Inocybe* species associate with the mycoheterotrophic orchid *Epipogium aphyllum* Sw. but not with its asexual propagules, throughout its Eurasiatic range. *Annals of Botany*, 104, 595–610.
- Sahagian, D. 2000. Global physical effects of anthropogenic hydrological alterations: Sea level and water redistribution. *Global and Planetary Change*, 25, 39-48.
- Salazar-Chávez, G. A. and Soto-Arenas, M. A. 1996. El género *Lepanthes* Sw. en México. *Orquídea*, 14, 1-231.
- Salmia, A. 1989. *Features of endomycorrhizal infection of chlorophyll-free and green forms of Epipactis helleborine (Orchidaceae)*. Finnish Zoological and Botanical Publishing Board, 15-26, Helsinki, Finland.
- Sandoval-Zapotitla, E., García-Cruz, J., Terrazas, T. and Villasenor, J. L. 2010. Phylogenetic relationships of the subtribe *Oncidiinae* (Orchidaceae) inferred from structural and DNA sequences (Megakaryocyte-Associated Tyrosine Kinase Internal transcribed spacer): A combined approach. *Revista Mexicana de biodiversidad*, 81: 2, 263-279.
- Sarı, A. O., Tutar, M. and Çiçek, F. 2011. Ege Üniversitesi Tarımsal Araştırma Enstitüsü salep üretim çalışmaları. I. Salep orkidesi çalışmayı, 24-25 Mayıs, Bildiri Özetleri Kitabı, 65-86, Kahramanmaraş, Türkiye.
- Sathiyadash, K. Muthukumar, T. Murugan, S. B. Sathishkumar, R. and Pandey, R. 2014. *In vitro* symbiotic seed germination of South Indian endemic orchid *Coelogyne nervosa*. *Mycoscience*, 55: 3, 183-189.
- Sazak, A. 2004. Bazı orkide türlerine ait tohumların simbiyotik ve asimbiyotik olarak çimlendirilmesi ve fide gelişimi. Yüksek lisans tezi (Basılmamış), Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Sazak, A. and Ozdener, Y. 2006. Symbiotic and asymbiotic germination of endangered *Spiranthes spiralis* Lindley Chevall and *Dactylorhiza osmanica* (Klinge) Soó var. *osmanica* (Endemic). *Pakistan Journal Biological Science*, 9, 2222-2228.
- Scacchi, R., De Angelis, G. and Corbo, R. M. 1991. Effect of the breeding system on the genetic structure in three *Cephalanthera* spp.(Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 176, 53-61.
- Schachtman, D. P., Reid, R. J. and Ayling, S. M. 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiology*, 116: 2, 447-453.
- Schatz, B., Geoffroy, A., Dainat, B., Bessière, J. M., Buatois, B., Hossaert-McKey, M. and Selosse, M. A. 2010. A case study of modified interactions with symbionts in a hybrid Mediterranean orchid. *American Journal of Botany*, 97: 8, 1278-1288.

- Schiestl, F. P. and Ayasse, M. 2001. Post-pollination emission of a repellent compound in a sexually deceptive orchid: a new mechanism for maximising reproductive success? *Oecologia*, 126: 4, 531-534.
- Schulz, B. and Boyle, C. 2005. The endophytic continuum. *Mycological Research*, 109: 6, 661-686.
- Schweiger, J., Kemnade, C., Bidartondo, M. and Gebauer, G. 2019. Light limitation and partial mycoheterotrophy in *Rhizoctonia*-associated orchids. *Oecologia*, <https://doi.org/10.1007/s00442-019-04340-0>
- Scrugli, A., Cogoni, A. and Riess, S. 1995. Mycorrhizal endophytes of the chlorophyll-free orchids, *Corallorhiza trifida* Chatelain and *Epipogium aphyllum* Swartz, under light microscopy and true confocal scanner microscopy, *Caesiana*, 5, 29-38.
- Sebastián, F., Vanesa, S., Eduardo, F., Graciela, T. and Silvana, S. 2014. Symbiotic seed germination and protocorm development of *Achalcis achalensis* Schltr., a terrestrial orchid endemic from Argentina. *Mycorrhiza* 24: 1, 35-43.
- Seifert, K. A. 2009. Progress towards DNA barcoding of fungi. *Molecular ecology resources*, 9, 83-89.
- Selosse, M. A. and Roy, M., 2009. Green plants that feed on fungi: facts and questions about mixotrophy. *Trends in plant science*, 14: 2, 64-70.
- Selosse, M. A., Dubois, M. P., and Alvarez, N. 2009. Do Sebaciniales commonly associate with plant roots as endophytes?. *Mycological Research*, 113: 10, 1062-1069.
- Selosse, M. A., Faccio, A., Scappaticci, G. and Bonfante, P. 2004. Chlorophyllous and achlorophyllous specimens of *Epipactis microphylla* (Neottieae, Orchidaceae) are associated with ectomycorrhizal septomycetes, including truffles. *Microbial Ecology*, 47: 4, 416-426.
- Selosse, M. A., Weib, M., Jany, J. L. and Tillier, A. 2002. Communities and populations of sebacinoid basidiomycetes associated with the achlorophyllous orchid *Neottia nidus-avis* Lindley LCM Rich. and neighbouring tree ectomycorrhizae. *Molecular Ecology*, 11: 9, 1831-1844.
- Sezik, E. 1967. Türkiye'nin Salepgilleri Ticari Salep Çesitleri ve Özellikle Muğla Salebi Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul. Üniversitesi. Eczacılık. Fakültesi. İstanbul.
- Sezik, E. 1984. Orkidelerimiz, Türkiye'nin orkideleri. *Sandoz Kültür Yayınları*, 6, 166.
- Sezik, E. 2002. *Destruction and conservation of Turkish orchids*. Springer, 391-400, Boston.

- Sezik, E. and Baykal, T. 1988. *Maraş Salebinin Menşei ve Maraş Civarının Orkideleri* (Proje No: TBAG-664). Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Temel Bilimler Araştırma Grubu, Ankara.
- Sezik, E. and Baykal, T. 1991. Maraş salebinin menşei. *Doğa-Turkish Journal of Pharmacology*, 1: 10-16.
- Sezik, E. and Özer, B. 1983. *Kastamonu salebinin menşei ve Kastamonu civarının orkideleri* (Proje No: TBAG-424), Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Temel Bilimler Araştırma Grubu, Ankara.
- Shahollari, B., Varma, A. and Oelmüller, R. 2005. Expression of a receptor kinase in Arabidopsis roots is stimulated by the basidiomycete *Piriformospora indica* and the protein accumulates in Triton X-100 insoluble plasma membrane microdomains. *Journal of Plant Physiology*, 162: 8, 945-958.
- Sharma, S. K., Mehra, P., Kumari, J., Kumar, S., Kumaria, S., Tandon, P. and Rao, S. R. 2012. Physical localization and probable transcriptional activity of 18S–5.8 S–26S rRNA Gene Loci in some Asiatic *Cymbidiums* (Orchidaceae) from North-East India. *Gene*, 499: 2, 362-366.
- Shefferson, R. P., Kull, T. and Tali, K. 2008. Mycorrhizal interactions of orchids colonizing Estonian mine tailings hills. *American Journal of Botany*, 95: 2, 156-164.
- Shefferson, R. P., Taylor, D. L., Weiß, M., Garnica, S., McCormick, M. K., Adams, S. and Yukawa, T. 2007. The evolutionary history of mycorrhizal specificity among lady's slipper orchids. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 61: 6, 1380-1390.
- Shefferson, R. P., Weiss, M., Kull, T. I. and Taylor, D. L. 2005. High specificity generally characterizes mycorrhizal association in rare lady's slipper orchids, genus *Cypripedium*. *Molecular ecology*, 14: 2, 613-626.
- Shimura, H. and Koda, Y. 2005. Enhanced symbiotic seed germination of *Cypripedium macranthos* var. *rebunense* following inoculation after cold treatment. *Physiologia Plantarum*, 123: 3, 281-287.
- Shimura, H., Sadamoto, M., Matsuura, M., Kawahara, T., Naito, S. and Koda, Y. 2009. Characterization of mycorrhizal fungi isolated from the threatened *Cypripedium macranthos* in a northern island of Japan: two phylogenetically distinct fungi associated with the orchid. *Mycorrhiza*, 19: 8, 525-534.
- Sirrenberga, A., Göbel, C., Grond, S., Czempinski, N., Ratzinger, N., Karlovsky, P., Santos, P., Feussner, I. and Pawlowskia, K. 2007. *Piriformospora indica* Affects plant growth by auxin production. *Physiologia Plantarum*, 131, 581–589.
- Smith, A. M. and Stitt, M. 2007. Coordination of carbon supply and plant growth. *Plant cell and environment*, 30: 9, 1126-1149. doi: 10.1111/j.1365-3040.2007.01708.x

- Smith, S. and Read, D. 2008. *Mycorrhizal symbiosis* (Third edition). Academic Press, 800, San Diego, California.
- Smith, S. D., Cowan, R. S., Gregg, K. B., Chase, M. W., Maxted, N. and Fay, M. F. 2004. Genetic discontinuities among populations of *Cleistes* (Orchidaceae, Vanilloideae) in North America. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 145: 1, 87-95.
- Smith, S. E. 1966. Physiology and ecology of orchid mycorrhizal fungi with reference to seedling nutrition. *New Phytologist*, 65: 4, 488-499.
- Smith, S. E. and Read, D. J. 1996. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, 350-353, London.
- Smith, S. E. and Read, D. J. 2008. The symbionts forming arbuscular mycorrhizas. *Mycorrhizal Symbiosis*, 2, 13-41.
- Smith, S. E. and Read, D. J. 2010. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press, 1-8, United States of America.
- Smith, Z. F., James, E. A. and McLean, C. B. 2010. Mycorrhizal specificity of *Diuris fragrantissima* (Orchidaceae) and persistence in a reintroduced population. *Australian Journal of Botany*, 58: 2, 97-106.
- Smreciu, E. A. and Currah, R. S. 1989. Symbiotic germination of seeds of terrestrial orchids of North America and Europe. *Lindleyana*, 1: 6-15.
- Sneh, B., Burpee L. and Ogoshi, A. 1991. *Identification of Rhizoctonia species* (Third edition). American Phytopathological Society Press, 133, Saint Paul, Minnesota.
- Spoerl, E. and Curtis, J. T. 1948. Studies of the nitrogen nutrition of orchid embryos. III. amino acid nitrogen. *American Orchid Society Bulletin*, 17, 307-312.
- Stalpers, J. A. and Andersen, T. F. 1996. A synopsis of the taxonomy of teleomorphs connected with *Rhizoctonia solani* L. *Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control*, 23, 11, 49-63.
- Steinfort, U., Verdugo, G., Besoain, X. and Cisternas, M. A. 2010. Mycorrhizal association and symbiotic germination of the terrestrial orchid *Bipinnula fimbriata* (Poepp.) Johnst (Orchidaceae). *Flora Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 205, 12, 811-817.
- Stenberg, M. L. and Kane, M. E. 1998. *In vitro* seed germination and greenhouse cultivation of *Encyclia boothiana* var. *erythronioides*, an endangered Florida orchid. *Lindleyana*, 13, 101-112.
- Stewart, L. S. and Kane, M. E. 2006. Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Habenaria macroceratitis* (Orchidaceae), a rare Florida terrestrial orchid. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 86: 2, 147-158.

- Stewart, S. L. and Zettler, L. W. 2002. Symbiotic germination of three semi-aquatic rein orchids (*Habenaria repens*, *H. quinqueseta*, *H. macroceratitis*) from Florida. *Aquatic Botany*, 72, 25-35.
- Stewart, S. L. and Kane, M. E. 2007. Symbiotic germination and evidence for *in vitro* mycobiont specificity in *Spiranthes brevilabris* (Orchidaceae) and its implications for species-level conservation. *In vitro cellular and developmental biology – Plant*, 43: 3, 178-186.
- Stewart, S. L. and Kane, M. E. 2010. Effects of carbohydrate source on the *in vitro* asymbiotic seed germination of the terrestrial orchid *Habenaria macroceratitis*. *Journal of Plant Nutrition*, 33: 8, 1155-1165.
- Stewart, S. L., Zettler, L. W., Minso, J. and Brown, P. M. 2003. Symbiotic germination and reintroduction of *Spiranthes brevilabris* Lindley, An endangered orchid native to Florida. *Selbyana*, 24: 1, 64-70.
- Stoutamire, W. 1974. *Terrestrial Orchid Seedling*. Wiley, 101-128, New York.
- Stoutamire, W. P. 1983. Wasp-pollinated species of *Caladenia* (Orchidaceae) in South-Western Australia. *Australian Journal of Botany*, 31: 4, 383-394.
- Stöckel, M., Meyer, C. and Gebauer, G. 2011. The degree of mycoheterotrophic carbon gain in Green, variegated and vegetative albino individuals of *Cephalanthera damasonium* is related to leaf chlorophyll concentrations. *New Phytologist*, 189: 3, 790–796. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03510.x
- Suárez, J. P., Weiß, M., Abele, A., Oberwinkler, F. and Kottke, I. 2008. Members of Sebaciniales subgroup b form mycorrhizae with epiphytic orchids in a neotropical mountain rain forest. *Mycological Progress*, 7: 2, 75.
- Subedi, A., Kunwar, B., Choi, Y., Dai, Y., van Andel, T., Chaudhary, R. P. and Gravendeel, B. 2013. Collection and trade of wild-harvested orchids in Nepal. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9: 1, 64.
- Summerhayes, V. S. 1951. *Wild orchids of England with a key to the species*. Harper Collins Distribution Services, 464, London.
- Swarts, N. D. and Dixon, K. W. 2009. Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. *Annals of Botany*, 104, 543–556. doi:10.1093/aob/mcp025
- Swarts, N. D. and Dixon, K. W. 2009. Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. *Annals of Botany*, 104, 543–556. doi:10.1093/aob/mcp025
- Swarts, N. D., Sinclair, E. A., Francis, A. and Dixon, K. W. 2010. Ecological specialization in mycorrhizal symbiosis leads to rarity in an endangered Orchid. *Molecular Ecology*, 19: 15, 3226-3242.

- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M. and Murphy, A. 2015. *Plant physiology and development*. (Sixth edition). Sinauer Associates, 223, Sunderland, United States of America.
- Tamer, E., Karaman, C. B. and Copur, O. U. 2006. A traditional Turkish beverage: salep. *Food Reviews International*, 22: 1, 43-50.
- Tan, X. M., Wang, C. L. and Chen, X. M. 2014. *In vitro* seed germination and seedling growth of an endangered epiphytic orchid, *Dendrobium officinale*, endemic to China using mycorrhizal fungi (*Tulasnella* sp.). *Scientia Horticulturae*, 165, 62-68.
- Tapwal, A., Kalyan, P., Kumar, S. and Chandra, S. 2016. Study on fungi inhabiting indoor woods and their eco-friendly management. *International Letters of Natural Sciences*, 59, 55-61. doi:10.18052/www.scipress.com/ILNS.59.55
- Taylor, D. L. and Bruns, T. D. 1997. Independent, specialized invasions of ectomycorrhizal mutualism by two nonphotosynthetic orchids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94: 9, 4510-4515.
- Taylor, D. L., Bruns, T. D., Leake, J. R. and Read, D. J. 2002a. *Mycorrhizal ecology*. Springer, 375-413, Berlin, Heidelberg.
- Taylor, D. L., Bruns, T. D., Leake, J. R. and Read, D. J. 2002b. Mycorrhizal specificity and function in mycoheterotrophic plants. *Ecological Studies and Mycorrhizal Ecology*, 157, 375-407.
- Taylor, D. L., Bruns, T. M. and Hodges, S. A. 2003. Divergence in mycorrhizal specialization within *Hexalectris spicata* (Orchidaceae), a nonphotosynthetic desert orchid. *American Journal of Botany*, 90: 1168-1179.
- Tedersoo, L., Kõljalg, U., Hallenberg, N. and Larsson, K. H. 2003. Fine scale distribution of ectomycorrhizal fungi and roots across substrate layers including coarse woody debris in a mixed forest. *New Phytologist*, 159: 1, 153-165.
- Tedersoo, L., May, T. W. and Smith, M. E. 2010. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza*, 20: 4, 217-263.
- Teibert, C. F. 2018. Reproductive Success of *Anacamptis morio* (Orchidaceae) in the Donau-Auen National Park. Doctoral Dissertation, University of Natural Resources and Life Sciences, 81, Vienna, Austria.
- Tekinşen, K. K. and Güner, A. 2010. Chemical composition and physicochemical properties of tubera salep produced from some Orchidaceae species. *Food Chemistry*, 121: 2, 468-471.
- Terashita, T., Shiota, K. and Nakauchi, K. 1982. *Exposure control method and device*. Patent and Trademark Office, 650, Washington, United States of America.

- Tremblay, R. L., Ackerman, J. D., Zimmerman, J. K. and Calvo, R. N. 2004. Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: A spasmodic journey to diversification. *Biological Journal of the Linnean Society*, 84: 1, 1-54.
- Treseder, K. K., Davidson, D. W., Ehleringer, J. R. 1995. Absorption of ant-provided carbon dioxide and nitrogen by a tropical epiphyte. *Nature*, 375, 137–139.
- Tseng, C. C., Shang H. F., Wang, L. F., Su, B., Hsu, C. C., Kao, H. Y. and Cheng, K. T. 2006. Antitumor and immunostimulating effects of *Anoectochilus formosanus* Hayata. *Phytomedicine*, 13, 366-370.
- Tutar, M. 2011. *Ege Bölgesi Salep Orkidelerinde Üretim Olanaklarının Araştırılması*. (Tagem Projesi Sonuç Raporu Rapor No.TAGEM/TA/07/05//04/003). Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Menemen, İzmir.
- Uetake, Y. and Ishizaka, Y. 1995. Localization of adenylate cyclase in seeds and symbiotic protocol of *Nejibana*. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 61: 3, 137-243.
- Uetake, Y., Farquhar, M. L. and Peterson, R. L. 1997. Changes in microtubule arrays in symbiotic orchid protocorms during fungal colonization and senescence. *New Phytologist*, 135, 701-709.
- Umata, H. 1997. Formation of endomycorrhizas by an achlorophyllous orchid, *Erythrorchis ochobiensis* and *Auricularia polytricha*. *Mycoscience*, 38, 335-339.
- Urban, A., Wei, M. and Bauer, R. 2003. Ectomycorrhizas involving sebacinoid mycobionts. *Mycological Research*, 107: 1, 3-14.
- Usada, H. and Shimogawara, K. 1993. Phosphate deficiency in maize. IV. Changes in amounts of sucrose phosphate synthase during the course of phosphate deprivation. *Plant and Cell Physiology*, 34, 767–770.
- Utami, E. S. W. and Hariyanto, S. 2019. *In vitro* seed germination and seedling development of a rare Indonesian native orchid *Phalaenopsis amboinensis* Johannes Jacobus Smith. *Scientifica*, 81, 51-38. doi: 10.1155/2019/8105138
- Uthairatanakij, A., Jaime, A. T. and Obsuwan, K. 2007. Chitosan for improving orchid production and quality. *Orchid Science and Biotechnology*, 1: 1, 1-5.
- Vakkasoğlu, F. 1995. Orkidelerde mikorizal fungusların orkide tohumlarının çimlenmesi ve büyümeleri üzerine etkisi. Yüksek lisans Tezi, (Basılmamış), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

- Valadares, R. B. S., Otero, J. T., Pereira, M. C. and Cardoso, E. J. B. N. 2015. The epiphytic orchids *Ionopsis utricularioides* and *Psycmorchis pusilla* associate with different *Ceratobasidium* lineages at Valle del Cauca, Colombia. *Acta Botanica Brasilica*, 29, 40-44.
- Valadares, R. B. S., Pereira, M. C., Otero, J. T. and Cardoso, E. J. 2012. Narrow fungal mycorrhizal diversity in a population of the orchid *Coppensia doniana*. *Biotropica*, 44: 1, 114-122.
- Van Der Cingel, N. A. 2001. *An atlas of orchid pollination: European orchids*. CRC Press publishing, 260, New Zealand.
- Vela, E. and Viglione, J. 2015. Recent inputs to the Lebanese orchid flora and proposal of a national checklist for Orchidaceae family. *Société botanique de France*, 162: 4, 271-285. doi: doi.org/10.1080/12538078.2015.1105148
- Veldre, V., Abarenkov, K., Bahram, M., Martos, F., Selosse, M. A., Tamm, H. and Tedersoo, L. 2013. Evolution of nutritional modes of Ceratobasidiaceae (Cantharellales, Basidiomycota) as revealed from publicly available Internal transcribed spacer sequences. *Fungal Ecology*, 6: 4, 256-268.
- Walker, C., Gollotte, A. and Redecker, D. 2018. A new genus, *Planticonsortium* (Mucoromycotina), and new combination (*P. tenue*), for the fine root endophyte, *Glomus tenue* (basionym *Rhizophagus tenuis*). *Mycorrhiza*, 28: 3, 213-219.
- Walsh, R. P. and Michaels, H. J. 2017. When it pays to cheat: examining how generalized food deception increases male and female fitness in a terrestrial orchid. *PloS one*, 12: 1, e0171286.
- Wang, Y. 1995. *Phalaenopsis* orchid light requirements during the induction of spiking. *Horticultural Science*, 30, 59-61.
- Warcup, J. H. 1971. Specificity of mycorrhizal association in some Australian terrestrial orchids. *New Phytologist*, 70, 41-46.
- Warcup, J. H. 1973. Symbiotic germination of some Australian terrestrial Orchids. *New Phytologist*, 72: 2, 387-392.
- Warcup, J. H. 1975. Factors affecting symbiotic germination of orchid seed. *Academic Press*, pp, 87-104.
- Warcup, J. H. 1981a. The mycorrhizal relationships of Australian orchids. *New Phytologist*, 87: 2, 371-381.
- Warcup, J. H. 1981b. *Effect of Fire on the Soil Microflora and Other Non-Vascular Plants*. Australian Academy of Science, 203-214, Canberra.
- Warcup, J. H. 1985. *Rhizanthella gardneri* (Orchidaceae), its *Rhizoctonia* endophyte and close association with *Melaleuca uncinata* (Myrtaceae) in Western Australia. *New Phytologist*, 99: 2, 273-280.

- Warcup, J. H. 1988. Mycorrhizal associations of isolates of *Sebacina vermifera*, *New Phytologist*, 110, 227-231.
- Warcup, J. H. and Talbot, P. H. B. 1966. Perfect states of some Rhizoctonias. *Transactions of the British Mycological Society*, 49: 3, 427-435.
- Warcup, J. H. and Talbot, P. H. B. 1967. Perfect states of Rhizoctonias associated with orchids. *New Phytologist*, 66: 4, 631-641.
- Warcup, J. H. and Talbot, P. H. B. 1971. Perfect states of *Rhizoctonias* associated with Orchids. *New Phytologist*, 70: 1, 35-40.
- Warcup, J. H. and Talbot, P. H. B. 1980. Perfect states of Rhizoctonias associated with orchids. *New Phytologist*, 86: 3, 267-272.
- Wasserthal, L. T. 1997. The pollinators of the Malagasy star orchids *Angraecum sesquipedale*, *A. sororium* and *A. compactum* and the evolution of extremely long spurs by pollinator shift. *Botanica Acta*, 110: 5, 343-359.
- Waterman, R. J. and Bidartondo, M. I. 2008. Deception above, deception below: linking pollination and mycorrhizal biology of orchids. *Journal of Experimental Botany*, 59: 5, 1085-1096.
- Weber, R. W. S. and Webster, J. 2001. Teaching techniques for mycology: 14. mycorrhizal infection of orchid seedlings in the laboratory. *Mycologist*, 15: 2, 55-59.
- Wells, T. C. E. 1967. Changes in a population of *Spiranthes spiralis* Lindley chewall. at knocking hoe national nature reserve. *Journal of Ecology*, 55, 83-99.
- Werker, E. 1997. *Seed anatomy*. Encyclopedia of Plant Anatomy, 424, Berlin, Germany.
- Williamson, B. and Hadley, G. 1970. Penetration and Infection of Orchid Protocorms by *Thanatephorus cucumeris*. *Pathology*, 60, 1092-1096.
- Wilson M. F. 2007. *Medicinal plant fact sheet: Cypripedium: lady's slipper orchids*. North American Pollinator Group, 12, Virginia, Arlington, United States of America.
- Wilson, R. J., Gutierrez, D., Gutierrez, J. and Monserrat, V. J. 2007 An elevational shift in butterfly species richness and composition accompanying recent climate change. *Global Change Biology*. 13, 1873–1887. doi:10.1111/j.1365-2486.2007.01418.x
- Wood, J. 1993. *Orchis sancta*: Orchidaceae. *Curtis's Botanical Magazine*, 10: 1, 9–12. doi:10.1111/j.1467-8748.1993.tb00004.x
- Wright, M. and Guest, D. 2005. Development of mycorrhizal associations in *Caladenia tentaculata*. *Selbyana*, 26, 114-124.

- Wright, M. M., Cross, R., Cousens, R. D., May, T. W. and McLean, C. B. 2010. Taxonomic and functional characterisation of fungi from the *Sebacina vermifera* complex from common and rare Orchids in the genus *Caladenia*. *Mycorrhiza*, 20: 6, 375-390.
- Wright, M., Cross, R., Dixon, K., Huynh, T., Lawrie, A., Nesbitt, L. and Thomson, R. 2009. Propagation and reintroduction of *Caladenia*. *Australian Journal of Botany*, 57: 4, 373-387.
- Yagame, T., Fukiharu, T., Yamato, M., Suzuki, A and Iwase, K. 2008. Identification of a mycorrhizal fungus in *Epipogium roseum* (Orchidaceae) From Morphological Characteristics of *Basidiomycota*. *Mycoscience*, 49, 147–151. doi: 10.1007/s10267-007-0396-y
- Yam, T. W. and Arditti, J. 2009. History of orchid propagation: A mirror of the history of biotechnology. *Plant Biotechnology Reports*, 3: 1, 1.
- Yam, T. W., Arditti, J. and Cameron, K. M. 2009. “The orchids have been a splendid sport”—An alternative look at Charles Darwin's contribution to orchid biology. *American Journal of Botany*, 96: 12, 2128-2154.
- Yamato, M, Yagame, T, Suzuki, A and Iwase, K. 2005. Isolation and identification of mycorrhizal fungi associating with an achlorophyllous Plant, *Epipogium roseum* (Orchidaceae). *Mycoscience*, 46, 73–77.
- Yaseen, M., Ahmad, T., Sablok, G., Standardi, A. and Hafiz, I. A. 2013. Role of carbon sources for *in vitro* plant growth and development. *Molecular Biology Reports*, 40: 2837- 2849. doi: doi.org/10.1007/s11033-012-2299-z
- Yeh, C. M., Chung, K., Liang, C. K. and Tsai, W. C. 2019. New Insights into the symbiotic Relationship between orchids and fungi. *Applied Sciences*, 9: 3, 585.
- Yeung, E. C. and Law, S. K. 1992. Embryology and embryo development. of *Calypso bulbosa*. *Canadian Journal of Botany*, 70: 3, 461-468.
- Yoder, J. A, Zettler, L. W and Stewart, S. L. 2000. Water requirements of terrestrial and epiphytic orchid seeds and seedling and evidence for water uptake by means of micotrophy. *Plant Science*, 156, 145-150.
- Zelmer, C. D. and Currah, R. S. 1995. *Ceratorhiza pernecatena* and *Epulorhiza calendulina* spp. nov. : Mycorrhizal fungi of terrestrial orchids. *Canadian Journal of Botany*, 73: 12, 1981-1985.
- Zelmer, C. D., Cuthbertson, L. and Currah, R. S. 1996. Fungi associated with terrestrial orchid mycorrhizas, seeds and protocorms. *Mycoscience*, 37: 4, 439.
- Zettler, J. T. 1997. Characterization of epitaxial semiconductor growth by reflectance anisotropy spectroscopy and ellipsometry. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, 35: 1, 27-98.

- Zettler, L. W., Sunley, J. A. and Delaney, T. W. 2000. Symbiotic seed germination of an orchid in decline (*Platanthera integra*) from the green Swamp, North Carolina. *Castanea*, 65, 207-212.
- Zettler, L. W. 1997a. Terrestrial orchid conservation by symbiotic seed germination: techniques and perspectives. *Selbyana*, 18, 188-194.
- Zettler, L. W. 1997b. Orchid-fungal symbiosis and its value in conservation. *McIlvainea*, 13: 1, 40-45.
- Zettler, L. W. and Hofer, C. J. 1998. Propagation of the little club-spur orchid (*Platanthera clavellata*) by symbiotic seed germination and its ecological implications. *Environmental and Experimental Botany*, 39, 189-195.
- Zettler, L. W. and McInnis, J. T. M. 1994. Light enhancement of symbiotic seed germination and development of an endangered terrestrial orchid (*Platanthera integrilabia*). *Plant Science*, 102: 2, 133-138.
- Zettler, L. W. and McInnis, T. M. 1992. Propagation of *Platanthera integrilabia* Correll Luer, an endangered terrestrial orchid, through symbiotic seed Germination. *Lindleyana*, 7, 154-161.
- Zettler, L. W. and McInnis, T. M. 1993. Symbiotic seed germination and development of *Spiranthes cernua* and *Goodyera pubescens* (Orchidaceae: Spiranthoideae). *Lindleyana*, 8, 155-162.
- Zettler, L. W., Burkhead, J. C. and Marshall, J. A. 1999. Use of a mycorrhizal fungus from *Epidendrum conopseum* to germinate seed of *Encyclia tampensis* *in vitro*. *Lindleyana*, 14, 102-105.
- Zettler, L. W., Corey, L. L., Jacks, A. L., Gruender, L. T. and Lopez, A. M. 2013. *Tulasnella irregularis* (Basidiomycota: Tulasnellaceae) from roots of *Encyclia tampensis* in South Florida and confirmation of its mycorrhizal significance through symbiotic seed germination. *Lankesteriana International Journal on Orchidology*, 13, 1-2, 119-128.
- Zettler, L. W., Stewart, S. L., Bowles, M. L. and Jacobs, K. A. 2001. Mycorrhizal fungi and cold-assisted symbiotic germination of the federally Threatened Eastern prairie fringed orchid, *Platanthera leucophaea* Nuttall Lindley. *The American Midland Naturalist*, 145: 1, 168-176.
- Zettler, L. Z., Poulter, S. B., McDonald, K. I. and Stewart, S. L. 2007. Conservation-driven propagation of an epiphytic orchid (*Epidendrum nocturnum*) with a mycorrhizal fungus. *HortScience*, 42, 135-139.
- Zhang, J., Wu, K., Zeng, S., Teixeira da Silva, J.A., Zhao, X., Tian, C. E., Xia, H. and Duan, J. 2013 Transcriptome analysis of *Cymbidium sinense* and its application to the identification of genes associated with floral development. *BioMedCentral Genom.* 14: 1, 279.

- Zhang, Z., Yan, Y., Tian, Y., Li, J., He, J. S. and Tang, Z. 2015. Distribution and conservation of orchid species richness in China. *Biological Conservation*, 181, 64-72.
- Zi, X. M., Sheng, C. L., Goodale, U. M., Shao, S. C. and Gao, J. Y. 2014. *In situ* seed baiting to isolate germination-enhancing fungi for an epiphytic orchid, *Dendrobium aphyllum* (Orchidaceae). *Springer*, 24: 7, 487-499. doi:10.1007/s00572-014-0565-8
- Zimmer, K., Hynson, N. A., Gebauer, G., Allen, E. B., Allen, M. F. and Read, D. J. 2007. Wide geographical and ecological distribution of nitrogen and carbon gains from fungi in pyrolroids and monotropoids (Ericaceae) and in orchids. *New Phytologist*, 175: 1, 166-175.
- Zotz, G. and Winkler, U. 2013. Aerial roots of epiphytic orchids: the velamen radicum and its role in water and nutrient uptake. *Oecologia*, 171: 3, 733-741.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Burcu Turgut
Doğum Yeri : Erzurum
Doğum Tarihi : 28.06.1986
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Beşiktaş Sakıp Sabancı Anadolu Lisesi
(2004)

Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen
Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü
(2009)

Tezsiz Yüksek Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen
Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji
Öğretmenliği Anabilim Dalı
(Eylül, 2009 – Temmuz, 2010)

Tezli Yüksek Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen
Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim
Dalı (Eylül, 2015 – Eylül, 2019)

Çalıştığı Kurumlar ve Yıllar

Dr. Reşat Erden Anadolu Lisesi / 2011-2014
Ahmedi Hani Anadolu Lisesi / 2014-2015
Akpınar Fen Lisesi / 2015-2019
Kozluk OMV Fen Lisesi / 2019- Halen

Yayımlar

Turgut, B. and Kömpe, Y. Ö. 2019. Germination of the seeds of *Orchis sancta* in symbiotic culture medium (Orchidaceae). 1st International Symposium on Biodiversity Research (ISBR-1), 2–4 May, The Book of Abstracts and Full Texts of the ISBR 2019, 450, Çanakkale, Turkey.