



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

***ANACAMPTIS LAXIFLORA* VE *SERAPIAS ORIENTALIS*
TÜRLERİNİN TOHUMDAN ÜRETİMİ VE FİTOKİMYASAL
İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Doktora Tezi

Erdi Can AYTAR

Danışman
Prof. Dr. Yasemin Özden KÖMPE

SAMSUN

2024

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI



***ANACAMPTIS LAXIFLORA* VE *SERAPIAS ORIENTALIS*
TÜRLERİNİN TOHUMDAN ÜRETİMİ VE FİTOKİMYASAL
İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Doktora Tezi

Erdi Can AYTAR

Danışman

Prof.Dr. Yasemin ÖZDENER KÖMPE

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.FEN.1904.22.012 proje numarası ile desteklenmiştir

SAMSUN

2024

TEZ KABUL VE ONAYI

Erdi Can AY TAR tarafından, Prof. Dr. Yasemin ÖZDENER KÖMPE danışmanlığında hazırlanan “ANACAMPTIS LAXIFLORA VE SERAPIAS ORIENTALIS TÜRLERİNİN TOHUMDAN ÜRETİMİ VE FİTOKİMYASAL İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 27.6.2024 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Yasemin ÖZDENER KÖMPE Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. İbrahim ÖZKOÇ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Şeker Fatma AYGÜN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Analitik Kimya Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. İsmail Gökhan DENİZ Akdeniz Üniversitesi Biyoloji Eğitim Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Tuğba ÖZBUCAK Ordu Üniversitesi Botanik Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

08/05/2024

Erdi Can AY TAR

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : *ANACAMPTIS LAXIFLORA* VE *SERAPIAS ORIENTALIS*
TÜRLERİNİN TOHUMDAN ÜRETİMİ VE FİTOKİMYASAL
İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 03.05.2024 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 6

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

08 /05/2024

Yasemin ÖZDENER KÖMPE

ÖZET

ANACAMPTIS LAXIFLORA VE *SERAPIAS ORIENTALIS* TÜRRLERİNİN TOHUMDAN ÜRETİMİ VE FİTOKİMYASAL İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Erdi Can AY TAR

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Ana Bilim Dalı

Doktora, Temmuz/2024

Danışman: Prof. Dr. Yasemin ÖZDENER KÖMPE

Dünya genelinde orkideler, ciddi bir yok olma tehdidi altındadır. Bu tehditlerin başında küresel ısınma gelmektedir. Türkiye’de daha ciddi bir tehdit, “salep” üretimi için doğadan orkide yumrularının toplanmasıdır. Bu tehdide karşı en önemli çözüm tohumdan üretim yoluyla kültüre almaktır. Avrasya karasal orkideleri için bir diğer önemli konu, yumrularının biyoaktif bileşenleri dışında, diğer vejetatif kısımlarının kimyasal içerikleri ile ilgili çalışmaların çok yetersiz olmasıdır. Bu bağlamda bu tez çalışmasında Türkiye’de yaygın olarak bulunan ve yüksek ekonomik değere sahip orkideler olan *Anacamptis laxiflora* (Lam.) R.M. Bateman, Pridgeon & M.W. Chase ve *Serapias orientalis* (Greuter) H. Baumann & Künkele tohumlarının mikro-morfolojik özellikleri, çimlenme, gelişme ve doğal koşullarda hayat döngüsünün tamamlanma süreçleri incelenmiştir. Ex vitro simbiyotik çimlendirme çalışmalarında *S. orientalis* tohumları *Tulasnella calospora* (S6) izolatu ile *A. laxiflora* tohumları da *Ceratobasidium* sp. (AL5) ile aşılandığında toplam çimlenme oranları sırasıyla, %62.58 (± 3.37), %93.17 (± 3.06) olarak fide oluşturma oranları ise sırasıyla %18.49 ± 1.98 ve %69.20 ± 3.50 olarak belirlendi. Fidelerin doğal şartlara aktarılmasından yaklaşık 30 ay sonra ilk çiçeklenme meydana gelmiş ve tohumdan çiçekli safhaya kadar farklı gelişimsel safhalardaki biyoaktif bileşikler, çeşitli kimyasal analiz yöntemleri ile belirlenmiştir. Bu bağlamda FTIR spektrumları, her iki orkide türünün tohum, protokorm-primordium ve fidelerindeki kimyasal yapılarını tespit edilmiştir. Toprak üstü kısımlarının yağ asitleri ve aminoasit içeriklerinin analizi, bitkilerin antioksidan potansiyellerini ve biyoaktif bileşen içeriğini belirlemiştir. *S. orientalis* ve *A. laxiflora* tohumlarında fenolik bileşikler ve yağ asitleri analizi yapılmıştır. Çalışmalarda her iki türde de , p-kumarik asit en yüksek fenolik madde olarak belirlenmiştir. En baskın yağ asitler linoleik asit, palmitik asit , alpha linoleik asit, oleik asit ve arasidik asit tespit edildi. Bu çalışma, tohumdan çiçek aşamasına kadar olan süreçte *A. laxiflora* ve *S. orientalis* biyokimyasal özelliklerini ilk defa detaylı bir şekilde incelemektedir. Bu çalışma, orkide yetiştiriciliği ve biyoaktif bileşenlerin anlaşılması açısından önemli bir katkı sağlamaktadır.

Anahtar Sözcükler: *Anacamptis laxiflora*, Ex vitro Çimlenme, Fitokimyasal Analiz, FTIR, GC-MS, LC-MS, Orkideler, *Serapias orientalis*

ABSTRACT

PRODUCTION FROM SEEDS AND DETERMINATION OF PHYTOCHEMICAL CONTENTS OF *ANACAMPTIS LAXIFLORA* AND *SERAPIAS ORIENTALIS* SPECIES

Erdi Can AY TAR
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Biology

Ph.D., July/2024
Supervisor: Prof. Dr. Yasemin ÖZDENER KÖMPE

Orchids worldwide face a severe threat of extinction, with global warming being the foremost challenge. In Turkey, a more significant threat is the collection of orchid tubers from the wild for obtaining salep. The most important solution to this threat is cultivation through seed propagation. Another significant issue for Eurasian terrestrial orchids is the inadequacy of studies regarding the chemical compositions of their vegetative parts apart from their bioactive compounds. In this context, this thesis examines the micromorphological characteristics, germination, development, and completion of life cycle under natural conditions of *Anacamptis laxiflora* (Lam.) R.M. Bateman, Pridgeon & M.W.Chase and *Serapias orientalis* (Greuter) H. Baumann & Künkele seeds, which are widely distributed in Turkey and have high economic value. In ex vitro symbiotic germination studies, when *S. orientalis* seeds were inoculated with *Tulasnella calospora* (S6) isolate and *A. laxiflora* seeds with *Ceratobasidium* sp. (AL5), the total germination rates were determined as 62.58 ± 3.37 and 93.17 ± 3.06 , respectively, while the seedling formation rates were 18.49 ± 1.98 and 69.20 ± 3.50 , respectively. Approximately 30 months after planting seedlings in natural conditions, the first flowering occurred, and bioactive compounds at different developmental stages from seed to flowering stage were determined using various chemical analysis methods. In this context, FTIR spectra revealed the chemical compositions of seeds, protocorm-primordium, and seedlings of both orchid species. The analysis of fatty acids and amino acid contents of aboveground parts determined the antioxidant potentials and bioactive compound contents of the plants. Phenolic compounds and fatty acids were analyzed in *S. orientalis* and *A. laxiflora* seeds, with p-coumaric acid identified as the predominant phenolic compound in both species. The most abundant fatty acids detected were linoleic acid, palmitic acid, alpha-linolenic acid, oleic acid, and arachidic acid. This study provides a detailed examination of the biochemical properties of *A. laxiflora* and *S. orientalis* from seed to flowering stage for the first time. It contributes significantly to orchid cultivation and understanding of bioactive compounds.

Keywords: *Anacamptis laxiflora*, Ex vitro Germination, Phytochemical Analysis, FTIR, GC-MS, LC-MS, Orchids, *Serapias orientalis*

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Sevgili danışmanım, Prof. Dr. Yasemin Özdenir Kömpe,

Doktora sürecimin her aşamasında bana rehberlik ederken gösterdiğiniz sabır, anlayış ve desteğiniz için ne kadar teşekkür etsem az. Özveriniz ve bana olan inancınız, bu zorlu süreçte motivasyonumu hep yüksek tutmamı sağladı. Size olan minnettarlığımı ifade etmekte kelimeler yetersiz kalıyor.

Sevgili tez jüri üyeleri, Prof. Dr. Şeker Fatma Aygün ve Prof. Dr. İbrahim Özkoç, Doktora sürecimin en önemli aşamalarından biri olan tez izleme komitesinde yer alarak, bilgi birikiminiz ve değerli katkılarınızla beni desteklediğiniz için sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu zorlu süreçte, sizlerin rehberliğinde ilerlemek, akademik gelişimime büyük katkı sağladı.

Ayrıca, değerli bilgilerini ve rehberliğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. İsmail Gökhan Deniz'e de teşekkürü bir borç bilirim. Onun bilgi birikimi ve yol göstericiliği, çalışmamın her aşamasında bana rehber oldu.

Tez savunmamda yer alan Prof. Dr. Tuğba Özbucak'a da içtenlikle teşekkür ederim. Tez savunmam sırasında sağladığınız değerli geri bildirimler ve yönlendirmeler, tezimi daha iyi bir seviyeye taşımamda büyük rol oynadı.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Bölümü'ndeki değerli akademisyenlere ve çalışanlara da doktoramı en iyi şartlarda tamamlamam için gösterdikleri özveri ve destek için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, her zaman yanımda olan laboratuvar arkadaşım Bengisu Şentürk'e, Kimya Bölümü'nden arkadaşlarım Dr. Taşkın Basılı ve Mizan Kahyaoğlu'na da teşekkürlerimi sunarım. Destekleriniz, bu sürecin daha verimli ve keyifli geçmesini sağladı.

Değerli arkadaşım Dr. Alper Durmaz'a da bu süreçte yanımda olduğu, fikir alışverişlerinde bulunduğu ve her zaman destek verdiği için teşekkür ederim.

Ve tabii ki, bu süreçte bana her zaman inanan ve destek olan sevgili annem ve babam Serpil ve Birol Aytar'a, gösterdikleri sevgi, sabır ve teşvik için minnettarım. Onların fedakarlıkları ve rehberliği olmasaydı bu başarıya ulaşmam mümkün olmazdı. İyi ki varsınız, her şey için çok teşekkür ederim.

Dr. Erdi Can AY TAR

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Orchidaceae (Orkidegiller) Genel Özellikleri	5
2.2. Mikorizal Simbiyoz	11
2.3. Tezde Kullanılan Orkidelerin Özellikleri.....	13
2.3.1. <i>Anacamptis laxiflora</i> (Lam.) R.M. Bateman, Pridgeon & M.W.Chase....	13
2.4. <i>Serapias orientalis</i> (Greuter) H. Baumann & Künkele	15
2.5. Orkidelerin Geleneksel Kullanımları	16
2.6. Sekonder Metabolitler	19
2.6.1. Terpenler	20
2.6.2. Fenolik Bileşikler.....	27
2.6.3. Azot İçeren Sekonder Metabolitler.....	42
2.6.4. Kükürt İçeren Sekonder Metabolitler	45
2.7. Orkidelerin Sekonder Metabolit İçerikleri	48
2.8. Yağ Asitleri	51
2.9. Aminoasitler	54
2.10. Tezde Kullanılacak Analiz Yöntemleri	58
3. MATERYAL VE METOT.....	63
3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar	63
3.2. Tohumların Toplanması	63
3.3. Tohumların Mikromorfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi	63
3.3.1. Tohumların Kantitatif Özelliklerinin Belirlenmesi	63
3.3.2. Tohumların Işık Mikroskop Görüntüleri	64
3.3.3. Tohum ve Testa Hücrelerinin SEM Görüntüleri	64
3.4. Fungusların Aktifleştirilmesi.....	64
3.5. Toprak Karışımının Hazırlanması ve Tohum Paketlerinin Gömülmesi.....	64
3.6. Çimlenme ve Gelişim Süreçlerinin Takibi	65
3.7. Protokormların Morfolojik Ölçümleri	65
3.8. Protokormların Kritik Nokta Kurutma Cihazı ile Görüntüye Hazırlanması ve SEM Görüntüleri	65
3.9. Ex vitro Fidelerin Doğal Ortama Dikilmesi	66
3.10. Fidelerin Morfolojik Özellikleri ve Çiçeklenme Dönemi	66
3.11. Örneklerin Kimyasal Analizleri	66
3.11.1. FTIR (Fourier transform kızılötesi) Analizi	66
3.11.2. Yağ Asiti Analizi	66
3.11.3. Aminoasit Miktarı Belirleme	67
3.11.4. GC-MS Analizi ile Genel Fitokimyasal Profillerin Belirlenmesi.....	68

3.11.5. LC-MS Analizi ile Fenolik Madde İçeriklerinin Belirlenmesi.....	69
3.12. Sekonder Metabolitlerin Spektroskopik Analizleri	70
3.11.1.Toplam Fenolik Madde İçeriği	70
3.11.2.Toplam Flavonoid İçeriği	70
3.11.3.Toplam Flavanol İçeriği	71
3.11.4.Toplam Tanen İçeriği	71
3.11.5.Toplam Proantosiyanidin İçeriği	72
3.13. Örneklerin DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Aktivitesi.....	72
3.14. İstatiksel Analizler.....	72
4. BULGULAR.....	74
4.1. Tohumların Mikromorfolojik Özellikleri	74
4.1.1.Tohumların Kantitatif Özellikleri	74
4.1.2.İncelenen Tohumların Işık Mikroskobu ve Testa Hücrelerinin SEM Görüntüleri.....	77
4.2. Ex Vitro Simbiyotik Tohum Çimlenmesi	77
4.3. Protokormların Morfolojik Ölçümleri ve SEM Görüntüleri	79
4.4. <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> 'nın Farklı Gelişim Aşamalarındaki kimyasal değişimlerin FTIR ile Analizleri	82
4.5. Orkidelerin Doğal Alanlara Fide Dikimi ve Çiçeklenme Dönemi.....	92
4.6. 4.6. Yağ Asitleri Analizi.....	93
4.7. 4.7. LC-MS ile Amino Asit Miktar Analizi	102
4.8. GC-MS Genel Kütüphane Taraması	114
4.9. Fenolik Bileşik Analizi-LC-MS	134
4.10. <i>A. laxiflora</i> ve <i>S. orientalis</i> 'in Bazı Fenolik Bileşik Grupları ve Antioksidan Aktivitelerin Belirlenmesi	141
5. TARTIŞMA.....	143
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	152

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
°C	: Derece santigrat
g	: Gram
ESI	: Elektrosprey İyonizasyonu
FTIR	: Fourier Transform Kızılötesi
GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
LC-MS/MS	: Sıvı Kromatografi Spektrometrisi
m	: Metre
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
MRM	: Çoklu Reaksiyon İzleme
NIST	: Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü
PAR	: Fotosentetik Aktif Radyasyon
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
UV	: Ultraviyole
pH	: Power of hydrogen

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 <i>A.laxiflora</i> 'nın doğadaki genel görünümü (Fotoğraflar Dr. Erdi Can Aytar tarafından çekilmiştir)	15
Şekil 2.2 <i>S. orientalis</i> doğadaki genel görünümü (Fotoğraflar Dr. Erdi Can Aytar tarafından çekilmiştir)	16
Şekil 2.3 Prenol bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi.....	22
Şekil 2.4 Mentol bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	23
Şekil 2.5 Kadinen bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	24
Şekil 2.6 Fitol bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	24
Şekil 2.7 Sibastasin A bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi.....	25
Şekil 2.8 Ursolik asit bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	26
Şekil 2.9 Klorofil bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	27
Şekil 2.10 Gallik asit bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	29
Şekil 2.11 Kuersetin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	31
Şekil 2.12 Nobiletin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi.....	33
Şekil 2.13 Daidzein bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi.....	34
Şekil 2.14 Narigenin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	35
Şekil 2.15 Kateşinin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi.....	36
Şekil 2.16 Malvidinin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	37
Şekil 2.17 Resveratrol bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi.....	38
Şekil 2.18 Larisiresinol bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi.....	39
Şekil 2.19 Umbeliferone bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi.....	40
Şekil 2.20 Monolignol (sinapil alkol) bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	41
Şekil 2.21 Tanen bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	42
Şekil 2.22 Morfin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi.....	44
Şekil 2.23 Sambunigrin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	45
Şekil 2.24 Glikazonat bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	46
Şekil 2.25 Öjenol bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	47
Şekil 2.26 Pisatin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi	48
Şekil 2.27 FTIR genel görüntüsü	59
Şekil 2.28 GC-MS genel görüntüsü	60
Şekil 2.29 LC-MS genel görüntüsü.....	62
Şekil 4.1 Tohum ölçümlerinin türlere bağlı değişimlerini gösteren PCA analizi	76

Şekil 4.2 (A) <i>A. laxiflora</i> tohumlarının ışık mikroskobu görüntüsü, A1 embriyo, (B) tohumların SEM görüntüsü, (C) tohumların testa hücrelerinin SEM görüntüsü (ölçek çubukları, ışık mikroskobu 700 µm elektron mikroskobu genel görünümü 100 µm ve testa hücre görüntüleri	77
Şekil 4.3 <i>S. orientalis</i> tohumlarının ışık mikroskobu görüntüsü, A1 embriyo, (B) tohumların SEM görüntüsü, (C) tohumların testa hücrelerinin SEM görüntüsü (ölçek çubukları, ışık mikroskobu 700 µm elektron mikroskobu genel görünümü 100 µm ve testa hücre görüntüleri	77
Şekil 4.4 <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> tohum ve protokorm boyutlarının karşılaştırılması	80
Şekil 4.5 <i>A. laxiflora</i> 'ın protokorm aşamasının elektron mikroskop görüntüsü	81
Şekil 4.6 <i>S. orientalis</i> 'in protokorm aşamasının elektron mikroskop görüntüsü	81
Şekil 4.7 <i>S. orientalis</i> farklı kısımlarının genel FTIR spektrumu	83
Şekil 4.8 <i>A. laxiflora</i> farklı kısımlarının genel FTIR spektrumu	83
Şekil 4.9 <i>S. orientalis</i> tohumlarının FTIR pikleri ve kimyasal bağ görünümleri	85
Şekil 4.10 <i>S. orientalis</i> protokorm-primordiumların FTIR pikleri ve kimyasal bağ görünümleri	86
Şekil 4.11 <i>S. orientalis</i> fidelerinin FTIR pikleri ve kimyasal bağ görünümleri	87
Şekil 4.12 <i>A. laxiflora</i> tohumların FTIR pikleri ve kimyasal bağ görünümleri	88
Şekil 4.13 <i>A. laxiflora</i> protokorm-primordiumların FTIR pikleri ve kimyasal bağ görünümleri	89
Şekil 4.14 <i>A. laxiflora</i> fidelerinin FTIR pikleri ve kimyasal bağ görünümleri	90
Şekil 4.15 <i>S. orientalis</i> A) absorbans spektrumlarının sahip tüm numunelerin ikinci türev spektrumları B) 1318-1312 cm ⁻¹ , C) 1233-1227 cm ⁻¹ D) 1032-1020 cm ⁻¹ aralığında frekanslardaki kaymaların tespiti ve ikinci türev üzerindeki absorbans farklarının belirlenmesi	91
Şekil 4.16 <i>A. laxiflora</i> A) Absorbans spektrumlarının sahip tüm numunelerin ikinci türev spektrumları B) 1640-1612 cm ⁻¹ , C) 1233-1227 cm ⁻¹ D) 1032-1020 cm ⁻¹ aralığında frekanslardaki kaymaların tespiti ve ikinci türev üzerindeki absorbans farklarının belirlenmesi	91
Şekil 4.17 <i>S. orientalis</i> 'in tohumdan çiçek aşamasına kadar gelişimi A) tohumunun elektron mikroskobu görüntüsü, B) protokorm C) primordium, D) fide, E) iki veya daha fazla yapraklı fide, F) doğal alana dikilen fideler, G) çiçekli bireyler	92
Şekil 4.18 <i>A. laxiflora</i> 'nın tohumdan çiçek aşamasına kadar gelişimi A) tohumunun elektron mikroskobu görüntüsü, B) protokorm C) primordium, D) fide, E) iki veya daha fazla yapraklı fide, F) doğal alana dikilen fideler, G) çiçekli bireyler	93
Şekil 4.19 <i>S. orientalis</i> yağ asitlerinin GC-MS pikleri	96
Şekil 4.20 <i>A. laxiflora</i> yağ asitlerinin GC-MS pikleri	96

Şekil 4.21 Linoleik asit bileşiğinin iki ve üç boyutlu yapısı (<i>S. orientalis</i> %21,79, <i>A. laxiflora</i> %25,28).....	97
Şekil 4.22 Palmitik asit bileşiğinin iki ve üç boyutlu yapısı (<i>S. orientalis</i> %20,22, <i>A. laxiflora</i> %23,55).....	97
Şekil 4.23 Alfa linoleik asit bileşiğinin iki ve üç boyutlu yapısı (<i>S. orientalis</i> %16,87, <i>A. laxiflora</i> %20,68).....	97
Şekil 4.24 Oleik asit bileşiğinin iki ve üç boyutlu yapısı (<i>S. orientalis</i> %8,67, <i>A. laxiflora</i> %2,44).....	98
Şekil 4.25 Arakidik asit bileşiğinin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (<i>S. orientalis</i> %6,81, <i>A. laxiflora</i> %4,11)	98
Şekil 4.26 Behenik asit bileşiğinin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (<i>S. orientalis</i> %3,35, <i>A. laxiflora</i> %4,70)	98
Şekil 4.27 Steraik asit bileşiğinin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (<i>S. orientalis</i> %6,13, <i>A. laxiflora</i> %4,50).....	99
Şekil 4.28 Yağ asitlerinin Venn ağı diyagramı	100
Şekil 4.29 <i>A. laxiflora</i> 'da bulunan trikozonaik asit 2d ve 3d yapısı (%0,21)	101
Şekil 4.30 <i>S. orientalis</i> 'de bulunan arakidonik asit iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (%0,11)	101
Şekil 4.31 <i>S. orientalis</i> 'de bulunan undekonoik asit iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (%0,16)	102
Şekil 4.32 <i>S. orientalis</i> 'de bulunan heptadesenoik asit 2d ve 3d yapısı (%0,44)	102
Şekil 4.33 <i>A. laxiflora</i> ve <i>S. orientalis</i> 'in aminoasit miktarlarının karşılaştırılması (mg/g)	104
Şekil 4.34 <i>S. orientalis</i> 'in aminoasit yüzdesi	104
Şekil 4.35 <i>A. laxiflora</i> 'nın aminoasit yüzdesi	105
Şekil 4.36 <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> bulunan gama-aminobütirik asit iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (0,845 ve 0,924 g/gr)	106
Şekil 4.37 <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> bulunan alanin'in iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (4,33 ve 4,22 mg/gr)	106
Şekil 4.38 <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> bulunan arginin'in iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (5,69 ve 5,83 mg/gr)	106
Şekil 4.39 <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> bulunan aspartik asit iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (9,05 ve 10.26 mg/gr)	107
Şekil 4.40 <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> bulunan glutamik asit iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (12,30 ve 8.87 mg/gr)	107
Şekil 4.41 <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> bulunan glisin'in iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (2,04 ve 1,45 mg/gr)	107
Şekil 4.42 <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> bulunan izolösin'in iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (3,08 ve 3,36 mg/gr)	108

Şekil 4.43 <i>S. orientalis</i> ve <i>A.laxiflora</i> bulunan lösin'in iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (7,99 ve 10.21 mg/gr)	108
Şekil 4.44 <i>S. orientalis</i> ve <i>A.laxiflora</i> bulunan lizinin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (6,86 mg/gr)	109
Şekil 4.45 <i>S. orientalis</i> ve <i>A.laxiflora</i> bulunan metiyoninin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (1,32 ve 1,27 mg/gr)	109
Şekil 4.46 <i>S. orientalis</i> ve <i>A.laxiflora</i> bulunan fenialenin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (5,19 ve 6,52 mg/gr)	110
Şekil 4.47 <i>S. orientalis</i> ve <i>A.laxiflora</i> bulunan prolin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (3,60 ve 4,58 mg/gr)	110
Şekil 4.48 <i>S. orientalis</i> ve <i>A.laxiflora</i> bulunan serin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (4,46 ve 5,97 mg/gr)	111
Şekil 4.49 <i>S. orientalis</i> ve <i>A.laxiflora</i> bulunan treonin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (4,81 ve 7,23 mg/gr)	111
Şekil 4.50 <i>S. orientalis</i> ve <i>A.laxiflora</i> bulunan tirosin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (4,27 ve 4,63 mg/gr)	111
Şekil 4.51 <i>S. orientalis</i> ve <i>A.laxiflora</i> bulunan valin'in iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (5,87 ve 7,09 mg/gr)	112
Şekil 4.52 <i>S. orientalis</i> ve <i>A.laxiflora</i> bulunan trans-4-hidroksiprolin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (1,25 ve 1,24 mg/gr)	112
Şekil 4.53 <i>A.laxiflora</i> bulunan etilenamin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (0,734 mg/gr)	113
Şekil 4.54 Aminoasit kalite parametrelerinin karşılaştırılması	114
Şekil 4.55 <i>S. orientalis</i> tohum ve toprak üstü kısımlarının Venn ağı	117
Şekil 4.56 <i>A. laxiflora</i> tohum ve toprak üstü kısımlarının Venn ağı	120
Şekil 4.57 <i>S.orientalis</i> ve <i>A.laxiflora</i> bileşiklerinin Venn ağı	122
Şekil 4.58 Hidroksiasetik asit, hidrazid iki ve üç boyutlu yapısı	123
Şekil 4.59 Bütirik asit, hidrazid iki ve üç boyutlu yapısı	123
Şekil 4.60 Silan, dimetoksimetil iki ve üç boyutlu yapısı	123
Şekil 4.61 2,2-dimetoksi-butan iki ve üç boyutlu yapısı	124
Şekil 4.62 Butil 2-(2-(2-butoksi etoksi)etoksi)asetat iki ve üç boyutlu yapısı	124
Şekil 4.63 Dekan iki ve üç boyutlu yapısı	124
Şekil 4.64 1-Heksanol, 2-etil iki ve üç boyutlu yapısı	124
Şekil 4.65 Undekan iki ve üç boyutlu yapısı	125
Şekil 4.66 Heksadekanoik asit, metil ester iki ve üç boyutlu yapısı	125
Şekil 4.67 6,12-oktadekadienoik asit (Z,Z)-, metil ester iki ve üç boyutlu yapısı ...	125
Şekil 4.68 9-oktadekenoik asit (Z)-, metil ester iki ve üç boyutlu yapısı	126
Şekil 4.69 Metil stearat iki ve üç boyutlu yapısı	126

Şekil 4.70 Pentakozan iki ve üç boyutlu yapısı.....	126
Şekil 4.71 Kolesterol iki ve üç boyutlu yapısı	127
Şekil 4.72 Asetik asit, aminookso-, hidrazid iki ve üç boyutlu yapısı	127
Şekil 4.73 dl-gliseraldehit iki ve üç boyutlu yapısı.....	127
Şekil 4.74 Semikarbazithidroklorür iki ve üç boyutlu yapısı.....	128
Şekil 4.75 2-Propanol, 1,1'-oksibis iki ve üç boyutlu yapısı.....	128
Şekil 4.76 2-Pentanon, 4-amino-4-metil iki ve üç boyutlu yapısı.....	128
Şekil 4.77 Ksantosin iki ve üç boyutlu yapısı	128
Şekil 4.78 1,2-Benzendikarboksilik asit, bis(2-metilpropil) ester iki ve üç boyutlu yapısı.....	129
Şekil 4.79 Heksadekanoik asit, metil ester iki ve üç boyutlu yapısı	129
Şekil 4.80 2-propoksi-etanol iki ve üç boyutlu yapısı.....	129
Şekil 4.81 Hidrazinkarbotionamid iki ve üç boyutlu yapısı.....	129
Şekil 4.82 Trimetilsilil performatik asit iki ve üç boyutlu yapısı	130
Şekil 4.83 2-Hidroksiizokaproik asit, metil eteri, metil ester iki ve üç boyutlu yapısı	130
Şekil 4.84 Di-sec-butanol eteri iki ve üç boyutlu yapısı	130
Şekil 4.85 Glikolaldehit dimer iki ve üç boyutlu yapısı.....	130
Şekil 4.86 3-Hidroksi butanoik asit iki ve üç boyutlu yapısı	131
Şekil 4.87 4-Hidroksibutirik asit hidrazid iki ve üç boyutlu yapısı	131
Şekil 4.88 1,1-Dipropoksi propan iki ve üç boyutlu yapısı.....	131
Şekil 4.89 Gliseraldehit iki ve üç boyutlu yapısı	131
Şekil 4.90 Metil karbamat iki ve üç boyutlu yapısı	131
Şekil 4.91 Di hidroksi aseton iki ve üç boyutlu yapısı.....	132
Şekil 4.92 Etil eter iki ve üç boyutlu yapısı	132
Şekil 4.93 1,2,3-Propantriol iki ve üç boyutlu yapısı.....	132
Şekil 4.94 6-Metil-3,4-di hidro-2-piron iki ve üç boyutlu yapısı.....	132
Şekil 4.95 1,2,3-Propantriol, 1-asetat iki ve üç boyutlu yapısı	133
Şekil 4.96 2,3-Dimetil pentanal iki ve üç boyutlu yapısı	133
Şekil 4.97 İzosorbit dinitrat iki ve üç boyutlu yapısı	133
Şekil 4.98 2-Deoksi-D-galaktoz iki ve üç boyutlu yapısı	133
Şekil 4.99 Hekso piranoz iki ve üç boyutlu yapısı.....	134
Şekil 4.100 Salisin iki ve üç boyutlu yapısı	134
Şekil 4.101 2-Bromopropiyonik asit, pentadekil ester iki ve üç boyutlu yapısı	134
Şekil 4.102 Gallik asit iki ve üç boyutlu yapısı	135

Şekil 4.103 Klorojenik asit iki ve üç boyutlu yapısı	136
Şekil 4.104 Vanilik asit iki ve üç boyutlu yapısı	136
Şekil 4.105 Kafeik asit iki ve üç boyutlu yapısı.....	136
Şekil 4.106 Salisilik asit iki ve üç boyutlu yapısı	137
Şekil 4.107 P- Kumarik asit iki ve üç boyutlu yapısı.....	137
Şekil 4.108 Taksifolin iki ve üç boyutlu yapısı.....	137
Şekil 4.109 Trans ferulik asit iki ve üç boyutlu yapısı.....	138
Şekil 4.110 Rutin hidrat iki ve üç boyutlu yapısı.....	138
Şekil 4.111 Kuersetin dihidrat iki ve üç boyutlu yapısı	139
Şekil 4.112 Apigenin iki ve üç boyutlu yapısı	139
Şekil 4.113 İsorhamnetin iki ve üç boyutlu yapısı.....	140
Şekil 4.114 <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> toprak üstü kısımlarının fenolik madde içeriklerinin radar grafiği	140

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1 Amino asitlerin tam oksidasyonundan olası enerji verimi.....	57
Tablo 3.1 Orkide tohumlarının gelişme aşamaları.....	65
Tablo 3.2 Hedef amino asitlerin MRM (Multiple Reaction Monitoring) koşulları	68
Tablo 4.1 Tohumların mikromorfoloji ölçümleri ($\pm$ Standart sapma, $n = 30$).....	74
Tablo 4.2 Tohum ölçümlerinin PCA skorları	75
Tablo 4.3 Tohum morfolojik özelliklerinin PC1 ve PC2 üzerindeki etkileri.....	75
Tablo 4.4 Ölçülen değerlerin katkı değerleri	75
Tablo 4.5 <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> gelişme aşamaları ve toplam çimlenme yüzdeleri ($\pm$ Standart sapma, $n = 3$)	78
Tablo 4.6 <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> protokorm ölçümleri ($\pm$ Standart sapma, $n = 30$)	79
Tablo 4.7 <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> tohum, protokorm-primodyum ve fide kısımlarının FTIR pikleri	84
Tablo 4.8 <i>S. orientalis</i> toprak üstü kısımlarının yağ asitleri ($\pm$ Standart sapma, $n = 3$)	94
Tablo 4.9 <i>A. laxiflora</i> toprak üstü kısımlarının yağ asitleri ($\pm$ Standart sapma, $n = 3$)	95
Tablo 4.10 <i>A. laxiflora</i> ve <i>S. orientalis</i> aminoasit analiz sonuçları ($\pm$ Standart sapma, $n = 3$)	103
Tablo 4.11 <i>A. laxiflora</i> ve <i>S. orientalis</i> 'de bulunan aminoasitlerin kimyasal özellikleri.....	105
Tablo 4.12 Tespit edilen aminoasitlerin kalite parametreleri.....	113
Tablo 4.13 <i>S. orientalis</i> tohumlarının GC-MS analiz sonuçları.....	115
Tablo 4.14 <i>S.orientalis</i> toprak üstü kısımlarının GC-MS analiz sonuçları	116
Tablo 4.15 <i>A. laxiflora</i> tohumlarının GC-MS analiz sonuçları.....	118
Tablo 4.16 <i>A. laxiflora</i> toprak üstü kısımlarının GC-MS analiz sonuçları	119
Tablo 4.17 <i>S. orientalis</i> ve <i>A. laxiflora</i> toprak üstü kısımlarının LC-MS analiz sonuçları ($\pm$ Standart sapma, $n = 3$)	135
Tablo 4.18 <i>S.orientalis</i> ve <i>A.laxiflora</i> kısımlarının antioksidan parametreleri ($\pm$ Standart sapma, $n = 3$).....	142

1. GİRİŞ

Koruma biyolojisi, biyolojik çeşitlilikteki azalmaya sebep olan faktörleri belirleyerek bunları durdurmanın yollarını önermeyi amaçlayan bir disiplindir (Stipkova vd., 2021). Biyoçeşitliliğin evrimsel ve işlevsel mirasını korumak için, tür düzeyinde gerçekleşen çeşitlendirme süreçlerini ve mevcut genetik çeşitliliği korumak önemlidir (Bobo-Pinilla vd., 2022). Son yıllarda artan kentleşme, arazi kullanımı ve tarımın yoğunlaşması, habitat kaybına ve parçalanmasına neden olmaktadır. Bu da bitki ve hayvan türlerinin yoğunluğunda ve dağılımında önemli ölçüde bir azalma meydana getirmektedir (Tsiftsis vd., 2011; Kull vd., 2016). Bu durumla başa çıkmak için önerilen çeşitli stratejiler arasında, bitki türlerini kurtarma planlarının yanı sıra habitat koruma, popülasyon değişikliklerinin izlenmesi ve üretilmesi gibi çeşitli yaklaşımlar bulunmaktadır (Swarts ve Dixon 2009; Whigham vd., 2021).

Orchidaceae, çiçekli bitkiler arasında en fazla tür çeşitliliğine ve dünya genelinde en geniş alana yayılma özelliğine sahiptir. Ancak, bu familya üyeleri aynı zamanda dünyanın en çok tehdit altındaki bitkileri arasında yer almaktadır (Kull ve Hutchings, 2006).

Tüm orkidelerin ortak bir özelliği, orkide mikorizal funguslarına (OMF) bağımlılıklarıdır. Bu durum, uygun fungus türlerinin orkide popülasyonlarının kurulması ve devam ettirilmesi için bir gereklilik haline gelir (Li vd., 2021). Orkide fungusları, kortikal hücrelerde fonksiyonel pelotonların bulunup bulunmadığına göre mikorizal (OMF) ve mikorizal olmayan funguslar (ONF) olarak ikiye ayrılır. OMF en az 17 Basidiomycetes ve 5 Ascomycetes içerir (Dearnaley vd., 2012). Tulasnellaceae, Ceratobasidiaceae ve Serendipitaceae yaygın olarak *Rhizoctonia* grubu Basidiomycetes olarak bilinir (Wang vd., 2019; Trivedi vd., 2020). İlginç bir şekilde, orkidelerle ilişkilendirilen Ascomycetes'lerin büyük bir kısmı ONF'dir. Örneğin, Helotiales endofitleri, farklı habitatlardaki ev sahibi orkidelerle ilişkili baskın ONF grubudur ve çeşitli orman ekotiplerinde önemli bitki-fungus üyeleridir (Jacquemyn vd., 2015). Önceki çalışmalarda, orkidelerle ilişkilendirilen 76 cins Ascomycetes ve 32 cins Basidiomycetes dahil olmak üzere 110'dan fazla ONF cinsi tanımlanmıştır (Rasmussen ve Rasmussen 2009; Jacquemyn vd., 2017).

Orkide popülasyonlarının yayılışı ve bolluğu, biyotik ve abiyotik faktörler tarafından sınırlandırılmaktadır. Bu faktörler arasında çimlenme ve gelişme için gerekli uygun fungusların varlığı, enlem derecesi, makro iklim, alan büyüklüğü, toprak

özellikleri, ışık koşulları, substrat türleri, tozlaştırıcıların varlığı, rakımın etkileri, toprak nemi ve pH değerleri yer almaktadır (Djordijevic vd., 2016). Orkideler, endosperm içermeyen ve toz benzeri yapıya sahip tohumlar üretirler ve orkidelerin doğal yaşam döngüsünde ve çevresel etkileşimlerinde önemli bir rol oynayan, mikoriza fungusları (OMF) ile ilişkilendirilirler. Endomikoriza fungusları, orkidelerin tohumlarının çimlenme sürecinde ve yeni fidelerin oluşmasında kritik bir rol oynarlar. Orkidelerin köklerinde besin alımını artırarak büyümeyi teşvik eder. Doğal habitatlarda OMF bakımından zengin mikro habitatlar genellikle daha fazla tohumun çimlenmesini ve fide oluşumunu kolaylaştırır. OMF yoğunluğundaki değişiklikler orkidelerin dağılımını ve topluluk kompozisyonunu etkiler (McCormick ve Jacquemyn, 2014; Waud vd., 2016, McCormick vd., 2018).

Tıbbi amaçlar için kullanılan orkideler, önemli miktarda sekonder metabolit üretir ve bu metabolitler farmasötik açıdan değerlidir. Örneğin, *Dendrobium amoenum*'un köklerinden elde edilen izoamoenilin, antibakteriyel özelliklere sahiptir. Ayrıca, *Cymbidium* hibridi, *Listera ovata* ve *Epipactis helleborine* gibi bazı orkidelerden izole edilen mannoz ve spesifik lektinler, sitomegalovirüs (CMV) ve influenza A gibi belirli virüs gruplarına karşı inhibitör etkilere sahiptir. Bu nedenle, tıbbi orkideler, sağlık açısından önemli bileşiklerin kaynağı olarak değerlendirilmektedir (Qiu vd., 2007). Tıbbi orkidelerde bulunan sekonder metabolitlerin çeşitli etkileri arasında ateş düşürücü, anti-inflamatuar, anti-kanserojen, antikonvülzan (nörolojik etki) ve idrar söktürücü gibi özellikler de bulunmaktadır (Bhattacharyya vd., 2019; Suyal vd., 2020; Wani vd., 2020). Bu nedenle, bu tür orkidelerin in vitro veya ex vitro yöntemlerle yetiştirilmesi, farmakolojik araştırmalar için önemli bir araç olabilir. Ayrıca, ekonomik açıdan önemli olan ve sayıları giderek azalan tehdit altındaki orkide popülasyonlarına yönelik baskıyı azaltmaya da yardımcı olabilir (Pradhan vd., 2016; Shah vd., 2019).

Ne yazık ki, ticarete önemli sayıda orkide, çoğaltma yöntemlerinin zorluğu ve verimsizliği nedeniyle doğadan toplanmaktadır. Günümüzde tropikal orkide hibritleri ve diğer birçok orkide türünü çimlendirmek için kullanılan ana yöntem asimbiyotik tohum çimlenmesidir (Yam ve Arditti, 2009). Ancak bu yöntem her bir orkide türü için ortam bileşenlerinin optimizasyonunu gerektirir. Bu nedenle zaman ve kaynak tüketimi fazla olmaktadır. Ayrıca işlem boyunca tam aksenik duruma ihtiyaç duyulduğu için pahalı laboratuvar olanakları zorunludur. Alternatif olarak orkide

tohumları orkide mikorizal funguslar kullanılarak çimlenebilir. Bu yöntemin asimbiyotik tohum çimlenmesinden üstün olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Rasmussen vd., 1990; Johnson vd., 2007; Nontachaiyapoom vd., 2011; Deniz vd., 2022). In vitro simbiyotik tohum çimlenmesi, öncelikle koruma ve araştırma amaçları için kullanılır (Zettler ve Dvorak, 2021). Simbiyotik tohum çimlenmesi için üç yöntem, in situ, ex situ ve ex vitro tohum çimlenmesidir. In situ simbiyotik tohum çimlenmesi, orkide tohumlarının doğal habitatlarına gömülerek doğal ortamlarındaki uygun fungus ile simbiyotik birlik kurmasıyla gerçekleşir (Rasmussen ve Whigham, 1993). Doğal yaşam alanlarından tehdit altında bırakılan bitkiler için, botanik bahçelerinde ex situ koruma, kısa ve orta vadede hayatta kalmalarının bir yolu olabilir. Bu yaklaşım, bitkilerin doğal ortamlarından alınıp botanik bahçelerinde kontrollü koşullar altında yetiştirilmesini içerir. Bu şekilde, nadir bitki türleri için koruma çabaları artırılabilir ve türlerin soyunun devamı sağlanabilir. (Zhao vd., 2021). Ex vitro simbiyotik tohum çimlenmesi, orkide tohumlarını çimlendirmek için mikorizal funguslarla önceden aşılınmış substratların kullanıldığı yöntemdir (Quay vd., 1995; Yagame vd., 2007; Aewsakul vd., 2013; Kömpe ve Mutlu, 2021; Kömpe vd., 2022; Deniz vd., 2022; Aytar vd., 2023; Aytar vd., 2024).

Bu tez çalışmasında hem ekonomiye alternatif ürünler dahil edebilmek hem de koruma ve yeni orkide popülasyonları oluşturmak için *A.laxiflora* ve *S.orientalis*'in ex vitro simbiyotik yöntem ile elde edilen fidelerden doğal ortamda ilk yumruların üretilmesi ve tohumdan çiçeklenme aşamasına kadar yaşam döngüsünü tamamlanmasına odaklanmaktadır. Ayrıca gelişme evrelerinin (tohum, protokorm-primodyum, ilk gerçek yaprak) ve doğaya aktarıldıktan sonraki oluşan toprak üstü organlarının (yaprak ve çiçek) fitokimyasal profillerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda *A. laxiflora*'nın ve *S. orientalis*'in köklerinden daha önceki çalışmalarda izole edilen sırasıyla *Ceratobasidium* sp. (AL5) ve *Tulasnella calospora* (S6) izolatları kullanılmıştır (Kömpe vd.,2019; Kömpe vd., 2021).

Bu çalışmanın iki ana hipotezi bulunmaktadır. İlk hipotez, tehdit altında bulunan orkidelerin tohumdan başlayarak çiçek aşamasına kadar olan süreçte bir popülasyon oluşturma amaçlanmaktadır. İkinci hipotez ise, orkidelerin biyokimyasal süreçlerinin ve toprak üstü kısımlarının kullanım potansiyelinin analiz edilmesiyle, orkidelerin çimlenme ve gelişme süreçlerindeki biyokimyasal değişimlerin, biyoaktif bileşenlerin ve toprak üstü kısımlarının kimyasal içeriklerinin belirlenebileceği ve bu

sayede orkidelerin potansiyel kullanım alanlarının ve antioksidan gibi değerli bileşiklerin içeriklerinin ortaya ıkarılabileceğidir. Bu hipotezler, orkide yetiştiriciliği ve biyoteknolojik uygulamalar için önemli bir temel oluşturmayı amaçlamaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Orchidaceae (Orkidegiller) Genel Özellikleri

Orchidaceae, Angiosperm tür çeşitliliğinin yaklaşık %8'ini oluşturan karasal, epifit ve litofit formlarına dayalı olarak dünya çapında tahmini toplam 31.000-35.000 tür ile en büyük çiçekli bitki familyaları arasındadır (Chase vd., 2015; Shukla vd., 2022). Orkideler Antarktika ve çöller hariç, tüm kıtalarda bulunurlar ve karasaldan epifitliklere kadar çeşitli yaşam formlarına sahiptirler (Givnish vd., 2016; Freestone vd., 2021). Birçok yerel endemik olan orkide türlerinin dağılımları için edafik ortamlar gereklidir. Mikorizal funguslar ve tozlayıcılarla spesifik ilişkilerinden dolayı kısıtlı üreme potansiyelleri vardır (McCormick ve Jacquemyn, 2014; Gaskett ve Gallagher, 2018). Birçok tür, habitat kaybı ve yasadışı toplanmalar nedeniyle tehdit altındadır. Küresel ticareti o kadar sorunlu ki, tüm orkide türleri, Nesli Tehlike Altında Olan Yabani Hayvan ve Bitki Türlerinin Kasıtlı Ticaretine İlişkin Sözleşme'nin (CITES) kapsamına alınmıştır. Karasal orkide türlerinin yaklaşık üçte birini oluşturan bu türler, çeşitli faktörler nedeniyle yok olma tehlikesiyle karşı karşıyadır (Hinsley ve Roberts, 2018). Bu nedenle, in situ ve ex situ koruma programlarına öncelik vermek için en çok tehlike altındaki türlerin belirlenmesine acil bir ihtiyaç vardır.

Toz tohumları olarak bilinen orkide tohumları, her çiçek tarafından bol miktarda üretilir (Eriksson ve Kainulainen, 2011). Kapsül başına tohum sayısı 20 ile 4.000.000 arasında değişebilir (Jolman vd., 2022). Bir orkide tohumu, bir testanın (tohum kabuğu) çevrelediği farklılaşmamış bir embriyo, bir miktar besin ve geniş hava boşlukları içerir. Bu özelliklerin tohumların daha uzun mesafelere dağılmasına yardımcı olmaktadır (Prutsch vd., 2000; Yeung, 2017). Orkide tohumlarının fiziksel özellikleri ve biyolojik işlevleri, tohumun çimlenmesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bitki büyüme düzenleyicileri ve diğer bileşikler de tohumun özelliklerini etkileyebilir. Bu faktörlerin hepsi, tohumun çimlenme potansiyelini etkileyebilir ve tohum bankacılığı uygulamalarında da önemli bir rol oynar (Pritchard ve Seaton, 1993; Prasongsom vd., 2017).

Karasal orkide türlerinin tohumları, simbiyotik bir fungus ortağına ihtiyaç duydukları için üretken bir şekilde çimlenmeleri zorludur. Orkide tohumları, farklılaşmamış dokulardan oluşur ve kotiledon, endosperm ve radikulaya sahip değildir. Orkideler, az miktarda karbon ve temel element içeren çok küçük tohumlar

üretirler. Yetişkin bitkinin büyüme ve gelişmesi için gerekli olan karbon ve temel besin maddelerini sağlanması orkide funguslarına bağımlıdır (Dutra vd., 2008; Fay, 2018; Alghamdi, 2020). Karasal orkidelerin yaşam öyküleri 6 ana aşamadan meydana gelmektedir. Bunlar; tohum, protokorm, genç, dormant ergin (yumru), vejetatif ergin ve çiçekli bireydir. Genç bireyleri potansiyel mikotrofik yer altı yapıları içerirler (Shefferson vd., 2020). Bu yaşam döngülerinin her aşamasının kendine özgü hayati oranları vardır. Karakteristik mortalite olasılıkları ve diğer aşamalara geçişleri populasyon büyüklüğünü yıldan yıla etkilemektedir. Tek bir orkide üreme döneminde birlerce tohum üretmesine rağmen çok az sayıda tohum yetişkin bitki olarak hayatta kalmaktadır (Nicolè vd., 2005; Jacquemyn vd., 2010).

Son yıllarda, yumrulu karasal orkide hasadı, yüksek fiyatları nedeniyle artmıştır ve özellikle Türkiye, İran, Hindistan ve Pakistan'da ilgi giderek artmaktadır. Türkiye, coğrafi konumu nedeniyle orkide çeşitliliği açısından önemli bir merkezdir. Ancak, orkide yumrularının hasadı, türlerin büyüme aşaması, kış uzunluğu ve ilkbahar sıcaklığı veya yağış gibi birçok faktöre bağlıdır (Ghorbani vd., 2014). Bu nedenle, 1 kg yaş veya kuru salep elde etmek için hasat edilmesi gereken orkide yumru sayısı farklı bölgelerde 220 ila 4348 arasında değişmektedir. Orkide yumrularının aşırı toplanması, türlerin tehdit altına girmesine ve nesillerinin azalmasına neden olabilir. Bu nedenle, hasat edilirken sürdürülebilirlik ilkelerine uyulması ve orkide popülasyonlarının korunması önemlidir (Ebrahimi vd., 2020).

Modern koruma biyolojisi, türlerin dağılımı ve bolluğunda zaman içindeki değişimleri anlamak açısından son derece önemlidir (Fischer ve Stöcklin, 1997). Doğal kaynaklar ve habitatlar üzerindeki insan etkisi son yıllarda artmıştır ve bu durum, birçok bitki ve hayvan için uygun alanların sayısında düşüş ve büyük bir yok oluşa neden olmaktadır (Kull vd., 2002; Le Roux vd., 2019; Khapugin vd., 2020; Knapp vd., 2021). Orchidaceae ait türlerin hepsi, CITES Ek II veya I altında listelenmiştir. Şu anda yaklaşık 140 orkide türü Ek I'de listelenmektedir ve orkide türlerinin uluslararası ticareti, CITES tarafından düzenlenmektedir (Cohen vd., 2020). Meksika, Nepal, Çin ve Türkiye gibi birçok ülkede, yabani orkide hasadını düzenleyen protokoller bulunmaktadır. Ancak, bu protokoller yeterli bilimsel altyapıya dayanmamaktadır ve izin alma prosedürleri genellikle gerçekçi değildir. Bu nedenle, orkidelerin korunması için daha etkili yönetim ve koruma stratejilerine ihtiyaç vardır. Bu stratejiler, bilimsel araştırmaların desteklenmesi ve yerel topluluklarla iş birliği

içinde sürdürülebilir kullanımı teşvik etmeyi içermelidir (Ticktin vd., 2023). Orkidelerin korunması için, doğal habitatların (in situ koruma) korunması, ex situ koruma metodolojilerinin geliştirilmesi ve uygulanması gereklidir. Bu nedenle, orkidelerin biyolojisi, evrimi ve ekolojisi hakkında daha derin araştırmalar yapılması gerekmektedir. Geleneksel olarak, botanik bahçeleri iyi belgelenmiş canlı koleksiyonları geliştirerek ve sürdürerek orkidelerin korunmasında başrolü üstlenmiştir (örneğin, Birleşik Krallık'taki Kraliyet Botanik Bahçelerinde yaklaşık 2700 tür bulunmaktadır). Tohumların depolanması, in vitro çoğaltma tesislerinin kurulması ve işletilmesi, kriyobankların ve daha yakın zamanda filogenetik araştırmalar için DNA bankalarının kurulması çalışmaları da yoğunluk kazanmaktadır (Kuppusamy vd., 2015; Popova vd., 2016).

Bitki doku kültürü, bir bitkinin herhangi bir canlı parçasını kullanarak in vitro koşullarda özel organik ve inorganik besi içeren ortamlarda doku, organ ve hatta bütün bitkinin üretilbildiği bilimsel bir yöntemdir (Brown ve Thorpe, 1995). In vitro bitki doku kültürü teknolojisi, büyük ölçekli bitki çoğaltma için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ana bitkiden alınan küçük bitki dokusu parçasından (eksplant olarak adlandırılır), yüzlerce ve binlerce bitkicik üretmek için kullanılabilir. Eksplantlar aksiller tomurcuklar, yaprak ve gövde bölümleri, kök ucu, sürgün ucu, anter, yumurtalık ve endosperm kısımlarıdır (Idowu vd., 2010; Chun vd., 2020).

Orkide tohumlarının çimlenmesi ve fide büyümesi için optimal koşullar her türe özeldir. Embriyolar üzerinde in vitro mineral beslenme çalışmaları, fide gelişiminde yer alan ontogenetik ve biyokimyasal süreçleri anlamak için özellikle önemli hale gelmiştir. In vitro üremeye yanıt veren orkideler, temel beslenme gereksinimlerine göre iki geniş gruba ayrılabilir. İlk grup, tohumları basit bir besin bileşimine sahip bir kültür ortamında, örneğin Knudson C (Knudson) içinde kolayca filizlenen orkidelerden oluşur. İkinci grup, Murashige ve Skoog ortamı gibi hem makro hem de mikro besinler açısından daha zengin, daha ayrıntılı bir kültür ortamı gerektiren türlerden oluşur (Suzuki vd., 2012). Koruma açısından önemi olan bitkiler için in vitro çoğaltma yöntemleri geliştirilirken, tohum çimlenmesi yoluyla üretim, doku kültürü yöntemlerine kıyasla daha uygundur çünkü daha geniş bir genetik temeli korumaya izin verirler (Chen vd., 2015). İlk olarak 1946 yılında Knudson tarafından tanıtılan in vitro kültürle asimbiyotik tohum çimlendirme tekniği, orkide yetiştirme konseptinde devrim yaratmıştır. O zamandan beri birçok orkide türü için in vitro tohum çimlenme

protokolleri oluşturulmuştur ve çimlenme ve çoğaltma için bir dizi ortam, tuz ve bitki büyüme düzenleyicisi kullanılmıştır (Jitsopakul vd., 2022). Ilıman bölgelerden gelen karasal orkidelerin asimbiyotik tohum çimlenmesi, tropikal bölgelerden gelen epifitik orkidelere kıyasla genellikle daha karmaşıktır. Bazı ılıman karasal orkidelerin tohumlarının dormant durumundan çıkması için bir stratifikasyon işlemi gerekir (Yeung 2018). Aksine tropik orkide tohumları, örneğin *Phalaenopsis*, *Dendrobium* ve *Oncidium* cinslerine ait türleri, uygun besinlerin varlığında kolayca çimlenir (Yamazaki ve Miyoshi, 2006).

Birçok orkide türü için asimbiyotik çimlenme yöntemi başarılı bir şekilde kullanılmış olsa da özellikle in vitro simbiyotik çimlenme daha yüksek çimlenme oranları sağladığı için popülerlik kazanmaktadır. Simbiyotik protokormların, birçok çalışmada asimbiyotik protokormlardan daha hızlı gelişebildiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, orkide mikorizal fungusların su ve besin alımını kolaylaştırdığı rapor edildiğinden, in vitro olarak yetiştirilen simbiyotik fidelerin ex vitro koşullara daha kolay uyum sağlamaktadır (Mala vd., 2017). In vitro koşullar altında, kapalı petri kapları gibi kontrol edilebilir ortamlar, mikorizal fungusların yerel çevre koşullarından bağımsız olarak orkidelerin çimlenme ve fide büyümesini kolaylaştırma potansiyelini ortaya çıkarabilir. Bu nedenle, in vitro yöntemler, fungus-orkide uyumluluğu hakkında daha ayrıntılı bilgi sağlayabilir. Özellikle, farklı mikorizal fungus türlerinin orkidelerin çimlenme ve büyümesini nasıl etkilediği, farklı in vitro koşullarda test edilebilir. Bu yöntem, daha yüksek çimlenme oranları elde etmek ve orkidelerin daha hızlı büyümesini sağlamak için simbiyotik çimlenme yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olabilir (Shao vd., 2020). Dulić vd. (2019), *Sprianthes spiralis*'in başarılı bir asimbiyotik tohum çimlenmesi için yeni protokoller belirlemişler ve bu türe ait tohumların tüm ortam kombinasyonlarında çimlenmesine rağmen en iyi purin ile desteklenmiş ortamda fide gelişimi sağladıklarını ortaya koymuşlardır. Bu protokollerin uygulanması ile iyi gelişen fideler 7 aylık kültürden sonra sera koşullarına alıştırılmıştır (Dulić vd., 2019). Sazak ve Özdener, (2006) tarafından yapılan araştırmada *Rhizoctonia solani* AG A'nın *Dactylorhiza osmanica* var. *osmanica* ve *S. spiralis* orkide türleriyle de başarılı bir simbiyotik ilişki kurduğunu göstermişlerdir (Sazak ve Özdener, 2006).

Bir mikorizal fungus tarafından ilk kolonizasyondan sonra depo proteinleri ve lipitler hızla mobilize olur ve özellikle bazal protokorm hücrelerinde nişasta granülleri

birikmeye başlar (Richardson vd., 2011). Pelotonlar, protokormun bazal ucundaki enfekte hücrelerde kısa sürede oluşur. Oluşumları mikorizal oluşumun başarısını gösterir. Pelotonun protokorm hücreleri tarafından sonraki sindirimleri, besin maddelerini protokorm hücreleri için kullanılabilir hale getirir. Protokorm gelişim modeli ve mikoriza oluşum süreci birlikte düşünüldüğünde, protokorm, besin için bir simbiyont barındırma ve bir sürgün apikal meristemi oluşturma konusunda net yetkileri olan çok sıra dışı bir yapıdır. Ayrıca, protokorm-fungus etkileşimi hassas bir etkileşim gibi görünmektedir. Besin seviyelerindeki ve çevresel faktörlerdeki değişiklikler, stabil bir simbiyozdan protokormun ölümüne yol açan fungus parazitliğine dönüşebilir (Beyrle vd., 2011).

Doğal habitatlara yeniden entegrasyon stratejileri, tehdit altındaki veya nadir bulunan bitki türlerinin korunmasında kritik bir rol oynamaktadır. Bu strateji, bitki türlerinin doğal yaşam alanlarındaki popülasyonlarının artırılmasına ve türlerin sürdürülebilirliğinin sağlanmasına yönelik önemli bir araçtır. Ayrıca, doğal ortamlarında yetişen bitkilerin, ekolojik etkileşimlerin sürdürülmesine ve habitatlarının diğer canlıları için önemli olan ekosistem hizmetlerinin devam etmesine katkı sağladığı bilinmektedir (Reiter vd., 2016).

Ex vitro simbiyotik tohum çimlenmesi, orkide tohumlarını çimlendirmek için uyumlu fungus ile önceden aşılانmış substratların kullanıldığı yöntemdir. Ancak bu alanda yapılan çalışmalar oldukça azdır. Aewsakul vd. (2013) yaptıkları çalışmada iki *Epulorhiza* izolatını (*Dendrobium anosmum* ve *Paphiopedilum sukhakulii*) farklı substratlar (toprak, hindistan cevizi tozu, turba yosunu) üzerine aşılamışlardır. Bu substratlara *Spathoglottis plicata* tohumlarını ekmiş ve başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Bu yöntem, orkidelerin seri üretimi için diğerlerine göre daha avantajlıdır çünkü laboratuvar imkanları ve aksenik koşullar gerektirmez (Aewsakul vd., 2013). Kömpe ve Mutlu, (2021) yaptıkları çalışmada *Anacamptis coriophora* ve *Orchis anatolica*'nın tohumlarını, *Ceratobasidium* sp. (MN539158) hiflerini içeren basit bir toprak karışımında başarıyla çimlendirmişler ve fideleri doğal ortama dikmişlerdir, tohumlarının ekilmesinden 7 ay sonra yumruların oluşması, doğal ortamlarına uyum sağladıklarının göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. Bu yöntemin başarısı, uygun fungusa ve kullanılan substrat tipine bağlıdır. Orkide tohumlarının çimlenmesi ve fide büyümesi için optimal koşullar her türe özeldir. Türkiye'de *A. laxiflora* ve *S. orientalis*

üzerinde yapılan çeşitli araştırmalar, bu türlerin özel ihtiyaçlarını ve uygun çimlenme koşullarını belirlemeye yardımcı olmuştur.

Özkoç (1991), *A. laxiflora* ve *Serapias vomeracea* subsp. *laxiflora* türlerinin asimbiyotik ve simbiyotik olarak çimlendirme çalışmalarını gerçekleştirmiştir.

Özkoç ve Dalcı (1992), *A. laxiflora* tohumlarını yulaf ve modifiye yulaf ortamlarına ekerek, çimlenme ve bitki gelişimi üzerine farklı ülkelerden temin edilen 11 mikorizal fungal izolatının etkisini araştırmışlardır.

Özkoç (1994), Sodyum hipoklorit çözeltileri kullanarak yüzey sterilizasyonu gerçekleştirmiştir. Bu deneyler neticesinde, *Serapias vomeracea* subsp. *laxiflora* tohumlarının en yüksek çimlenme oranının %2 Sodyum hipoklorit çözeltisi içinde %0.05 Tween-80 ile 15 dakika süreyle sterilize edildiğinde elde edildiği belirtilmiştir. Çalışma sürecinde, orkide tohumlarının çimlenme sürecinin zorluğu da gözlemlenmiştir.

Kömpe vd. (2021) tarafından ilk kez mevsimsel fungus izolasyonları sonucu *A. laxiflora* köklerinin mikorizal fungal çeşitliliği belirlendi ve moleküler teşhis sonucu bu izolatların *Tulasnella*, *Ceratobasidium*, *Fusarium*, *Phoma* ve *Pezizales*'e ait olduğunu ortaya koymuşlardır. Daha sonra bu izolatların tohum çimlenme etkinliği test etmişler ve *Ceratobasidium* ve *Tulasnella* izolatlarının çimlenmeyi uyardığı belirlenmiştir.

Mutlu ve Özden (2021), *S. orientalis* tohumlarının simbiyotik ve asimbiyotik yöntemlerle çimlendirme ve fide gelişimi koşullarını belirlemiştir. Asimbiyotik çimlendirme için beş farklı besin ortamı kullanılmış, simbiyotik çimlendirme için köklerden fungus izolasyonu yapılmış ve *Tulasnella* sp. ve *Fusarium oxysporum* olmak üzere iki farklı fungus elde edilmiştir. *F. oxysporum* ile aşılaman tohumlar çimlenmemiş, kontrol grubunda ise %24 oranında çimlenme gözlemlenmiştir. *Tulasnella* ile aşılaman tüplerde ise %68 oranında çimlenme meydana geldiğini tespit etmişlerdir.

Kömpe vd. (2019) 'da 1988 yılından beri 4°C'de saklanan *A. laxiflora* tohumlarına canlılık testi yapmışlardır. En yüksek canlı tohum oranı (%62), 8 saatlik %5 Ca(ClO)₂ uygulamasında elde edilmiştir. *R. solani* AG A ile aşılaman tohumlar %91,16 oranında çimlendiğini rapor etmişlerdir.

Mutlu vd. (2020) *S. orientalis* köklerindeki mikorizal fungusların moleküler tanımlamasını yapmışlardır. *Rhizoctonia* benzeri izolatların *Tulasnella* cinsi ile ve

Rhizoctonia benzeri olmayan izolatların *Fusarium oxysporum* ile yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Aytar ve Özdener (2023), *A. laxiflora* tohumlarına *Ceratobasidium* sp. inokülasyonu yapılmış ve çeşitli organik substratlar içeren ortamlardaki etkinliklerini in vitro çimlendirme ve fidelerin gelişimi üzerinde değerlendirmişlerdir. En yüksek çimlenme oranı (%35,78), genç fındık yapraklarının eklenmesiyle elde edilen ortamda görülmüştür. *A. laxiflora*'nın tohumdan ex vitro koşullarda üretilmesi ve doğaya adapte edilmesi ilk defa başarıyla gerçekleştirilmiştir.

2.2. Mikorizal Simbiyoz

Bitkiler ve funguslar arasındaki mikorizal simbiyotik ilişki, vasküler bitkilerin tahmini olarak %85'inde meydana gelmektedir ve karasal ekosistemlerin ekolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Mikoheterotrofik bitkiler, beslenmeleri için tamamen mikorizal fungus ortaklarına bağımlıdır (Freestone vd., 2021). Bu, fungusları bitkinin ekolojik nişinin kritik bir parçası haline getirir. Bu bitkilerin dağılımı, mikorizal birlikteliklerin mevcudiyetinden doğrudan etkilenir (McCormick ve Jacquemyn, 2014).

Orkide mikorizası, orkide tohumlarının çimlenmesini ve yetişkin bitkilerin gelişmesini sağlayan belirli toprak funguslarıyla tipik bir simbiyotik etkileşim türüdür. Orkide tohumları, endosperm eksikliği nedeniyle sınırlı bir gıda rezervi içerir. Karbon ve azot gibi ana besin maddelerinin sağlanması için uyumlu bir fungusun kolonizasyonuna ihtiyaç duyar (Balestrini ve Lumini, 2018). Tüm orkideler çimlenme için mikorizal funguslara, birçoğu tozlaşma için belirli hayvanlara ihtiyaç duyarken, saprofitik ve epifitik orkideler büyüme için belirli özelliklere sahip ağaç konakçalarına ihtiyaç duyar (Fay, 2018; Liu vd., 2020).

Tüm orkideler çimlenme sırasında tamamen mikoheterotrofiktir ve doğada orkide mikorizal fungusları ile ilişki kurmaya devam ederler (Rasmussen ve Rasmussen, 2009). Aslında endosperm içermeyen küçük tohumların çimlenmesi protokorm adı verilen yumru benzeri bir yapının oluşumuna yol açar (Rasmussen, 2002). Protokormlar çoğu orkide türünde tamamen heterotrofiktir ve mikorizal mantar ortakları tarafından karbon ve diğer besinlerle desteklenir. Bu strateji mikoheterotrofi olarak adlandırılır. Protokormlar gelişimine devam ederek fide ve ergin bitkileri oluşturur. Bununla birlikte, yaklaşık 200 orkide türü klorofilsiz olarak kalır ve bütün hayatları boyunca tamamen fungus destekli karbon alımına devam ederler (Tam

mikoheterotrofi) (Hynson vd., 2013). Birçok karasal orkide yeşil yapraklar geliştirir. Ancak yine de miksotrofi olarak adlandırılan bir strateji olan karbon için kısmen (fotosentetik yapraklar gelişinceye kadar) fungus ortağına bağımlı kalır (Selosse ve Roy, 2009).

Trofik stratejilerden bağımsız olarak, orkide yaşam döngüsünün tüm aşamaları doğada mikorizaldir ve orkidelerin çimlenen tohumlardan yetişkinliğe kadar büyüme ve hayatta kalma için simbiyotik mantar ortaklarına sıkı sıkıya bağlı oldukları düşünülmektedir (Dearnaley vd., 2012). Orkide mikorizal funguslarının taksonomik konumu ve ekolojik rolü, yetişkin konukçu bitkinin trofik stratejisini yakından yansıtır. Fotosentetik orkidelerin çoğu, Cantharellales (Tulasnellaceae ve Ceratobasidiaceae) ve Sebacinales (Serendipitaceae) takımlarında taksonomik olarak Agaricomycetes'e üye olan "*Rhizoctonia*" kompleksindeki funguslarla birliktelik oluştururlar. Buna karşılık, çoğu mikoheterotrofik ve miksotrofik orkide, diğer konukçu bitkilerde ektomikoriza oluşturduğu bilinen Basidiomycetes ve Ascomycetes ile ilişkilidir (Bonnardeaux vd., 2007).

Orkide köklerinde pelotonlar, konakçı hücrelerde bir adaptasyon mekanizması olarak düşünülmektedir (Zhang vd., 2020). Konakçı hücrelerin içinde, pelotonlar bir zar ile sınırlanmıştır. Zar, plazma zarına benzer ancak adenilat siklaz aktivitesinden yoksundur. Enfeksiyon sırasında, hücre duvarı mikrofibrillerinin ve mikrotübüllerin oryantasyonu, sitoplazmanın modifikasyonu ve pelotonları çevreleyen membran oluşumu için gerekli olabilecek şekilde değiştirilir (Peterson vd., 1998). Orkideler, fungus enfeksiyonunu kontrol etme yeteneğine sahiptir ve mikrobiyotalar bu kontrol sürecine uyarlanır. Mikorizal enfeksiyon üzerine hücresel enzimlerin aktivitesi, örneğin peroksidaz, oksidaz ve katalaz belirgin şekilde artar ve fungus pelotonlarının sindirimi meydana gelir (Blakeman vd., 1976).

Orkideler, fungus enfeksiyonunun derecesini fitoaleksinler gibi sekonder metabolitlerle düzenleyebilir. *Orchis* protokormlarında keşfedilen ilk fitoaleksinin olan Orchinol'un fungus büyümesini engellediği bilinmektedir (Beyrle vd., 1995). Konakçı tarafından üretilen litik enzimler/fitoaleksinler/orkinolün aktivitesi nedeniyle konakçı hücreler içindeki olgun pelotonların sindirildiği ve konukçu bitkiler için fungus gövdesinden besinlerin salındığı artık açıktır. Daha sonra hücrelerde yeni pelotonlar gelişir. Pelotonların sindirimi ve oluşumu eşzamanlı süreçlerdir. Sindirilmiş pelotonların bazı bileşenleri, funguslar tarafından daha fazla kolonizasyonu

kolaylaştıran fungus elisitörleri olarak işlev görür. Orkide mikorizasının fungus seçicilerinin, protokormların yanı sıra orkide fidelerinin büyüme ve gelişmesinde önemli olduğuna dair kanıtlar vardır (Chen vd., 1994; Zhao vd., 2021).

Türkiye'deki fungus çeşitliliği üzerine yapılan çalışmalar, farklı orkide türlerinin mikorizal ilişkilerini ve tohumlarının çimlenme ve gelişimini in vitro, ex vitro ve in situ simbiyotik yaklaşımlarla araştırmaktadır. Bu çalışmalarda, *Anacamptis papilionacea*, *Neotinea tridentata*, *Orchis provincialis*, *S. orientalis* ve *Spiranthes spiralis* gibi çeşitli orkide türlerinin köklerinden ve protokormlarından fungus izolatları elde edilmiştir. Elde edilen 13 mantar izolat, farklı orkide türlerine ve protokormlarına ait mikorizal toplulukları temsil etmektedir. İzolatların tanımlanmasında ITS1-5.8-ITS2 bölgesinden üretilen dizi verileri kullanılmıştır ve çeşitli fungus taksonlarının varlığını ortaya çıkarmıştır. Özellikle, Basidiomycota türlerinin tüm orkide örneklerinde tutarlı bir şekilde tespit edildiği belirlenmiştir. Çoğu izolat, Tulasnellaceae ve Ceratobasidiaceae aittir ve özellikle *Tulasnella* cinsi baskın bir fungus türü olarak tanımlanmıştır (Özdener Kömpe ve Mutlu 2021; Harzlı ve Kömpe, 2023). Ayrıca, *Serapias vomeracea* köklerinden izole edilen mantar izolatlar incelenmiştir. Bu izolatların morfolojik ve moleküler tanımlamaları yapılmıştır. Mikorizal birlikteliklerde yer alan tüm *Rhizoctonia* benzeri izolatlar, *Tulasnella calospora* türü ile yakından ilişkilendirilmiştir. *Rhizoctonia* benzeri olmayan izolatlar ise *Fusarium tricinctum*, *Aspergillus spelaeus* ve *Talaromyces pinophilus* gibi farklı türlere aittir (Kömpe vd., 2022). *Dactylorhiza romana* subsp. *romana* ve *D. urvilleana* türlerinin mikorizal funguslarını izole etmek ve tanımlamak için, bu türlerin kökleri Karadeniz Bölgesinde üç farklı habitatтан toplanmıştır. Genetik analizler, mikorizal funguslarının çoğunluğunun Basidiomycota'ya ait Tulasnellaceae ve Ceratobasidiaceae olduğunu göstermektedir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre, *Dactylorhiza* türlerinin mikoriza habitatlarına bağlı olarak değişebileceği belirlenmiştir (Kömpe ve Mutlu, 2017). Bu bulgular, Türkiye'nin fungus çeşitliliği açısından zengin olduğunu ve farklı habitatlardaki orkide türlerinin mikorizal çeşitliliğini vurgulamaktadır.

2.3. Tezde Kullanılan Orkidelerin Özellikleri

2.3.1. *Anacamptis laxiflora* (Lam.) R.M. Bateman, Pridgeon & M.W.Chase

Anacamptis laxiflora türü, başlangıçta Renz ve Teubenheim (1984) tarafından

Türkiye Florası'nda *Orchis laxiflora* türü olarak tanımlanmıştır. Ancak, daha sonraki taksonomik çalışmalar ve moleküler analizler, bu türün *Anacamptis* cinsine ait olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, *O.laxiflora* türü artık *A.laxiflora* olarak bilinmektedir. Bu taksonomik yeniden sınıflandırma, bitki türlerinin doğru sınıflandırılması ve taksonomik ilişkilerinin daha iyi anlaşılması açısından önemlidir. Dünyada Portekiz'den Orta Asya'ya kadar geniş bir coğrafyada yayılış gösteren tür, yapılan çalışmalarda subsp. *laxiflora*, subsp. *dielsiana* ve subsp. *dinsmorei* olmak üzere 3 alttüre ayrılır. Bu 3 alttürün kesişme alanı Türkiye'dir. *A. laxiflora* türünün tipik bir alt türü olan subsp. *laxiflora*'nın morfolojik özellikleri şu şekildedir: Labellumun orta kısmı açık renklidir ve orta lobu oldukça az gelişmiştir. Yan loblar ise oldukça kısadır. Koyu renkli yan loblar ise iyi gelişmiş olup, birbirine hafifçe paralel bir şekilde aşağı doğru uzanır. Bu karakteristik özellikler, subsp. *laxiflora*'nın diğer alt türlerden ayırt edilmesine katkı sağlamaktadır. Türkiye'de ağırlıklı olarak Karadeniz Bölgesi'nin batı kıyıları, Marmara Bölgesi'nin batı ve kuzeyi ile Ege Bölgesi'nin kıyı şeridini görülen bu alttür kuzeyde Orta Karadeniz, güneyde ise Hatay'a kadar uzanır ve türün dünyadaki yayılışının en doğu kısmını oluşturur.

Çok yıllık yumrulu olan *A. laxiflora*'nın genel morfolojik özellikleri; yumru 2 adet parçalanmamış, yarı küresel veya elipsoit, hafifçe konik, sapsız veya kısa saplıdır. Gövde 25-62 cm boyunda dik, düz, bazen hafif zikzaklı, üst kasımları bazen pürüzlüdür. Yaprakları gövde boyunca aralıklı dizilmiş, 5-9 adet şeritsi veya mızraklı gövdeye yaklaşık 45 derecelik açıyla bağlıdır. Çiçekler büyük koyu menekşe, pembe-menekşe, menekşe-mor veya kırmızı menekşe rengindedir (Deniz vd.,2023).

A.laxiflora'nın doğadaki genel görünümü Şekil 2.1'de gösterilmektedir.



Şekil 2.1 *A.laxiflora* 'nın doğadaki genel görünümü (Fotoğraflar Dr. Erdi Can Aytar tarafından çekilmiştir)

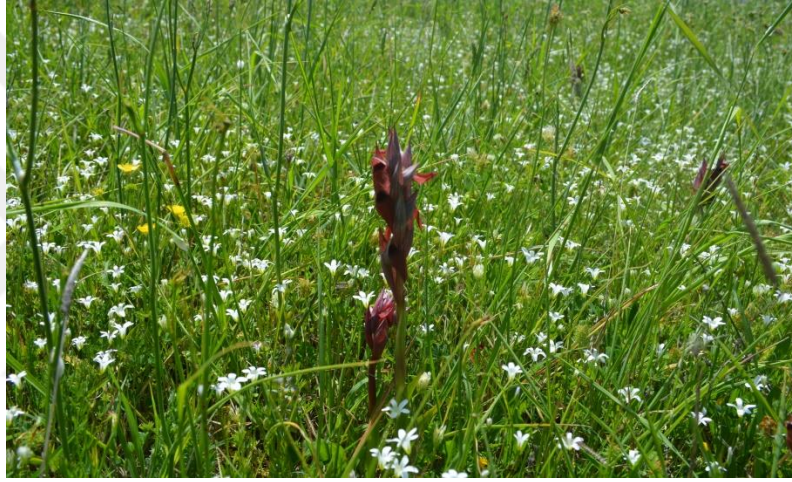
2.4. *Serapias orientalis* (Greuter) H. Baumann & Künkele

Serapias cinsi üyeleri öncelikle Akdeniz havzasında bulunur ve güney İtalya'daki çeşitlilik, Yunan adalarına kadar uzanır. Dağılım alanı kuzeyde Kuzey Britanya, güneyde Kuzey Afrika, batıda Azor Adaları ve Kanarya Adaları ve doğuda Kafkasya ve İsrail ile sınırlanmıştır. *Serapias* cinsi bitkilerin morfolojisi ve üreme biyolojisi, diğer bitki türlerinden belirgin şekilde farklılık gösterebilir. Özellikle, çiçek morfolojisi ve tozlaşma mekanizmaları, adaptasyonlarına bağlı olarak çevresel faktörlere uyum sağlamış olabilir. Bu bitkilerin çiçek yapıları, çeşitli özelleşmiş özelliklerle tanımlanabilir ve bu özellikler, türler arasındaki farklılıkları ve evrimsel ilişkileri anlamak için önemlidir (Güner vd.,2023).

Tozlaşma sistemi, tozlaşma organlarını korumak ve tozlaşmayı kolaylaştırmak için çiçek yapısında adaptasyonlar geliştirebilir. Bu adaptasyonlar arasında, tozlaştırıcı organların korolla yapısında bir yuva deliği olarak bulunması veya soğuk veya

yağmurlu hava koşullarında koruma sağlamak amacıyla çiçek parçalarının bir araya gelerek bir barınak oluşturmalarını sağlar (Dafni vd., 1981). Üremeye (tozlaşmaya) uzun zamandır uygun boyutlardaki böceklerin aracılık ettiği varsayılmıştır. Bu şekilde, korolun boyutu, bitki türlerinin çeşitlenmesine yol açan zigotik bir engel olarak işlev görebilir (Bellusci vd., 2008).

Serapias orientalis'in genel morfolojik özellikleri; yumru 2-5 adet, küresel-yumurtamsındır. Gövde sağlam yapılı 12-30 cm boyunda yeşilimsi, kırmızımsı-morumsudur. Yapraklar 4-9 adet, dar ya da geniş mızraksı, 6-16 cm uzunluğundadır. Çiçek durumu kısa ya da uzun, genellikle sık çiçeklidir (Deniz vd.,2023). *S.orientalis*'in doğada ki genel görünümü Şekil 2.2'de gösterilmektedir.



Şekil 2.2 *S. orientalis* doğadaki genel görünümü (Fotoğraflar Dr. Erdi Can Aytar tarafından çekilmiştir)

2.5. Orkidelerin Geleneksel Kullanımları

Salep kelimesi Türkçe kökenli olup (Yunanca'da 'salapi', Arapça'da 'sahlab') karasal orkide yumrularını ifade eder. Türkler hem sıcak içecek hem de içeceği üreten orkide yumrusu için bu terimi kullanmıştır. İlgili orkide türlerinin soluk sarımsı, kaba ve sert kurutulmuş yumruları, glukomannan adı verilen besleyici bir polisakkarit içerir ve öğütülerek salep üretimi için kullanılır (Tekinşen ve Güner, 2010; Musharof Hossain, 2011). Salep, bir zamanlar libidoyu ve performansı arttırdığı iddia edilen moda bir içecekti. Ancak doktorlar herhangi bir ilacı tavsiye etmeden önce kanıt talep edince salep itibarını kaybetti. Salep hala Türkiye ve Yunanistan'da sokak satıcıları tarafından satılmaktadır (Teoh, 2019). Türkiye'de yaygın olarak tüketilen ve sıkça

dondurma üretiminde kullanılan *Orchis*, *Anacamptis*, *Himantoglossum*, *Ophrys*, *Serapias* ve *Dactylorhiza* cinslerine ait 30 karasal orkide türünün yumruları kullanılarak hazırlanmaktadır (Sezik, 2002; Tekinşen ve Güner, 2010). Bu yumrular glukomannan ve nişasta ana bileşenleridir. Yumru bileşimi türden türe değişmektedir. Örneğin glukomannan içeriği *Ophrys fuciflora*'da (%9,6) en düşük iken, *Dactylorhiza romana*'da (%61,05) ise en yüksektir (Ghorbani vd., 2017).

Türkiye'de, orkide yumruları maksimum nişasta içeriklerine sahip oldukları yaz sonunda toplanır. Yumrular, topraktan çıkarıldıktan sonra, acı tadını çıkarmak için kısa bir süre kaynatılır ve yıkanır. Ardından, yumrular güneşte veya düşük sıcaklıklı bir fırında kurutulur. Bu halleriyle uzun süre depolanabilirler. Kullanımdan önce kurutulmuş yumrular öğütülür (Sezik, 2002).

Daha önceki kayıtlarda, İstanbul'da 1892 yılında 19 ton salep ihraç edildiği ve ayrıca 10 ton da rezerv saklandığı bildirilmektedir. İzmir 1879 yılında 6 ton ve 1905-1908 yılları arasında 10,5 ton salep ihraç edildiği, 19. yüzyılın son çeyreğinde yılda 125 ton orkide yumrusu toplandığı tahmin edilmektedir. Bu orkide türlerinin tekrar dikildiği iddia edilse de gelecek yılın hasadının muhtemelen önceki yıllarda görmezden gelinen daha küçük yumrulardan yapıldığı tahmin edilmektedir (Lawler, 1984).

Hindistan'da satılan salep, Akdeniz çeşidinden farklıdır. Hindistan pazarlarında bulunan salep özellikle *Eulophia nuda* (syn. *E. spectabilis*), *Eulophia dabia* (syn. *E. campestris*) ve *Eulophia herbacea* türlerinin çeşitli türlerinden elde edilir (Misra vd, 2023). Hindistan salebinin diğer orkide türleri arasında *Eulophia virens*, *Habenaria commelinifolia*, *H. pectinata*, *Zeuxine strateumatica* ve *Cymbidium aloifolium* bulunmaktadır (Teoh, 2019).

Vanilya, Meksika kökenli bir tropikal orkideden elde edilir, ticaret ve yetiştirme açısından önemli olan dört türü vardır: *Vanilla fragrans*, *Vanilla pompona* ve *Vanilla tahitensis* ve *V.planifolia*. Bu türler arasında *V. planifolia*, lezzet açısından en değerli olanıdır ve gıda katkı maddelerinin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tamamen olgunlaşmış vanilya meyveleri kurutularak elde edilir (Ramachandra Rao ve Ravishankar, 2000). Vanilya ve özleri, yiyecek, içecek ve şekerlemelerde kullanılan önemli ve popüler doğal tatlandırıcılardır. Ayrıca, vanilya bir aromatik katkı maddesi olarak da kullanılır. Vanilya çekirdeklerinden 250'den fazla farklı bileşik izole

edilmiştir. Bunlar arasında 4-hidroksibenzaldehit, 4-hidroksibenzoik asit gibi bileşikler yer alır (Musharof Hossain, 2011; Buitimea-Cantúa vd., 2022).

Shi-Hu, *Dendrobium* türlerinden üretilen ve yaygın olarak kullanılan bir Çin bitkisel ilacıdır. En sık kullanılan türü *Dendrobium nobile*'dir (Bulpitt vd., 2007). Son çalışmalar, *Dendrobium* cinslerine ait türlerdeki alkaloidlerin bağışıklığı artırabileceğini, yaşlanma kaynaklı oksidatif stresi azaltabileceğini ve anti-kanser aktivitesine sahip olabileceğini göstermiştir (Somade vd., 2023). Farklı çalışmalarda diyabetik sıçan modellerinde ve hastalarda kan şekeri seviyesini düşürdüğü, insülin sekresyonunu ve insülin duyarlılığını artırdığı bilinmektedir (Hu vd., 2021).

Tian-Ma, *Gastrodia elata*'nın yumrularından üretilen bir başka Çin bitkisel ilacıdır (Kong vd., 2003). Deneysel çalışmalarda *G.elata*'nın anti-deliryum (zihin işlevlerinin bozulması) ve anti-konvülsan (anti-eliptik) etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Ek olarak bulunan amino asitlerin ve nitrik oksit sisteminin ekspresyonunu modüle ederek kan basıncını düşürmekte ve merkezi sinir sistemini korumaktadır (Ojemann vd., 2006; Wang vd., 2022; Wu vd., 2022). *G.elata*'nın vazodilatör (kan damarlarının genişlemesi) görevi gördüğü de bildirilmektedir. Ayrıca yüksek tansiyonun neden olduğu hipertansif atakları da önleyebilen özelliklere sahiptir (Musharof Hossain, 2011). Bugüne kadar *G. elata*'dan ağırlıklı olarak fenolikler ve glikozitleri, polisakkaritler, steroller ve organik asitler olmak üzere 81'den fazla bileşik izole edilmiştir. Ana aktif bileşenlerden biri olan gastrodinin, nöronal hücreleri koruma, anti-apoptotik, anti-oksidatif, antikoagülan ve antitrombotik, anti-inflamatuar, anti-aging ve analjezik aktiviteler gibi çeşitli etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Zhan vd., 2016).

Bai-Ji, *Bletilla striata* 'nin yumrularından hazırlanan önemli bir Çin geleneksel ilacıdır (Kong vd., 2003). *B. striata*'nın metanol ve etanol ekstraktlarında yapılan deneysel çalışmalar, pıhtılaşma süresini kısalttığını, fibrinin bozulmasını engellediğini ve trombozu ve yaranın iyileşmesini desteklediğini göstermiştir (Zheng vd., 1998; Hossain, 2011). *B. striata* bibenziller, fenantren türevleri, malik asit türevleri, steroidler ve polisakkaritler dahil olmak üzere birçok kimyasal bileşen içerir. Bu kimyasal bileşenler, hemostaz, anti-inflamatuar, antibakteriyel, antikanser, antioksidan ve antiviral aktiviteler gibi çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahip maddelerin temelidir (Jiang vd., 2020).

2.6. Sekonder Metabolitler

Bitkilerdeki biyolojik gereksinimlere dayalı olarak doğal olarak oluşan fitokimyasallar, genel olarak birincil metabolitler ve ikincil metabolitler olarak sınıflandırılabilir (Wuyts vd., 2006). Bitkilerdeki birincil metabolizma süreci karbonhidratlar, yağlar, amino asitler ve nükleik asitler gibi metabolitleri üretir (Weinberg, 1971; Butnariu ve Bocso, 2022). Bu birincil metabolitler, bitki hücresinin büyümesi, gelişmesi ve üremesini içeren bitkilerdeki vazgeçilmez biyolojik işlevler için öncelikle önemlidir (Fraenkel, 1959; Fàbregas ve Fernie, 2022). Bitkilerdeki ikincil metabolizma süreci, ekolojik dengesizlik veya zararlı enfeksiyonların neden olduğu bitki hücresinde koruyucu ve kendini savunma işlevi için önemli olan ikincil metabolitlerin üretimini sağlar. Bu ikincil metabolitler, spesifik ve çeşitli bitki grupları arasında yaygın olarak bulunmaktadır (Divekar vd., 2022). Bitkilerde bulunan sekonder metabolitler, farklı kombinasyonlarda bulunarak bitki türlerinin sınıflandırılmasında önemli bir araç olarak kullanılmaktadır (Bourgaud vd., 2001). Bu metabolitler, bitki türleri arasında benzersiz kimyasal özelliklere sahiptir ve taksonomik araştırmacılar tarafından bitki türlerinin sınıflandırılması için kullanılan önemli bir araçtır. Özellikle bitki taksonomisi, morfolojik benzerliklerin yanı sıra bitkilerin kimyasal bileşimlerinin benzerlikleri de dikkate alınarak yapılır. Bitki metabolitleri, bitki sınıflandırması için önemli bir araç olduğu gibi, bitkilerin biyolojik etkileşimleri ve tıbbi kullanımı hakkında da bilgi sağlar (Stamp, 2003).

Bitki hücrelerinin biyolojik işlevlerinden sorumlu birincil metabolitler ve ikincil metabolitler esas olarak biyosentetik yollarda üretilir. Biyosentetik yol sitrik asit döngüsü sırasında açığa çıkan enerji ve karbonhidratların glikoliziyle sağlanan bir enerji gereksinimi sürecidir (Kabera vd., 2014). Adenozin Trifosfat (ATP), birincil bileşiğin katabolik sürecinden ve amino asitlerin, yağların ve glikozun oksidasyonu ile üretilen ana enerji molekülüdür. Koenzim A, anabolizma ve katabolizma reaksiyonunda hidrojen verici veya hidrojen alıcısından sorumlu önemli bir katalizördür (Velu vd., 2018). Pentoz yolu, glikozitlerin biyosentezinden, şikimik asit yolu ise fenollerin biyosentezinden sorumludur. Benzer şekilde mevalonik asit ve asetat malonat yolları, steroidler ve alkaloidlerin biyosentezinden görev almaktadır. Asetil koenzim A, şikimik asit yolu, pentoz yolu, asetat malonat yolu ve mevalonik asit yolu gibi çeşitli yollardan ikincil metabolitlerin biyosentezi için başlıca önemli birimlerdir (Giweli vd., 2013; Jan vd., 2021).

Bitkiler, doğal sistemlerde bir dizi rakiple karşı karşıyadır ve evrimsel süreç içinde çeşitli biyotik ve abiyotik stres türleriyle başa çıkabilmeleri için çoklu direnç mekanizmaları geliştirmiştir (Ballhorn vd., 2009). Sekonder metabolitler, farmasötiklerin önemli kaynaklarıdır ve bitkilerin çevrelerine adaptasyonunda dinamik bir rol oynarlar (Ramachandra Rao ve Ravishankar, 2002). Bitki büyüme düzenleyicileri (BBD'ler), bitki ikincil metabolitlerinin üretimini uyarıcı olarak kullanılmıştır. Bitki büyüme düzenleyicileri, bitki büyümesi üzerinde spesifik etkileri olan ve düşük konsantrasyonlarda bile etkili olan basit moleküllerdir (Teale vd., 2006). 1940 yılından bu yana, çimlenme, büyüme, vejetatif üreme, olgunlaşma ve yaşlanma gibi gelişimsel süreçleri kontrol etmek için tarımda doğal ve sentetik büyüme düzenleyicileri kullanılmaktadır. BBD'ler sadece antioksidan potansiyeli, temel büyüme ve gelişim süreçlerini kontrol etmekle kalmaz, aynı zamanda bitki doku kültüründe bitki sekonder metabolit üretimini de düzenler (Dörnenburg ve Knorr, 1995; Jamwal vd., 2018).

Sekonder metabolitlerin en önde gelen dört grubu vardır. Bunlar terpenler, fenoller, azot ve kükürt içeren bileşiklerdir.

2.6.1. Terpenler

Terpenler, dünyadaki en önemli ve yaygın olarak bulunan bitki ikincil metabolitleridir (Grayson, 1988; Li vd., 2021). Kimyasal olarak terpenoidler, çoğunlukla reçinelerde ve uçucu yağlarda bulunan sıvı formdaki doymamış hidrokarbonlardır (Nagegowda ve Gupta, 2020). Genellikle mevalonik asit yolu ile asetattan üretilen izopren birimlerinden oluşur (Ahumada vd., 2008; Reumann vd., 2007; Sapir-Mir vd., 2008). Farklı sayıdaki izopren birimleri terpenlerin yapısal sınıflandırmasında çeşitlilik gösteren büyük terpenler oluşturmak için bir araya gelir. Tüm terpenoidlerin C_5H_8 genel bir formülü vardır. İçinde bulunan karbon atomu sayısına göre Hemiterpenler (C_5), monoterpenler (C_{10}), seskiterpenler (C_{15}), diterpenoidler (C_{20}), triterpenoid (C_{30}) ve tetraterpenoid (C_{40}) olarak sınıflandırılır (Dudareva vd., 2007).

Terpenoidler üzerine yapılan fitokimyasal araştırmalar, bu bileşiklerin farmakolojik aktivitelerinin hastalıkların tedavisi ve yönetimi için önemli olduğunu göstermiştir (Velu vd., 2018; Chen vd., 2021; Huang vd., 2022; Kłos ve Chlubek, 2022). Bu bileşiklerin çoğunlukla bitkileri tüketen böcekler ve memeliler için kısıtlayıcı etkilere sahip olmalarının nedeni, terpenlerin genellikle tat ve koku

açısından belirgin özelliklere sahip olmaları ve böylece böceklerin ve memelilerin beslenme davranışlarını etkilemeleridir (Boncan vd., 2020; Plata-Rueda vd., 2020). Terpenlerin bazılarının genel fizyolojide birincil rol oynadığı (örneğin, gibberellin hormonları ve zar sterolleri) bilinmektedir. (He vd., 2022; Yang vd., 2022). Çiçek kokularında tozlayıcı çeken uçucu monoterpenler ve seskiterpenler gibi çok sayıda metabolitler ekolojik olarak önemli görevlere sahiptirler (Pichersky ve Raguso, 2018).

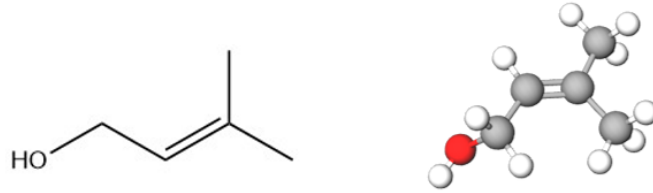
Terpenler ayrıca anti-inflamatuar, anti-kanser ve sinir hücrelerinin koruyucu etkilerinden dolayı insan sağlığına faydalıdır (Chang vd., 2022; Manikyam vd., 2021; Sánchez-Martínez vd., 2022). Örneğin; Mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) terimi, hücre çoğalması ve çeşitli hücrel yanıtın düzenlenmesi için önemli olan bir sinyal yolunu ifade eder. Terpenlerin etkisi, bu sinyal yolunun aktivasyonunu modüle ederek veya inhibe ederek gerçekleşebilir. Aktive edilmiş B hücrelerinin nükleer faktör κ -hafif zincir arttırıcısı (NF- κ B) ise birçok hücrel yanıtın düzenlenmesinde kilit bir rol oynayan bir protein kompleksidir. Terpenlerin etkisi, NF- κ B sinyal yolunun aktivasyonunu veya inhibisyonunu etkileyerek, hücrel inflamasyon ve immün yanıtları düzenleyebilir. c-Jun N-terminal kinaz (JNK) ise hücre stres yanıtının düzenlenmesinde önemli olan bir sinyal yoludur. Terpenler, JNK sinyal yolunu modüle ederek hücre stresine yanıtı düzenleyebilir. Dahası, "interlökin 6 (IL-6)" ve "tümör nekroz faktörü α (TNF- α)" gibi sitokinler, inflammatuar yanıtın düzenlenmesinde önemli rol oynayan proteinlerdir. Terpenlerin etkisi, bu sitokinlerin üretimini modüle ederek inflamasyonun kontrol edilmesine katkıda bulunabilir. Bu sinyal yolları ve sitokinlerin etkileşimi, terpenlerin anti-inflamatuar ve diğer biyolojik etkilerinin altında yatan karmaşık mekanizmaları temsil eder. Bu mekanizmaların anlaşılması, terpenlerin terapötik potansiyelini değerlendirmek ve inflammatuar hastalıkların tedavisinde kullanımını yönlendirmek için önemlidir (Cho vd., 2017).

Son zamanlarda, birkaç bitkide özel terpenoid birikiminin endofit aracılı düzenlendiği bildirilmiştir. Endofitik mikroorganizmalar (bakteriler ve funguslar) herhangi bir hastalık semptomları göstermeksizin hücre içi alanlarda bitki dokularında bulunurlar (Schulz ve Boyle, 2005). Terpenoidler dahil olmak üzere bitkiye özel metabolitlerin biyosentezini de düzenlerler (Yang vd., 2016). Kesin mekanizma henüz keşfedilmese de endofit-bitki ilişkisinin kaynağı artırıp (fotosentez), havuzu genişleterek (glikoliz ve trikarboksilik asit döngüsü) ve metabolizmayı da artırarak

üretimi (biyokütle ve özel terpenoidler) iyileştirebildiği iddia edilmektedir (Yuan vd., 2019).

2.6.1.1. Hemiterpenler

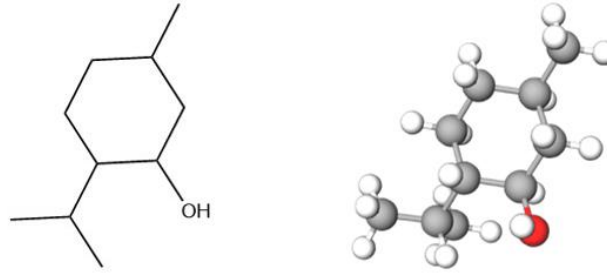
Hemiterpenler, C₅ yapısına sahip en küçük ve en basit terpenlerdir. İzopren en iyi bilinen hemiterpendir. Birçok ağacın (kozalaklı ağaçlar, kavaklar, meşeler ve söğütler dahil) yapraklarında ve diğer organlarında bulunmaktadır (Ludwiczuk vd., 2017; Reveglia vd., 2018). İzopren bir sinyal ve savunma molekülü görevi yapar ve kauçuk, aromalar ve potansiyel biyoyakıtların sentezi için önemli bir yapı olmuştur (Yeom vd., 2018). Bir hemiterpen olan prenol'ün moleküler ve üç boyutlu yapısı Şekil 2.3'de verilmiştir.



Şekil 2.3 Prenol bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

2.6.1.2. Monoterpenler

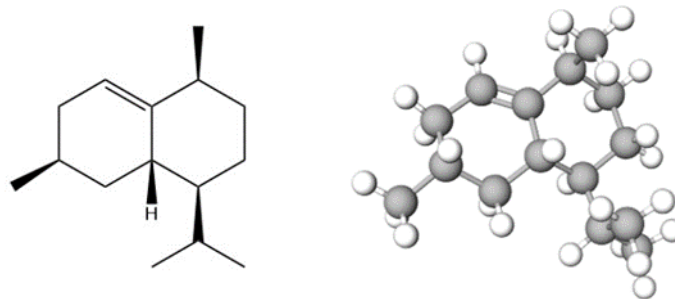
Monoterpenler iki izopren biriminden oluşur ve birçok bitkinin uçucu yağlarında bulunur (Gould, 1997; Hop ve Son, 2022). Kozmetik, parfüm, gıda ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan aromatik bitkilerin uçucu yağlarının ana bileşenleri olarak güçlü kokuları ve aromatik özellikleri iyi bilinmektedir (Booth vd., 2017; Ludwiczuk vd., 2017). Ayrıca bitkileri biyotik ve/veya abiyotik streslerle başa çıkma konusunda güçlendirecek özelliklere de sahiptirler. Mentol, limonen, geraniol, linalool, okaliptol, borneol ve kafur, monoterpenoidlerin önemli temsilcilerinden bazılarıdır. Monoterpenler genellikle GPP'den, Terpen sentaz (TPS)-b, d1 veya g alt familyalarına ait monoterpen sentazların (mTPS'ler) etkisiyle oluşturulurlar (Ruan vd., 2016; Tholl, 2015; Velu vd., 2018). Bir monoterpen olan mentol moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.4'te verilmiştir.



Şekil 2.4 Mentol bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

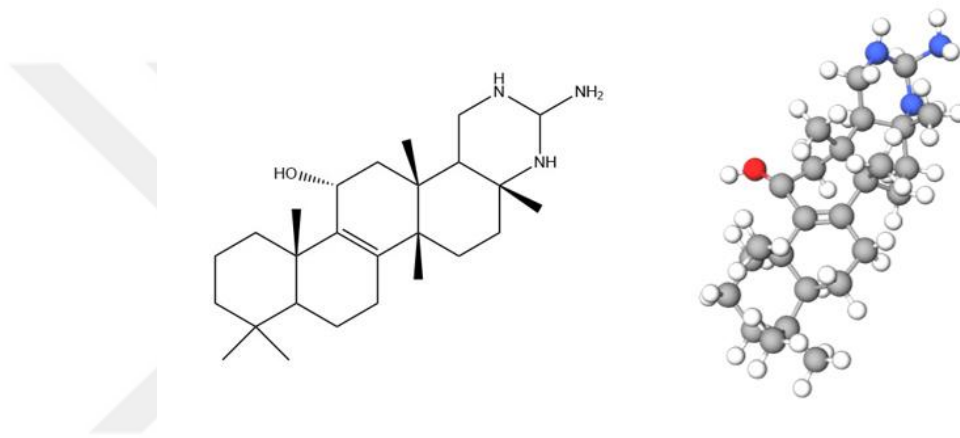
2.6.1.3. Seskiterpenler

Seskiterpenler üç izopren biriminden oluşur ve en yaygın terpen sınıfını temsil eden bir C_{15} bileşikler grubudur. Bunlar, TPS-a1, a2, d1, d2, d3, e/f veya g alt familyalarına giren seskiterpen sentazların (sTPS'ler) katalitik aktivitesi yoluyla FPP'den (Farnesil difosfat) üretilen asiklik, monosiklik, bisiklik veya trisiklik bileşiklerdir (Chen vd., 2011). Esas olarak yüksek bitkilerde bulunurlar. Bazıları güçlü antikanser, antiviral, sitotoksik ve antibiyotik özellikleri nedeniyle dikkat çekmektedir (Yu vd., 2012). Ayrıca çiçek kokularının bileşenleridir ve bitkilerin kendilerini otçullara ve bitki patojenlerine karşı savunmasına yardımcı olur. sTPS tarafından üretilen seskiterpenler, gelişmekte olan stigmatı patojenlerden korumak için açılmadan önce petunya çiçeklerinin stigmalarında birikir (Boachon vd., 2019). Yaygın seskiterpenoidler karyofillen, farnesen, α -humulen, zingiberene, santalenes ve santalol'dür (Chadwick vd., 2013). Bir seskiterpen olan kadinen'in moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.5'te verilmiştir.



24

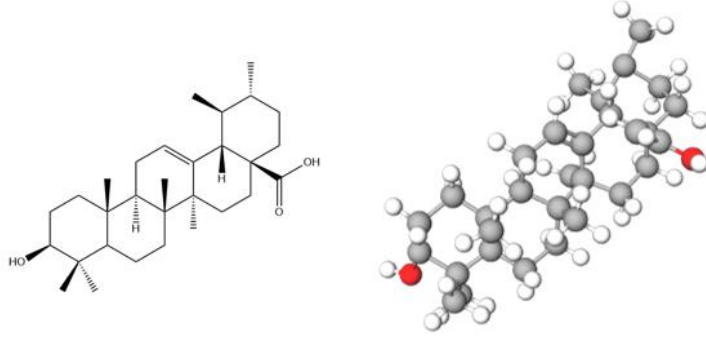
terpenoidlerin aksine diterpenoidler ve triterpenoidler gibi nispeten küçük bir terpenoid grubudur. Sesterterpenoidlerin çoğu deniz organizmaları veya funguslar gibi kaynaklarda bulunurken, 170'ten fazla sesterterpenoid yüksek bitkilerde rapor edilmiştir (Jiang vd., 2022). Sesterpenler, çeşitli biyolojik aktiviteleri ve karmaşık yapısı nedeniyle, bitki konak-konakçı etkileşimlerinde hayati bir rol oynarlar. Örneğin; *Arabidopsis thaliana*'da, köke özgü iki sesterterpenoidin eksikliğinin, kök mikrobiyotasının birleşmesini önemli ölçüde etkilediği tespit edilmiştir (Chen vd., 2019). Bir sesterterpen olan sibastasin A moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.7'de verilmiştir.



Şekil 2.7 Sibastasin A bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

2.6.1.6. Triterpenler

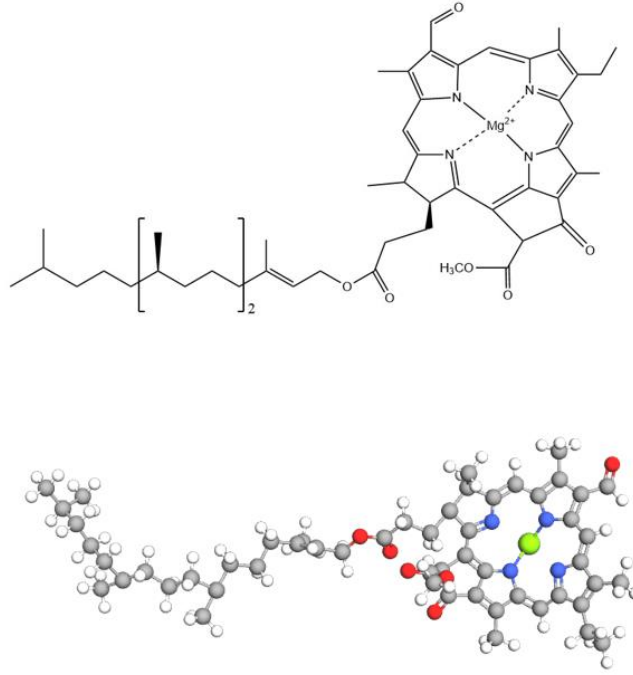
Triterpenler altı izopren biriminden oluşurlar (C_{30}) ve bir dizi önemli biyolojik aktiviteye sahip geniş bir bileşik sınıfını içerir (Staniszewska vd., 2003; Tanaka vd., 2021). Triterpenoidler normal büyüme ve gelişme için gerekli değildir. Ancak bitki savunmasında ve mahsul bitkilerinde gıda kalitesinde önemli işlevleri olan triterpen glikozitler olarak bulunurlar (Kim vd., 2018). Triterpenoidler, kardiyak glikozitleri içerirler ve sitotoksik, yatıştırıcı ve anti-inflamatuvar aktiviteye sahiptir (Salminen vd., 2008; Shi vd., 2016; El-Baba vd., 2021). Bunun yanında, gıda, kozmetik, ilaç ve endüstriyel biyoteknoloji sektörlerinde geniş bir alana sahiptir. Şimdiye kadar 20.000'den fazla farklı triterpenoid rapor edilmiştir (Thimmappa vd., 2014; Kim vd., 2015). Bir triterpen olan ursolik asit moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.8'de verilmiştir.



Şekil 2.8 Ursolik asit bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

2.6.1.7. Tetraterpenler

Tetraterpenler sekiz izopren birimi içerir (C_{40}). Tetraterpenoidler önemli pigmentleri (örneğin beta-karoten, likopen) içerir ve renkli bitki kısımlarında bulunur. Tetraterpenoidlere ait karotenoidler önemli doğal pigmentlerdir ve A vitamininin ana kaynağıdır. Klorofillerden sonra en yaygın tetraterpenoidler, yeryüzünde en bol bulunan absisik asit ve strigolaktonların öncüsü olan karotenoidlerdir (Nisar vd., 2015). Bunlar doğal yağda çözünen pigmentlerdir veya temel likopen yapısına sahip basit doymamış hidrokarbonlar ya da ksantofiller olarak bilinen oksijenli analoglarıdır. Karotenoidler renksiz veya sarı, turuncu ve kırmızı çeşitleri olabilir (Lopez-Juez ve Pyke, 2004; Kilambi vd., 2013). Karotenoidler ve türevleri (apokarotenoidler), fotosistemlerin birleştirilmesinde ve büyüme ve gelişmenin düzenlenmesinde önemli roller oynarlar. Apokarotenoidler aynı zamanda sinyal molekülleri olarak da hareket ederler ve bitkinin çevreleriyle etkileşiminde rolleri vardır (Tian ve Dellapenna, 2001; Joyard vd., 2009; Nisar vd., 2015). İnsanlarda karotenoidler antioksidan görevi görür ve yaşa bağlı gözdeki makula dejenerasyonunu (görme alanında bozukluk) azaltır ve ayrıca gıda endüstrisinde boya ve renklendirici olarak kullanılır (Fiedor ve Burda, 2014; Nagegowda ve Gupta, 2020; Huang vd., 2022). Bir tetraterpen olan klorofil moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.9'da verilmiştir.



Şekil 2.9 Klorofil bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

2.6.2. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan en önemli bitki sekonder metabolitleridir. Antioksidan, antikanser, antimikrobiyal, antiseptik ve anti-inflamatuar aktivite gibi önemli farmakolojik özelliklere sahiptir (Pengelly, 2020; de Elguea-Culebras vd., 2022). Fenolik bileşikler aşağıdaki esaslara göre sınıflandırılabilir:

(1) hidroksil fonksiyonel grup sayısına göre fenolik bileşikler 1-, 2-, 3- ve poliatomik fenoller olarak sınıflandırılır. Polifenoller, aromatik bileşiklerde birden fazla hidroksil fonksiyonel grubu içeren fenolik bileşiklerdir;

(2) kimyasal konfigürasyona göre fenolik bileşikler mono-, di-, tri-, oligo ve polifenoller olarak sınıflandırılır;

(3) karbon iskeletindeki yer değiştirmeye, yan zincirdeki karbon atomu ve aromatik halka sayısına göre sınıflandırılabilir (Velu vd., 2018).

Bitkiler, aromatik bir halka üzerinde bir fenol grubu, bir hidroksil fonksiyonel grubu içeren çok çeşitli sekonder metabolitler üretirler. Bitki savunma sistemi, kök parazitleri ve nematodları dahil olmak üzere zararlılara ve hastalıklara karşı fenolleri kullanır (Park vd., 2001; Wuyts vd., 2006; Hernandez-Trejo vd., 2021).

Kimyasal yapıları ile ilgili olarak, polifenoller iki veya daha fazla fenolik hidroksil grubundan oluşan ortak bir fonksiyonel grubu paylaşırlar. Bitki kaynaklı fenolik bileşiklerin uygulamaları için, orijinal yapıların veya modifiye kimyasal özelliklerinden uygun şekilde yararlanmak çok önemlidir (Ejima vd., 2017; Mikołajczak vd., 2021).

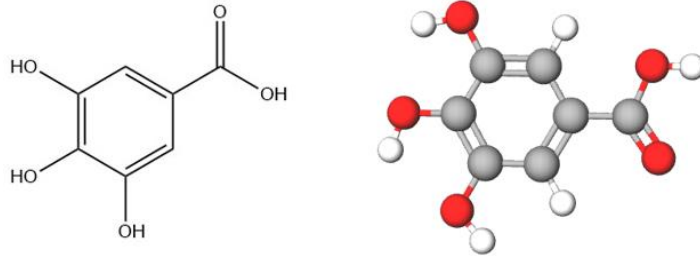
Bitki fenolik bileşikleri, biyosferde dolaşan organik karbonun önemli bir kısmını oluşturur ve sürdürülebilir yeşil kimyasal süreçler için büyük pratik değere sahiptir. Bu bileşikler, bitkilerin büyümesi ve gelişmesi için temel öneme sahip olmanın yanı sıra, çevresel uygulamalarda da çeşitli avantajlar sunarlar. Özellikle, bitki fenolik bileşiklerinin çeşitli çevresel uygulamalarda kullanımı, nadir metallerin veya zararlı metallerin geri kazanılması gibi süreçlerde önemli bir rol oynar. Bu bileşikler, bitkilerin kökleri aracılığıyla topraktan su ve besin elementlerini alırken, aynı zamanda çevrede bulunan bazı metalleri de alarak tutarlar. Dolayısıyla, bitkiler bu metalleri biyolojik olarak bağlayabilir ve tutabilirler, bu da çevredeki kirliliği azaltabilir ve kaynakları yeniden kullanılabilir hale getirebilir. Bu şekilde, bitkisel hammaddelerin kullanımı, plastik gibi petrokimyasal ürünlerin yerine geçerek fosil kaynakların tasarruf edilmesine ve çevresel sürdürülebilirliğin artmasına katkıda bulunabilir. Bu yönüyle, bitki fenolik bileşiklerinin çevresel uygulamaları, çevre koruma ve sürdürülebilirlik açısından önemli bir potansiyele sahiptir (Kuppusamy vd., 2015; Ge ve Li, 2018; Mark vd., 2019; Okumura, 2021).

2.6.2.1. Fenolik Asitler

Fenolik asitler meyveler, sebzeler, baharatlar, tahıllar gibi çeşitli bitki kaynaklarında bulunan fenolik bileşikler altında gruplanan biyoaktif kimyasalların en belirgin sınıfıdır (Stuper-Szablewska ve Perkowski, 2017; Karasawa ve Mohan, 2018). Bitkilerin farklı kısımlarına dağılmışlardır ve gıdaların tipik organoleptik (gıda ürünlerinin insanın duyu organlarını uyaran) özelliklerine katkıda bulunan renk, tat, burukluk ve sertlik veren aromatik metabolitlerdir. Fenolik asitler, antioksidan, anti-inflamatuar, immün düzenleyici, anti-alerjik, anti-aterojenik (serbest kolesterolün dışarıya atılması), anti-mikrobiyal, anti-kanser aktiviteleri ve anti-diyabetik özelliklere sahiptirler (Anantharaju vd., 2016; Kumar ve Goel, 2019; Zhang vd., 2019).

Fenolik asitler, fenolik bileşikler arasında bileşenlerin üçte birini oluşturmaktadır. Aromatik halkadaki hidroksil gruplarının konumlarına ve sayılarına bağlı olarak ve iki farklı karbon çerçeveleri nedeniyle hidroksibenzoik asitler ve

hidroksisinnamik asitler olarak sınıflandırılırlar (Rashmi ve Negi, 2020). Hidroksibenzoik asitler, C₆-C₁ yapısında yedi karbon atomlu benzoik asit türevleridir. Gallik asit, p-hidroksibenzoik asit, salisilik asit, ellagik asit, gentisik asit, protokateşik asit, siringik asit ve vanilik asit aromatik halkanın modifikasyonuna göre kendi aralarında farklılık gösteren başlıca hidroksibenzoik asitlerdir. Hidroksibenzoik asitler, şekerler veya organik asitlerle konjuge (çözünür formda) veya hücre bileşenlerine bağlı formda mevcuttur. Yenilebilir bitkiler genellikle çok düşük seviyelerde hidroksibenzoik asit biriktirir (Kęszycka vd., 2017; Qadir vd., 2019). Hidroksisinnamik asitler ise C₆-C₃ sahip olan sinnamik asitlerin türevleridir. Hidroksisinnamik asit ve türevleri arasında p-kumarik asit, sinamik asit, kafeik asit, ferulik asit, sinapik asitler, izoferulik asit ve p-hidroksisinnamik asit en yaygın olanlarıdır (Raffo vd., 2006; Mattila ve Hellström, 2007; Ranilla vd., 2010). Hidroksisinnamik asitler doğada hidroksibenzoik asitlerden daha yaygındır ve genellikle çeşitli konjuge formlarda bulunur (Butts-Wilmsmeyer vd., 2020). Bir fenolik asit olan gallik asitin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.10'da verilmiştir.



Şekil 2.10 Gallik asit bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

2.6.2.2. Flavonoidler

Flavonoidler genellikle suda çözünür bileşiklerdir. Flavonoidler sınıfı bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve çeşitli biyolojik işlemlerden sorumlu olan, doğal olarak oluşan polifenolik fitokimyasallardır. Birçok flavonoid, çiçek pigmentleri olarak kolayca tanımlanır ancak çeşitli bitkilerin tüm kısımlarında bulunurlar (Badshah vd., 2021). Flavonoidler, tozlaşma için böceği çeken ultraviyole ışınlarını süzerek çiçeğin taç yaprakları üzerinde güzel bir renk üreterek bitki tozlaşmasında önemli bir rol oynar. Flavonoidler ayrıca bitki hücre döngüsünün inhibisyonu yoluyla

bitki hücresinin fizyolojik işlevini düzenleyen bitkilerde kimyasal bir haberci görevi görür (Ghorbani vd., 2019). Başlıca önemli flavonoidler, toplam bitki türlerinin neredeyse %70'inden fazlasında yaygın olarak bulunan kuarsetin ve kaempferol'ü içerir (Velu vd., 2018).

Flavonoidlerin flavonlar, flavanoller, flavanonoller, flavanonlar, izoflavonlar ve antosiyanininler gibi birçok alt sınıfı vardır ve araştırmacılar 5000'den fazla flavonoid tanımlamıştır (Castañeda-Ovando vd., 2009). Kimyasal olarak flavonoid, iki aromatik A ve B halka ve C heterosiklik halka olarak tanımlanan polifenolik bileşiktir. Bazı flavonoidlerde C halkası yerine üç karbon atomlu açık zincir bulunabilir (Rengasamy vd., 2019).

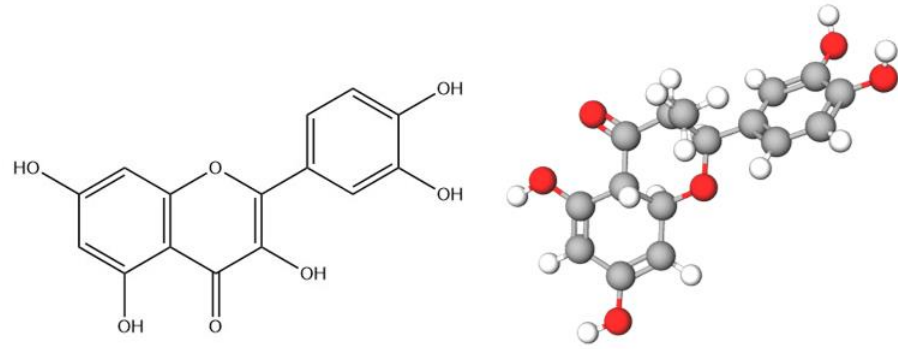
Flavonoidler biyolojik etkilerinden dolayı çeşitli farmasötik uygulamalarda vazgeçilmez bir bileşendir. Bunun nedeni, temel hücrel enzim fonksiyonlarını modüle etme kapasiteleri ile birlikte antioksidan, anti-inflamatuar, anti-mutajenik ve anti-kanserojen özelliklere sahiptirler (Martin ve Ernst, 2002; Das ve Rosazza, 2006; Helenius, 2018; Peluso, 2016). Ayrıca ksantin oksidaz (XO), siklo-oksijenaz (COX), lipoksijenaz ve fosfoinositid 3-kinaz gibi çeşitli enzimler için güçlü inhibitörler oldukları bilinmektedir (Metodiewa vd., 1997).

Flavonoller

Flavonoller, 4 konumunda bir okso grubunun varlığı ve C halkası üzerinde konjugasyona izin veren 2,3-çift bağ ile karakterize edilen flavonoid ailesinin bir alt sınıfıdır. A ve B halkaları arasındadır ve bu bileşiklerin redoks özelliklerini güçlü bir şekilde etkiler. Bununla birlikte, 3 konumunda bir hidroksil grubunun (fenolik olmayan tek grup) mevcudiyetiyle flavonlardan farklıdır (Laoué vd., 2022; Sahu ve Mishra, 2022). Çoğunlukla O- glikozitler ve nadiren C- glikozitler olarak bulunurlar. Bugüne kadar, 3-, 7-, 3'- veya 4'- O- glikozitlerin bir kombinasyonu olarak 900'den fazla O- glikosil flavonol tanımlanmıştır. En yaygın şeker bileşiği glikozdur ve bunu galaktoz ve ramnoz izler. Ayrıca, arabinoz, ksiloz ve glukuronik asit de mevcut olduğu bildirilmiştir. Flavonun polimetoksiflavon alt grubuna benzer şekilde, flavonoller de polimetoksile formları olarak bulunabilir (Barreca vd., 2017, 2021; Dudek vd., 2016; Tung vd., 2019).

Flavonoller çay ve kırmızı şarapta glikoz veya ramnoz gibi bazı basit şekerlerle glikolize edilmiş formlarında bol miktarda bulunur. Bazı meyvelerin dış kısmı yaklaşık 5-10 farklı flavonol glikozit içerir (Herrero vd., 2012; Kumar ve Pandey,

2013). Farklı meyvelerdeki (hatta aynı türden olanlar bile) flavonollerin konsantrasyonu, biyosentezlerindeki farklılıklardan dolayı farklılık gösterir (Jeganathan vd., 2016). Bu durum, bitkilerdeki flavonol içeriğinin, yaprakların dış kısmından iç kısmına doğru değişen yoğunlukta olduğunu belirtmektedir. Yaprakların dış kısımları, iç kısımlarına göre daha yeşil olduğu için genellikle daha yüksek flavonol içeriğine sahiptir. Bu, bitkilerin fotosentez ve çevresel stresle başa çıkma yeteneklerini artırmak için geliştirdikleri bir adaptasyon olabilir. Özellikle güneş ışığına daha fazla maruz kalan yaprakların, UV ışınlarına karşı korunma amacıyla daha yüksek flavonol içeriğine sahip olduğu düşünülmektedir. Bu şekilde, bitkiler flavonoller aracılığıyla fotosentezde ve çevresel stresle mücadelede önemli bir rol oynarlar (Brooker vd., 2008). Flavonoller arasında en iyi bilinen, en yaygın şekilde yayılan ve en çok çalışılan kuersetindir (Boots vd., 2008; Tahir vd., 2021). Kuersetinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.11’ de verilmiştir.



Şekil 2.11 Kuersetin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

Flavonoller SARS-CoV-2'yi inhibe etme yeteneği nedeniyle yakın zamanda daha çok önemli hale gelmiştir (Abian vd., 2020; Quiles vd., 2020). Flavonollerin antioksidan özellikleri, bu bileşiklerin biyolojik önemini artıran önemli faktörlerden biridir. Serbest radikallerin yüksek seviyeleri, oksidatif stresin baskın olduğu belirli fizyolojik durumları indükleyerek, kronik hastalıkların başlangıcına ve yaşlanmaya önemli ölçüde katkıda bulunarak, organizma sağlığı için ciddi sorunlara neden olur (Bagchi vd., 2021; Slika vd., 2022). Ayrıca, oksidatif stres gıdaların raf ömrünü, stabilitesini ve ticari kalitesini önemli ölçüde azaltabilir. Bu nedenle, diyet flavonollerini, kronik hastalıkların şiddetini azaltmaya yardımcı olabilecek oksidatif hasarı azaltarak ve gıda ürünlerinin raf ömrünü ve kalitesini uzatarak kilit bir rol

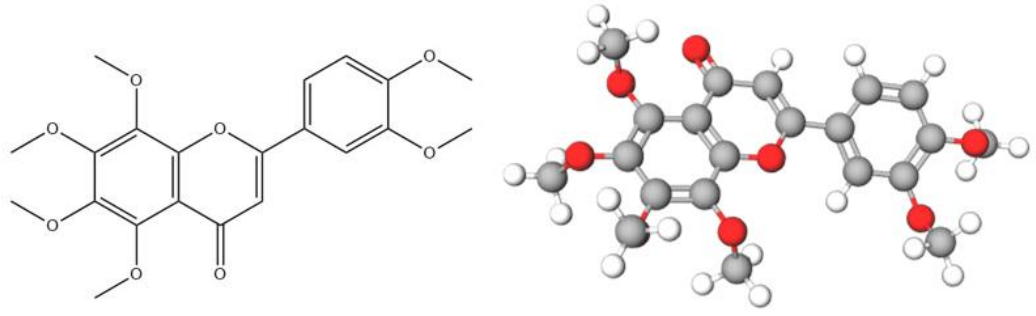
oynamaktadır (Tripoli vd., 2007; Shahidi ve Ambigaipalan, 2015; Spagnuolo vd., 2018).

Flavonlar

Flavonlar, $C_{15}H_{10}O_2$ moleküler formülüne flavonoidlerin bir alt sınıfıdır. A-, C- ve B-halkaları olarak adlandırılan $C_6-C_3-C_6$ olmak üzere üç halka iskeletinden oluşur. Flavonlar, hidroksi (flavonollerde olduğu gibi), karbonil ve konjuge çift bağlar gibi fonksiyonel gruplardan yararlanmak için modifiye edilebilir ve bu, üç fonksiyonel grubun tümü için tipik olan reaksiyonlarla sonuçlanır. Flavonun eşanlamlıları 2-fenil-4H -kromen-4-on ve 2-fenil-1-benzopiran -4-on 'dur. Flavonoid biyosentezi, kalkon sentaz (KS) enzimi tarafından gerçekleştirilen, 1 molekül 4-kumaroil-CoA ve naringenin kalkon veren üç molekül malonil-CoA'nın yoğunlaştırılmasıyla başlar. Kalkonun iki doğrudan öncüsü, birincil metabolizmanın iki farklı yolundan kaynaklanır. Kumaroil-CoA, topluca genel fenil-propanoid yolu olarak adlandırılan üç enzimatik adımla amino asit fenilalaninden sentezlenir. Malonil-CoA, krebs trikarboksilik asit döngüsünde merkezi bir ara madde olan asetil-CoA'nın karboksilasyonu ile sentezlenir. Kalkon, sonuç olarak, bir flavanon verecek şekilde kalkon flavanon izomeraz (KFI) enzimi tarafından izomerleştirilir (Singh vd., 2014).

Flavonlar, bitkilerde antosiyaninlerle birlikte pigmentler olarak, bitkilerde ultraviyole B koruyucuları, böceklerle ve fungus patojenlerine karşı koruma gibi çeşitli biyolojik rollere sahiptir (Hostetler vd., 2017; Li vd., 2020). Ayrıca, endojen süreçler sırasında üretilen serbest radikaller de dahil olmak üzere kimyasal kaynaklı kanserojenliği inhibe edebilir (López-Lázaro, 2002; Chang vd., 2010).

Meyve ve sebzelerdeki flavonların konsantrasyonu flavonollerden daha azdır. Flavonlar, tatlı dolmalık biber, kereviz ve maydanoz da dahil olmak üzere çok az bildirilen kaynaklara sahip apigenin ve luteolin glikozitleridir. Buğday gibi tahıllarda flavonların glikozitleri olarak bulunurken turuncgil kabuğunda ise, nobiletin, sinensetin ve tangeretin dahil olmak üzere polimetoksile flavonlar olarak bulunurlar (Stuetz vd., 2010). Bir flavon olan nobiletin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.12'de verilmiştir.



Şekil 2.12 Nobiletin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

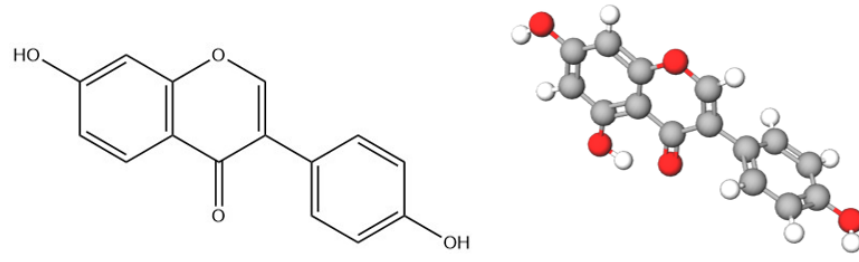
İzoflavonlar

Flavonoidlerin alt sınıfı olan izoflavonlar östrojen reseptörlerine olan afiniteleri nedeniyle fitoöstrojenler olarak bulunur. Steroid olmamalarına rağmen, estradiol gibi bir konfigürasyonda 7' ve 4' pozisyonlarında -OH içerirler. İzoflavonlar ve diğer flavonoidler arasındaki temel fark, C₃'teki benzen halkası B'nin konumudur (Wang vd., 2013).

İzoflavonlar, çeşitli bitkilerde, özellikle köklerde ve tohumlarda doğal olarak bulunur. Arpa, brokoli, karnabahar, acı bakla ve soya fasulyesi gibi Fabaceae üyeleri arasında yaygın bir şekilde bulunmaktadır (Prasad vd., 2010).

İzoflavonlar, 3-fenil kromen-4-on kimyasal yapısal omurgasına sahip bir grup bileşiktir. Bu bileşikler bitkilerde geniş bir dağılım gösterirler ve glikozit formunda bulunurlar. Ancak, aglikonlarının biyoyararlanımı daha yüksektir. Yani, memelilerin sindirim sistemi tarafından glikozitlere kıyasla daha hızlı ve etkili bir şekilde emilirler. İzoflavonlar gıda matrisinde veya izole edilmiş bileşikler halinde insan vücuduna alındığında, diğer kimyasal yapı türlerine dönüşebilirler. Bu dokuların veya hücrelerin kan tarafından emilmesi ve biyoaktif etkiler sağlaması için gereklidir. İzoflavonlar in vivo alındıktan sonra sindirim, metabolizma, absorpsiyon, dağılım ve eliminasyon ile karşı karşıya kalır ve sistemik dolaşımdaki izoflavon bileşiklerinin türünü ve miktarını etkiler (Larkin vd., 2008).

2004 yılına kadar toplamda 1600'den fazla izoflavonoid tanımlanmıştır (Cheynier, 2005). Bir izoflavon olan daidzein moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.13'te verilmiştir.



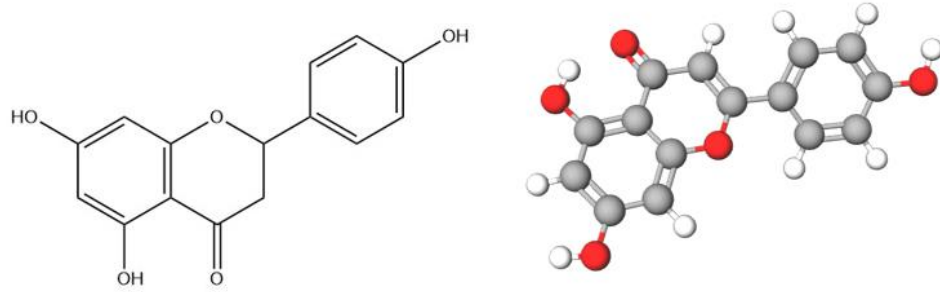
Şekil 2.13 Daidzein bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

Flavanonlar

Flavanonlar, turunçgillerin başlıca flavonoidleridir. Portakal içinde hesperitin, limon'da eriodictyol ve greyfurt içinde ise aglikon olan naringenin bulunur. Flavanonlar bir disakkarit tarafından 7. pozisyonunda büyük ölçüde glikosile edilirler. Glikozil, bitkilerde bulunan şeker türevlerinden biridir ve bir monosakkarit olan glikozun bir disakkarit (iki monosakkaridin birleşmesiyle oluşan bileşik) ile birleşmesiyle oluşur. Bu durumda, bahsedilen disakkarit, flavanonların 7. pozisyonundaki hidroksil grubuna bağlanmış glikoz molekülüdür. Bu glikozilasyon işlemi, flavanonları glikozid formunda, yani glikoz molekülüyle birleşmiş halde bulunmalarını sağlar. Bu sayede, flavanonlar daha stabil hale gelir ve su çözünürlüğü artar. Bu glikozileme işlemi, bitkilerde bulunan birçok flavonoid bileşiğinde görülür ve bileşiklerin biyolojik aktivitesini, taşınabilirliğini ve stabilitesini etkiler. Bir bardak portakal suyunda 40 ila 140 mg flavanon glikozitler bulunabilir (Kaur ve Kaur, 2014). Narenciye meyvesinin kabuk kısmı en yüksek flavanon içeriğine sahip olduğundan, tüm meyvenin flavanon glikozit içeriği 5 kat daha fazla olabilir. Ayrıca nane gibi aromatik bitkiler flavanon içerebilir (Alara vd., 2021).

Flavanonlar, başta Compositae, Leguminosae ve Rutaceae olmak üzere yaklaşık 42 yüksek bitki familyasında yaygın olarak bulunmaktadır (Lwashina, 2000). Bitki türüne bağlı olarak, flavanonlar, bitkinin tüm kısımlarında bulunabilir. Son yıllarda, yaşlanma, iltihaplanma, ateroskleroz ve iskemi gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik bozukluklarda yer alan membranların lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu rolleri bulunmaktadır. Ayrıca naringenin antioksidan, serbest radikal süpürücü, antikanser, anti-inflamatuar veya immünomodülatör ajan ve hafıza güçlendirici olarak insan sağlığı üzerinde faydalı biyolojik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir. Hesperidin ise

antioksidan, kemik koruyucu ve lipid düşürücü etkilere sahiptir ve inflamasyon ve kanser inhibisyonunda önemli bir rol oynar (Salas vd., 2011). Bir flavanon olan narigenin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.14’te verilmiştir.



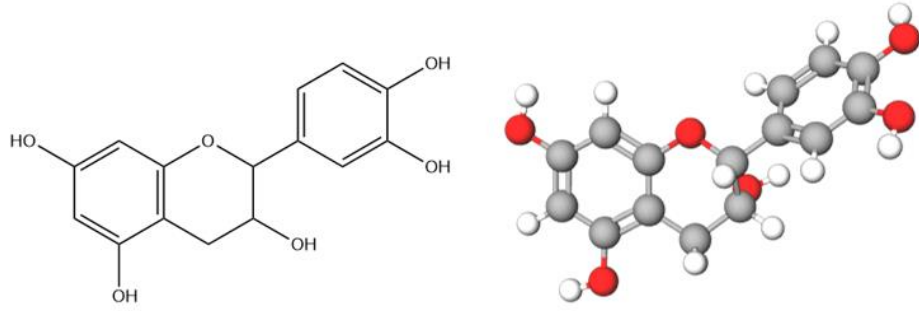
Şekil 2.14 Narigenin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

Flavanoller

Flavanoller ya kateşinler ya da proantosiyanidinler olarak ortaya çıkar. Monomerin A halkası, 5. ve 7. konumlarda çeşitli seviyelerde hidroksilasyona uğrarken, B halkası 3', 4' ve 5' konumlarında aynı şekilde hidroksilasyona uğrar. C halkasının 3-pozisyonu ya gallik asit ile esterleşir ya da bir -OH grubu içerir. Kateşinler farklı meyvelerde bulunabilmesine rağmen, büyük ölçüde kırmızı şarap, meyve suları, çikolata ve yeşil çay gibi içeceklerden elde edilmektedir (Arts vd., 2000; de Pascual-Teresa vd., 2010). Gıdalarda bulunan flavanoller, diğer flavonoidlerde olduğu gibi glikolize edilmez. Proantosiyanidinler veya yoğunlaştırılmış tanenler, B-tipi proantosiyanidinler gibi 4-6 veya 4-8'de C-C bağıyla bağlanan değişken flavanollerdir (Katz vd., 2011).

Flavanollerin yutulması sonrasında, bu bileşikler farklı biyoaktif moleküller ailesi ile sonuçlanabilecek önemli değişikliklere uğrayabilir. Flavanoller ve prosiyanidinler, mide asidi ve mide geçişi sırasında nispeten stabil bir yapıya sahiptirler. Ancak, ince bağırsakta, bu bileşiklerin yapısı önemli ölçüde değişebilir ve farklı metabolitlere dönüşebilirler. Özellikle, enzimatik hidroliz yoluyla flavanol glikozitleri ve esterleri, flavan-3-oller ve diğer flavanol türevleri oluşabilir. Bu metabolik dönüşümler, biyoyararlanabilirlik ve biyoaktivite üzerinde etkili olabilirler. Flavanollerin in vivo alınması, metabolik değişikliklere ve sindirim, absorpsiyon, metabolizma ve eliminasyon süreçlerine tabi tutulur, bu da sistemik dolaşımdaki

flavanol bileşiklerinin tipini ve miktarını etkiler (Rios vd., 2002). Bir flavon olan kateşinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.15’ de verilmiştir.



Şekil 2.15 Kateşinin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

Antosiyaninler

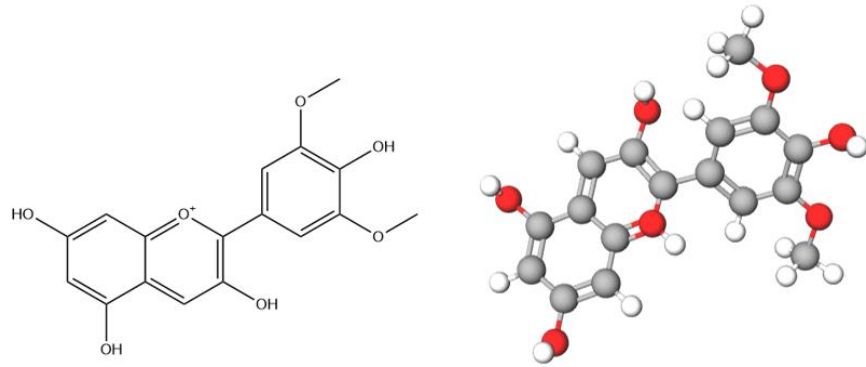
Antosiyaninler çeşitli gıdalarda pigment olarak bulunan ve bu tür gıdaların mor, kırmızı, pembe veya camgöbeği rengini veren en yaygın flavonoidlerdir (Azzini vd., 2017). Yapısal olarak, flavilyum iyonunun bir bozunma ürünüdür. Bunlar bir aglikon biriminin heterositleridir. Antosiyaninlerin farklı türleri, moleküler yapılarındaki çeşitli özelliklere bağlı olarak farklılık gösterirler. Bu özellikler arasında bağların yerleşimi, bağlı şekerlerin türü ve sayısı, moleküllerdeki alifatik veya aromatik karboksilatların varlığı, aglikonlardaki hidroksillenmiş grupların sayısı yer almaktadır. Bu farklı özellikler, antosiyaninlerin kimyasal özelliklerini ve biyolojik aktivitelerini etkileyebilir (Jaakola, 2013; Khoo vd., 2017).

Antosiyaninler tahıllarda, kırmızı şarap, soğan, lahana, fasulyelerde bol miktarda bulunur (Alvarez-Suarez vd., 2021). İnsan diyetinde bulunan başlıca antosiyaninler pelargonidin, siyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin ve malvidin gibi antosiyaninlerin glikozit formlarıdır (Seeram vd., 2001; Cevallos-Casals ve Cisneros-Zevallos, 2003; Castañeda-Ovando vd., 2009).

Antosiyaninler absorpsiyon üzerine hızla biyoaktif metabolitlere dönüştürülür ve küçük bir yüzdesi mide duvarından emilebilir. Bu da alımdan kısa bir süre sonra plazmada ana antosiyanin formunun mevcudiyetinin göstergesidir (Cao vd., 2001). İnce bağırsakta, antosiyanin glikozitleri kolaylıkla emilir ancak çeşitli taşıyıcılar tarafından lümene geri akıtılabilir. Kolona geçen emilmeyen antosiyaninler ya

degradasyona uğrayabilir ya da kolonik mikrobiyota tarafından hidrolize edilerek metabolitlere ve fenolik asitlere dönüşebilir (Garcia ve Blesso, 2021).

Antosiyaninler, hidrojen atomu transferi (HAT) ve tek elektron transferi (SET) olmak üzere iki genel mekanizma ile reaktif oksijenlere karşı doğrudan antioksidan aktivite gösterebilir. HAT mekanizması ile ilgili olarak, antioksidan, serbest radikale bir hidrojen atomu (proton ve elektron) verirler ve bu nedenle onu daha kararlı bir ürüne dönüştürür. Bu reaksiyon, antioksidanı bir radikale dönüştürür. Ancak ilk serbest radikalden çok daha az reaktiftir ve bu nedenle oksidasyon süreci genel olarak inhibe edilir. SET mekanizmasında, serbest radikal antioksidandan bir elektronun kabulü ile stabilize edilir ve antioksidan molekülün kendisi bir radikal katyon ara maddesi haline gelir (Liang ve Kitts, 2014). HAT mekanizmasına benzer şekilde, yeni üretilen antioksidan radikal ilk serbest radikalden daha karardır. Bir antosiyanin olan malvidinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.16’da verilmiştir.



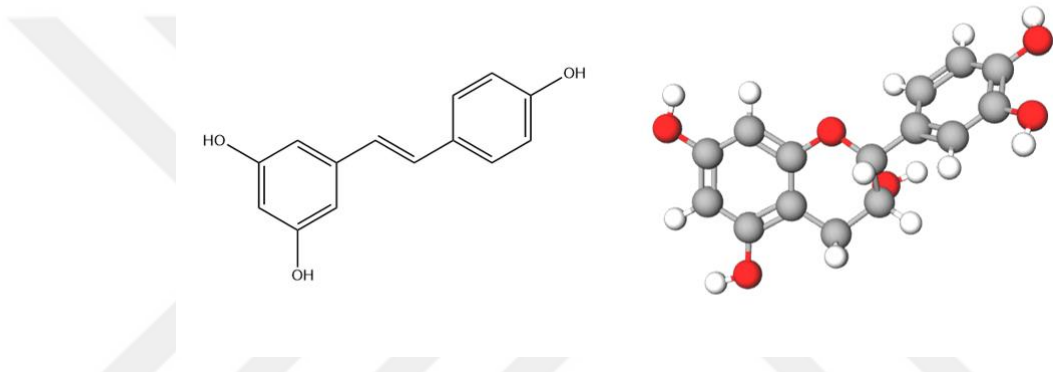
Şekil 2.16 Malvidinin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

Stilbenler

Stilbenler, çift bağı bir etilen köprüsünün iki fenil halkasını birbirine bağladığı 14 karbon ($C_6-C_2-C_6$) içeren temel bir iskelete sahip bir fenolik bileşikler sınıfına aittir (Akinwumi vd., 2018; Mattio vd., 2020). Stilbenler, bitkilerde patojenik saldırı/enfeksiyon ve UV radyasyonu gibi dış streslere karşı bir savunma mekanizması olarak sentezlenir (Hapeshi vd., 2019).

Stilbenler, genellikle Vitaceae ait bitkilerde bulunur. Vitaceae, üzüm (*Vitis*) ve bazı diğer meyve ağaçları ve sarmaşıklar gibi bitkileri içerir. Çünkü stilbenler için anahtar biyosentetik enzim olan stilben sentaz (STS) her yerde dağılmamıştır (Teka vd., 2022).

400'den fazla stilben türevi tanımlanmıştır. Yapıları monomerlerden oktamere kadar değişir ve glikosil, hidroksil, metil veya izopropil grupları gibi farklı konumlarda çeşitli sübstituentler taşır. En bilinen ve en iyi karakterize edilen stilben resveratrol'dür (3,4',5-trihidroksistilben) (Neveu vd., 2010). Stilbenlerin yapısı, antioksidan, antimikrobiyal ve anti-inflamatuar ajanlar gibi belirli biyolojik özelliklere sahip olmalarını sağlar. Ek olarak, bu moleküllerin kardiyovasküler, kanser ve obezite gibi sağlık sorunlarına karşı da koruyucu bir rol oynadığı gösterilmiştir (Navarro-Orcajada vd., 2022). Bir stilben olan resveratrol'un moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.17'de verilmiştir.



Şekil 2.17 Resveratrol bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

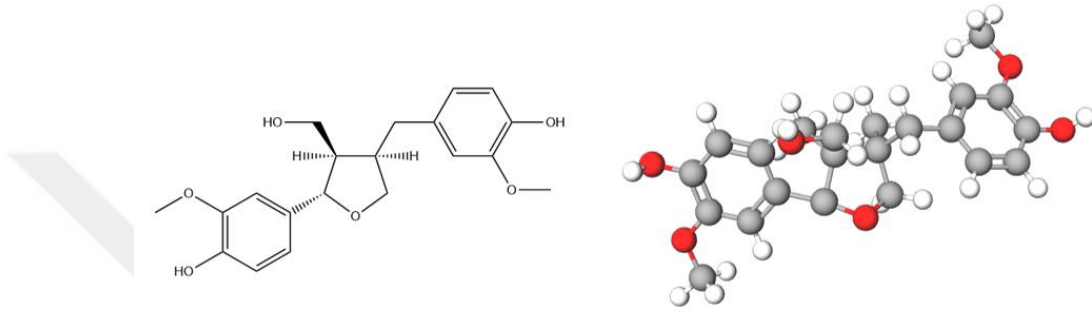
Liganlar

Liganlar, iki fenilpropanoid (C_6-C_3) türevi tarafından farklı şekillerde polimerize edilirler. Çoğunlukla dimerler olarak bulunurlar, ancak birkaçı trimerler ve tetramerler şeklinde de bulunabilir. Bu bileşikler doğada çoğunlukla serbesttirler ve bazıları glikozit şeklinde de bulunabilirler. Fenilpropan dimerler, fenilpropanoid monomerler arasındaki 8,8' bağının varlığına veya yokluğuna bağlı olarak lignanlar veya neolignanlar olarak sınıflandırılabilirler (Wang vd., 2022).

Yaygın olarak incelenen başlıca bileşikler sekoizolarisiresinol, lariciresinol, matairesinol, pinoresinol, medioresinol ve syringaresinol'dür (Durazzo vd., 2018). Lignanlar, bitkiler aleminde geniş bir şekilde dağılmıştır ve bitki köklerinde, rizomlarında, gövdelerinde, yapraklarında, çiçeklerinde, meyvelerinde, tohumlarında, ksileminde ve reçinelerinde bulunurlar. Lauraceae ait özellikle *Machilus*, *Ocotea* ve *Nectandra* gibi bitki cinsleri, lignan açısından zengin kaynaklardır. Ek olarak, Annonaceae, Orchidaceae, Berberidaceae ve Schisandraceae familyalarına dahil

bitkiler de çok sayıda lignan ve neolignan bileşeni içerir. Bugüne kadar, bitkiler aleminde 70'ten fazla familyada lignanlar bulunur ve bugüne kadar 200'den fazla klasik lignan ve 100 neolignan karakterize edilmiştir (Cui vd., 2020).

Yapısal ve biyolojik özelliklerinin belirlenmesindeki ilerlemelerle birlikte, bu bileşik sınıfları antikanser, böcek öldürücü, östrojenik, antiviral ve antioksidan özelliklere sahip olmalarıyla da bilinmektedir (Zálešák vd., 2019). Bir lignan olan larisiresinol'un moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.18'de verilmiştir.



Şekil 2.18 Larisiresinol bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

2.6.2.3. Kumarinler

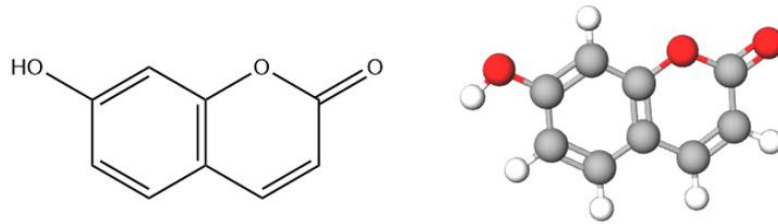
Kumarinler, çeşitli bitkilerde zenginleştirilmiş benzopiron sınıfına ait heterosiklik bileşiklerdir (Fu vd., 2021). Şikimik asit yolu, kumarin bileşiklerinin biyosentezinden sorumludur. O-hidroksisinnamik asit veya benzo-alfa-pironların laktonlarının hidroksil ve metoksi gruplarına sahip olduğu bilinmektedir (Baker, 1995). Bu tür kumarin bileşikleri, etanol ve kloroform gibi organik bileşiklerde kolaylıkla çözünürler ancak suda çok az çözünürler (Lake ve Grasso, 1996).

Kumarinlerin parçalanması, terapötik aktiviteye sahip aktif metabolitlerin oluşumuyla sonuçlanır ve bu tür moleküller ilaç öncülleri olarak kabul edilir (Stefanachi vd, 2018). Kumarinler, basit kumarinler, furano-kumarinler, pirano-kumarinler ve piron-kumarinler olmak üzere dört tipte sınıflandırılabilir (Carneiro vd., 2021).

Kumarin, gıdalarda aroma maddesi olarak kullanılan bir dizi bitkinin uçucu yağlarında bulunan doğal bir maddedir. Kumarinlerin aroması, tatlı, aromatik, ağır ve keskin olarak tanımlanmıştır (Sproll vd., 2008). Kumarinler ve türevleri, antibakteriyel, antienflamatuvar, antioksidan, antitümör, antiviral ve enzim inhibisyon

etkisi gösterir. Ayrıca kardiyovasküler rahatsızlıkların riskini azaltıcı etkiler gösterir (Borges Bubols vd., 2013; Song vd., 2021). Bununla birlikte, yüksek dozlarda hepatotoksik oldukları bildirilmektedir (Iwata vd., 2016). Bazı kumarin bileşikleri ayrıca parazitik savunma özelliklerine sahiptir ve parazit enfeksiyonları bölgesinde hızla biriken fitoaleksinler gibi davranır. Skopoletin ve eskuletin antiproliferatif, antioksidan ve anti-inflamatuar aktivitelere sahip doğal kumarin analoglarıdır (Wu vd., 2020).

Klorikromen en kapsamlı olarak incelenen kumarin bazlı anti-inflamatuar ilaçlardan biridir. Klinik olarak kanıtlanmış antikoagülan ve antitrombotik etkilerin yanı sıra, çeşitli kumarin bazlı doğal ve sentetik türevlerin de antikanser, anti-HIV aktiviteleri vardır (Sousa vd., 2022; Yu vd., 2022). Bir kumarin olan umbeliferon'un moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.19'da verilmiştir.



Şekil 2.19 Umbeliferone bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

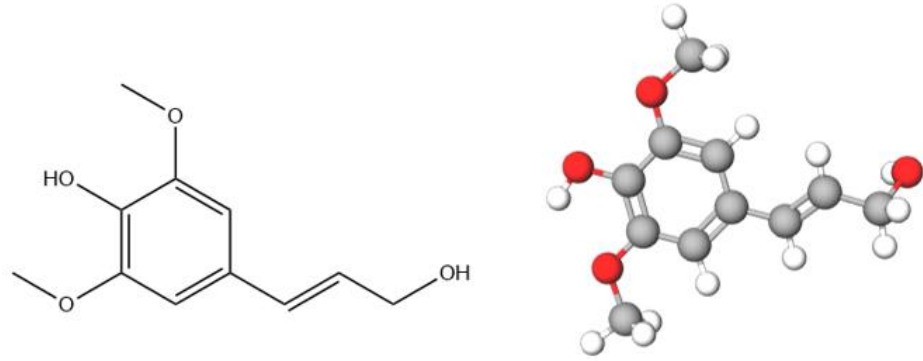
2.6.2.4. Ligninler

Lignin, vasküler bitkilerin hücre duvarında bulunan, mekanik destek, stres tepkisi, besin taşıma ve tohum koruma dahil olmak üzere çeşitli dokuya özgü amaçlara hizmet eden metoksillenmiş aromatik bir polimerdir (Ralph vd., 2004; Liu vd., 2018).

Ligninler, üç monolignolün hidrojen giderici polimerizasyonu ile oluşur. Bunlar; p- kumaril, p- koniferil ve sinapil alkollerdir (Cesarino, 2019). Lignin ve ilgili metabolizması, bitkilerin büyüme ve gelişmesinde önemli rol oynar. Kompleks bir fenolik polimer olarak lignin, bitki hücre duvarı sertliğini, hidrofobik özellikleri geliştirir ve bitkideki damar demetleri boyunca minerallerin taşınmasını destekler (Schuetz vd., 2014). Ayrıca lignin, zararlılara ve patojenlere karşı koruma sağlayan önemli bir bariyerdur (Ithal vd., 2007).

Bazı bitkilerde lignin birikimi, tohumlar için önemlidir (Liljegren vd., 2000). Bitki hücre duvarı, dış tehlikelere karşı ilk engeldir. Ligninin tohum kabuğunda

birikmesi, tohumları dış olumsuz faktörlerden koruyabilir (Liu vd., 2015). Lignin biyosentezi için kaynak malzemelerden biri olan monolignol'ün (sinapil alkol) moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.20'de verilmiştir.



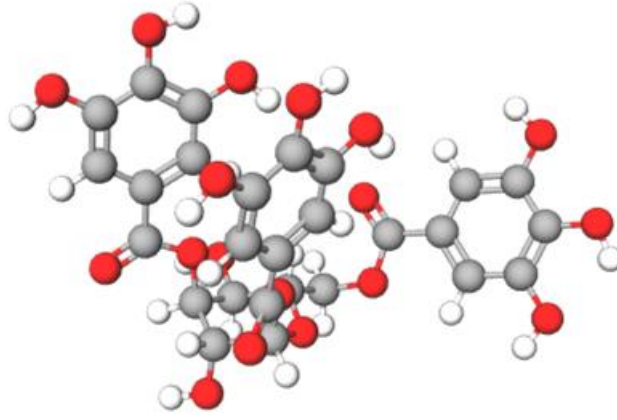
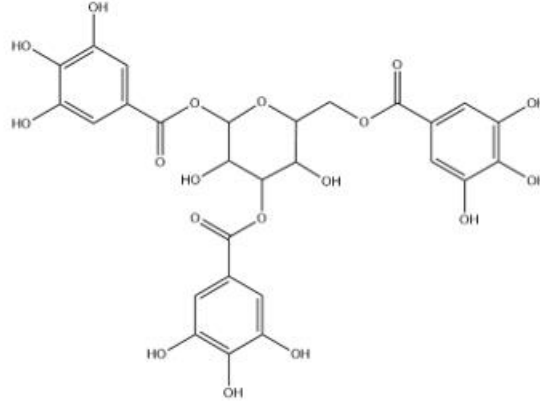
Şekil 2.20 Monolignol (sinapil alkol) bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

2.6.2.5. Tanenler

Tanenler, 500 ila 30.000 Dalton arasında moleküler ağırlığa sahip bir polifenol sınıfıdır (Serrano vd, 2009). İki ana tanen sınıfı vardır. Bunlar; hidrolize edilebilir tanenler (HT'ler) ve yoğunlaştırılmış tanenler (CT)'ler (proantosiyanidinler) olarak da bilinir. CT'ler vakuolde, genellikle yaprak ve meyvelerin epidermal veya subepidermal katmanlarında birikir (Kao vd., 2002). Buna karşılık, HT'lerin hücre duvarında, örneğin *Quercus robur*'daki mezofil hücrelerinde konsantre olduğu bilinmektedir (Khanbabaee ve van Ree, 2001). Tanenler bitki savunma ajanları olarak hareket ederek ağaçları funguslardan, patojenlerden, böceklerden ve otçul hayvanlardan korur (Radebe vd., 2013; Sharma, 2019).

Farklı tanen türevli bileşikler, obezite, arterioskleroz ve tromboza karşı koruyucu etkilere, trigliseritlerin azaltılmasına, Gram-pozitif bakterilerin inhibisyonuna ve lösemi tedavisine yönelik potansiyel uygulamaları bildirilmiştir (Pizzi vd., 2009; Pizzi, 2021; Ucella-Filho vd., 2022) .

Ayrıca esas olarak deri endüstrisi tarafından geçmiş yüzyıllardan beri hem post işleme hem de derinin rengi için kullanılmaktadır. Bununla birlikte, tanenlerin fenolik yapısı, ahşap endüstrisi için yapıştırıcılar, yalıtkan köpükler, mineral endüstrisi, şarap üretim endüstrisi ve petrol endüstrisi gibi diğer uygulamalarda kullanım potansiyeline sahiptir (Tondi vd., 2009; Pizzi, 2008; Das vd., 2020). Tanenlerin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.21'de verilmiştir.



Şekil 2.21 Tanen bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

2.6.3. Azot İçeren Sekonder Metabolitler

Çeşitli bitki ikincil metabolitleri, alkaloidler, siyanojenik glukozitler ve protein olmayan amino asitler gibi yapılarının bir parçası olarak azot içerir. Tıbbi özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmektedirler (Jamwal vd., 2018).

2.6.3.1. Alkaloidler

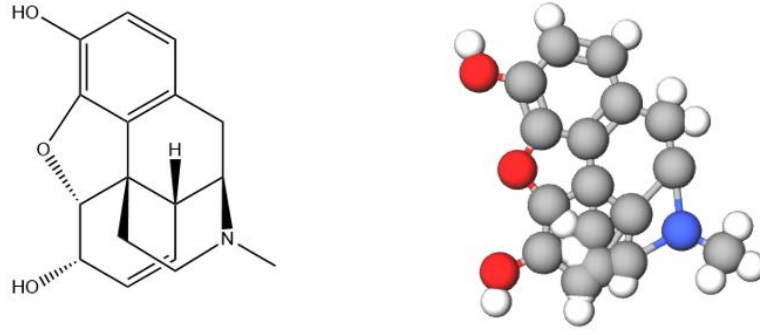
Alkaloidler, genellikle protein moleküllerinin bir parçası olan amino asit yapısal bileşenlerinden türeyen ve çoğunlukla peptit yapısındaki hidrojen atomlarının, oksijenli radikallerle değiştirilmesiyle oluşan bileşiklerdir. Bu bileşikler, genellikle protein moleküllerinin içerdiği ve nitrojen atomunu tutan bir amino asit yapısal parçasına sahiptir. Alkaloid bileşiklerin çoğu, azot ile karbon, oksijen ve hidrojenle oluşur. Ancak alkaloid yapılarında fosfor, klor, kükürt ve brom gibi başka elementler de bulunabilir. Alkaloidlerin çoğunun kimyasal özellikleri, kırmızı turnusol kağıdını

maviye çeviren doğada bazıktır. Alkaloit gruplarında bulunan bazı yapıdan sorumlu birincil, ikincil ve üçüncül aminler, alkaloit grubunda bulunan azot atomu sayısına bağlı olarak sınıflandırılır (Casado vd., 2022; Fox ve Adams, 2022). Çoğu alkaloid sadece bir azot atomuna sahiptir, ancak bazılarında beşe kadar vardır. Bu azot, birincil bir amin (RNH şeklinde oluşabilir 2), ikincil amin (R, 2, NH) ya da tersiyer bir amin (R, 3 H) şeklinde olabilir. Karbon, hidrojen ve azot ek olarak, çoğu alkaloid oksijen içerir. Alkaloidler monomerler olarak ortaya çıkabilir veya dimerler (bisalkaloidler olarak da bilinir), trimerler veya tetramerler oluşturabilirler. Bu tür oligomerler tipik olarak homooligomerlerdir ancak heterooligomerler de oluşur (Cushnie vd., 2014).

Alkaloitlerin çoğu katı formdadır, ancak karbon, hidrojen ve oksijen içeren daha az alkaloid de sıvı formdadır (Casado vd., 2022). Alkaloidler, su molekülleri olmadan asitlerle birlikteliğinde kendilerine özgü kristal tuzlarını oluştururlar. Alkaloidlerin kimyasal maddelerden elde edilen çözeltilerinin tadı genellikle acıdır. Alkaloitlerde bulunan azot atomu, bitki hücrelerini bakteri, virüs veya mikroorganizma enfeksiyonuna karşı koruyucu ve ayrıca otçul saldırılara karşı bir savunma itici güç görevi görür (Gao vd., 2019; Gyebi vd., 2020).

12.000'den fazla doğal alkaloid, dünyadaki mevcut bitki türlerinin %20'sinde tanınmaktadır ve alkaloit bileşiklerinin çoğu genellikle sonunda -çizgi ekine sahiptir. Bitki kökenli alkaloidlerin önemli tıbbi uygulamaları vardır. Analjezik olarak morfin, antibiyotik olarak berberin, antikanser olarak vinblastin ve antikolinerjik (merkezi sinir sistemi) olarak atropin kullanılır. Diğer önemli alkaloidler ve kodein, koninin, sitisin, nikotin, kinin, solanin, striknin ve tomatini içerir (Duwiejua vd., 2002; Schläger ve Dräger, 2016; Velu vd., 2018; Wiesner, 2022).

Bazı alkaloidler oldukça zehirlidir ve birçok insan zehirlenmesi vakası olmuştur. 350 bitki türevli pirolizidin alkaloidi üzerinde yapılan çalışmalarda, birçoğunun hepatotoksik ve/veya kanserojen olduğu belirlenmiştir (Stegelmeier vd., 1999; Zhang vd., 2021). Bir alkaloid olan morfin'in moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.22'de verilmiştir.



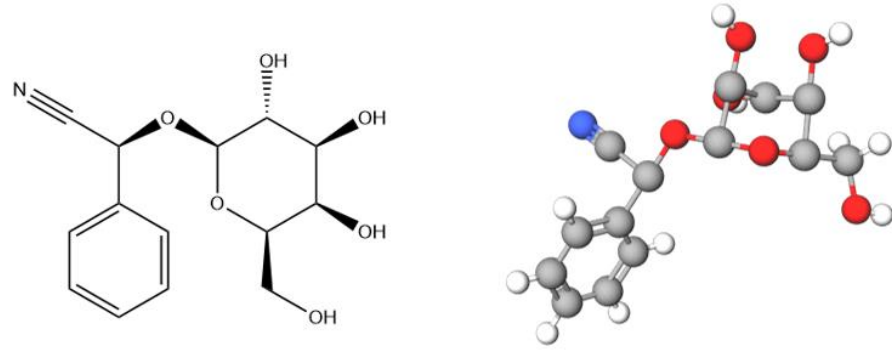
Şekil 2.22 Morfin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

2.6.3.2. Siyanojenik Glikozitler

Siyanojenik glikozitler (α -hidroksinitril glikozitler), Val, Ile, Leu, Phe ve Tyr adlı beş protein amino asidinden ve proteinojenik olmayan amino asit siklopentenil glisin'den türetilir. Altı farklı yapı taşından türetilmiş olmalarına rağmen, yaklaşık 50 farklı bilinen yapıya sahip çok küçük bir sınıf oluştururlar (Bjarnholt ve Møller, 2008).

Bazı bitkilerde, β -hidroksialkil ve γ -hidroksialkil glukozitler, Leu veya Ile'den türetilen siyanojenik glukozitlerle birlikte oluşur. α -hidroksinitril, β -hidroksinitril ve γ -hidroksinitril glukozitlerin oluşumunda rol oynayan anahtar enzim sınıfları arasında sitokrom P450'ler ve glukoziltransferazlar bulunur (Møller, 2010).

Siyanojenik glikozitler bitkilerde geniş bir dağılıma sahiptir ve 2500'den fazla farklı bitki türünün eğrelti otları, gymnosperm ve angiosperm dahil siyanojenik glikozitler içerdiği rapor edilmiştir (Yulvianti ve Zidorn, 2021). Pteridofitler ve Gymnosperm aromatik amino asitlerden türetilen siyanojenik glukozitleri içerirken, angiosperm alifatik veya aromatik amino asitlerden türetilenleri içerebilir (Zagrobelny vd., 2008). Bitkilerdeki genel işlevleri, toksik uçucu olan hidrojen siyanürü serbest bırakmak için β -glukosidazlar tarafından aktivasyona ve ayrıca otçul ve patojen saldırısını savuşturmak için ketonlar veya aldehitlere bağlıdır (Cressey ve Reeve, 2019; Mosayyebi vd., 2020). Bir siyanojenik glukozit olan sambunigrin'in moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.23'te verilmiştir.



Şekil 2.23 Sambunigrin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

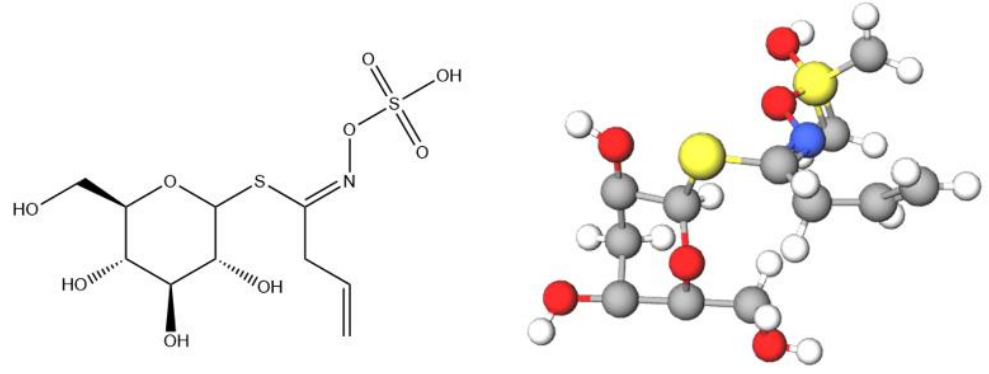
2.6.4. Kükürt İçeren Sekonder Metabolitler

Kimyasal yapılarıdaki ve etki tarzlarındaki çeşitlilik nedeniyle kükürt içeren doğal ürünler bitkilere çok çeşitli potansiyel düşmanlara karşı çok yönlü kimyasal savunma sağlar. Brassicaceae'nin çok sayıda türünün baharatlı tadından sorumludurlar (Jamwal vd., 2018).

2.6.4.1. Glukozinolatlar

Glukozinolatlar (GSL'ler), lahana, hardal ve diğer Brassicales üyeleri gibi belirli bitkilerde bulunan, iyi tanımlanmış bir anyonik doğal ürün sınıfıdır. Bu bileşikler, R-N ortak yapıları sayesinde izotiyosiyanatlar (ITC'ler) oluşturma potansiyeline sahiptirler (Wu vd., 2021).

Bir GSL, bir tiyohidroksimat olan ve oksijene bağlı bir sülfat ester grubu ile kükürtte bağlanmış bir glikoz kalıntısı içerir. Glikoz kalıntısı, β -D-glukopiranozit olarak adlandırılan bir piranoz formunda D-glukozun β -bağlantısına bağlıdır. GSL'nin geri kalan kısmı aglukon olarak bilinir. C1-N çift bağı, potansiyel olarak iki konfigürasyonda bulunabilir, ancak GSL'lerde bu çift bağ Z-konfigürasyonundadır (Blažević vd, 2020). Glukozinolat türevleri, bitki savunmasına ve oksin homeostazına katkıda bulunarak insanlarda kanserin önlenmesine kadar uzanan derin biyolojik aktivitelere sahiptir (Grubb ve Abel, 2006; Ji vd., 2021). Glikazonatların moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.24'te verilmiştir.



Şekil 2.24 Glikazonat bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

2.6.4.2. Glikozidler

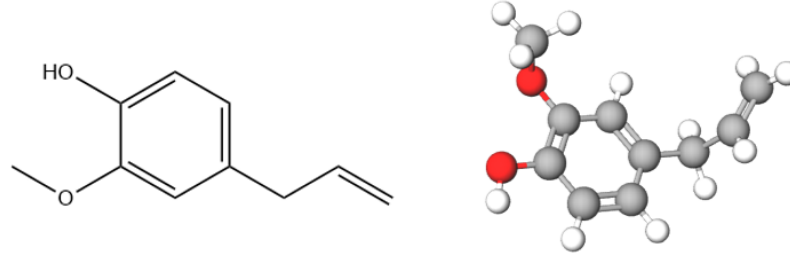
Glikozitler, bitkilerde düzenli olarak oluşan ikincil metabolit bileşikler arasında yer alan şeker kısmının veya glikonun, genellikle polisakkaritlerin şeker olmayan kısmı veya aglikonla bağlanması sonucu oluşan bileşiklerdir (Kytidou vd., 2020).

Glikozitler, genellikle karbon, hidrojen, oksijen, kükürt ve azottan oluşan kristal yapıya sahip renksiz alkaloit bileşiklerdir (Velu vd., 2018; Tian vd., 2021). Bitkilerde biriken glikozitlerin çoğu inaktif bileşiklerdir. Aktif olmayan glikozitler üzerindeki enzim hidrolizi, bitki hücrelerinin savunma mekanizması için potansiyel olarak faydalı olan aktif glikozitlerin oluşumuyla sonuçlanır (Wu vd., 2020).

Glikozitler ayrıca ön ilaç olarak da bilinir. Çünkü glikozitlerin farmakolojik aktivitesi, sadece hidroliz sırasında glikozitlerin aglikon kısmı glikozitlerin glikon kısmından ayrıldığında aktif hale gelir. Glikozitlerin aglikon kısmındaki fenollerin, terpenlerin ve steroidlerin çeşitli hetero yapı ekleri, glikozitlerin sınıflandırılmasında çeşitlilik sağlar. Glikozitlerde glikon ve aglikon bağlanması, çoklu monosakkaritleri farklı oligosakkaritlere ve polisakkaritlere birleştiren benzersiz glikozidik bağdan oluşur (Newman vd., 2008).

Glikozitlerin çoğu, tat alma sinirlerine etki eden lakton grubunun varlığından dolayı aşırı derecede acıdır ve iştahı ve sindirimi artırmak için tükürüğün aşırı salgılanmasına neden olur. Kardiyak glikozitler, kalp rahatsızlıklarından başlıca sorumluyken, kalkon glikozitler esas olarak antikanser aktivitesi için kullanılır (Tagousop vd., 2018; Yang vd., 2018). Farmakolojik etkiden sorumlu olan önemli glikozit, a-Terpineol, sinnamil asetat, öjenol taksifolin-7-O-, β -glukozit içerir. Benzer şekilde, antrasen glikozitler cilt enfeksiyonunun yönetiminden başlıca sorumluyken,

siyanojenik glikozitler farmasötik endüstrisinde aroma maddesi olarak kullanılır (Caffrey ve Ebeler, 2021). Bir glikozit olan öjenol'ün moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.25'te verilmiştir.



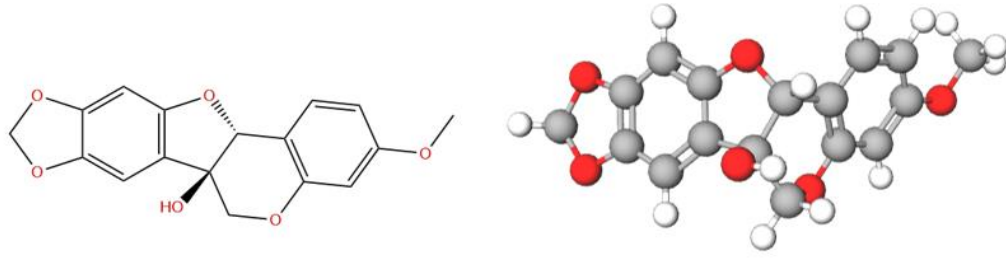
Şekil 2.25 Öjenol bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

2.6.4.3. Fitoaleksinler

Fitoaleksinler, antimikrobiyal aktivite sergileyen ve elisitörler olarak adlandırılan endojen veya eksojen sinyal molekülleri (biyotik ve abiyotik stresörler) tarafından anlık olarak üretilen düşük moleküler ağırlıklı sekonder metabolit grubudur. Bunlar bitkinin savunmasının önemli bir parçasıdır (Pedras vd., 2011; Maia vd., 2022).

Noel Bernard, bir asırdan fazla bir süre önce her ikisi de orkide olan *Orchis morio* ve *Himantoglossum hircinum* yumrularının, *Rhizoctonia repens* tarafından enfekte edildikten sonra daha fazla fungus saldırısına karşı direnç kazandığını keşfetti (Arditti vd., 1975; Grayer ve Kokubun, 2001). Bernard, fungus önleyici bileşiklerin yayılabilir olduğunu gösterdi, ancak bileşiğin kimyasal yapısının aydınlatılması birkaç on yıl daha zaman alacaktı. Fitoaleksin terimi ilk olarak, *Phytophthora infestans* ile enfekte olmuş patates yumrularında belirlenmiş olup Müller ve Börger tarafından bu terim kullanılmıştır. Fitoaleksinler, "bir parazitin istilas sonucu canlı bir hücre tarafından üretilen kimyasal bileşikler" olarak tanımlandı (Ejike vd., 2013).

Pisatin, 1960 yılında *Pisum sativum* bitkisinden izole edilen ve *Sclerotinia fructicola* fungus enfeksiyonu sonrasında tanımlanan ilk fitoaleksindir. Günümüzde, stilbenler, seskiterpenler ve kamaleksinler gibi en önemli fitoaleksinler, bitkilerde fenilpropanoid (shikimat), terpenoid (izoprenoid) ve alkaloid yolları aracılığıyla sentezlenmektedirler (Iriti ve Faoro, 2009; Großkinsky vd., 2012). Bir fitoaleksin olan pisatin'ın moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi Şekil 2.26'ta gösterilmektedir.



Şekil 2.26 Pisatin bileşiğinin moleküler yapısı ve üç boyutlu gösterimi

2.7. Orkidelerin Sekonder Metabolit İçerikleri

Orkide türlerinden elde edilen ekstraler farmakolojik ve sosyo-ekonomik uygulamalara sahip önemli bir metabolit kaynağıdır. Bu bitkilerden elde edilen metabolitler antikanser, hipoglisemik, yaşlanma karşıtı, antikonvülsif, nöroprotektif ve antimikrobiyal gibi etkileri için kullanılır (Tiwari vd., 2023).

Biyoaktif metabolitler arasında olan heptakozan ve oktakozanol, farelerde anti-inflamatuar aktivite gösteren *Vanda roxburghii*'den izole edilmiştir (Tiwari vd., 2023). *Calanthe discolor*'dan izole edilen kalantosid ise deride kan akışının düzenlenmesine etki etmektedir (Yoshikawa vd., 1998). Stilbenoidler, fenantren ve stilbenlerin hidroksillenmiş türevleri, *Dendrobium moschatum* gibi bazı orkide türünde belirlenmiştir (Majumder vd., 1998). Dihidrostilbenoidler ise *Bletilla*, *Bulbophyllum*, *Coelogyna*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Ephemerantha*, *Epidendrum*, *Eria* ve *Maxillaria* gibi farklı orkide cinslerinde tespit edilmiştir (Kovács vd., 2008). Tıbbi orkidelerin çeşitli alkaloid kategorileri içeren metabolitleri de rapor edilmiştir. Örneğin, *Dendrobium nobile*, seskiterpenoid kaynağı olarak belgelenmiştir (Yang vd., 2014). *Dendrobium crepidatum* ve *Dendrobium polyanthum*'dan ise indolizidin alkaloidleri elde edilmiştir (Wang vd., 2016). Tıbbi orkidelerden izole edilen metabolitler, çeşitli biyoaktivitelere sahip olup farmakolojik önem taşımaktadır. Örneğin, vanilin ve izoamoenilin antibakteriyel özelliklere sahiptir (Sharma ve Ali, 2023). *Gastriodia elata* ise anti-inflamatuar özellik gösteren fenolik bileşikler içermektedir (Xie vd., 2021). Ayrıca, *Maxillaria densa* ve *Scaphyglottis livida* gibi orkidelerin analjezik fonksiyonları bulunmaktadır (Daciga-Compos vd., 2005). *Cymbidium goeringii*'de bulunan Cymbidine A ise diüretik bazlı rahatsızlıkların

tedavisinde kullanılmaktadır (Watanabe vd., 2007). Denbinobin, *Ephemeranthalon chopphylla* bitkisinden elde edilen ve kanser önleyici özellikleri olan bir bileşiktir. Bu bileşik, tümör büyümesi ve metastazın baskılanmasında etkili sonuçlar göstermiştir (Chen vd., 2011; Shriram vd., 2010). Gigantol, *Dendrobium officinale* bitkisinden elde edilen bir bibenzil bileşiğidir. Bu bileşik, meme kanseri hücrelerinin büyümesini inhibe eder ve Dipeptidil-peptidaz kaynaklı apoptoza neden olarak sinyal yollarının aşağı regülasyonunu artırır (Huang vd., 2021; Losuwannara vd., 2020). *Euphia macrobulbon* genellikle Tayland, Laos, Myanmar, Vietnam ve Kamboçya'da yetişen bir orkidedir. Bu bitkinin güçlü biyoaktif bileşenleri 4-metoksi-2,7-fenantrendiol, 4-metoksi-9,10-dihidro-2,7-fenantrendiol, 1,5,7-trimetoksi-2,6-fenantren-diol, 1-(4-hidroksibenzil)-4,8-dimetoksi-2,7-fenantrendiol ve 1,5-dimetoksi-2,7-fenantrendiol olarak bilinmektedir. *E.macrobulbon* ve bileşenleri, insan servikal adenokarsinom hücreleri (HeLa), insan kolorektal adenokarsinom hücreleri (CaCo-2) ve insan meme adenokarsinomu hücreleri (MCF-7) gibi farklı kanser hücre dizilerine karşı önemli hücre apoptozu göstermektedir (Chen vd., 2008). *Dendrobium moniliform* bitkisinden elde edilen moniliformmedikinon, hormon dirençli metastatik prostat kanseri hücreleri olan DU-145 ve PC-3 hücre hatlarında hücresel glutatyonu azaltarak DNA hasarına ve hücre döngüsünün S fazında durmasına neden olur. Bunun sonucunda da hücre ölümü gerçekleşir (Paudel vd., 2018). *Spiranthes australis* bitkisinin köklerinden elde edilen dihidroflavanoidlerin, çeşitli kanser hücre dizilerinde antikanser aktiviteleri olduğu rapor edilmiştir. Bunlar arasında HT-29, MCF-7, K562, BEL-7402, A549, SGC-7901 ve A498 hücre hatları yer almaktadır (Peng vd., 2007). *Pholidota cantonensis* bitkisinden elde edilen pholidonone bileşiği ise insan Gastrik kanser hücrelerinde (GC) hücrelerinde güçlü sitotoksikite sergiler ve AGS ve BGC-823 hücre dizilerinde apoptozu tetikler (Liu vd., 2019). *Anoetochilus formosanus* elde edilen Arabinogalaktan bileşiğinin, sitotoksik T-hücrelerini ve tümör hücrelerini filtreleyen doğal katil hücreleri (NK) hücrelerini arttırdığı ve bu sayede güçlü anti-kanser ve doğuştan gelen immünomodülatör aktiviteye sahiptir (Shyur vd., 2004; Yang vd., 2013).

Orkideler, tıbbi kullanımları dışında ekolojik olarak da önemli metabolitler içermektedir. Bitkiler, tozlaştırıcı hayvanların dikkatini çekebilmek için çeşitli sinyaller kullanırlar. Bu sinyaller, tozlayıcı hayvanların koku alma, görsel ve dokunma duyularını hedef alır (Raguso, 2004). Bu çiçek kaynakları arasında nektar, polen, yağ,

parfümler ve balmumu yer alır (Martel vd., 2019). Ayrıca çeşitli bitkiler metabolitler dışında doğuştan gelen veya öğrenilmiş tercihlerden yararlanan sinyaller aracılığıyla tozlaşma vektörlerini aldatırlar. Bu sinyaller, bitkilerin avları, dişileri ve barınak veya kuluçka alanlarını taklit ederek oluşturulabilir (Jersáková vd., 2012; Oelschlägel vd., 2015). Tozlaştırıcı böceklerin vücutlarında yer alan mum tabakasından elde edilen kütiküler hidrokarbon bileşikleri (CHC'ler), eşey feromonları olarak işlev görür (Martín vd., 2013). Bu uzun zincirli hidrokarbon feromonlar düşük uçuculuğa sahip olup, genellikle sadece bir cinsiyet tarafından üretilir. Feromonlar karşı cinsle yakın mesafeden temas kurularak algılanır ve eş tanıma, kur yapma ve/veya çiftleşme davranışlarını tetikleyerek çiftleşme başarısını etkiler (Nojima vd., 2007). Bu davranışlar böceklerin üreme oranlarını belirleyerek çiftleşme başarısını artırır (Ginzl vd., 2003; Mutis vd., 2009). Dişi CHC'lerinde GC-MS analizinde n-pentakosan ve n-heptakosan olmak üzere iki düz zincirli alkan tespit edilmiştir. Ayrıca, diğer böceklerde eşey ve iz feromonlarının bir bileşeni olarak görev yaptığı bildirilen n-pentakosan da biyoanalizlerde tespit edilmiştir (Geiselhardt vd., 2011; Martín vd., 2013). Sallanma dansı kokusunun bileşenleri, önceden yapılan araştırmalarda bal arıları üzerinde tespit edilmiştir. Z-(9)-trikozen, trikozan, Z-(9)-pentakozen ve pentakozan, yiyecek arama çağındaki işçi arıların kütiküllerinden heksan yıkaması ile izole edilmiş ve bal arıları tarafından algılanabilir olduğu gösterilmiştir (Blomquist vd., 1980; Getz vd., 1987). Ancak, diğer böceklerde sallanma dansı kokusunun bileşenleri, daha farklı davranışlarla ilişkilendirilmiştir. Örneğin, trikozan, pentakozan ve Z-(9)-pentakozen, sosyal yaban arısı *Vespula vulgaris*'in toplayıcılarının karasal iz bırakmak ve takip etmek için kullandıkları bir feromon bileşikleridir (Steinmetz vd., 2003). Sallanma dansı kokusunun bileşikleri, sinekler gibi diğer böceklerde de iyi bilinen eşey cezbedici maddelerdir (Thom vd., 2007). Santos vd. (2017)'de yaptıkları çalışmada *Euglossa cordata* erkeklerinin kutiküler kimyasal profillerindeki ekolojik belirleyicilerin bileşimlerinde yaklaşık %9,88 oranında pentakosan tespit etmişlerdir (Santos ve Nascimento, 2017). Kapalı tohumlu bitkiler arasında, Orchidaceae üyeleri aldatma konusunda uzmanlaşmışlardır. Bu familyanın üçte biri, yaklaşık 10.000 türü, tozlayıcıları çekebilmek için bir tür aldatmaca kullanır (Martel vd., 2019). Robustelli della Cuna (2022) tarafından yapılan bir çalışmada, *Anacamptis morio*'da yapılan analiz sonucunda %17,14 oranında pentakozan, %7,07 oranında trikozan ve %1,22 oranında tetrakozan tespit edilmiştir. *Orchis purpurea*'da ise pentakozan %2,2,

heptakozan %1,06 ve heneikosan %0,87 oranında bulunmaktadır. *Himantoglossum robertianum* , *A. morio* gibi besinsel aldatıcı orkide türleri olup pentakozan oranı %40,17 olarak belirlenmiştir. *Ophrys sphegodes* türünde ise pentakozan oranı %12,33'tür (Robustelli della Cuna vd., 2022). Gervasi vd. (2017) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, *Ophrys insectifera* ve *Ophrys aymoninii* türlerinde sırasıyla, %12 ve %13 oranında pentadoksan bulunmuştur (Gervasi vd., 2017). Ek olarak, Calevo vd. (2021) yaptıkları çalışmada *Orchis patens*, *Orchis provincialis* ve *Orchis fallax* türlerinde sırasıyla %7.16, %8,61 ve %7.69 oranında pentadoksan tespit etmiştir. Son olarak, Zito vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, *Ophrys panormitana* çiçeklerinin heksan ekstresinde %9 oranında pentakozan tespit edilmiştir .Orkide çiçeklerinde de diğer bitkilerde olduğu gibi nektar salgılanır. Nektarın biriktiği yerler ise çiçeğin farklı kısımları olabilir. Orchidaceae familyası üyelerinde, nektar genellikle sığ ve çanak benzeri yapılar, labellumun tabanı, uzun mahmuzlar, çiçeğin tabanı, ovaryumun yanı ve yan loblarda veya labellumun merkezi oluğu boyunca bulunabilir. Nektar sunumu, bitki-tozlayıcı etkileşimlerini ve dolayısıyla tozlaşmanın etkinliğini önemli ölçüde etkiler. Nektarın erişilebilirliği, belirli tozlayıcı grupları için mevcut olup olmadığına veya açıkta bulunup bulunmadığına bağlıdır. Açıkta bulunan nektar bezleri (nektaryumlarda), buharlaşmaya daha açık bir şekilde maruz kalırken nektar içeriğinde glikoz ve fruktoz baskındır, gizli nektar bezlerinde (nektaryumlarda) ise sükroz baskındır.

2.8. Yağ Asitleri

Yağ asitleri, tüm canlı organizmalar için yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Bitkilerde yağ asitleri, gliserol içeren lipidlerin veya gliserolipidlerin (galaktolipidler, sülfolipidler, fosfolipidler, betain lipidleri, triasilgliseroller), sfingolipidlerin ve hücre dışı lipidlerin (kütiküler mumlar ve lipid polyesterler) bir parçasıdır (Horn ve Benning, 2016; Li-Beisson vd., 2013).

Bitkilerde yağ asidi içeren lipidler çeşitli fonksiyonlara sahiptir. Bunlar arasında yapısal bileşen olarak zarların oluşturulması, karbon ve enerji depolama şekli olarak kullanılması ve sinyal iletim ağlarında rol alması yer alır. Yakın zamanda lipidlerin bitkiler tarafından arbüsküler mikorhizal funguslarla etkileşimlerin aracı olarak kullanıldığı ve karasal yaşam alanlarının evrimsel olarak geçişinde etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, bitkileri kontrolsüz su kaybından koruyan lipid polyester kütin,

bitki kütükülünün bir bileşeni olarak bulunmaktadır (Jiang vd., 2017).

Saf uçucu yağ karışımlarında genellikle, fenilpropanik türevler veya terpenler içerir ve minimal yapısal ve kimyasal farklılıklara sahiptirler. Bu bileşenler iki sınıfa ayrılabilir: Uçucu fraksiyon: toplam yağ ağırlığının %90-95'ini oluşturur. Monoterpenler, seskiterpenler ve bu bileşiklerin oksijenli türevlerini içerir. Ayrıca, alifatik alkol, ester ve aldehitler de uçucu fraksiyonda bulunabilir. Uçucu olmayan kalıntı: toplam uçucu yağın ağırlığının %1-10'unu oluşturur. Bu kısımda yağ asitleri, hidrokarbonlar, steroller, balmumu, flavonoidler ve karotenoidler bulunur (Guo vd., 2023). Uçucu yağlar, karbon ve hidrojenin yapı taşlarından oluşan kimyasal bileşikler içerir ve izopren, temel hidrokarbon birimidir. Terpenler ise antiseptik, anti-enflamatuar, bakterisidal ve antiviral özelliklere sahiptir ve seskiterpenler, monoterpenler ve diterpenler olmak üzere sınıflandırılabilir (Kim vd., 2023).

Uçucu yağlardaki alkoller, antiseptik, antiviral, bakterisidal özelliklere sahiptir. Doğal olarak, alkoller serbest formda veya diğer terpenler veya esterlerle birleşik formda bulunabilir. Terpenler, hidroksil grubuyla birlikte alkol olarak adlandırılır. Hidroksil grubu ile birleşen monoterpene monoterpenol denir. Ciltte, toksik reaksiyon göstermedikleri için güvenli bir şekilde kullanılabilir. Linalool, geraniol uçucu yağlarda bulunan bazı yaygın alkollerin örnekleridir (Chatterjee ve Vittal, 2023).

Uçucu yağlarda aldehitlerin varlığı, birçok fungal enfeksiyonların tedavisinde etkili olduklarından büyük tıbbi öneme sahiptir (Nikolic vd., 2023). Uçucu yağlarda bulunan esterler, yatıştırıcı ve dengeleyici etkilere sahiptir. Esterler, yapılarında alkol bulunması nedeniyle etkili antimikrobiyal ajanlardır. Tıp alanında, esterler sedatif ve antifungal olarak karakterize edilir ve sinir sistemi üzerinde dengeleyici bir etkiye sahiptir (Triyasmono vd., 2023).

Uçucu yağlarda bulunan ketonlar ise doğal olarak hücre çoğaltıcı, yara iyileştirici ve balgam söktürücü özelliklere sahiptir (Risaliti vd., 2020). Laktonlar ise anti-inflamatuar, ateş düşürücü ve balgam söktürücü özelliklere sahiptir (Deyno vd., 2021).

Uçucu yağlarda bulunan asitler, anti-inflamatuar özelliklere sahiptir. Uçucu yağlarda organik asitler serbest formda çok küçük miktarlarda bulunur. Bitki asitleri, asiditeyi kontrol etmek için bileşenler veya tampon sistemleri olarak görev yapar.

Örneğin, benzoinde benzoik ve sinamik asit bulunur (Zhai vd., 2020). Bitkilerde, yağ asitleri çeşitli karbon zinciri uzunlukları, çift bağ sayıları, pozisyonları ve karbon zinciri modifikasyonlarına sahiptir. Bitkiler aleminde 450'den fazla farklı yağ asidi tespit edilmiştir. Ancak, zar lipidlerinde (fosfolipitler, galaktolipidler) ve depolama yağlarında (triasilgliseroller) yaygın olarak beş yağ asidi bulunur. Bu yaygın yağ asitleri şunlardır: palmitik asit (16:0), stearik asit (18:0), oleik asit (18:1 Δ 9), linoleik asit (18:2 Δ 9,12) ve α -linolenik asit (18:3 Δ 9,12,15) (Li-Beisson vd., 2013).

Doymamış yağ asitleri (UFA'lar), genellikle yüksek organizmalar için temel olan alfatik karboksilik asitlerdir ve çoğunlukla cis konfigürasyonunda bir veya daha fazla çift bağa sahiptir. Birçok bitkide, baskın UFA'lar üç 18-karbon (C₁₈) türüdür. Bunlar 18:1 (oleat), 18:2 (linoleat) ve 18:3 (α -linolenat) olarak adlandırılır. Burada m:n ifadesi, m karbon atomu ve n çift bağ içeren bir yağ asidi anlamına gelir (He vd., 2018, 2020). Bu basit bileşikler, çeşitli önemli roller üstlenir ve abiyotik ve biyotik streslerle sıkı bir şekilde ilişkilidir. C₁₈ UFA'lar, gliserolipidlerin zar bileşenleri ve modülatörlerinin yanı sıra triasilgliserollerde (TAG'ler) karbon ve enerji rezervleri olarak görev yapar. Ayrıca, C₁₈ UFA'lar içsel antioksidanlar olarak işlev görür, çeşitli biyoaktif moleküllerin (genellikle stres hormonu jasmonik asit) öncülleridir ve kütin ve suberin gibi hücre dışı bariyer bileşenlerinin bir parçasıdır. C₁₈ UFA'lar ayrıca bitki savunmasında düzenleyici roller oynarlar. Örneğin, 18:1, patojen saldırısına karşı salisilik asit ve Jasmonis asit sinyal yolları arasındaki etkileşimde yer alır (Kachroo vd., 2001; Lim vd., 2017). C₁₈ UFA'lar ayrıca yağ bitkilerinin önemli ekonomik özellikleridir. Öncelikle, 18:2 ve 18:3 gibi iki çoklu doymamış yağ asidi (PUFA), beslenme açısından temel yağ asitleridir. İnsanlar bu yağ asitlerini kendi vücutlarında üretemezler, bu yüzden bunları dışarıdan besinler aracılığıyla almak zorundadırlar. Yüksek düzeyde 18:1 veya 18:3 ve düşük düzeyde 18:2, sağlık açısından faydalıdır. Ayrıca, bu organik bileşikler biyoyakıtlar, kozmetikler, deterjanlar ve farmasötik ürünler gibi çeşitli ürünlerin hammaddeleridir (Millar vd., 2000).

Tüm bitki hücrelerinin yapısal zar lipidleri, genellikle 16-karbon ve 18-karbon yağ asitleri içerir ve en fazla üç metilen bağı içerebilir (16:0, 16:1*, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3 ve bazı türlerde 16:3). Bu yaygın yağ asitleri genellikle ortak yağ asitleri olarak adlandırılır. Ancak, tohum depolama lipidlerinde, yapısal zar lipidlerinden farklı olarak, büyük bir yağ asidi çeşitliliği bulunur. Bugüne kadar tohum yağlarında 300'den fazla

doğal yağ asidi tanımlanmıştır ve bitki aleminde binlerce daha fazla çeşidin bulunabileceği tahmin edilmektedir. Bu yağ asitlerinin zincir uzunlukları 8 ile 24 karbon arasında değişebilir ve alışılmadık konumlarda çift bağlara veya hidroksil, epoksit, siklik, halojen veya asetilenik grup gibi yeni fonksiyonel gruplara sahip olabilirler. Kimyasal yapıları yaygın yağ asitlerinden önemli ölçüde farklılık gösterir ve genellikle sadece birkaç bitki türünde bulunurlar. Bu nedenle bu yağ asitleri doymamış olarak kabul edilir. Çoğu durumda, doymamış yağ asitleri, bir bitki türünün tohum yağında baskın olan yağ asitleridir (Harwood, 1996).

2.9. Aminoasitler

Bitki hücreleri, selüloz ve diğer karbonhidratlar gibi yüksek miktarlarda bulunan bileşikler nedeniyle, hayvan hücrelerine kıyasla daha az miktarda protein içerir. Bununla birlikte, proteinlerin ve amino asitlerin önemi göz ardı edilemez. Amino asitler, proteinlerin yapı taşları olarak görev yapmanın yanı sıra, birçok hücresel reaksiyonda yer alır. Bu nedenle, bitki büyümesi ve gelişmesi, hücre içi pH kontrolü, metabolik enerji veya redoks gücü üretimi ve abiyotik ve biyotik streslere direnç gibi çeşitli fizyolojik süreçler üzerinde etkili olurlar (Hildebrandt vd., 2015; Moe, 2013).

Bir bitkinin yaşam döngüsü boyunca, amino asit katabolik yollarla gerçekleşen akışın büyük ölçüde değişmesi beklenir. Çimlenme sırasında ışık olmadığında, tohum depolama proteinleri parçalanarak büyüyen bitkinin ihtiyaç duyduğu proteinlerin biyosentezi için amino asitler sağlar. Ayrıca, genç bitkinin enerji ihtiyacı, fotosentetik sistem tamamen işlevsel hale gelene kadar amino asit oksidasyonu ve diğer depolama bileşiklerinin, örneğin yağ asitleri ve nişasta, parçalanmasıyla karşılanmalıdır (Galili vd., 2014). Çimlenme aşamasında, ışığın yokluğunda gerçekleşen bu süreç, bitkiler için protein ve amino asit yıkımının yanı sıra protein biyosentezini gerektirir. Büyüyen ve farklılaşan hücrelerde özellikle amino asit ve protein biyosentezi yüksektir. Bununla birlikte, en azından stres olmadığı sürece, yetişkin hücrelerde protein yıkımı yoluyla amino asitlerin protein biyosentezi için sağlandığı görülür. Yaşlanma sürecinde, protein ve amino asit bozunması özellikle yüksektir. Benzer şekilde, bu durum karbon açlığı veya stres dönemlerinde de ortaya çıkabilir (Hildebrandt vd., 2015).

Büyüyen fotosentetik hücrelerde, protein sentezi için substratlar sağlamak üzere amino asit biyosentezi regülasyonu artar. Bu aşamada, protein döngüsü ve amino asit

yıkımı daha az önemlidir. Bazı amino asitler (örneğin, serin, prolin ve lösin) kendilerinin sinyal molekülleri olarak hareket ettiği ve diğerlerinin fitohormonların veya sinyal işlevine sahip diğer ikincil metabolitlerin sentezi için öncü oldukları gösterilmiştir. Ek olarak, sistein çok reaktiftir ve bu nedenle belirli bir seviyenin üzerinde birikmesine izin verilirse toksiktir (Hildebrandt vd., 2015; Ros vd., 2014; Szabados ve Savouré, 2010).

Yaşlanma sürecinde, besinler yapraklardan gelişmekte olan tohumlar gibi büyüme göstermeyen dokulara yönlendirilir ve bu nedenle protein ve amino asit bozunması özellikle yüksektir (Watanabe vd., 2013). Amino asitler daha sonra geri dönüştürülür ve besin sınırlaması altında gerekli olan spesifik proteinlerin sentezi için kullanılır. Ayrıca, bitki yaşam döngüsü boyunca veya karbon kısıtlaması gibi stresli koşullar altında, proteinlerin parçalanması yaygın bir olaydır. Bu süreç, amino asitlerinin tam oksidasyonunu içerir ve elde edilen enerji, özellikle stresli yapraklar veya kökler gibi belirli bitki organlarının özel ihtiyaçlarını karşılamak için kullanılır (Araújo vd., 2010). Bu nedenle, amino asit seviyelerinin doğru algılanması, enerji üretimi kontrolü kadar, protein ve amino asit sentezi ve katabolizmasının verimli bir şekilde düzenlenmesi için kritik bir noktayı temsil eder. Ayrıca, amino asit içeriğinin, akışlarının ve bitki boyunca taşınmasının düzenlenmesi, bitkinin karbon ve azot durumuna adapte olması, gelişimi ve savunması için büyük önem taşır (Pratelli ve Pilot, 2014; Zeier, 2013).

Amino asitler, metabolik süreçlerde düzenleyici bir rol oynarlar ve bu süreçlerde dinamik olarak yer alır ve çıkarlar. Bu süreçlerde, belirli bir vitamin ile etkileşime girerler ve metabolik aktiviteleri düzenlerler. Tetrahidrofolatlar, folat (B9 vitamini) metabolizması ve işlevi için gerekli olan bir γ -poliglutamil kuyruğu sağlar. Folata bağımlı enzimler genellikle poliglutamatlanmış formları tercih eder, -aslında poliglutamasyon kapasitesinin tamamen kaybı embriyo için ölümcüldür- zar taşıyıcıları ise monoglutamat formlarını tercih eder (Mehrshahi vd., 2010; Miret ve Munné-Bosch, 2014; Zhou vd., 2013).

Amino asitlerin diğer önemli bir rolü, ana donör olan glutamin/glutamat çifti aracılığıyla amino grup aktarmasıdır. Bu çift, bir dizi transaminaz yoluyla de novo pürin nükleotid yolunda birçok vitamin öncüsünün sentezi için amino gruplarına aktarır (Miret ve Munné-Bosch, 2014). Bu çift, bir dizi enzimatik reaksiyon yoluyla

birçok vitamin öncüsünün sentezi için amino gruplarını bağışlar. Örneğin, piridoksal ve piridoksaminin birbirine dönüştürülmesi için piridoksamin-piruvat aminotransferaz enzimi, Ala/piruvat çiftini gerektirir (Huang vd., 2011). Benzer şekilde, E vitamini kromanol başının biyosentezi için tirozin ve ardından gelen işlemlerde Glu/2-okzoglutarat çifti kullanılır (DellaPenna ve Pogson, 2006). Amino asitler ayrıca, vitamin metabolizmasında tek karbon donörleri olarak işlev görürler. Örneğin, tetrahidrofolatın (THF) metilasyonu, C₁ metabolizmasının temel bir reaksiyonudur ve bu reaksiyon, serin hidroksimetiltransferaz (SHMT) ve glisin dekarboksilaz kompleksi (GDC) tarafından katalizlenir (Hanson ve Roje, 2003; Schirch ve Szebenyi, 2005). Metiyonin, bir metil grubu donörü olan S-adenozil metionin (SAM) tarafından adenzilleştirilir ve E vitamini sentezi gibi birçok reaksiyonda rol oynar. SAM'ın vitamin biyosentezindeki katılımı, bu bileşiğin bir kofaktör/kosubstrat olarak diğer fonksiyonlarını da içerir. Ayrıca, bazı amino asit taşıyıcılarının, özellikle nematodlar için, canlı bitki dokularında patojen beslenmesinde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur (Cheng vd., 2003; Mène-Saffrané ve DellaPenna, 2010). SAM'ın vitamin biyosentezindeki katılımı, bu bileşiğin bir kofaktör/kosubstrat olarak diğer fonksiyonlarını da içerir (Jurgenson vd., 2009). Bu nedenle, amino asitler, omurgalarına dahil edilmiş olarak veya amino, kükürt veya metil gruplarının donörleri olarak, vitamin biyosentezinde önemli roller oynarlar (Miret ve Munné-Bosch, 2014).

Amino asit konsantrasyonunun belirli bölgelerde değiştirilmesi, stres tepkisini tetikleyebilir ve ekzojen amino asitlerin bitki üzerinde uygulanması savunma ve stresle ilgili genlerin ifadesini indükleyebilir. Bu nedenle, amino asitlerin bitkilerde savunma tepkilerini tetikleme mekanizması, bitki savunma sistemlerinde bir alarm sistemi olarak işlev görebilir. Ayrıca, bitki-patojen etkileşimlerinde, amino asitlerin patojenlerin beslenme gereksinimlerini karşılaması ve bitki hücrelerinde bir uyarı sistemi olarak işlev görmesi olasıdır. Bu durum, bitki immünite yanıtlarının tetiklenmesinde rol oynayan bir moleküler modelle ilişkilendirilir (Dinkeloo vd., 2018).

Amino asitler, esansiyel ve esansiyel olmayan olarak sınıflandırılır. Esansiyel amino asitler, insanlar için vücut tarafından sentezlenemeyen ve diyet yoluyla alınması gereken amino asitlerdir. Bu amino asitler arasında lösin (Leu), izolösin (Ile), valin (Val), fenilalanin (Phe), treonin (Thr), triptofan (Trp), metiyonin (Met), lizin (Lys) ve

histidin (His) bulunur. Son yıllarda yapılan araştırmalar, esansiyel amino asitlerin sadece protein yapı taşları olmadığını, aynı zamanda sinyal molekülleri olarak da biyolojik süreçleri düzenlediğini ortaya koymuştur. (Wolfe vd., 2016). Hücelere enerji kaynağı olan aminoasitlerin olası enerji verimleri Tablo 2.1 'de gösterilmektedir

Tablo 2.1 Amino asitlerin tam oksidasyonundan olası enerji verimi

Amino Asit	NADH	FADH ₂	ΣATP
Tirozin	11	3	34
Lösin	10	4	32
Lizin	10	3	31.5
İzolösin	9	3	29
Prolin	8	3	25.5
Arjinin	8	2	24
Valin	8	2	24
Glutamat, Glutamin	7	2	22.5
Metionin, Treonin	6	1	17.5
Aspartat, Asparajin	4	1	12.5
Alanin, Serin, Sistein	4	1	12.5
Glisin	1	0	2.5
Glukoz	10	2	32

Diyet yönergeleri, protein gereksiniminin "yüksek kaliteli" protein alımıyla karşılanması gerektiğini belirtir. Ancak, "yüksek kaliteli protein" terimi belirsizdir. Bu nedenle, bazı durumlarda, bir diyetin toplam protein yerine tüm diyet için vazgeçilmez amino asitlerin (IAA'lar) gereksinimlerini karşılama yeteneğini dikkate almak faydalı olabilir. Bu yaklaşım, protein kalitesinin, belirli bir miktarda protein alımının, IAA'ların hedef alımlarını ne ölçüde sağladığının değerlendirilmesini gerektirir (Cowieson vd., 2017). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), protein kalitesini ölçmek için Protein Sindirilebilirliği-Düzeltilmiş Amino Asit Puanı (PDCAAS) adı verilen bir yaklaşım geliştirmiştir. PDCAAS, test proteinindeki diyet IAA'larının profiline ve nispi miktarlarına dayalı olarak diyet protein kalitesini ölçmek için kullanılan bir araçtır. Bir PDCAAS değeri 1'e eşit olduğunda, yenen test

proteininin miktarı protein için tahmini ortalama gereksinimi (EAR) karşılıyorsa, IAA alımı için tüm minimum gereksinimlerin karşılandığı anlamına gelir. PDCAAS değeri 1.0'dan büyük olan proteinler yüksek kaliteli olarak kabul edilir. Aşırı diyet amino asitleri kullanılmadığından ve bu nedenle PDCAAS değerlerine dahil edilmediğinden kesim kullanılır (Fanelli vd., 2022).

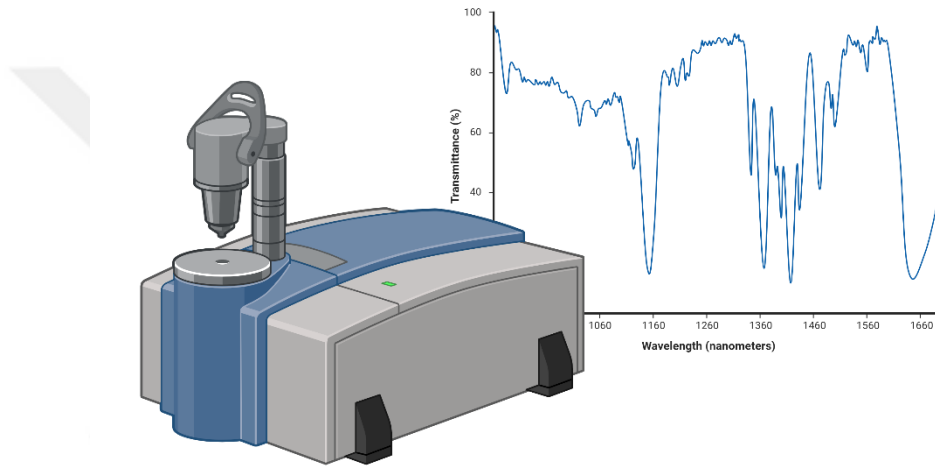
PDCAAS (Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score), proteinin sindirilebilirliği ve amino asit içeriği temelinde kalitesini değerlendiren bir ölçümdür. Ancak, PDCAAS'ın kesilmesi, yani maksimum puan olan 1.0'a ulaşan proteinlerin görece kalite farklarını ayırt edememesi, yüksek kaliteli protein kaynaklarını belirlemede bazı sınırlamaları beraberinde getirir. Son zamanlarda, FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü), protein kalitesini ölçmek için yeni bir puanlama sistemi olan DIAAS (Digestible Indispensable Amino Acid Score- Sindirilebilir Vazgeçilmez Amino Asit Puanı) önerdi. DIAAS, PDCAAS'ın yerini almayı hedefler ve proteinlerin kalitesini daha doğru bir şekilde belirlemeyi amaçlar. DIAAS'ın kavramsal amacı, PDCAAS ile benzerdir; ancak, tek kaynaklı proteinler için kesilmiş bir puan değildir, bu da teorik olarak tüm diyet proteinlerinin kalitesini sıralamayı mümkün kılar. Bir proteinin DIAAS değeri, İndispensable Amino Acid'ların (İhtiyaç Duyulan Amino Asitler) sindirilebilir içeriğine ve amino asit gereksinim modeline bağlıdır. Protein kalitesinin doğru bir şekilde sıralanması, genel anlamda protein beslenmesinin çeşitli yönlerini açıklığa kavuşturabilir ve özellikle diyet önerileri ve yemek planları oluşturulurken değerli olabilir. Ancak, DIAAS'ın doğruluğu, çeşitli faktörlere bağlıdır. Bunlar arasında İhtiyaç Duyulan Amino Asitlerin içeriği ve profili, protein kaynağının belirlenmesi için kullanılan yöntemler, İhtiyaç Duyulan Amino Asitler için bireysel gereksinim değerlerinin doğruluğu, protein için her bir İhtiyaç Duyulan Amino Asit değerinin EAR'a (Estimated Average Requirement- Tahmini Ortalama Gereksinim) bölünmesi ve DIAAS için test proteinindeki her bir İhtiyaç Duyulan Amino Asitin gerçek sindirilebilirliğinin doğruluğu yer alır. Bu faktörlerin sağlıklı bir şekilde ele alınması, DIAAS'ın etkili bir şekilde kullanılmasını sağlar (Abelilla vd., 2018).

2.10. Tezde Kullanılacak Analiz Yöntemleri

2.10.1.1. Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR)

Bitkisel ilaçların kalitesini belirlemek için genellikle gaz kromatografi-kütle

spektrometrisi (GC-MS) kullanılır (Chen vd., 2007; Gao vd., 2012). Ayrıca son on yılda, FTIR spektroskopisi karmaşık numunelerde ilgili analizlerin çok düşük konsantrasyonlarını tespit edebildiği çok az numune hazırlığı gerektirdiği için nicel ve nitel analizler için önemli bir teknik haline gelmiştir (Şekil 2.27). Bu teknoloji çok çeşitli malzemelere uygulanabilir ve küçük numune hacimleri ve minimum analiz süresi gerektirir. Bu da numune analizini önemli ölçüde hızlandırır (Edelmann vd., 2001; Nandiyanto vd., 2019).



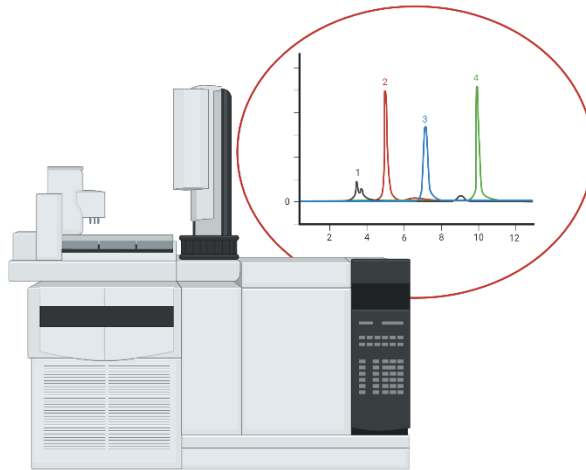
Şekil 2.27 FTIR genel görüntüsü

Bu teknik biyolojik bir örneğin kimyasal özelliklerini elde etmek için hızlı, ucuz ve oldukça invaziv olmayan bir yöntem sunar. Ana fonksiyonel grupların ve kimyasal bağların tanımlanmasını sağlayarak numunede bulunan biyokimyasal bileşikler hakkında bilgi sağlar (von Aulock vd., 2014). Aynı türden örneklerin spektral analizi, kimyasal profillerindeki değişkenliğin değerlendirilmesine izin verir. FTIR spektroskopisi, yalnızca türler arasında değil, aynı zamanda farklı çevresel koşullarda büyüyen örnekler (aynı türden) arasındaki ana organik bileşiklerin oranlarındaki değişiklikleri analiz etmek için iyi bir araçtır. Örneğin, bitkilerin çevresel faktörlere tepkisi (Durak ve Depciuch, 2020), ağır metallerin etkisi (Usman vd., 2019), su ve sıcaklık stresinin etkisi (Buitrago vd., 2016), bitki tanımlama ve sınıflandırması (Traoré vd., 2018), bitki farmasötik özellikleri (Gendrin vd., 2008) ve meyvelerin

kalitesi gibi çalışma alanlarında kullanılmaktadır (Bureau vd., 2019).

2.10.1.2. Gaz Kromatografi-Kütle Spektrofotometresi

Kütle spektrometrisine (GC/MS) arayüzlü gaz kromatografisi, uçucu ve yarı uçucu malzemelerin analizi için iyi kurulmuş ve güçlü bir yöntemdir (Şekil 2.28). Kütle spektrometrisi (LC/MS) ile karşılaştırıldığında, GC/MS daha yüksek kromatografik çözünürlük ve daha yüksek tepe kapasitesi, alev iyonizasyon tespiti ile daha kolay niceleme, tek bir mobil faz (helyum), çözünürlükle ilgili daha az sorun gibi avantajlara sahiptir. GC'den çıkan atık, ya doğrudan kapiller kaynaşmış silika sütunlarından ya da daha yüksek gaz yüklü sütunlar için bir diferansiyel pompalama aşamasından sonra kütle spektrometresinin vakumuna verilir. İyonizasyon ya elektron iyonizasyonu ya da kimyasal iyonizasyon ile vakum koşulları altında gerçekleşir (Mota vd., 2021). Kütle spektrometrisine gaz veya sıvı kromatografisi (GC–MS veya LC–MS) ve nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi, bilimsel literatürde metabolik profillemeye için en yaygın kullanılan analitik yöntemlerdir. GC–MS genellikle çok yönlü bir analitik platform olarak kabul edilir. Bunun nedeni sağlamlığı, mükemmel ayırma kabiliyeti, seçiciliği, duyarlılığı ve tekrarlanabilirliğidir (Tsugawa vd., 2011).



Şekil 2.28 GC-MS genel görüntüsü

GC-MS'de kullanılan iki ana iyonizasyon şekli elektron iyonizasyonu (EI) ve kimyasal iyonizasyondur (CI). Bugüne kadar, metabolomikteki çoğu GC-MS yöntemi EI kullanır. EI tabanlı GC-MS'ye karşılık gelen birkaç kütle spektral veri tabanının/kütüphanesinin mevcudiyeti, onu birçok analist için tercih edilen yöntem haline getirmeye yardımcı olur. Daha sonra, tek bir dört kutuplu MS detektörü ile birleştirilmiş düşük uçlu bir GC sistemi yoluyla elde edilebilir. GC-MS, matriks etkileri ve bileşiklerin birlikte yıkanmasıyla iyon baskılanması gibi LC-MS'de yaygın olan sorunları bir şekilde önler ve böylece daha yüksek kromatografik çözünürlük elde eder (Mastrangelo vd., 2015; Nagana Gowda ve Djukovic, 2014). Bununla birlikte, GC-MS'deki doğal bir sınırlama, yalnızca düşük moleküler ağırlıklı (yaklaşık 50-600 Dalton) ve uçucu bileşikleri ayırmak ve tanımlamak için kullanılabilmesidir. Polar, ısıya dayanıklı, uçucu olmayan metabolitlerin tespiti için analizden önce kimyasal türevlendirmenin kullanılması gerekir. Bu uçuculuğu, termal kararlılığı, hassasiyeti ve dedektör yanıtını iyileştirir. GC-MS, metabolomik çalışmalarda yaygın olarak uygulanmıştır (Beale vd., 2018).

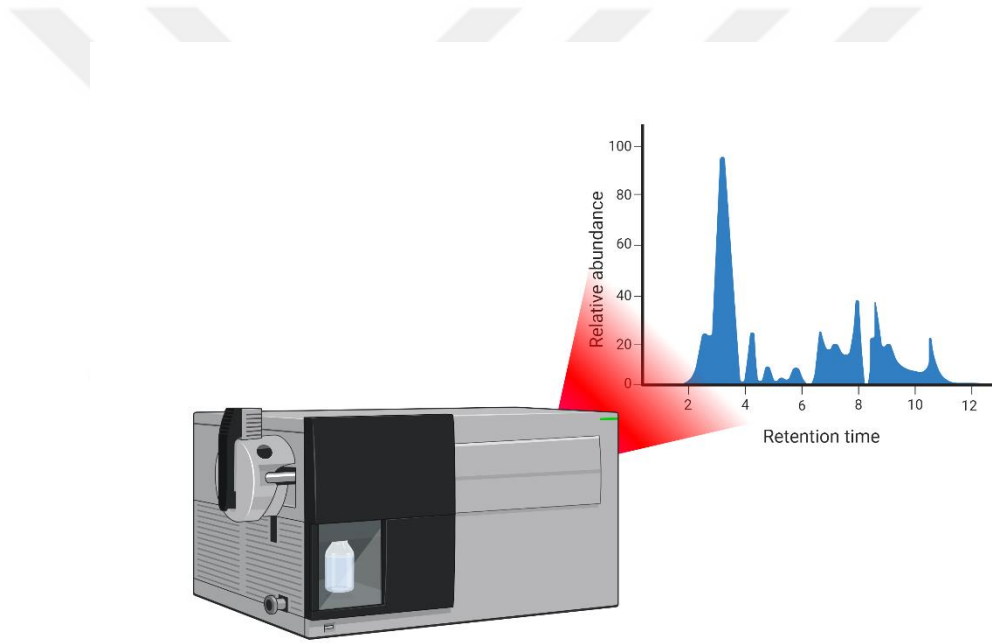
Son on yılda GC-MS tabanlı araştırmalar, bitki bilimi (Hong vd., 2016), tıp (Stringer vd., 2016; Ibáñez vd., 2013), çevre bilimi (Lankadurai vd., 2013), doğal ürünler kimyası ve ilaç keşfi (Wishart, 2016) ve biyoteknoloji (Mozzi vd., 2013) alanlarda kullanılmaktadır.

2.10.1.3. Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi

Kütle spektrometrisine (MS) bağlı sıvı kromatografisi (LC), yüksek hassasiyet nedeniyle metabolomik çalışmalar için yerleşik bir teknik haline gelmiştir (Tadaka et vd, 2018). Hedeflenen yaklaşımlar, belirli metabolit sınıflarını veya gruplarını ölçebilir ve potansiyel olarak nicelleştirebilirken, hedeflenmemiş yaklaşımlar mümkün olduğunca fazla metabolik bilgi edinmeyi amaçlar. LC-MS metabolomikleri için enstrümantasyonun doğruluğu, çözünürlüğü ve hızı son on yılda iyileşmiş olsa da örneğin karmaşıklığını kapsamak büyük bir zorluk olmaya devam ediyor. Tek bir numune, değişen konsantrasyonlarda çeşitli kimyasal yapılara sahip binlerce ila on binlerce metabolit içerebilir (Cajka ve Fiehn, 2016).

GC veya LC ile birleştirilmiş MS, her iki yöntemin de güçlü yönlerinden yararlanarak metabolomik analizde kullanılır (Zhang vd., 2011). Bu kombine tekniklerde, biyolojik numunelerde bulunan binlerce metabolit, farklı kromatografik

özelliklerine bağlı olarak öncelikle kromatografik sistem kullanılarak mümkün olduğunca birbirinden ayrılır (Theodoridis vd., 2011). Bu, duyarlılığı kaybetmeden MS sistemi ile analiz edilecek metabolit sayısında bir artış sağlar (Şekil 2.29). Aksi takdirde, MS sisteminin iyon baskılanması veya aşırı yüklenmesi gibi durumlar hassasiyeti azaltabilir. Metabolitler ve kromatografik sistem arasındaki etkileşimler, metabolitlerin fizikokimyasal özelliklerinin yanı sıra durağan fazın tipine dayanır ve bu etkileşimler kromatografik sistemdeki elüsyon sırasını belirler. Normal olarak, uçucu organik bileşiklerin, lipidlerin ve türevlendirilebilen moleküllerin analizi GC–MS kullanılarak gerçekleştirilir. Öte yandan, semi-polar metabolitlerin çoğu LC-MS kullanılarak analiz edilir (Zhang vd., 2011; Zhao ve Li, 2020).



Şekil 2.29 LC-MS genel görüntüsü

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan kimyasallar arasında kalsiyum klorür (CaCl_2), helyum gazı, 2N KOH (metanol içinde), heptan, %80 metanol, hipergade methanol (Merck), %0.05 formik asit, 5 mM amonyum format, %5 NaNO_2 , %10 AlCl_3 , 1M NaOH, %2 sodyum karbonat çözeltisi, %96 alkol, Folin-Ciocalteu reaktifi, galik asit eşdeğeri (GAE), kuersetin eşdeğeri (QE), %10 AlCl_3 , %5 sodyum asetat çözeltisi, %2 AlCl_3 , %50 metanol ve metanol içerisinde %4 sodyum karbonat bulunmaktadır. Kullanılan cihazlar arasında Fourier Transform Infrared (FTIR) spektrometresi, Thermo Scientific Trace 1310 gaz kromatografisi (GC-MS) cihazı, 70 eV elektron iyonizasyon (EI) modu, Auto Sampler AI 1310, Thermo Scientific Trace Gold TG-WaxMS kapiller kolon, binoküler mikroskop, Leica DM4000 B ışık mikroskopu, JEOL JMS-7001F tarayıcı elektron mikroskopu (SEM), SC7620 SEM kaplama sistemi, altın-paladyum kaplama, ultrasonik banyo, santrifüj cihazı, 121 °C’de 60 dakika çalışan otoklav, 25 ± 2 °C sıcaklık ve 16/8 saatlik fotoperiyoda sahip klima odası, Jasep LC-MS/MS amino asit analiz kiti, Agilent 1260 Infinity HPLC sistemi, Zorbax SB-C18 kolonu, AGILENT 6460 LC-ESI-MS sistemi, AGILENT 1200 serisi HPLC, Agilent 6460 tandem kütle spektrometresi, SHIMADZU GCMS-QP2010 kütle spektrometresi, AOC-5000 oto enjektör, 30m x 0.25mm x 0.25 μm Rxi-5MS kolon, NIST standart referans veri tabanı ve Thermo Scientific Varioskan (UV spektrofotometre) yer almaktadır.

3.2. Tohumların Toplanması

A. laxiflora ve *S. orientalis* kapsülleri Haziran (2021) ayında sırasıyla Samsun ilinin Atakum ve Taflan ilçeleri ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi kampüsündeki popülasyonlardan toplandı ve laboratuvarında kapsüller açılıp tohumlar alındı. Bir hafta oda sıcaklığında doğal kurumaya bırakılan tohumlar daha sonra içinde CaCl_2 paketi bulunan kahverengi şişelere konularak buz dolabında (4 °C) saklandı.

3.3. Tohumların Mikromorfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

3.3.1. Tohumların Kantitatif Özelliklerinin Belirlenmesi

Morfolojik parametreler tohum uzunluğu, tohum genişliği, tohum boy/en oranı ve tohum hacmini içermektedir. Embriyo ölçümlerinde ise, embriyo uzunluğu, embriyo genişliği, embriyo boy/en oranı, embriyo hacmi, tohum hacmi/embriyo hacmi ve hava boşluğu özellikleri belirlenmektedir.

Tohum hacmi ($\text{mm}^3 \times 10^{-3}$), $2 [(L / 2) (W / 2)^2 (\pi / 3)]$ formülü kullanılarak hesaplandı. Burada L = uzunluk, W = genişlik ve $\pi = 22/ 7$ olarak alındı.

Embriyo hacminde ise ($\text{mm}^3 \times 10^{-3}$), $4/3 \pi (L / 2 (W / 2)^2)$ formülü kullanılarak hesaplandı.

Her parametre için 50'şer tohum ölçüldü (Arditti vd., 1980).

Hava boşluğu (%), $((\text{tohum hacmi}-\text{embriyo hacmi}) / (\text{tohum hacmi})) \times \%100$ formülü kullanılarak hesaplandı (Arditti ve Ghani, 2000).

3.3.2. Tohumların Işık Mikroskop Görüntüleri

Kuru tohumlar ışık mikroskobu (DM4000 B; Leica) altında fotoğraflandı ve gözlemlendi.

3.3.3. Tohum ve Testa Hücrelerinin SEM Görüntüleri

Elektron mikroskop çekimleri için kuru tohumlar stublar üzerine çift taraflı karbon bant ile sabitlendi. Örnekler 12,5-15 nm altın-paladyum ile kaplandı (SEM coating system, SC7620). İnceleme ve çekimler JEOL JMS-7001F Tarayıcı Elektron Mikroskobunda (SEM) 5-15 KV'lık voltajla yapıldı (Gamarra vd., 2012).

3.4. Fungusların Aktifleştirilmesi

Bu tezde 4°C'de stok olarak saklanan funguslar, daha önceki çalışmalardaki orkidelerin köklerinden izole edilip moleküler teşhisleri yapılan izolatlardır. *A. laxiflora* köklerinden izole edilen AL5 (MT605389) (Özdener Kömpe vd 2021) ve *S. orientalis* köklerinden izole edilen S6 (MT508985) (Kompe vd., 2019) funguslar kullanıldı. Bu izolatların stok kültürlerinden küçük parçalar alınıp içinde steril fungus izolasyon ortamı (Clements vd., 1986) bulunan petri kaplarına aşılandı.

3.5. Toprak Karışımının Hazırlanması ve Tohum Paketlerinin Gömülmesi

Orkide habitatından alınan toprak, taş ve bitki artıklarından temizlendikten sonra 2:1 toprak: perlit karışımı hazırlandı ve otoklavda (121 °C, 60 dk) sterilize edildi.

Saksıların (20x31x15 cm) iç yüzeyi %96 alkol ile silinerek steril toprak ile dolduruldu. Tohumlar (0.001 g) iki sentetik kumaş tabakası arasına yerleştirildi ve dia çerçevesi arasına sabitlendi (Rasmussen ve Whigham, 1993). Her bir fungus izolatu için üç saksı hazırlandı ve her saksıya 5 paket yerleştirildi ve daha sonra fungal izolatlar aşılandı. Saksılar, 16/8 saat aydınlık/karanlık fotoperiyodu ve 33 PAR (fotosentetik aktif radyasyon) ile iklim odasında 25 ± 2 °C'de inkübe edildi. Haftada bir kez steril distile su ile sulandı (Kömpe ve Mutlu 2021). Deneme düzeneğinin kurulmasından üç hafta sonra her saksıdan rastgele seçilen 3 pakette çimlenme ve fide gelişim aşamaları değerlendirildi. Gelişme aşamaları, Clements 1986'ya göre Tablo 3.1 gösterilmektedir.

Tablo 3.1 Orkide tohumlarının gelişme aşamaları

Safha	Morfolojik Tanımlama
0	Çimlenmemiş tohum
1	Tohum kabuğu çatlamış embriyo şişmiş ve rizoidli
2	Protokorm
3	Yaprak primordiumu
4	2-3 yaprak ve/veya kök

3.6. Çimlenme ve Gelişim Süreçlerinin Takibi

Haftalık periyotlarda paketler kontrol edildi. Toplam çimlenme oranı ve gelişme aşamalarına ulaşma oranları belirlendi. Her uygulama 3 bağımsız deney ve 3 tekrarlı olarak yapıldı.

3.7. Protokormların Morfolojik Ölçümleri

Protokormların uzunluğu, genişliği, boy/en oranı özellikleri bir binoküler yardımıyla 50 tane protokorm ölçülerek değerlendirildi.

3.8. Protokormların Kritik Nokta Kurutma Cihazı ile Görüntüye Hazırlanması ve SEM Görüntüleri

Protokormlar Leica EM CPD300 Kritik Nokta Kurutma Cihazı ile kurutulduktan sonra Elektron mikroskop çekimleri için kuru Protokormlar disekte edilerek stublar üzerine çift taraflı karbon bant ile sabitlendi. Örnekler 12,5-15 nm altın-paladyum ile kaplandı (SEM coating system, SC7620). İnceleme ve çekimler

JEOL JMS-7001F Tarayıcı Elektron Mikroskopunda (SEM) 5-15 KV'lık voltajla yapıldı (Gamarra vd., 2012).

3.9. Ex vitro Fidelerin Doğal Ortama Dikilmesi

Saksıdaki paketlerde çimlenme ve gelişme durumları sayısal olarak değerlendirildikten sonra yaklaşık eşit büyüklükte 30 fide önce saksılara şaşırtılarak bir ay iklim odasında büyütüldü. Daha sonra sonbaharda (Kasım, 2020) doğal bir alana dikildi ve yaklaşık 28 hafta (7ay) sonra ilkbaharda (Mayıs, 2023) bitkiler söküldü ve yumruların morfolojik özellikleri belirlendikten sonra tekrar aynı alana yumrular gömüldü.

3.10. Fidelerin Morfolojik Özellikleri ve Çiçeklenme Dönemi

Morfolojik özellikleri belirlenen yumrular aynı alana gömüldükten sonra çiçeklenme aşamasına kadar düzenli olarak takip edildi. Her iki türe ait bireyler çiçekli aşamada toprak üstü kısımları (yaprak, gövde ve çiçekler) kimyasal analizler için kullanılmak üzere hasat edildi.

3.11. Örneklerin Kimyasal Analizleri

3.11.1. FTIR (Fourier transform kızılötesi) Analizi

Araştırmada kullanılacak olan *A. laxiflora*, *S. orientalis* tohumları, protokormları, ilk gerçek yaprakları kurutularak toz haline getirildi. Daha sonra numuneler FTIR analizi için +4 °C'de saklandı. Toz haline gelen numunelerin IR spektrumu 25-27 °C'de ve 4000 cm⁻¹ - 400 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında alındı.

3.11.2. Yağ Asiti Analizi

S.orientalis ve *A.laxiflora*'dan toprak üstü kısımları yağ ekstraksiyonu manuel soxhlet cihazında gerçekleştirildi. Elde edilen yağ örneklerinin gaz kromatografisi cihazında (Thermo Scientific Trace 1310) analize uygun hale gelmesi için yağ asitleri, metil esterlerine dönüştürülerek türevlendirme yapıldı.

Bunun için, ekstrakte edilmiş yağdan 0.25 g alınarak 4 mL heptan ilavesiyle çözdürüldü ve üzerine 0.4 mL 2N KOH (kromatografik saflıkta metanol içerisinde hazırlanmıştır) eklenmiştir. Bu karışım 2 dakika süresince vortekste karıştırılmış, daha sonra 5 dakika 5000 rpm devir hızında santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından oluşan berrak heptan fazından 1.5-2 ml alınarak GC/MS analizi için cam tüplere

aktarıldı. Örneğin cihaza enjeksiyonu otomatik örnekleyici (Autosampler AI 1310) ile gerçekleştirildi. Örnekler Thermo Scientific ISQ LT modeli GC/MS gaz kromatografisi kütle spektrometresi ile analiz edildi. Bu analiz için 60 m uzunluğunda 0.25 µm iç çapında, 0.25 µm film kalınlığına sahip Trace Gold TG-WaxMS kapiller kolon (Thermo Scientific kod: 26088-1540) kullanıldı. Enjeksiyon bloğu sıcaklığı 240 °C ye ve kolon sıcaklık programı da 3 dakika 100°C de sabit kalıp daha sonra 4 °C/daklık artışla 240 °C ye yükselecek şekilde ayarlandı. Taşıyıcı gaz olarak sabit akışta helyum gazı (1 ml/dk) kullanılmış ve 1:20 split oranı uygulandı. MS ünitesi (ISQ LT), elektron iyonizasyon modunda kullanıldı (70 eV). Yağ asitleri, 37 bileşenden oluşan standart FAME karışımının gelme zamanlarına bağlı olarak karşılaştırılmasıyla tanımlandı (Liu 1994). Deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

3.11.3. Aminoasit Miktarı Belirleme

Amino asit konsantrasyon ölçümleri, LC-MS/MS sistemiyle gerçekleştirildi. Bu çalışmada, beş farklı konsantrasyonda standartlar içeren bir kalibratör seti kullanıldı. Ayrıca kararlı izotop etiketli iç standart karışımı, mobil fazlar, reaktifler, kromatografik ayırım ve kütle dedeksiyon metod parametreleri kullanılarak asidik hidroliz prosesi dahilinde modifiye numune hazırlığı yapıldı. Bu amaçla Jasem LC-MS/MS amino asit analiz kiti uygulandı. Hedef amino asitlerin konsantrasyonu, elektrosprey iyonizasyonu (ESI) temelli çoklu reaksiyon izleme (MRM) modu kullanılarak belirlendi (Bilgin vd.,2018).

Amino asitlerin için gerekli olan kalibrasyon eğrisi, hidroliz işlemine ihtiyaç duymadan kit numune hazırlığına uygun olarak hazırlandı ve LC-MS/MS sisteminde okunarak elde edildi. Analiz için Agilent 1260 Infinity HPLC sistemi (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) kullanıldı ve 30°C'ye ayarlanmış Jasem amino asit analitik kolonuna, hazırlanmış numuneden 3 µl enjekte edildi. Kromatografik ayırım, 0,7 mL/dakika akış hızıyla gradient programlı mobil faz A ve B kullanılarak 7,5 dakikalık analiz süresinde tamamlandı. Kütle spektrometrik dedektör, Agilent 6460 tandem kütle spektrometresi (Agilent Technologies) cihazıyla pozitif iyonizasyon modunda ESI (elektrosprey iyonizasyonu) kullanılarak gerçekleştirildi. Kütle dedektörü parametreleri gaz sıcaklığı 150°C, gaz akışı 10L/dakika, nebulizer basıncı 40 psi ve +2000 volt kapiler voltaj olarak ayarlandı.

Deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Pozitif ESI modunda MRM (çoklu reaksiyon izleme) kütle geçişleri ile fragmentör voltajları (FV) ve parçalanma enerjileri (CE) Tablo 3.2’de gösterildi.

Tablo 3.2 Hedef amino asitlerin MRM (Multiple Reaction Monitoring) koşulları

Amino Asit	Öncül İyon (m/z)	Ürün İyon (m/z)	FV (v)	CE (v)
Taurine	126,1	44,3	110	14
Phenylalanine	166,1	120,1	80	6
Tyrosine	182,1	165	80	1
Methionine	150,1	104,1	80	4
Aspartic acid	134,1	74,1	90	10
Threonine	120,2	74,2	80	4
Serine	106,2	60,2	80	4
Alanine	90,2	44,2	80	4
Glycine	76,2	30,1	80	1
Proline	116,2	70,2	90	12
Cystine	241,1	74,2	100	24
Arginine	175,2	70,2	110	20
Histidine	156,1	110,1	100	8
Ornithine	133,2	70,3	80	14
Lysine	147,1	84,2	80	12
Glutamic acid	148,1	84,2	80	12
Leucine	132,2	43,3	100	24
Isoleucine	132,2	69,2	100	14
Valine	118,2	72,2	80	4

3.11.4. GC-MS Analizi ile Genel Fitokimyasal Profillerin Belirlenmesi

S. orientalis ve *A. laxiflora* toprak üstü kısımları ve tohumları bir havan yardımıyla ezildi. Cai vd. (2004) tarafından önerilen maserasyon yöntemi kullanılarak 0.5 g örnek, 10 mL %80 metanol ile 35°C’de 24 saat süreyle ekstrakte edildi (Cai vd., 2004).

GC-MS analiz yöntemi Joshi vd. (2020) yöntemine göre optimizasyon yapılarak analiz edildi (Joshi vd., 2020) . Örnek 10 dakika 3500 rpm’de santrifüj edilerek süpernatant GC-MS analizi için kullanıldı.

GC-MS analizi, SHIMADZU marka GCMS-QP2010 Kütle Spektrometrisi ve AOC-5000 Auto Injector kullanılarak gerçekleştirildi. Analizde Rxi-5MS kolon (30m x 0.25mm x 0.25 µm) kullanıldı ve tarama aralığı 30-450 Da arasındaydı.

Analiz koşulları şu şekildedir:

- Elektron iyonizasyon sistemi kullanıldı.
- İyonizasyon enerjisi 70 eV olarak ayarlandı.
- Helyum gazı sabit bir akış hızıyla (1 ml/dk) kullanıldı.
- Enjeksiyon hacmi 1.5 µl olup, bölme oranı 10:1 olarak belirlenmiştir.
- Enjektör sıcaklığı 250°C, iyon kaynağı sıcaklığı 200°C olarak ayarlanmıştır. Örnekler, 70°C'de 10 dakika sabit kaldıktan sonra 3°C/dk artışla 150°C'ye çıkarılmış ve bu sıcaklıkta 5 dakika tutuldu.
- Daha sonra, örnekler 10°C/dk artışla 250°C'ye çıkarılmış ve bu sıcaklıkta 5 dakika süreyle tutuldu.
- Çözücü gecikmesi 0-2 dakika arasında değişmektedir.
- Toplam GC/MS çalışma süresi 56.67 dakikadır.

Sıvı örnekleme yöntemi kullanılarak metanolla ekstrakte edilen örnekler 100 kat seyreltilerek 1.5 ml'lik şişelere yerleştirildi. Analiz için NIST Standart Referans veri tabanı kullanıldı.

3.11.5. LC-MS Analizi ile Fenolik Madde İçeriklerinin Belirlenmesi

Örnekler, fenolik bileşiklerin miktarlarını belirlemek amacıyla iki kez Sıvı Kromatografi Tandem Kütle Spektrometresi (LC-ESI-MS) yöntemi kullanılarak analiz edildi. Analiz için AGILENT 6460 Üçlü Dört Kutuplu Sistem (ESI+Agilent Jet Stream) ve AGILENT 1200 Serisi HPLC kullanıldı (Ozdal vd.,2019).

Fenolik standart stok solüsyonları, %100 Metanol (hipergrade, Merck, Darmstadt, Almanya) içinde 5000 ppm konsantrasyonda hazırlandı. Her molekül için 1000 ppm stok çözeltiler oluşturuldu. Eğri oluşturma kalibrasyonu için 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 ve 2.0 ppm konsantrasyonlarında seyreltilen karışım kullanıldı. Standart fenolik bileşiklerin konsantrasyonları, ekstrelerdeki pik alanlarından elde edilen lineer regresyon denklemi kullanılarak kalibrasyon eğrileri üzerinden belirlendi ($R^2 = 0.99$). Tüm dilüsyonlar %50 metanol ile gerçekleştirildi.

Analiz için Zorbax SB-C18 kolonu (2.1 mm x 50 mm x 1.8 um) 35 °C sıcaklıkta kullanıldı. İkili mobil faz olarak %0.05 formik asit + 5 mM amonyum format içeren su (solvent A) ve Metanol (solvent B) kullanıldı. Bu mobil fazlar, 13 dakika çalışma süresinde 0.5 mL/dk akış hızında uygulandı. Fenolik bileşikler, metanol gradyanı ile analiz edildi.

Tüm örnekler için beş µL enjeksiyon hacmi kullanıldı. ESI iyonizasyonu aşağıdaki ayarlarla gerçekleştirildi:

- Nebülizör gazı sıcaklığı 350 °C,
- gaz akışı 10 mL/dk,
- nebulizör gaz basıncı 45 psi,
- kesme gazı sıcaklığı 350 °C,
- kılıf gazı akışı 9 mL/dk,
- kılcal gerilim 4000 V (+, -)
- meme voltajı 500 V (+, -).

Tespit ve nicelendirme işlemleri, Agilent G3793AA Mass Hunter Optimizer yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Seçilen fenolik bileşiklerin saptanması ve miktar tayini için Mass Hunter Optimizer yazılımı (Agilent G3793AA) kullanıldı. Deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

3.12. Sekonder Metabolitlerin Spektroskopik Analizleri

3.11.1. Toplam Fenolik Madde İçeriği

Özütün toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak, (Singleton ve Rossi, 1965) belirlendi. Bu çalışmada, 200 µL methanol özüt (1 mg/mL), 200 µL seyreltilmiş Folin-Ciocalteu reaktifi ile (distile suyla 1:1 seyreltilmiş) karıştırıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildikten sonra, 1 mL %2 sodyum karbonat çözeltisi eklendi. Karanlıkta oda sıcaklığında 1 saat boyunca inkübe edildikten sonra, 760 nm dalga boyunda bir UV spektrofotometre (Thermo Scientific Varioskan) kullanılarak absorbans ölçüldü. Toplam fenolik madde içeriği kurutulmuş özüt başına miligram cinsinden (mg GAE/g özüt) galik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edildi. Tüm ölçümler üç kez yapıldı.

3.11.2. Toplam Flavonoid İçeriği

Özütlerin toplam flavonoid içeriği AlCl_3 yöntemi kullanılarak (Osuna-Ruiz vd., 2016) belirlendi. Bu çalışmada, 1 mL özüt (1 mg/mL), 6.4 mL distile su ile karıştırıldı. Ardından, 0.3 mL NaNO_2 (%5) eklenip karışım 5 dakika bekletildi. Sonrasında, 0.3 mL AlCl_3 (%10) eklenip çözelti 6 dakika inkübe edildi. Ardından, 2 mL NaOH (1M) eklenip çözelti oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Absorbans 510 nm dalga boyunda bir UV spektrofotometre (Thermo Scientific Varioskan) ile ölçüldü. Toplam flavonoid içeriği kurutulmuş özüt başına miligram cinsinden (mg QE/g özüt) kuersetin eşdeğeri (QE) olarak ifade edildi. Tüm ölçümler üç kez yapıldı.

3.11.3. Toplam Flavanol İçeriği

Toplam flavanol içeriği, alüminyum klorür yöntemi kullanılarak belirlendi (Mahmoudi vd., 2023). 1 mL özüt (1 mg/mL), 2 mL AlCl_3 (%2) ile karıştırıldı. Daha sonra, 3 mL sodyum asetat çözeltisi (%5) eklendi. Karışım, oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dakika boyunca bekletildi. İnkübasyon süresinin sonunda, örneğin absorbansı 415 nm dalga boyunda ölçüldü ve aynı dalga boyunda standart olarak kullanılan kuarseinin de absorbansı ölçüldü. Toplam flavanol içeriği kurutulmuş özüt başına miligram cinsinden (mg QE/g) kuersetin eşdeğeri (QE) olarak ifade edildi. Tüm analizler üç tekrarlı olarak yapıldı.

3.11.4. Toplam Tanen İçeriği

Toplam tanen içeriği, (Lou vd., 2014) Folin–Ciocalteu reaktifi kullanılarak belirlendi. Farklı galik asit konsantrasyonlarından oluşan bir kalibrasyon eğrisi hazırlandı. Analiz edilecek örnekler için, 100 μL metanol içinde 5 kat seyreltilmiş numuneler bir test tüpüne eklenmiştir. Standartlar ve örneklerin her birine 10 kat seyreltilmiş 500 μL Folin–Ciocalteu reaktifi metanol içine eklenmiştir. Buna ek olarak, her birine 2 mL sodyum karbonat çözeltisi (4%, w/v) ilave edildi. Elde edilen karışım çalkalandı ve ardından oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, standartlar ve örneklerin her ikisinin de absorbansı 760 nm dalga boyunda ölçüldü. Toplam tanen içeriği kurutulmuş özüt başına miligram cinsinden (mg GAE/g özüt) galik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edildi. Tüm analizler üç tekrarlı olarak yapıldı.

3.11.5. Toplam Proantosiyanidin İçeriği

Toplam proantosiyanidin içeriği, (Porter ve Woodruffe, 1984) n-bütanol/HCl reaktifi kullanılarak belirlendi. Buna göre, seyreltilmiş fenolik özütün (1:5, v/v) 500 µL'si, 3 mL n-bütanol/HCl reaktifi (95:5, v/v) ile karıştırıldı. Ardından 2N HCl içinde %2 ferrik (Demir III) amonyum sülfatdan 100 µL eklendi. Karışımlar 60 dakika kaynatıldı ve ardından soğumaya bırakıldı. Çözeltilerin absorbanı 550 nm dalga boyunda ölçüldü. Toplam proantosiyanidin içeriği kurutulmuş özüt başına miligram cinsinden (mg CAE/g özüt) kateşin eşdeğeri (CAE) olarak ifade edildi. Tüm analizler üç tekrarlı olarak yapıldı.

3.13. Örneklerin DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Aktivitesi

Özütlerin serbest radikal yakalama yeteneği, 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) deneyi kullanılarak değerlendirildi ve sentetik antioksidan askorbik asitin IC₅₀ değeri ile karşılaştırıldı (Braca vd., 2001).

Bu deneyde, farklı konsantrasyonlardaki (15.62, 31.25, 62.5, 125, 250, 500 ve 1000 mg/mL) 1 mL özüt, bir tüpte metanol çözeltisi içindeki DPPH radikali (0.1 mM) ile karıştırıldı. Oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dakika inkübe edildikten sonra, absorbanı 517 nm dalga boyunda bir UV spektrometre kullanılarak boş bir değere karşı ölçüldü. Referans standardı olarak askorbik asit kullanıldı. Özütün DPPH radikali yakalama oranı aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı:

$$\text{DPPH yakalama aktivitesi (\% inhibisyon)} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100,$$

Burada A_{kontrol} kontrolün absorbanı, A_{örnek} ise özüt ile reaksiyon karışımının absorbanını temsil eder. Başlangıçtaki DPPH konsantrasyonunda %50 azalmaya neden olacak özüt konsantrasyonunu belirlemek için özüt konsantrasyonu inhibisyon yüzdesi eğrisi çizildi ve IC₅₀ değeri lineer regresyon analizi ile elde edildi. Daha düşük bir IC₅₀ değeri daha yüksek bir antioksidan aktiviteyi işaret eder. Tüm analizler üç tekrarlı olarak yapıldı.

3.14. İstatiksel Analizler

Tohum çimlenmesi ve fidan büyüme evreleri, yağ asitleri, aminoasitler miktarları, SPSS 21 WINDOWS kullanılarak istatistiksel analize edildi. Bu çalışmada tanımlanan bileşikler önce 2D yapıları elde etmek için Chemdraw programında çizildi

ve daha sonra MolView kullanılarak 3D yapıları oluşturuldu. Venn diyagramları ve ağları tekrar edilebilir ve düzenlenebilir şekilde çevrimiçi E-venn olarak oluşturuldu. Ölçülen tohum boyutlarının gruplamasını grafiksel olarak göstermek için PCA (Temel Bileşen Analizi) Past programı Sürüm 4.03 kullanılarak gerçekleştirildi.



4. BULGULAR

4.1. Tohumların Mikromorfolojik Özellikleri

4.1.1. Tohumların Kantitatif Özellikleri

Tezde kullanılan *A. laxiflora* ve *S. orientalis* tohumlarının mikro-morfolojik özellikleri Tablo 4.1’de gösterildi. Tohum (boy/en), embriyo (boy/en), tohum ve embriyo (boy/en) oranı, embriyo hacmi değerleri incelendiğinde *A. laxiflora* tohumlarının *S. orientalis* tohumlarından dikkati çekici bir şekilde büyük olduğu görülmektedir. Buna paralel olarak da *S. orientalis* tohumlarının hacmi/embriyo hacmi oranı ve hava boşluğu, *A.laxiflora*’den daha büyüktür.

Tablo 4.1 Tohumların mikromorfoloji ölçümleri ($\pm$ Standart sapma, n = 30)

Mikromorfolojik Ölçümler	<i>Anacamptis laxiflora</i>	<i>Serapias orientalis</i>
Tohum boy (mm)	0,815 $\pm$ 0,117	0,426 $\pm$ 0,058
Tohum en (mm)	0,184 $\pm$ 0,030	0,119 $\pm$ 0,026
Tohum boy/en oranı	4,50 $\pm$ 0,93	3,71 $\pm$ 0,95
Tohum hacim	7,58 $\pm$ 3,14	1,68 $\pm$ 0,83
Embriyo boy (mm)	0,204 $\pm$ 0,030	0,112 $\pm$ 0,029
Embriyo en (mm)	0,131 $\pm$ 0,020	0,078 $\pm$ 0,016
Embriyo Boy/En oranı	1,61 $\pm$ 0,38	1,47 $\pm$ 0,40
Embriyo hacmi	1,85 $\pm$ 0,52	0,38 $\pm$ 0,19
Tohum Hacmi / Embriyo hacmi	4,41 $\pm$ 2,37	5,43 $\pm$ 3,55
Boşluk yüzdesi	72,22 $\pm$ 11,82	73,88 $\pm$ 14,40

S. orientalis ve *A. laxiflora* tohum özellikleri PCA (Principal Component Analysis) analizi ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Bu sonuçlara göre her iki türe ait tohum özelliklerinde önemli farklılıklar tespit edildi. *S. orientalis* ve *A.laxiflora* tohumlarındaki morfolojik farklılıklar nedeniyle PCA grafiğinin X ekseninin farklı kısımlarında konumlanmışlardır. PC1, kantitatif verilerdeki genel varyasyonun %95,3'ini açıklamaktadır ve bunu %2,1 ile PC2 takip etmektedir. Bu oranlar analizin toplam varyansın %97,4'una katkıda bulunmaktadır ve Tablo 4.2’de gösterilmektedir. PCA’da gözlenen grupların oluşumuna yardımcı olan baskın değerlere sahip kantitatif

özelliklerin pozitif ve negatif katkı değerleri ise Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'te gösterilmektedir. PCA analizi dağılımı Şekil 4.1'de gösterildi.

Tablo 4.2 Tohum ölçümlerinin PCA skorları

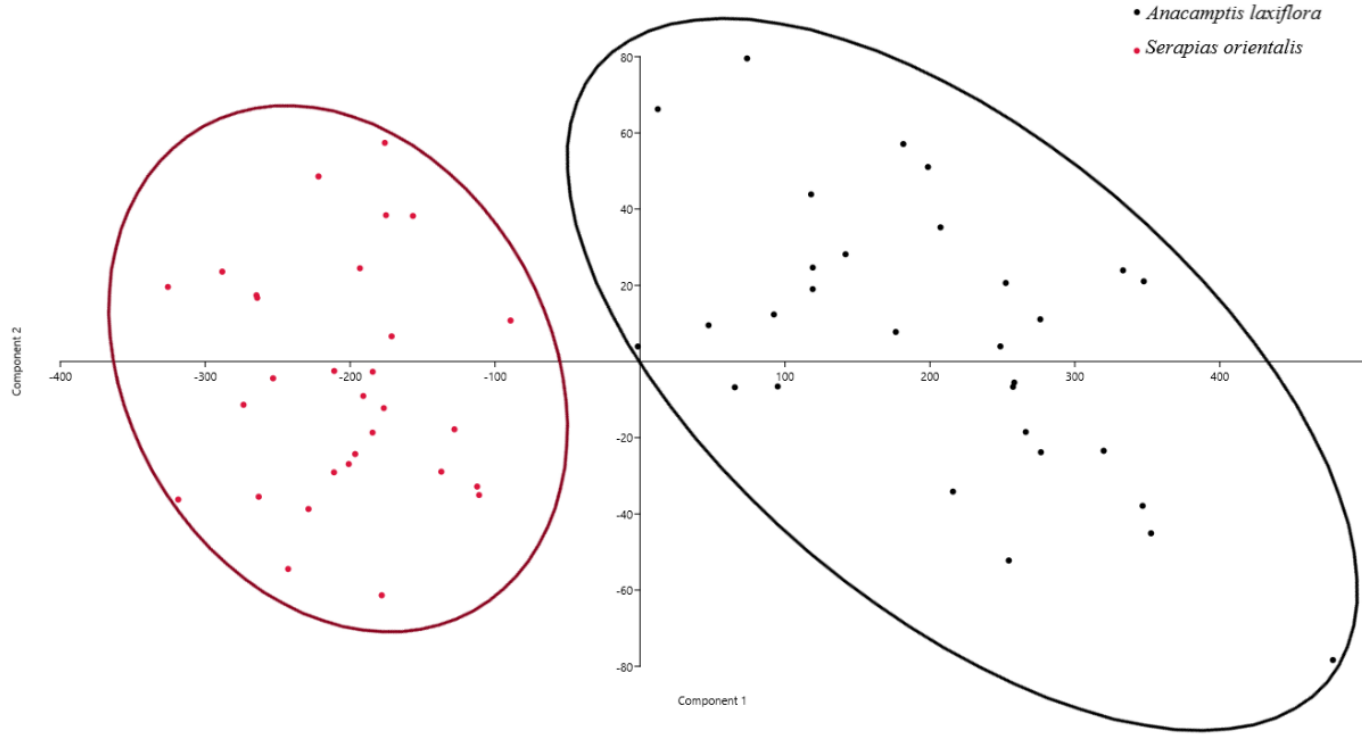
PC	Özgün Değer	% Varyans
1	50771,8	95,393
2	1128,04	2,1194
3	897,884	1,687
4	403,695	0,75849
5	19,9428	0,03747
6	1,73937	0,003268
7	0,515066	0,00096774
8	0,0581549	0,00010927
9	0,0127347	2,3927E-05
10	0,00656996	1,2344E-05

Tablo 4.3 Tohum morfolojik özelliklerinin PC1 ve PC2 üzerindeki etkileri

Ölçülen parametreler	PC 1	PC 2
Tohum Boy	0,96216	-0,19928
Tohum En	0,14738	-0,072613
Embr-Boy	0,19971	0,92834
Embr-En	0,11141	0,15942
Tohum Boy/En	0,0023406	0,0013258
Embr Boy/En	0,00037449	0,0062681
Tohum Hacmi	0,01452	-0,014549
Emb. Hacmi	0,003106	0,0068556
Tohum Hacmi/Emb Hacmi	-0,00086593	-0,061587
Boşluk Yüzdesi	0,0023092	-0,25239

Tablo 4.4 Ölçülen değerlerin katkı değerleri

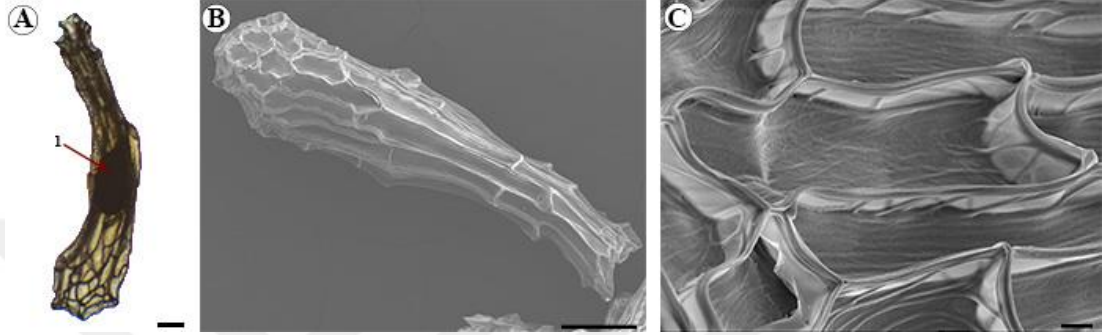
	Tohum morfolojik özellikleri	
	Pozitif Etki	Negatif etki
PC1	Tohum boy ve en,embriyo boy ve en,tohum boy/en,embriyo boy/en,tohum hacmi,embriyo hacmi,boşluk yüzdesi	Tohum hacmi/embriyo hacmi
PC2	Embriyo boy ve en,tohum boy/en,embriyo boy/en,embriyo hacmi	Tohum boy ve en,tohum ve embriyo hacmi,tohum hacmi/embriyo hacmi,boşluk yüzdesi



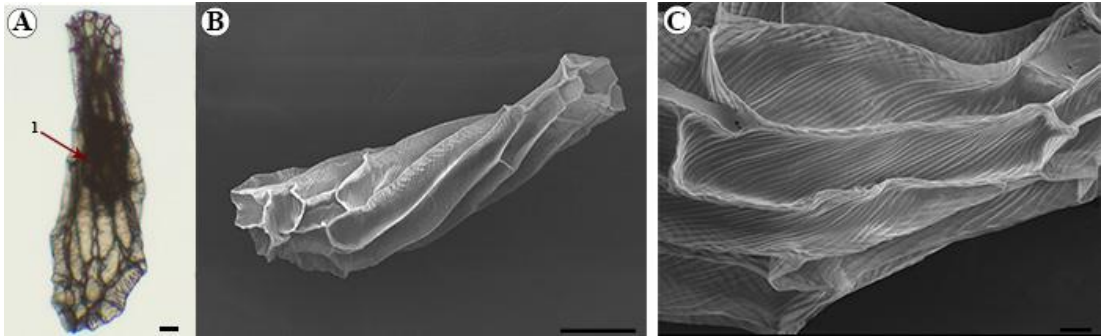
Şekil 4.1 Tohum ölçümlerinin türlere bağlı değişimlerini gösteren PCA analizi

4.1.2.İncelenen Tohumların Işık Mikroskobu ve Testa Hücrelerinin SEM Görüntüleri

A. laxiflora ve *S. orientalis* ışık mikroskop görüntüleri ve embriyosu, elektron mikroskop görüntüleri ve testa hücreleri Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te gösterilmektedir.



Şekil 4.2 (A) *A. laxiflora* tohumlarının ışık mikroskobu görüntüsü, A1 embriyo, (B) tohumların SEM görüntüsü, (C) tohumların testa hücrelerinin SEM görüntüsü (ölçek çubukları, ışık mikroskobu 700 µm elektron mikroskobu genel görünümü 100 µm ve testa hücre görüntüleri



Şekil 4.3 *S. orientalis* tohumlarının ışık mikroskobu görüntüsü, A1 embriyo, (B) tohumların SEM görüntüsü, (C) tohumların testa hücrelerinin SEM görüntüsü (ölçek çubukları, ışık mikroskobu 700 µm elektron mikroskobu genel görünümü 100 µm ve testa hücre görüntüleri

4.2. Ex Vitro Simbiyotik Tohum Çimlenmesi

A. laxiflora köklerinden izole edilen AL5, *S. orientalis* köklerinden izole edilen S6 ve fungus bulunmayan (kontrol) saksılardaki orkide tohumlarının ex vitro çimlenme gelişim evreleri Tablo 4.5'te gösterilmektedir.

Tablo 4.5 *S. orientalis* ve *A. laxiflora* gelişme aşamaları ve toplam çimlenme yüzdeleri ($\pm$ Standart sapma, n = 3)

Tür	Gelişme Aşamaları %					Toplam Çimlenme %
	G0	G1	G2	G3	G4	
<i>S. orientalis</i> +S6	37,40 $\pm$ 3,36	16,93 $\pm$ 1,70	15,25 $\pm$ 8,44	11,90 $\pm$ 4,92	18,49 $\pm$ 1,98	62,58 $\pm$ 3,37
<i>A. laxiflora</i> + AL5	5,97 $\pm$ 1,67	7,16 $\pm$ 5,35	7,93 $\pm$ 3,71	9,72 $\pm$ 3,60	69,20 $\pm$ 3,50	93,17 $\pm$ 3,06
<i>S. orientalis</i> (Kontrol)	100 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<i>A. laxiflora</i> (Kontrol)	100 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00

S. orientalis'den izole edilen *Tulasnella calospora* (S6) izolatu hem çimlenmeyi hem de fide gelişimini uyarmıştır. Tohumlar ekildikten 20 gün sonra protokorm meydana geldi ve 45 gün sonra paketlerdeki çimlenme ve gelişme durumu sayıldı. Bu sonuçlara göre tohumların %62,58 ($\pm 3,37$) çimlendiği, %18,49 ($\pm 1,98$) gelişen yapraklarla fide aşamasına (aşama 4) geldiği belirlendi. *Ceratobasidium sp.* (AL5) ile aşılana *A. laxiflora* tohumları, inkübasyondan 15 gün sonra protokorm aşamasına gelişti ve 40 gün sonra paketlerdeki çimlenme ve gelişme durumu değerlendirildi. Toplam çimlenme oranı $93,17 \pm (3,06)$, yapraklı fide aşamasına ulaşma oranı da $69,20 \pm (3,50)$ olarak belirlendi. Her iki orkide türünde de fungus içermeyen kontrol gruplarındaki tohumların çimlenmediği gözlemlendi.

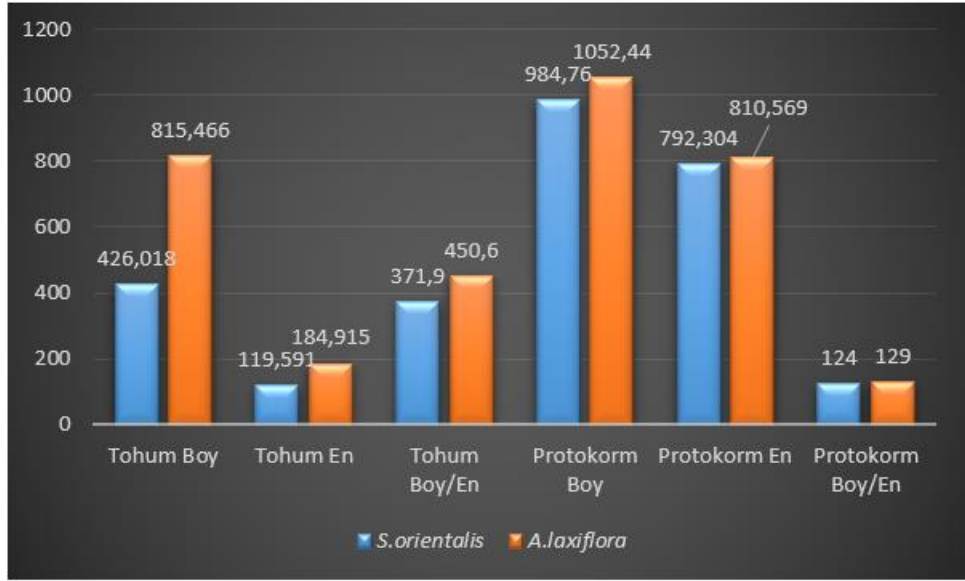
4.3. Protokormların Morfolojik Ölçümleri ve SEM Görüntüleri

S. orientalis ve *A. laxiflora* protokormlarının boy, en ve boy/en oranları tespit edildi ve Tablo 4.6'da verildi. Yapılan ölçümlerin ortalamasına göre *S. orientalis* protokorm boyu 984,76 mm, en 792,304 mm, boy/en oranı ise 1,24'tür. *A. laxiflora*'nın ise protokorm boyu 1052,44 mm, en 810,569 mm, boy/en oranı ise 1,29 olarak belirlendi. Protokormların boy ve en ölçümleri farklılıklar göstermektedir ancak her iki türünde boy/en oranları arasında istatistiksel olarak önemli fark görülmedi.

Tablo 4.6 *S. orientalis* ve *A. laxiflora* protokorm ölçümleri ($\pm$ Standart sapma, n = 30)

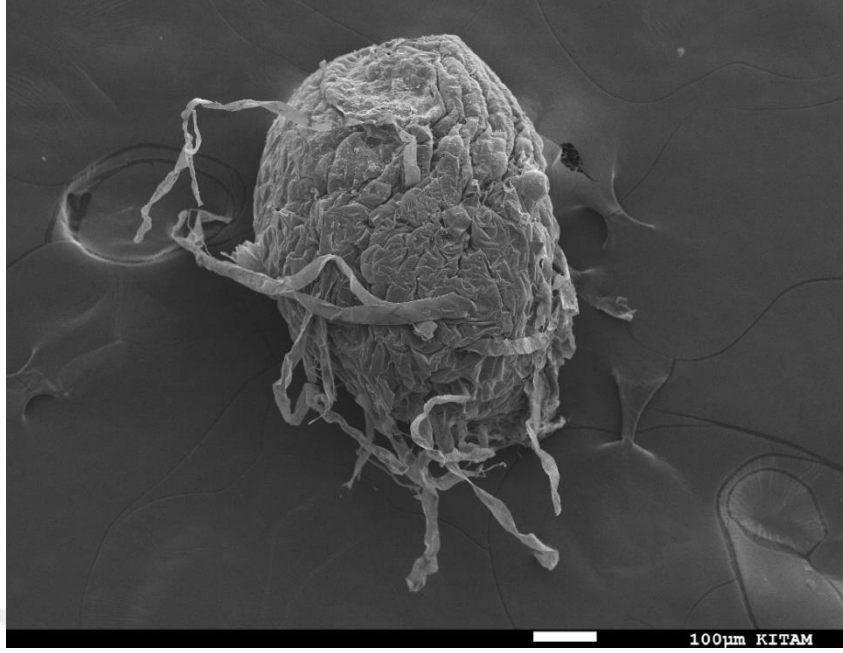
Orkide	Protokorm Boy	Protokorm En	Protokorm Boy/En
<i>S. orientalis</i>	984,76 $\pm$ 181,75	792,304 $\pm$ 108,21	1,24 $\pm$ 0,16
<i>A. laxiflora</i>	1052,44 $\pm$ 245,09	810,569 $\pm$ 155,53	1,29 $\pm$ 0,17

S. orientalis ve *A. laxiflora*'nın tohum ve protokorm boyutlarının karşılaştırılması Şekil 4.4'te gösterilmektedir. *S. orientalis* tohum boyu gelişme aşaması olan protokorm safhasında yaklaşık 2,3 kat, en ise yaklaşık 6,5 kat artarak boy/en oranları ise 3 kat azaldı. *A. laxiflora* da ise boy 1,2, eni ise 4,4 kat artarken boy/en oranı yaklaşık 3,4 kat azaldı.

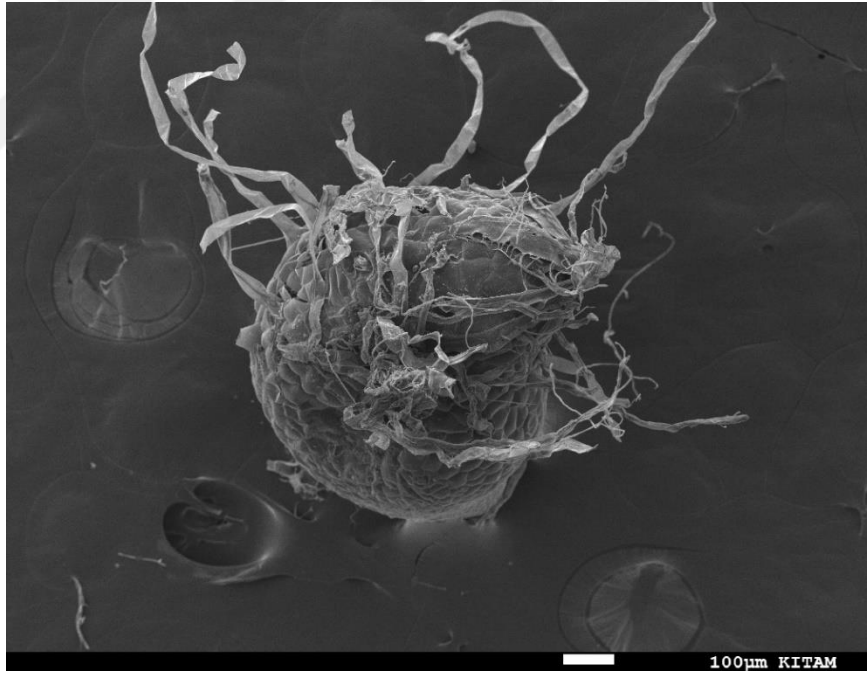


Şekil 4.4 *S. orientalis* ve *A. laxiflora* tohum ve protokorm boyutlarının karşılaştırılması

S. orientalis ve *A. laxiflora* protokormların kritik kurutma cihazı ile kurutulduktan sonraki elektron mikroskop görüntüleri Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da gösterilmektedir.



Şekil 4.6 *S. orientalis*'in protokorm aşamasının elektron mikroskop görüntüsü



Şekil 4.5 *A. laxiflora*'ın protokorm aşamasının elektron mikroskop görüntüsü

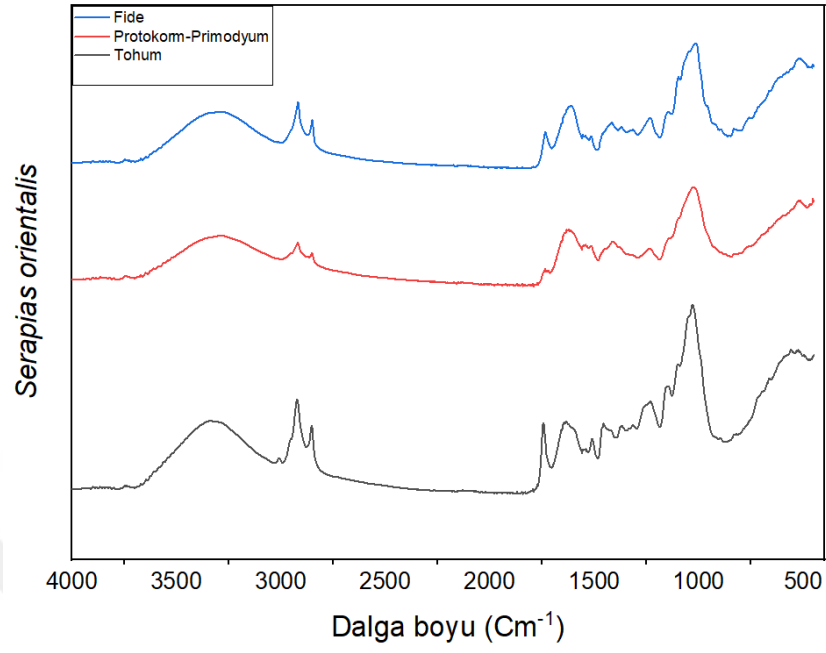
4.4. *S. orientalis* ve *A. laxiflora*'nın Farklı Gelişim Aşamalarındaki kimyasal değişimlerin FTIR ile Analizleri

S. orientalis ve *A. laxiflora* orkidelerinin toz haline getirilmiş tohum, protokorm-primordium ve fidelerinde bulunan bileşiklerin kimyasal yapılarının genel FTIR spektrumları Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'te, fonksiyonel grupları, kaynakları sırasıyla Tablo 4.7' de gösterilmektedir.

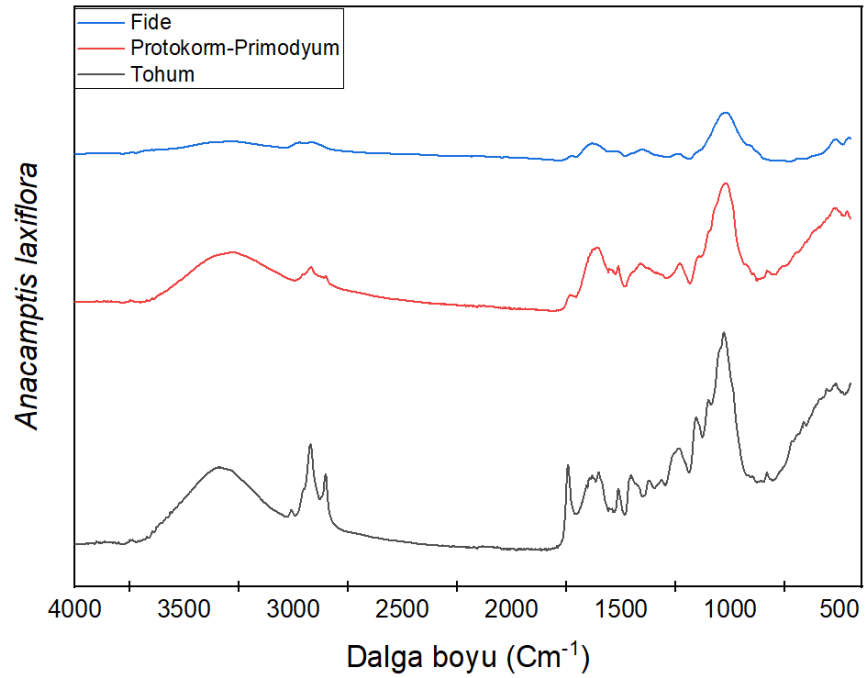
S.orientalis'in tohum, protokorm-primordium ve fide aşamalarının FTIR piklerinin detayları, sırasıyla Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de gösterilmektedir. *A.laxiflora*'nın tohum, protokorm-primordium ve fide aşamalarının FTIR piklerinin detayları da sırasıyla Şekil 4.12, Şekil 4.13 ve Şekil 4.14'te gösterilmektedir.

3268-3337 cm^{-1} arasındaki tepe noktası polisakkaritlerden kaynaklanan -OH titreşimine işaret etmektedir (Safapour vd., 2023), 2977-2922 cm^{-1} ve 2845-2855 cm^{-1} arası görünür pikler, lipid ve lignin bileşiklerinin yapısından kaynaklanan C-H titreşimine işaret etmektedir (Boeriu vd.,2023), 1731-1743 cm^{-1} arası içeren pikler, selüloz türevlerinin C=O titreşimlerini göstermektedir (Shi vd.,2023). 1542-1540 cm^{-1} arası pikler, proteinlerin N-C=O amid titreşimine işaret etmektedir (Mozafarpour ve Koocheki, 2023). 1612-1640 cm^{-1} arası pikler, proteinlerin amid 1 titreşimlerine işaret etmektedir (Thombare vd.,2023). 1601-1605 cm^{-1} arası pikler, lignin aromatik C=C titreşimlerini göstermektedir (Xi ve Chen, 2014). 1506-1516 cm^{-1} arası hemiselülozların karboksil grubuna ait COO- titreşimine işaret etmektedir (Cherdkeattikul vd.,2023). 1443-1455 cm^{-1} arası selülozun C-H düzlem titreşimine işaret etmektedir (Kocheva vd.,2020) . 1407-1411 cm^{-1} arası glikolize edilmiş fenollerin ve uronik asitin C=C ve C-OH titreşimine işaret etmektedir (Akhter vd.,2020; He vd.,2022), 1371-1369 cm^{-1} arası selüloz ve lignine ait asimetrik CH₂ bağı titreşimi (Park ve Park, 2022) 1318-1312 cm^{-1} arası selüloz ve ligninin CH₂ yatay düzel titreşimleri (Madhavan vd.,2023) , 1227-1233 cm^{-1} arası selüloz ve ligninin düzlemsel -OH titreşimi (Ahmad vd.,2022) , 1158-1152 cm^{-1} arası selüloz ve hemiselülozun eter gruplarının C-O titreşimi (Kaur vd.,2023) göstermektedir. 1136-1139 cm^{-1} arası fenolik asitlerin C-H titreşimi (Jeyaram, 2022) , 1100-1102 cm^{-1} arası ligninin ait C-H titreşimi (Agatonovic-Kustrin vd.,2022) , 1020-1032 cm^{-1} arası polisakkarit,lignin ve selülozların birincil alkol -OH titreşimi 2018 , 836-831 cm^{-1} arası aromatik lignin,terpen ve alkenlerde gözlenen düzlem dışı C-H piklerini (Le

vd.,2023) göstermektedir.



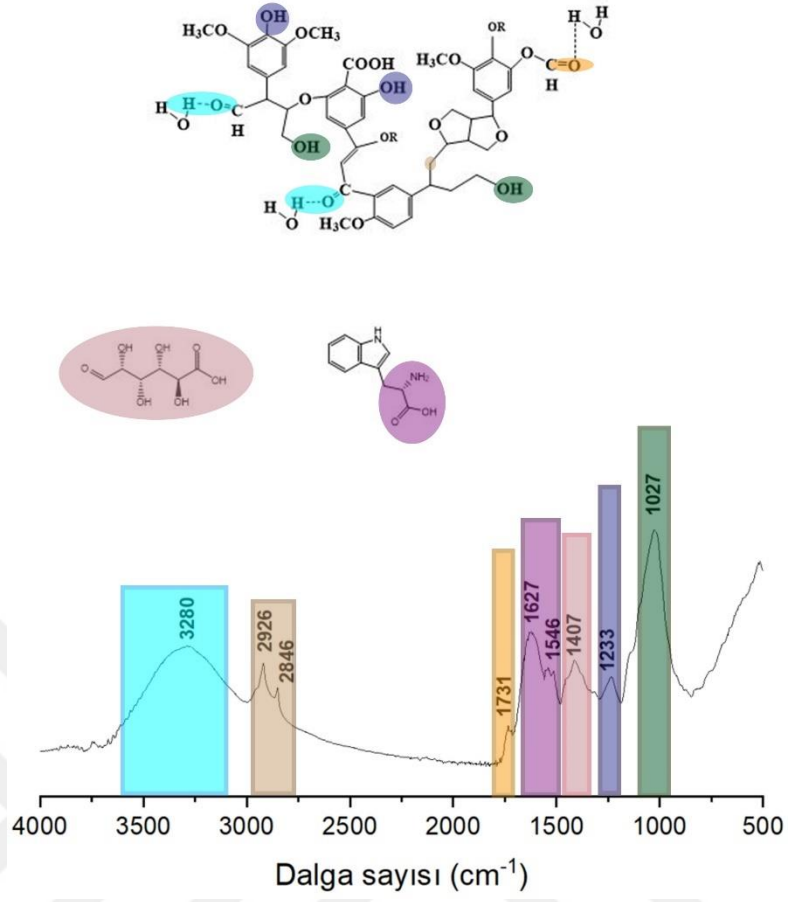
Şekil 4.7 *S. orientalis* farklı kısımlarının genel FTIR spektrumu



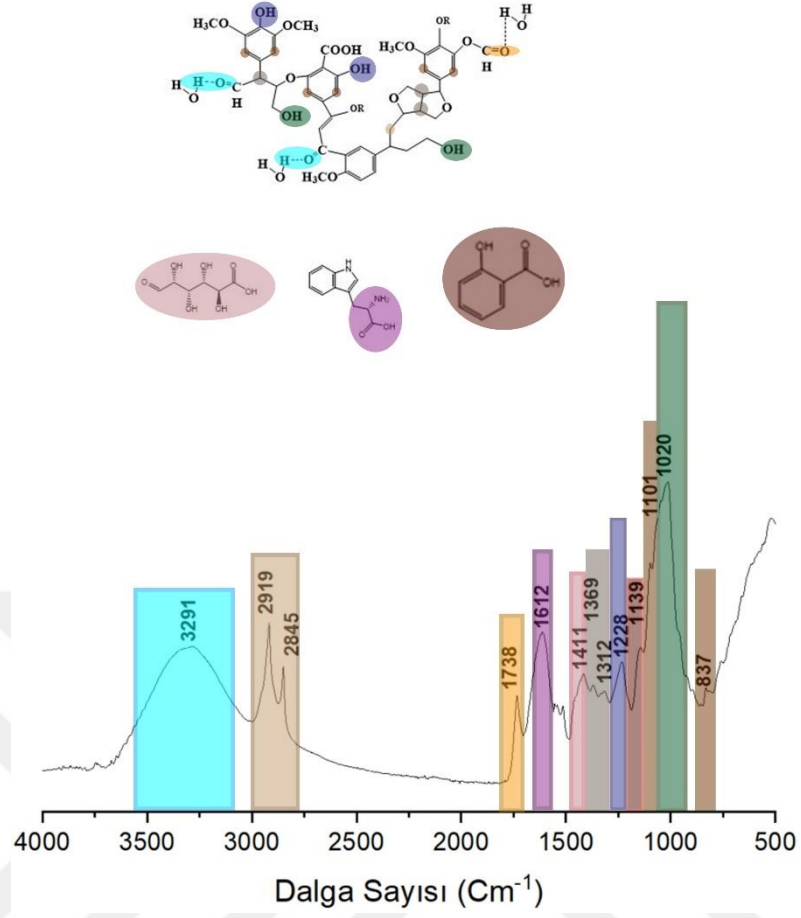
Şekil 4.8 *A.laxiflora* farklı kısımlarının genel FTIR spektrumu

Tablo 4.7 *S. orientalis* ve *A. laxiflora* tohum, protokorm-primodyum ve fide kısımlarının FTIR pikleri

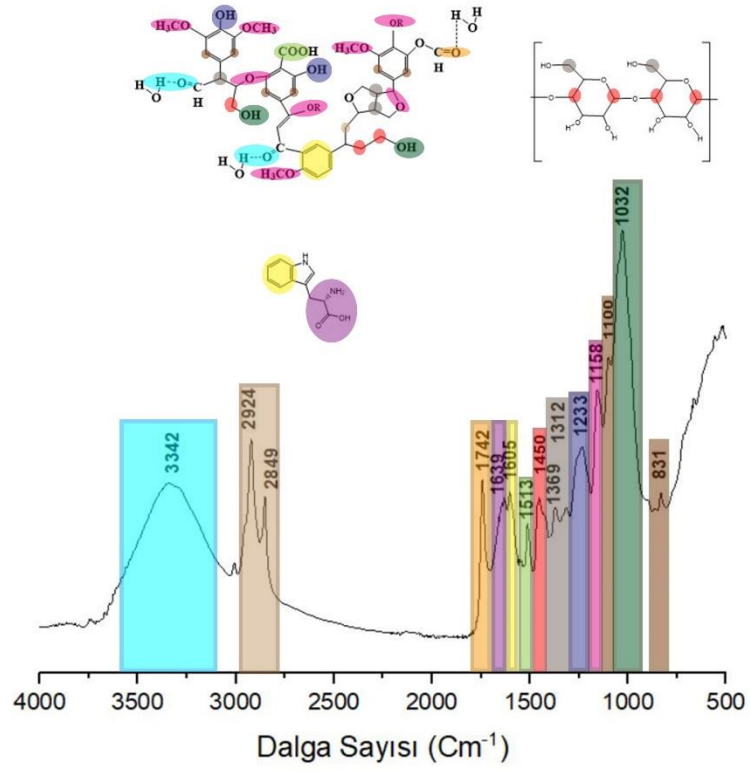
Dalga sayısı(cm ⁻¹)	Fonksiyonel gruplar	Kaynak	Referanslar
3342-3265	O-H titreşimi	Polisakkarit	(Hospodarova vd., 2018; Khiya vd., 2021; Kurniawan vd., 2021 ; Contreras Sánchez-Matamoros vd., 2018; Kanniah vd., 2020; Mujtaba vd., 2018)
2977-2919 ve 2855-2845	-CH ₂ titreşimleri (aromatik metoksi grupları ve metilen ve metil grupları)	Lipid ve Lignin	(Boeriu vd., 2004; da Silva Leite vd., 2022; Hayat vd., 2020; Horikawa vd., 2019; Rincón-López vd., 2021)
1743-1731	Karboksil ve asetil gruplarının C=O titreşimi	Hemiselüloz	(Dubis vd., 1999; Poletto vd., 2011; Popescu vd., 2011; Sharma vd., 2021; Trinsoutrot vd., 2001)
1640-1612	N-C=O Amid 1	Protein	El-Sohaimy vd., 2022; Siddiqui vd., 2006; Wang vd., 2022)
1605 -1601	C=C aromatik titreşimler	Lignin	Kačuráková vd., 1999; Kendel ve Zimmermann, 2020; Kline vd., 2010; Rashid vd., 2016)
1550-1546	N-C=O Amid	Protein	(Asadova vd., 2020; Juliet vd., 2018; Kumar vd., 2011; Ramamurthy vd., 2007; Yang ve Yen, 2002)
1516-1506	COO- titreşimleri	Hemiselüloz	(Antil vd., 2019; Horikawa vd., 2019; Várban v vd., 2021; Wang vd., 2009)
1455-1443	C-H düzlem titreşimi	Selüloz	(Alex vd., 2018; Farber vd., 2019; Mekarom Hossain ve Ahmed, 2023)
1411-1407	C=C ve C-OH titreşimleri	Glikolize edilmiş fenoller, üronik asit	(Khan vd., 2013; Samrot vd., 2021; Scano, 2021; Zhao vd., 2007)
1371-1369	CH ₂ asimetrik titreşimleri	Selüloz ve Lignin	(Barsberg vd., 2018; Fackler vd., 2011)
1318-1312	CH ₂ düzlem titreşimleri	Selüloz ve Lignin	(Kopjar vd., 2022; Njoku vd., 2020; Rafiq vd., 2020; Yang vd., 2022)
1233-1227	Düzlemsel -OH titreşimi	Selüloz ve Lignin	(Tang vd., 2020; Zhou vd., 2011)
1158-1152	Eter guruplarının C-O titreşimi	Selüloz ve hemiselüloz	(Butler vd., 2015; Chow ve Ting, 2019; Hren vd., 2000; Umar vd., 2021)
1139-1136	C-H titreşimleri	Fenolik asitler	(Bensemmane vd., 2021; Gurullah ve Abdullah Al Ghamdi, 2021; Salvi vd., 2022)
1102-1100	Aromatik C-H titreşimi	Lignin	(Sangpueak vd., 2021; Zancajo vd., 2020)
1032-1020	Birincil alkollerin OH titreşimi	Polisakkarit, Selüloz ve Lignin	(Cheong vd., 2023; Osman vd., 2023; Pokhriyal vd., 2023)
836-831	Düzlem dışı C-H titreşimleri	Alken, Terpen ve lignin	(David vd., 2019; Gerez vd., 2022; Noor Hashim vd., 2019; Traoré vd., 2018; Zhang vd., 2014)



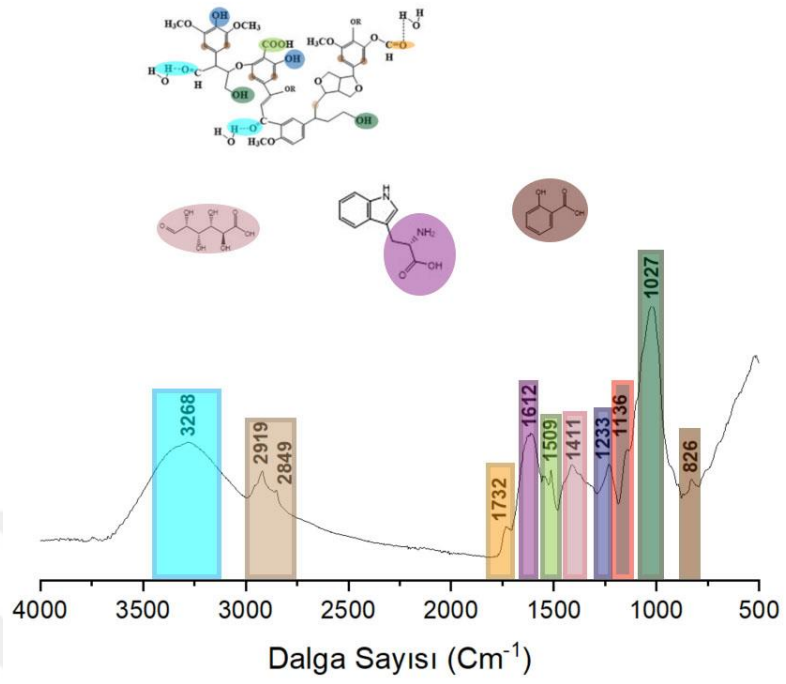
Şekil 4.10 *S. orientalis* protokorm-primordiumların FTIR pikleri ve kimyasal bağ görünüşleri



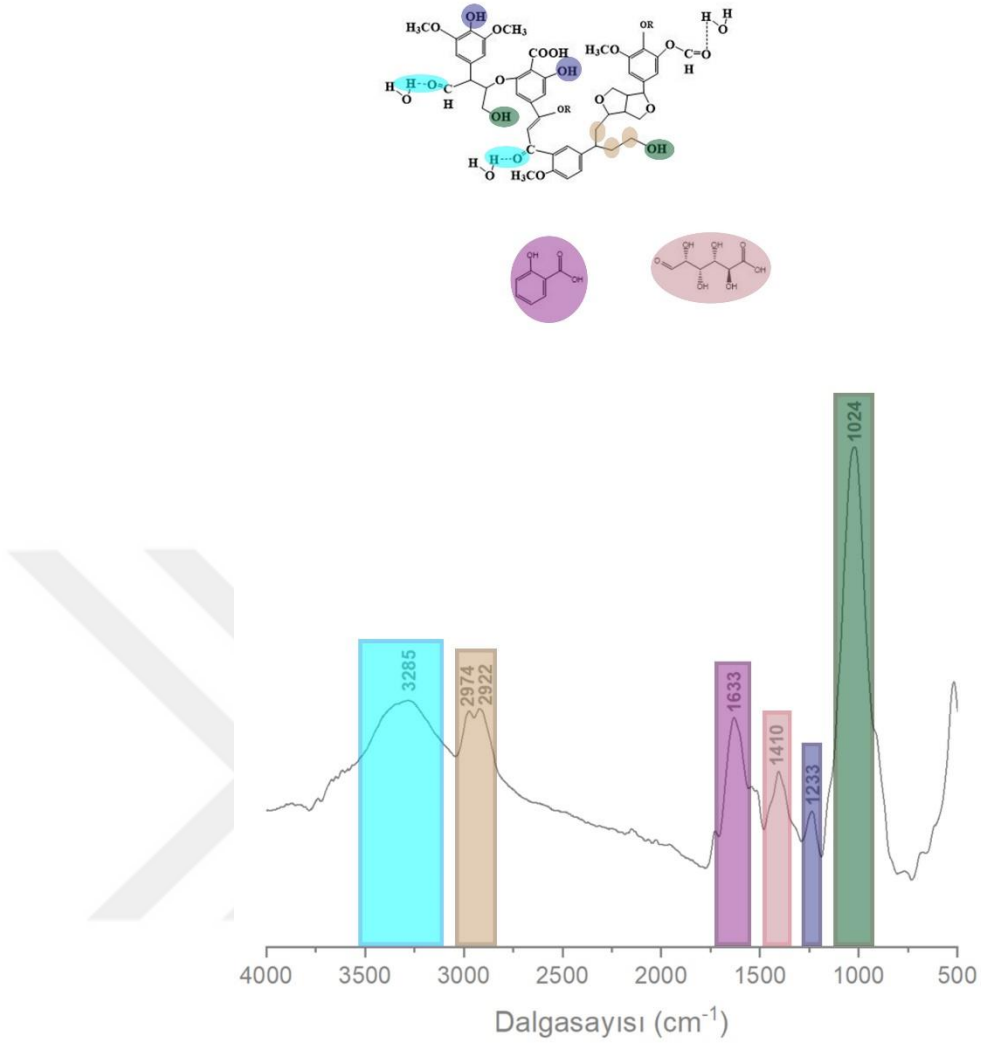
Şekil 4.11 *S. orientalis* fidelerinin FTIR pikleri ve kimyasal bağ görünümleri



Şekil 4.12 *A. laxiflora* tohumların FTIR pikleri ve kimyasal bağ görünümleri

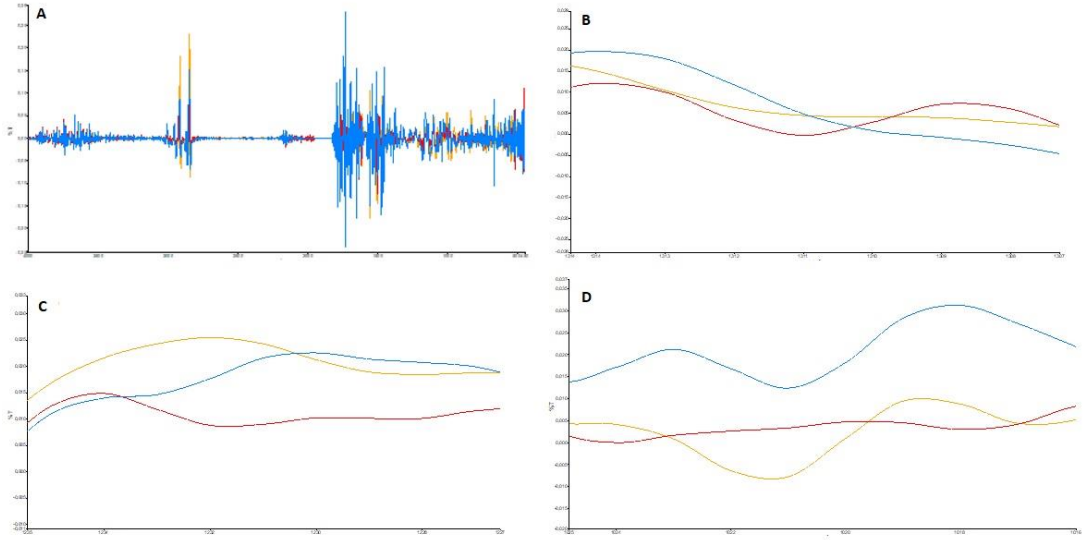


Şekil 4.13 *A. laxiflora* protokorm-primordiumların FTIR pikleri ve kimyasal bağ görünümleri

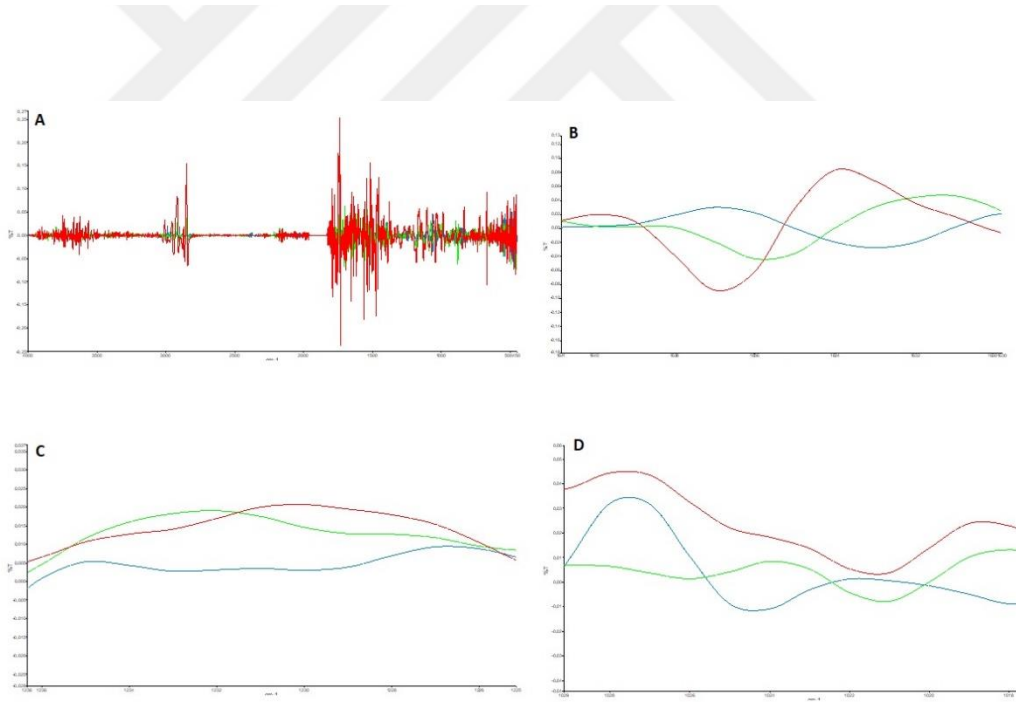


Şekil 4.14 *A. laxiflora* fidelerinin FTIR pikleri ve kimyasal bağ görünümleri

S. orientalis ve *A. laxiflora* FTIR piklerinin aynı frekanslara sahip bölgelerinin sekonder piklerdeki absorbans değişimleri Şekil 4.15 ve Şekil 4.16’ta gösterilmektedir. Bu sonuçlara göre hem *S. orientalis* hem de *A.laxiflora*’nın tohum, protokorm-primordium ve fidelerinde görülen 1233-1227 ve 1032-1020 cm⁻¹ pik değerleri polisakkarit çeşitliliği, *A.laxiflora* görülen 1640-1612 cm⁻¹ pik aralıkları protein çeşitliliği, *S.orientalis* görülen 1318-1312 cm⁻¹ pik aralığı ise polisakkaritler bakımından farklılık göstermektedir.



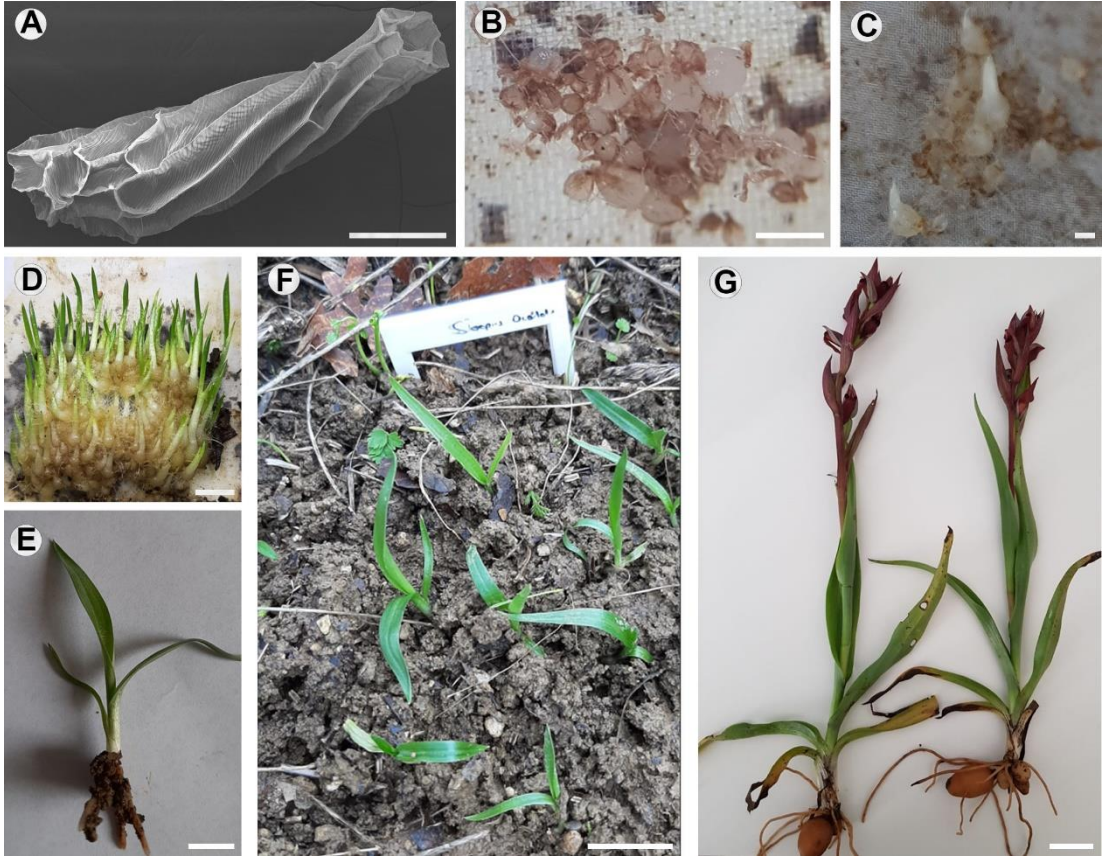
Şekil 4.15 *S. orientalis* A) absorbans spektrumlarının sahip tüm numunelerin ikinci türev spektrumları B) 1318-1312 cm^{-1} , C) 1233-1227 cm^{-1} D) 1032-1020 cm^{-1} aralığında frekanslardaki kaymaların tespiti ve ikinci türev üzerindeki absorbans farklarının belirlenmesi



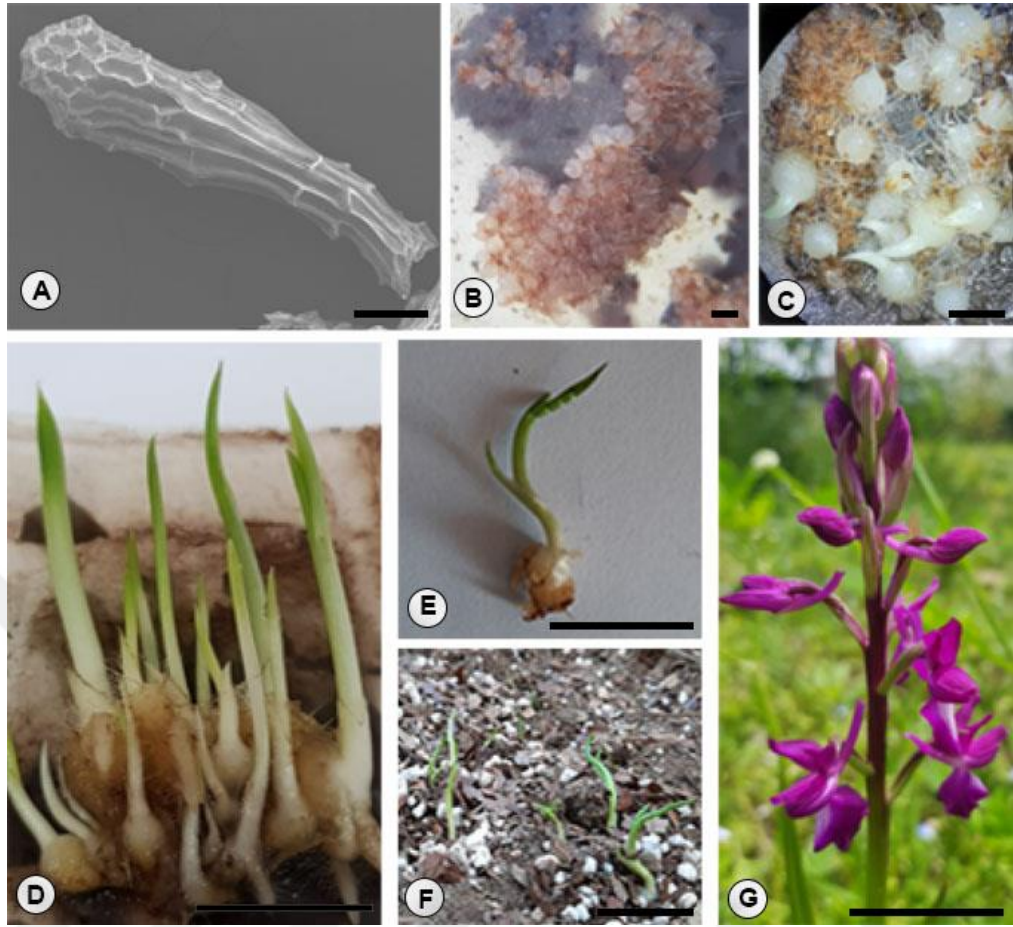
Şekil 4.16 *A. laxiflora* A) Absorbans spektrumlarının sahip tüm numunelerin ikinci türev spektrumları B) 1640-1612 cm^{-1} , C) 1233-1227 cm^{-1} D) 1032-1020 cm^{-1} aralığında frekanslardaki kaymaların tespiti ve ikinci türev üzerindeki absorbans farklarının belirlenmesi

4.5. Orkidelerin Doğal Alanlara Fide Dikimi ve Çiçeklenme Dönemi

Ex vitro simbiyotik yöntem kullanılarak üretilen fidelerden yaklaşık eşit büyüklükte olan 30 fide (yaklaşık 2-3 cm) seçilip sonbaharda (Kasım) doğal bir alana dikildi. Fide dikiminden sonra ilkbahara kadar periyodik olarak takip edildi ve 28 hafta (7 ay) sonra (Nisan ayında) fideler topraktan söküldü ve yumru oluşum oranı belirlendi. Yumruların ölçümleri alındıktan sonra tekrar aynı alana dikildi ve çiçeklenme sürecine kadar takip edildi. Çiçeklenme, *S. orientalis* ve *A. laxiflora* fidelerinin doğal alana dikilmesinden 30 ay sonra (Kasım 2020'dan Mayıs 2023'ye kadar - yaklaşık 2,5 yıl) meydana geldi. *S. orientalis* ve *A. laxiflora*'nın tohumdan çiçekli bireylere kadar olan gelişimleri sırasıyla Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de gösterilmektedir.



Şekil 4.17 *S. orientalis*'in tohumdan çiçek aşamasına kadar gelişimi A) tohumunun elektron mikroskobu görüntüsü, B) protokorm C) primordium, D) fide, E) iki veya daha fazla yapraklı fide, F) doğal alana dikilen fideler, G) çiçekli bireyler



Şekil 4.18 *A. laxiflora*'nın tohumdan çiçek aşamasına kadar gelişimi A) tohumunun elektron mikroskobu görüntüsü, B) protokorm C) primordium, D) fide, E) iki veya daha fazla yapraklı fide, F) doğal alana dikilen fideler, G) çiçekli bireyler

4.6. 4.6. Yağ Asitleri Analizi

S. orientalis ve *A. laxiflora*'nın toprak üstü kısımlarının yağ asitlerinin RT (tutma süresi), moleküler formül ve ağırlıkları ve pik yüzde alanları Tablo 4.8 ve Tablo 4.9'da, GC-MS piklerinin genel görünüşleri ise Şekil 4.19 ve Şekil 4.20'de gösterilmektedir. Bu sonuçlara göre *S. orientalis* 'de 28 bileşik tespit edildi. Tespit edilen yağ asitlerinden, Linoleik asit (%21,72), palmitik asit (%20,22), alpha linoleik asit (%16,87), oleik asit (%8,67), arasidik asit (%6,81) en bol bulunan bileşikler olduğu tespit edildi. *A. laxiflora*'da ise 26 bileşik tespit edilmiştir. Tespit edilen yağ asitlerinden linoleik asit (%21,72), palmitik asit (%20,22), alpha linoleik asit (%16,87), behenik asit (%4,70) ve stearik asit (%4,50) en bol bulunan bileşiklerdir.

Tablo 4.8 *S. orientalis* toprak üstü kısımlarının yağ asitleri ($\pm$ Standart sapma, n = 3)

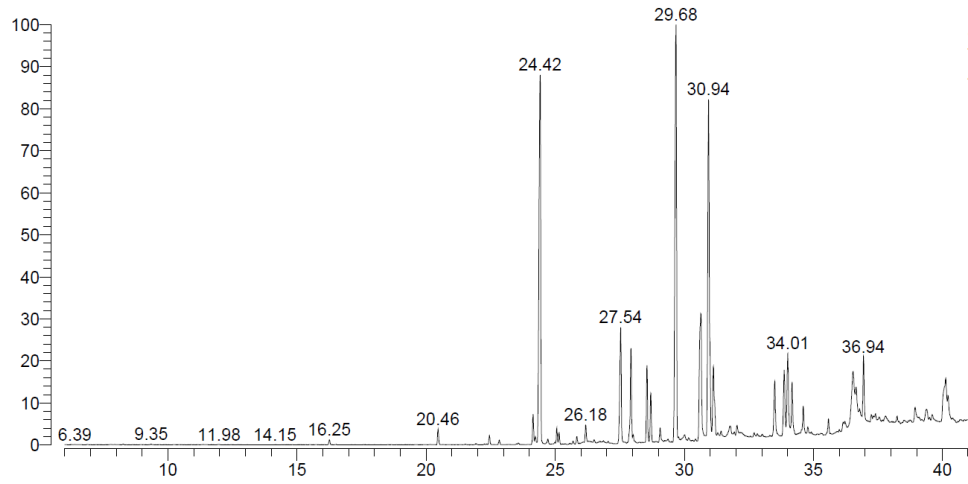
No	Yağ asitleri	Tutma Süresi (dakika)	Moleküler formül	Moleküler kütle	% Alan
1	Undekanoik asit	14.08	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186.29	0.16 $\pm$ 0.01
2	Laurik asit	16.24	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.32	0.30 $\pm$ 0.15
3	Miristik asit	20.46	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228.37	0.83 $\pm$ 0.02
4	Pentadekanoik asit	22.44	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242.40	0.46 $\pm$ 0.01
5	Palmitik asit	24.42	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42	20.22 $\pm$ 0.13
6	Palmitoleik asit	25.06	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254.41	0.52 $\pm$ 0.03
7	Heptadesenoik asit	25.84	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268.4	0.44 $\pm$ 0.05
8	cis-10-Heptadesenoik asit	26.50	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268.4	0.23 $\pm$ 0.02
9	Stearik asit	27.94	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.5	6.13 $\pm$ 0.03
10	Oleik asit	28.56	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.5	8.67 $\pm$ 0.07
11	Elaidik Asit	28.70	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.5	1.41 $\pm$ 0.03
12	Linoleik asit	29.68	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.40	21.72 $\pm$ 0.19
13	gama-Linolenik asit	30.17	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278.4	0.44 $\pm$ 0.07
14	alfa -Linolenik asit	30.93	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278,43	16.87 $\pm$ 0.12
15	Arakidik asit	31.15	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326.60	6.81 $\pm$ 0.05
16	cis-11-Eikosenoik asit	31.78	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310.5	1.18 $\pm$ 0.05
17	Linoelaidik asit	32.05	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.4	0.67 $\pm$ 0.06
18	cis-11,14-Eikosadienoik asit	32.70	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308.5	0.27 $\pm$ 0.02
19	Heneikosanoik asit	33.01	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326.6	0.15 $\pm$ 0.01
20	Arakidonik asit	33.31	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304.5	0.11 $\pm$ 0.03
21	cis-8,11,14-Eikosatrienoik asit	33.52	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	320.5	2.69 $\pm$ 0.07
22	Behenik asit	34.18	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	340.6	3.35 $\pm$ 0.37
23	Erusik asit	34.61	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	338.6	1.46 $\pm$ 0.23
24	cis-5,8,11,14,17-Eikosapentaenoik asit	35.34	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	302.45	0.10 $\pm$ 0.03
25	13,16-Dokosadienoik asit	35.57	C ₂₂ H ₄₀ O ₂	336.6	0.80 $\pm$ 0.04
26	Lignoserik asit	36.94	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	368.6	2.71 $\pm$ 0.02
27	Nervonik asit	37.39	C ₂₄ H ₄₆ O ₂	366.6	0.91 $\pm$ 0.08
28	4,7,10,13,16,19-Dokosaheksaenoik asit	38.47	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	328.5	0.20 $\pm$ 0.08

*Standart sapma Formül: ($s_o = s/\sqrt{n}$)

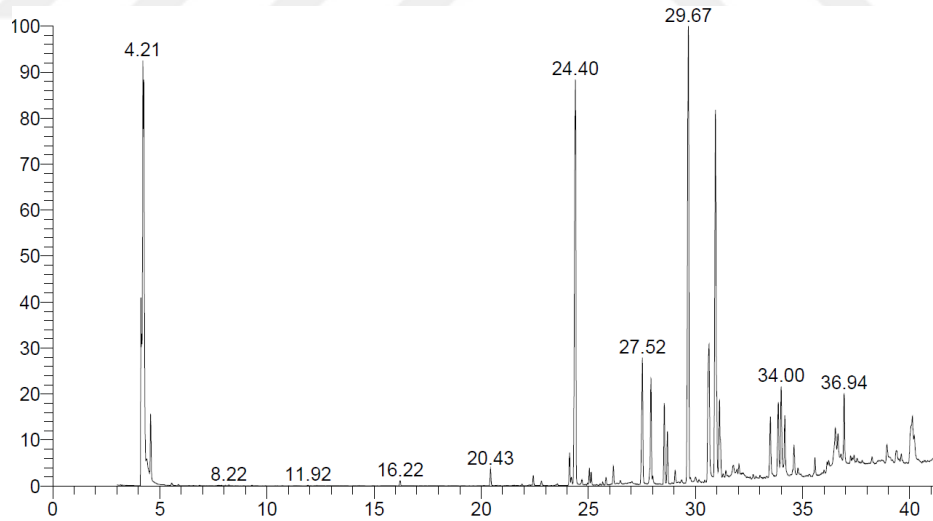
Tablo 4.9 *A. laxiflora* toprak üstü kısımlarının yağ asitleri ($\pm$ Standart sapma, n = 3)

No	Yağ asitleri	Tutma Süresi (dakika)	Moleküler formül	Moleküler kütle	% Alan
1	Laurik asit	16.22	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.32	0.23 $\pm$ 0.01
2	Miristik asit	20.43	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228.37	0.67 $\pm$ 0.05
3	Pentadekanoik asit	23.07	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242.40	0.39 $\pm$ 0.01
4	Palmitik asit	24.40	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42	23.55 $\pm$ 0.26
5	Palmitoleik asit	25.04	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254.41	0.62 $\pm$ 0.01
6	cis-10-Heptadesenoik asit	26.49	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268.4	0.17 $\pm$ 0.03
7	Stearik asit	27.92	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.5	4.50 $\pm$ 0.06
8	Oleik asit	28.69	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.5	2.44 $\pm$ 0.76
9	Elaidik Asit	28.70	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.5	2.08 $\pm$ 0.05
10	Linoleik asit	29.67	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.40	25.28 $\pm$ 0.28
11	gama-Linolenik asit	30.16	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278.4	0.15 $\pm$ 0.01
12	alfa -Linolenik asit	30.93	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278.43	20.68 $\pm$ 0.27
13	Arakidik asit	31.12	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326.60	4.11 $\pm$ 0.07
14	cis-11-Eikosenoik asit	31.77	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310.5	0.77 $\pm$ 0.15
15	Linoelaidik asit	32.03	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.4	0.61 $\pm$ 0.19
16	cis-11,14-Eikosadienoik asit	32.69	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308.5	0.77 $\pm$ 0.15
17	Heneikosanoik asit	33.01	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326.6	0.18 $\pm$ 0.05
18	cis-8,11,14-Eikosatrienoik asit	33.52	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	320.5	2.03 $\pm$ 0.17
19	Behenik asit	34.18	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	340.6	4.70 $\pm$ 0.03
20	Erusik asit	34.61	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	338.6	1.46 $\pm$ 0.11
21	Trikozonaik asit	35.24	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	354.6	0.21 $\pm$ 0.11
22	cis-5,8,11,14,17-Eikosapentaenoik asit	35.34	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	302.45	0.19 $\pm$ 0.04
23	13,16-Dokosadienoik asit	35.57	C ₂₂ H ₄₀ O ₂	336.6	0.93 $\pm$ 0.07
24	Lignoserik asit	36.94	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	368.6	2.80 $\pm$ 0.06
25	Nervonik asit	37.39	C ₂₄ H ₄₆ O ₂	366.6	0.38 $\pm$ 0.02
26	4,7,10,13,16,19-Dokosaheksaenoik asit	38.47	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	328.5	0.23 $\pm$ 0.09

*Standart sapma Formül: ($s_o = s/\sqrt{n}$)

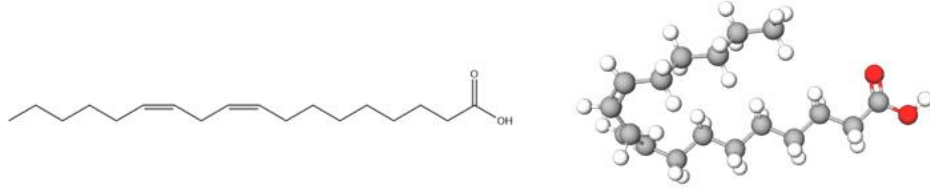


Şekil 4.19 *S. orientalis* yağ asitlerinin GC-MS pikleri

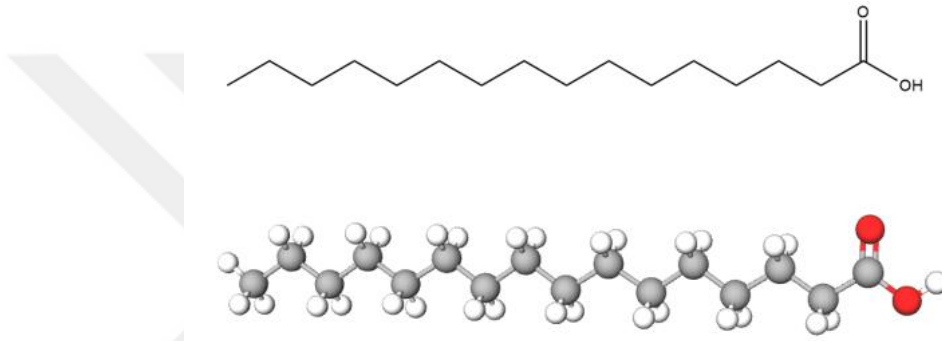


Şekil 4.20 *A. laxiflora* yağ asitlerinin GC-MS pikleri

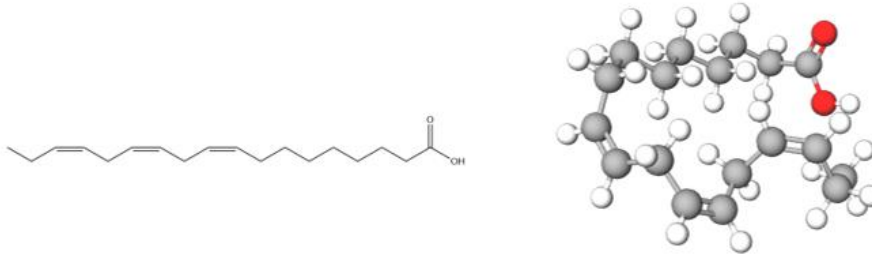
S. orientalis ve *A. laxiflora* orkidelerinin majör bileşiklerinin kimyasal çizimleri Şekil 4.21, 4.22, 4.23, 4.24, 4.25, 4.26 ve 4.27 gösterilmektedir.



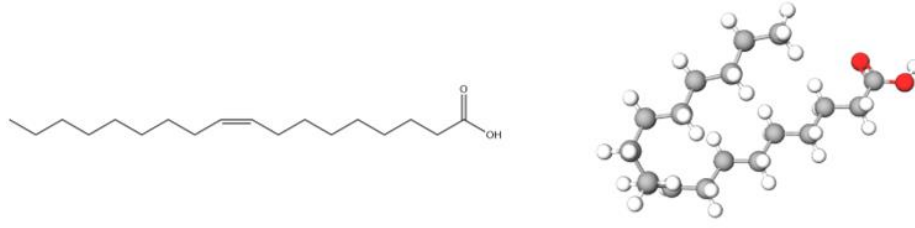
Şekil 4.21 Linoleik asit bileşiğinin iki ve üç boyutlu yapısı (*S. orientalis* %21,79, *A. laxiflora* %25,28)



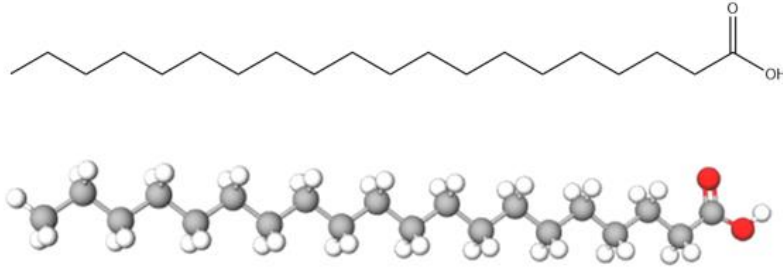
Şekil 4.22 Palmitik asit bileşiğinin iki ve üç boyutlu yapısı (*S. orientalis* %20,22, *A. laxiflora* %23,55)



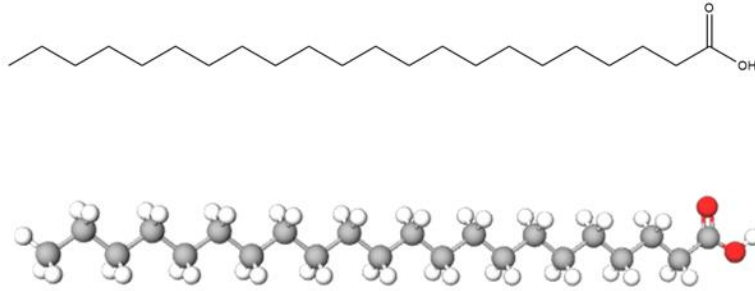
Şekil 4.23 Alfa linoleik asit bileşiğinin iki ve üç boyutlu yapısı (*S. orientalis* %16,87, *A. laxiflora* %20,68)



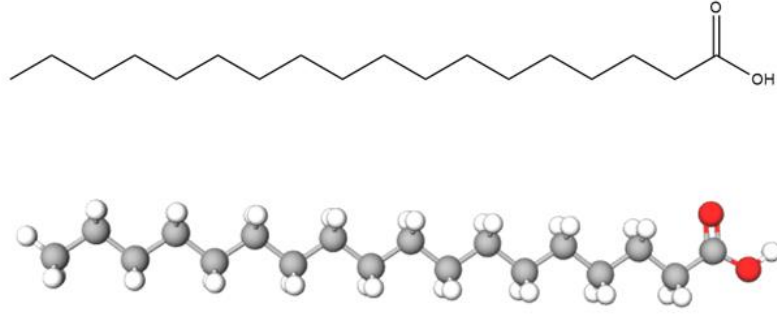
Şekil 4.24 Oleik asit bileşiğinin iki ve üç boyutlu yapısı (*S. orientalis* %8,67, *A.laxiflora* %2,44)



Şekil 4.25 Arakidik asit bileşiğinin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (*S. orientalis* %6,81, *A. laxiflora* %4,11)

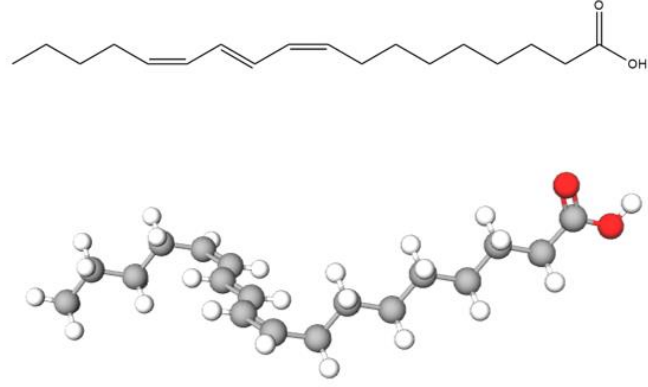


Şekil 4.26 Behenik asit bileşiğinin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (*S. orientalis* %3,35, *A. laxiflora* %4,70)

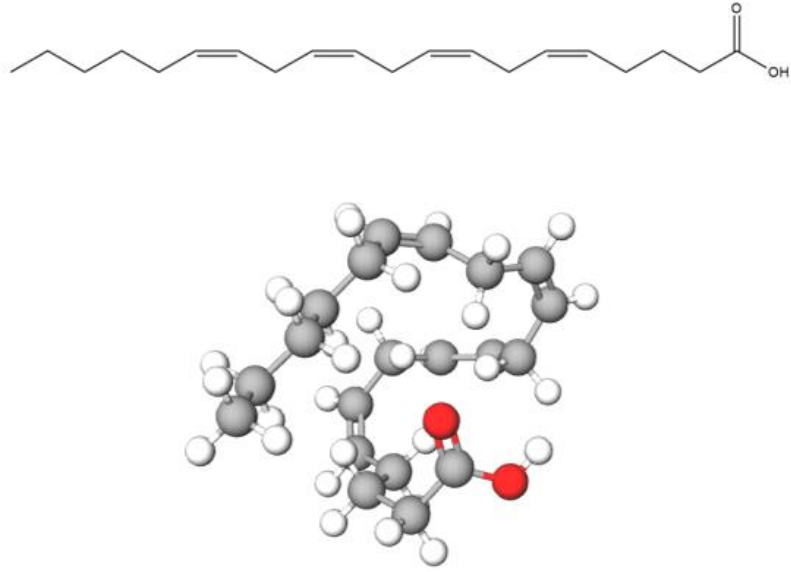


Şekil 4.27 Steraik asit bileşiğinin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (*S. orientalis* %6,13, *A. laxiflora* %4,50)

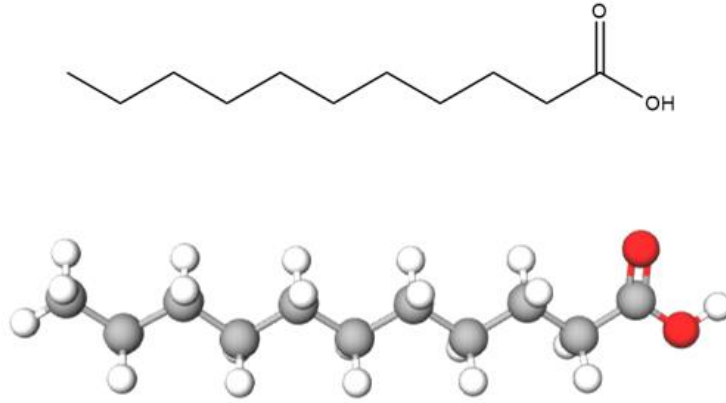
Ayrıca Venn ağı diyagramından *S. orientalis* ve *A. laxiflora*'da aynı ve farklı bulunan yağ asitleri Şekil 4.28'de gösterildi. Bu diyagrama göre *A. laxiflora* 'da trikosanoik asit (%0.21) ve *S. orientalis*'de arakidonik asit, heptadesenoik asit ve undekonoik asit varlığı açısından farklılık görülmüştür. Bu yağ asitlerinin iki boyutlu ve üç boyutlu çizimleri Şekil 4.29,4.30,4.31 ve 4.32'de gösterilmektedir.



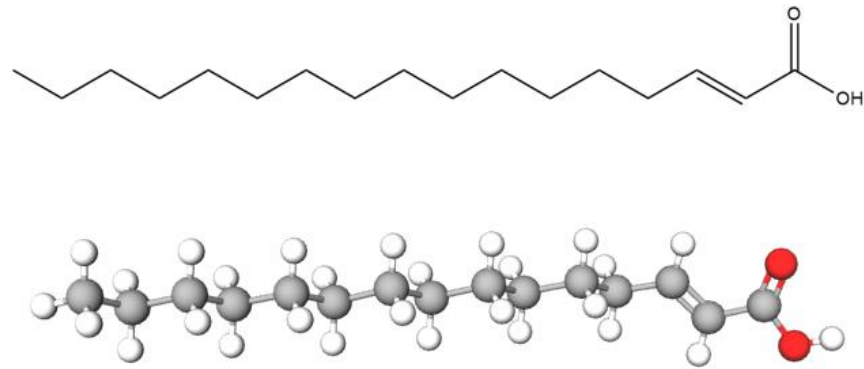
Şekil 4.29 *A.laxiflora*'da bulunan trikozonaik asit 2d ve 3d yapısı (%0,21)



Şekil 4.30 *S. orientalis* 'de bulunan arakidonik asit iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (%0,11)



Şekil 4.31 *S. orientalis* 'de bulunan undekonoik asit iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (%0,16)



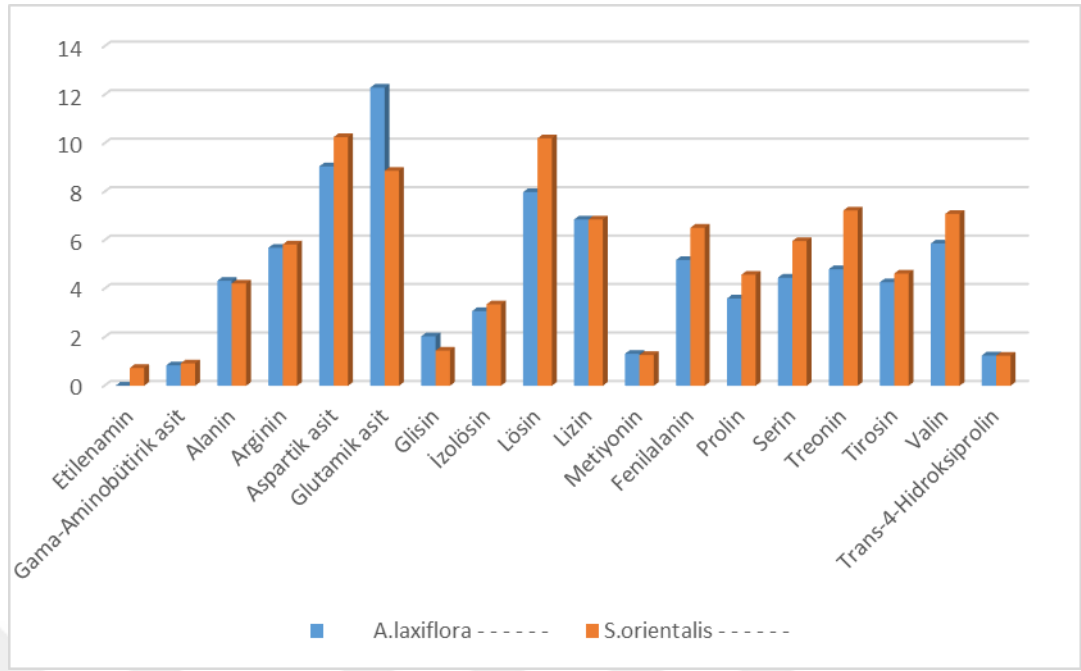
Şekil 4.32 *S. orientalis* 'de bulunan heptadesenoik asit 2d ve 3d yapısı (%0,44)

4.7. 4.7. LC-MS ile Amino Asit Miktar Analizi

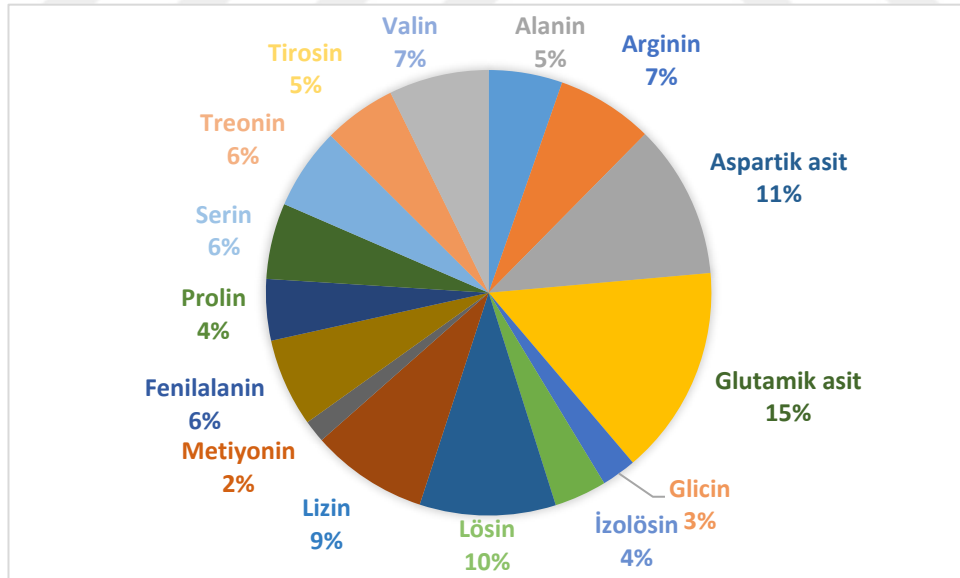
S. orientalis ve *A. laxiflora*'nın toprak üstü kısımlarının LS-MS ile analizi sonucunda sırasıyla 18 ve 19 aminoasit tespiti edilerek miktarları Tablo 4.10'da gösterilmektedir. Her iki türde de bulunan aminoasitler gama-aminobütirik asit, alanin, arginin, aspartik asit, glutamik asit, glisin, izolösin, lösin, lizin, metiyonin, fenilalanin, prolin, serin, treonin, tirosin, valin ve trans-4-hidroksipirolin olarak bulundu. Tespit edilen aminoasitlerin karşılaştırılması Şekil 4.33, yüzdeleri ise Şekil 4.34 ve Şekil 4.35 gösterildi. Ayrıca bu aminoasitlerin özellikleri, moleküler formülleri ve moleküler ağırlıkları Tablo 4.11'de gösterildi. Ek olarak aminoasitlerin moleküler yapılarının iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı Şekil 4.36-53 arasında gösterildi.

Tablo 4.10 *A. laxiflora* ve *S. orientalis* aminoasit analiz sonuçları ($\pm$ Standart sapma, n = 3)

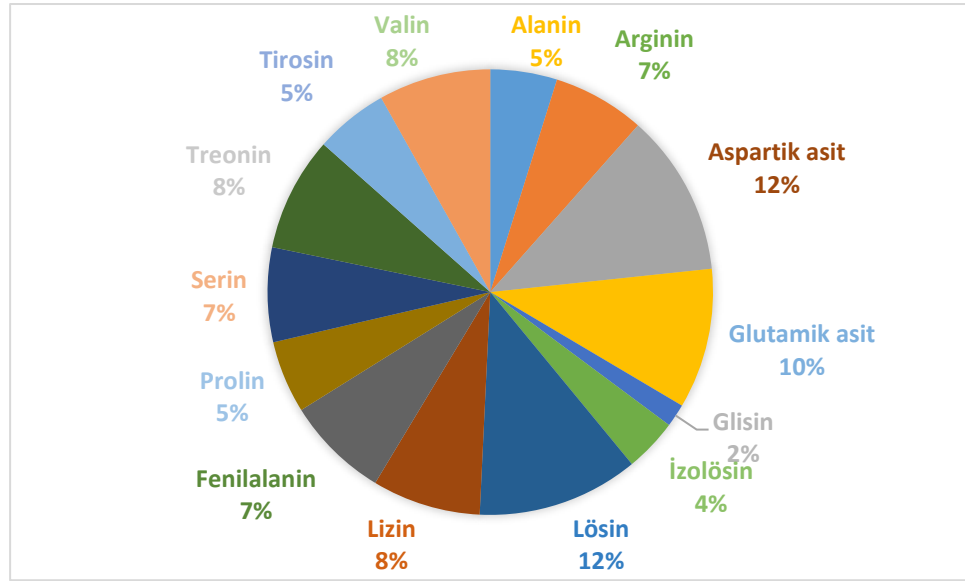
Aminoasit	<i>A. laxiflora</i> (mg/g)	<i>S. orientalis</i> (mg/g)
1-Metilhistidin	-	-
3-Aminoizobütirik asit	-	-
3-Metilhistidin	-	-
Beta-Alanin	-	-
5-Hidroksi Lizin	-	-
Homosistein	-	-
Etilenamin	0,734 $\pm$ 0,01	-
Gama-Aminobütirik asit	0,924 $\pm$ 0,01	0,845 $\pm$ 0,01
2-Aminobütirik asit	-	-
Alanin	4,22 $\pm$ 0,01	4,33 $\pm$ 0,01
Anserin	-	-
Arginin	5,83 $\pm$ 0,06	5,69 $\pm$ 0,01
Asparajin	-	-
Aspartik asit	10,26 $\pm$ 0,01	9,05 $\pm$ 0,01
Karnosin	-	-
Sitrulin	-	-
Sistationin	-	-
Sistein	-	-
Glutamik asit	8,87 $\pm$ 0,12	12,30 $\pm$ 0,13
Glutamin	-	-
Glisin	1,45 $\pm$ 0,06	2,04 $\pm$ 0,02
Histidin	-	-
Homositrulin	-	-
İzolösin	3,36 $\pm$ 0,04	3,08 $\pm$ 0,01
Lösin	10,21 $\pm$ 0,06	7,99 $\pm$ 0,01
Lizin	6,86 $\pm$ 0,01	6,86 $\pm$ 0,01
Metiyonin	1,27 $\pm$ 0,01	1,32 $\pm$ 0,01
Norvalin	-	-
Ornithin	-	-
Fenilalanin	6,52 $\pm$ 0,01	5,19 $\pm$ 0,04
Prolin	4,58 $\pm$ 0,01	3,60 $\pm$ 0,01
Serin	5,97 $\pm$ 0,04	4,46 $\pm$ 0,04
Treonin	7,23 $\pm$ 0,02	4,81 $\pm$ 0,06
Triptofan	-	-
Tirosin	4,63 $\pm$ 0,01	4,27 $\pm$ 0,06
Valin	7,09 $\pm$ 0,04	5,87 $\pm$ 0,08
Sarkozin	-	-
Taurin	-	-
Trans-4-Hidroksiprolin	1,24 $\pm$ 0,02	1,25 $\pm$ 0,01



Şekil 4.33 *A. laxiflora* ve *S. orientalis*’in aminoasit miktarlarının karşılaştırılması (mg/g)



Şekil 4.34 *S. orientalis*’in aminoasit yüzdesi



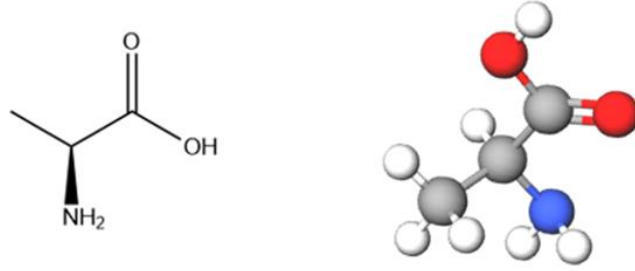
Şekil 4.35 *A. laxiflora* 'nın aminoasit yüzdesi

Tablo 4.11 *A. laxiflora* ve *S. orientalis* 'de bulunan aminoasitlerin kimyasal özellikleri

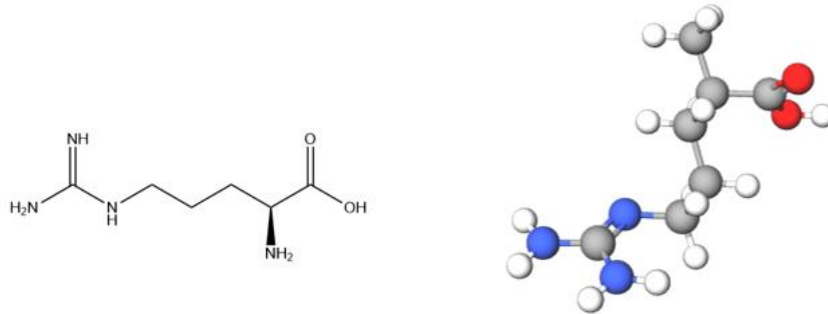
Aminoasit	Özellik	Moleküler Formül	Moleküler Kütlesi g/mol
Etilendiamin	Özel aminoasit	$C_2H_8N_2$	61,08
Gama-Aminobütirik asit	Özel aminoasit	$C_4H_9NO_2$	103,12
Alanin	Esansiyel olmayan aminoasit	$C_3H_7NO_2$	89,09
Arginin	Esansiyel aminoasit	$C_6H_{14}N_4O_2$	174,2
Aspartik asit	Esansiyel olmayan aminoasit	$C_4H_7NO_4$	133,1
Glutamik asit	Esansiyel olmayan aminoasit	$C_5H_9NO_4$	147,13
Glisin	Esansiyel olmayan aminoasit	$C_2H_5NO_2$	75,07
İzolösün	Esansiyel aminoasit	$C_6H_{13}NO_2$	131,17
Lösin	Esansiyel aminoasit	$C_6H_{13}NO_2$	131,17
Lizin	Esansiyel aminoasit	$C_6H_{14}N_2O_2$	146,19
Metiyonin	Esansiyel aminoasit	$C_5H_{11}NO_2S$	149,21
Fenilalanin	Esansiyel aminoasit	$C_9H_{11}NO_2$	165,19
Prolin	Esansiyel olmayan aminoasit	$C_5H_9NO_2$	115,13
Serin	Esansiyel olmayan aminoasit	$C_3H_7NO_3$	105,09
Treonin	Esansiyel aminoasit	$C_4H_9NO_3$	119,12
Tirozin	Esansiyel olmayan aminoasit	$C_9H_{11}NO_3$	181,19
Valin	Esansiyel aminoasit	$C_5H_{11}NO_2$	117,15
Trans-4-Hidroksiprolin	Özel aminoasit	$C_5H_9NO_3$	131,13



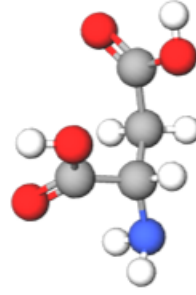
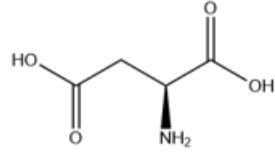
Şekil 4.36 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan gama-aminobütirik asit iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (0,845 ve 0,924 g/gr)



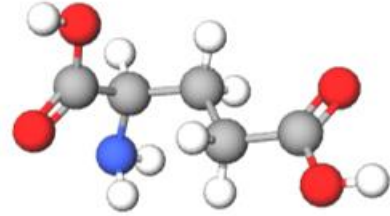
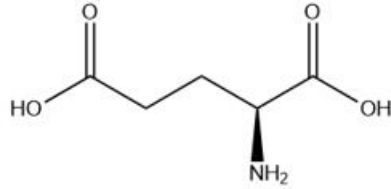
Şekil 4.37 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan alanin'in iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (4,33 ve 4,22 mg/gr)



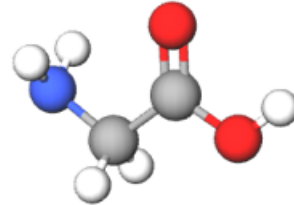
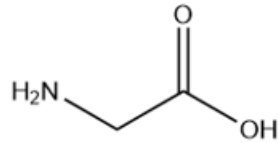
Şekil 4.38 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan arginin'in iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (5,69 ve 5,83 mg/gr)



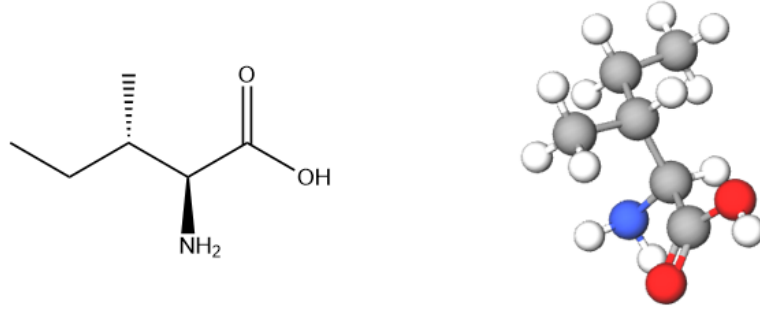
Şekil 4.39 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan aspartik asit iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (9,05 ve 10.26 mg/gr)



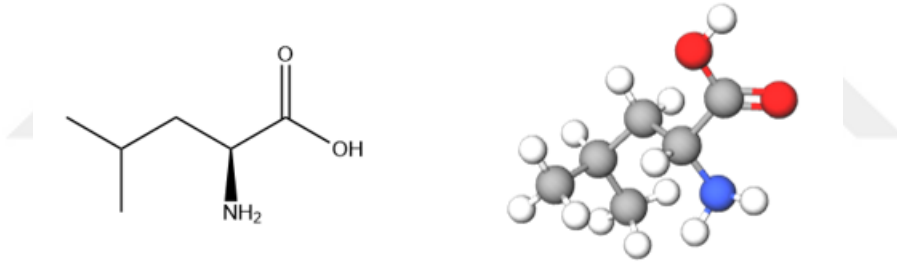
Şekil 4.40 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan glutamik asit iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (12,30 ve 8.87 mg/gr)



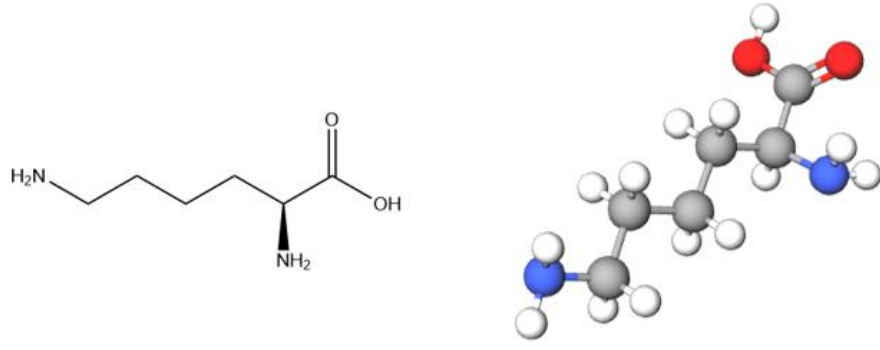
Şekil 4.41 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan glisinin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (2,04 ve 1,45 mg/gr)



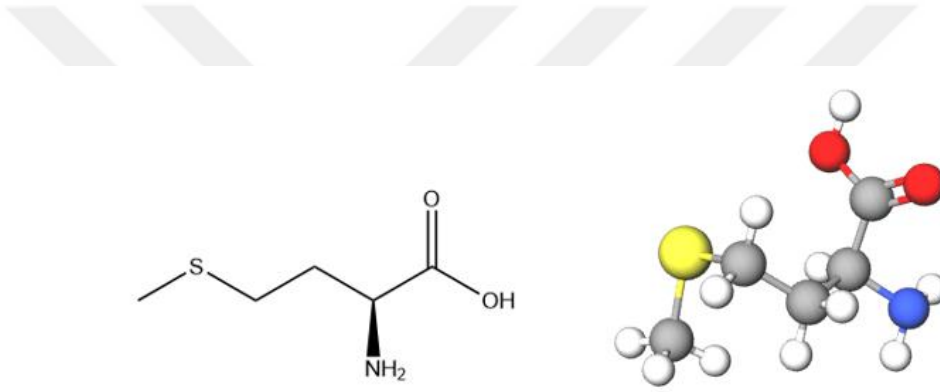
Şekil 4.42 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan izolösinin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (3,08 ve 3,36 mg/gr)



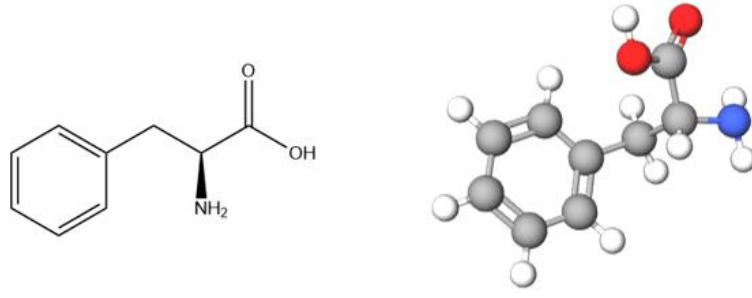
Şekil 4.43 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan lösin'in iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (7,99 ve 10.21 mg/gr)



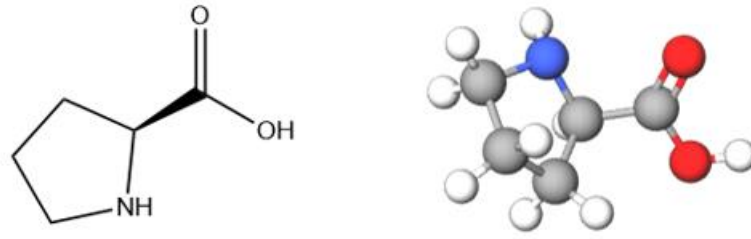
Şekil 4.44 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan lizinin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (6,86 mg/gr)



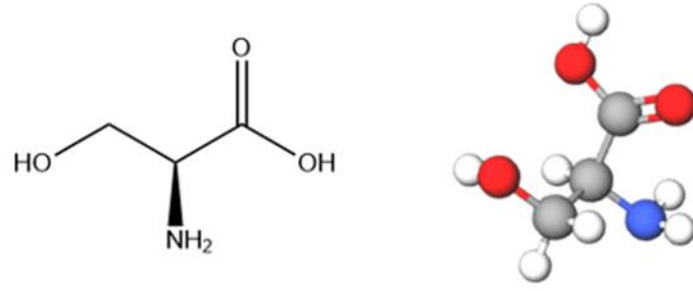
Şekil 4.45 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan metiyoninin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (1,32 ve 1,27 mg/gr)



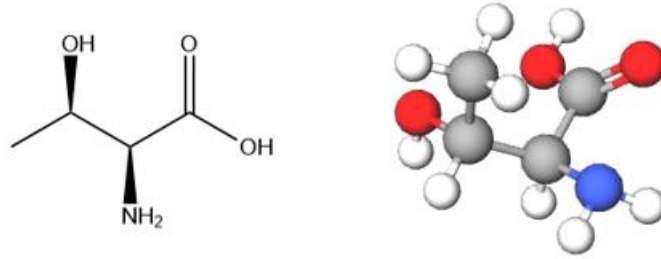
Şekil 4.46 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan fenialenin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (5,19 ve 6,52 mg/gr)



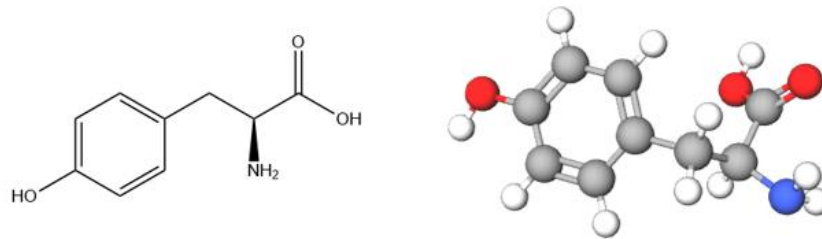
Şekil 4.47 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan prolin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (3,60 ve 4,58 mg/gr)



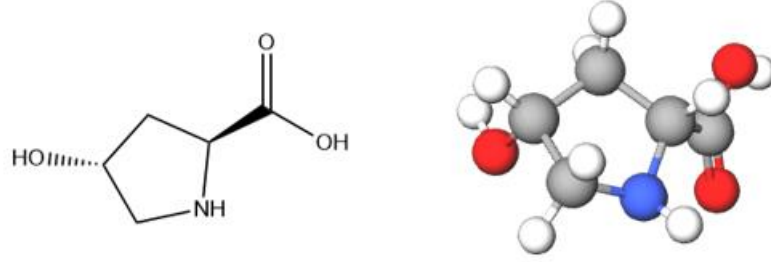
Şekil 4.48 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan serin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (4,46 ve 5,97 mg/gr)



Şekil 4.49 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan treonin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (4,81 ve 7,23 mg/gr)



Şekil 4.50 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan tirozin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (4,27 ve 4,63 mg/gr)

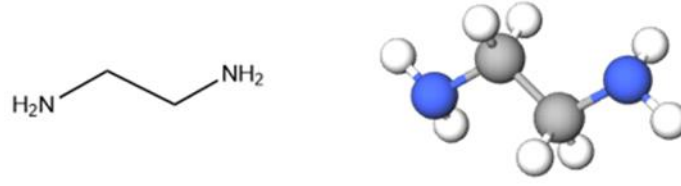


Şekil 4.51 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan valin'in iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (5,87 ve 7,09 mg/gr)



Şekil 4.52 *S. orientalis* ve *A.laxiflora* bulunan trans-4-hidroksiprolin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (1,25 ve 1,24 mg/gr)

A.laxiflora 'da *S.orientalis* 'den farklı olarak etilenamin aminoasiti tespit edildi ve Şekil 4.53'de gösterildi.

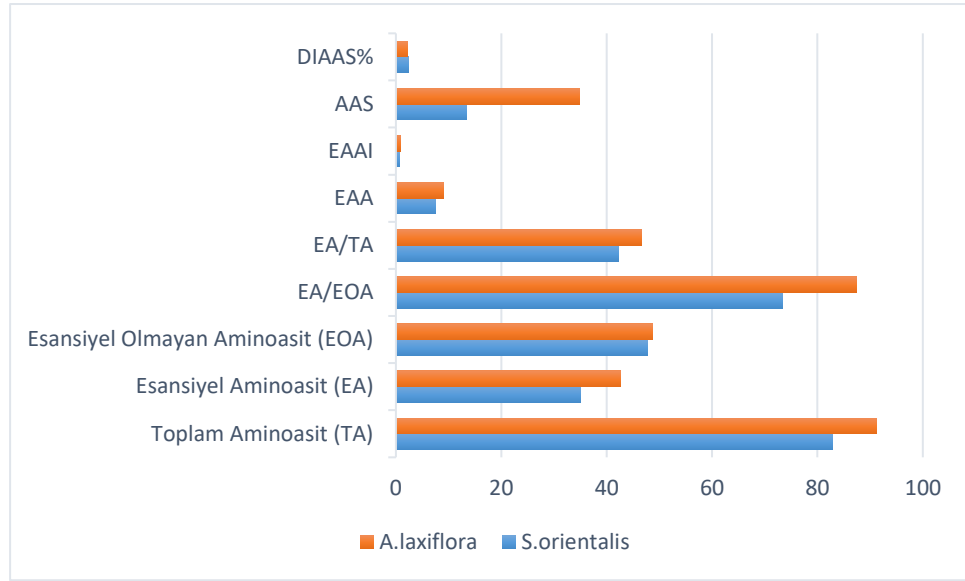


Şekil 4.53 *A.laxiflora* bulunan etilenamin iki boyutlu ve üç boyutlu yapısı (0,734 mg/gr)

Aminoasit analizi sonucunda toplam aminoasit (TA), esansiyel aminoasitler (EA), esansiyel olmayan aminoasitler (EOA), %EA/EOA, EA/TA, esansiyel aminoasit skoru (EAA), esansiyel aminoasit indeksi (EAAI), aminoasit skoru (AAS) ve diyet proteininin birimi başına en düşük sindirilebilir esansiyel aminoasit yüzdeleri (DIAAS) Tablo 4.12’de *A.laxiflora* ve *S.orientalis* kalite parametrelerinin karşılaştırmaları ise Şekil 3.54 gösterilmektedir. Bu sonuçlara göre *A. laxiflora* TA, EA, EOA, %EA/EOA, EA/TA, EAA, EAAI ve AAS parametreleri *S. orientalis* göre daha fazla çıkarken %DIAAS daha düşük çıkmıştır.

Tablo 4.12 Tespit edilen aminoasitlerin kalite parametreleri

Parametreler	<i>S. orientalis</i>	<i>A. laxiflora</i>
Toplam aminoasit (TA)	82,95	91,24
Esansiyel aminoasit (EA)	35,12	42,54
Esansiyel olmayan aminoasit (EOA)	47,83	48,70
EA/EOA %	73,41	87,33
EA/TA	42,33	46,62
EAA	7,53	9,12
EAAI	0,62	0,79
AAS	13,40	34,82
DIAAS%	2,31	2,22



Şekil 4.54 Aminoasit kalite parametrelerinin karşılaştırılması

4.8. GC-MS Genel Kütüphane Taraması

S. orientalis'in tohum ve toprak üstü kısımlarının metanol ekstresinin çeşitli biyoaktif içerdiği tespit edildi. Tutma süresi (RT), moleküler formül, moleküler ağırlık (MW), konsantrasyon (% pik alan) Tablo 4.13 ve Tablo 4.14'te gösterilmektedir. Bu sonuçlara göre tohumlarda 19, toprak üstü kısımlarda ise 20 fitokimyasal bileşik belirlendi. Tohum kısmının ana bileşenleri 2,2-dimetoksi-butan (%18,03), bütirik asit hidrazid (%12,84), butil 2-(2-(2-butoksi etoksi) etoksi) asetat (%8,19), silan, dimetoksimetil- (%7,96), toprak üstü kısımlarının ise pentakozan (%39,85), kolesterol (%13,05), hidroksiasetik asit, hidrazid (7,38), dl-gliseraldehit (%5,42) ve semikarbazit hidroklorür (%5,06) olarak tespit edilmiştir. *S. orientalis* tohum ve toprak üstü kısımlarında ortak olan tek madde hidroksiasetik asit, hidrazid olarak belirlendi ve Venn ağı Şekil 4.55 gösterildi.

A.laxiflora'nın tohum ve toprak üstü kısımlarının metanol ekstresinin çeşitli biyoaktif içerikleri tespit edildi. Tutma süresi (RT), moleküler formül, moleküler kütle (MM), konsantrasyon (% pik alan) Tablo 4.15 ve Tablo 4.16'da gösterilmektedir. Bu sonuçlara göre tohumlarda 18, toprak üstü kısımlarda ise 19 fitokimyasal bileşik bulunmaktadır. Tohum kısmının ana bileşenleri Hidroksiasetik asit, hidrazid (%20,26), 2,2-dimetoksi-butan (%19,51), 2-propoksi-etanol (%12,28), Hidrazinkarbotionamid (%7,21), 1,3-Dioksolan-4-metanol, 2-etil- (%6,12) toprak üstü kısımlarının ise Salisil (%20,76), 3-Hidroksi butanoik asit (%6,80), 1,1-Dipropoksi

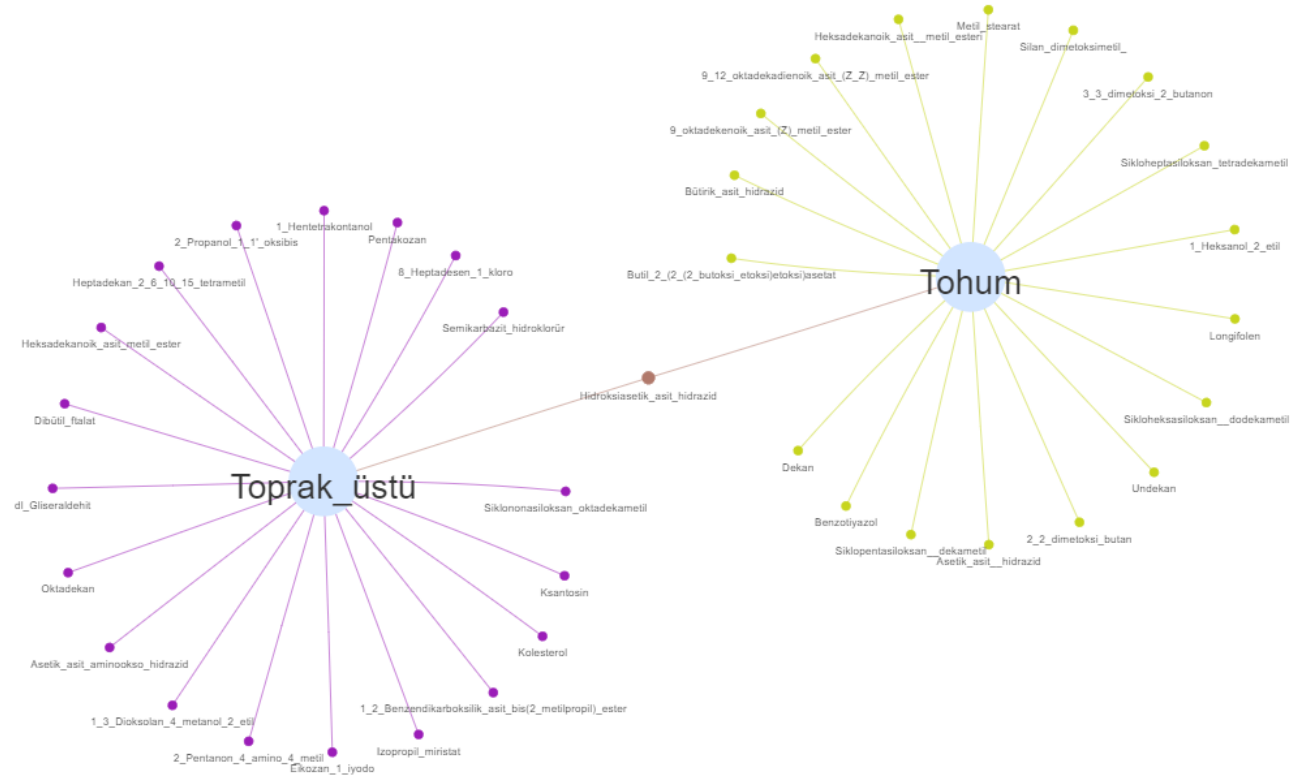
propan (6,51), 2-Deoksi-D-galaktoz (%5,15) olarak tespit edilmiştir. *A. laxiflora* tohum ve toprak üstü kısımlarında ortak olan tek madde 1,2-etandiol olarak tespit edilmiştir ve Venn ağı Şekil 4.56 gösterildi.

Tablo 4.13 *S. orientalis* tohumlarının GC-MS analiz sonuçları

No	Bileşik Adı	Tutma Süresi (dakika)	Moleküler Formül	Moleküler Ağırlık	Pik Alanı%
1	Hidroksiasetik asit, hidrazid	3.056	C ₂ H ₆ N ₂ O ₂	90.08	5.85
2	Bütirik asit hidrazid	3.260	C ₄ H ₁₀ N ₂ O	102.14	12.84
3	Silan, dimetoksimetil-	3.474	C ₃ H ₉ O ₂ Si	105.19	7.96
4	Asetik asit, hidrazid	4.010	C ₂ H ₆ N ₂ O	74.08	0.61
5	2,2-dimetoksi-butan	5.027	C ₆ H ₁₄ O ₂	118.17	18.03
6	3,3-dimetoksi-2-butanon	7.111	C ₆ H ₁₂ O ₃	132.16	3.86
7	Butil 2-(2-(2-butoksi etoksi) etoksi)asetat	7.311	C ₁₀ H ₂₀ O ₄	204.26	8.19
8	Dekan	10.502	C ₁₀ H ₂₂	142.28	4.51
9	1-Heksanol, 2-etil-	11.110	C ₈ H ₁₈ O	130.22	0.28
10	Undekan	12.384	C ₁₁ H ₂₄	156.31	2.09
11	Siklopentasiloksan, dekametil-	13.265	C ₁₀ H ₃₀ O ₅ Si ₅	370.77	0.32
12	Benzotiyazol	14.672	C ₇ H ₅ NS	135.19	0.73
13	Sikloheksasiloksan, dodekametil-	15.976	C ₁₂ H ₃₆ O ₆ Si ₆	444,92	0.41
14	Longifolen	17.695	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.59
15	Sikloheptasiloksan, tetradekametil-	19.129	C ₁₄ H ₄₂ O ₇ Si ₇	519.07	0.21
16	Heksadekanoik asit, metil ester	34.967	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.45	3.42
17	9,12-oktadekadienoik asit (Z, Z)-, metil ester	42.417	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294.47	5.30
18	9-oktadekenoik asit (Z)-, metil ester	42.689	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	294.48	3.79
19	Metil stearat	43.883	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298.5	2.12

Tablo 4.14 *S.orientalis* toprak üstü kısımlarının GC-MS analiz sonuçları

No	Bileşik Adı	Tutma Süresi (dakika)	Moleküler Formül	Moleküler Ağırlık	Pik Alanı%
1	Hidroksiasetik asit, hidrazid	3.046	C ₂ H ₆ N ₂ O ₂	90.08	7.38
2	Semikarbazit hidroklorür	3.215	CH ₆ ClN ₃ O	111.53	5.06
3	Asetik asit, aminookso-, hidrazid	3.295	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₃ S	266.28	5.34
4	Dl-gliseraldehit	3.417	C ₃ H ₆ O ₃	90.08	5.42
5	2-Propanol, 1,1'-oksibis-	3.742	C ₆ H ₁₄ O ₃	134.17	1.04
6	1,3-Dioksolan-4-metanol, 2-etil-	3.885	C ₆ H ₁₂ O ₃	132.16	0.20
7	2-Pentanon, 4-amino-4-metil-	24.109	C ₆ H ₁₃ NO	115.17	2.03
8	Ksantosin	32.247	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₆	284.23	1.05
9	Heptadekan, 2,6,10,15-tetrametil-	46.729	C ₂₁ H ₄₄	296.57	0.32
10	Izopropil miristat	47.381	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.50	0.45
11	Siklononasiloksan, oktadekametil	47.585	C ₁₈ H ₅₄ O ₉ Si ₉	667.40	0.78
12	1,2-Benzendikarboksilik asit, bis(2-metilpropil) ester	48.181	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	1.07
13	8-Heptadesen, 1-kloro-	48.425	C ₁₇ H ₃₃ Cl	272.90	0.38
14	Dibütil ftalat	49.790	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	0.30
15	Heksadekanoik asit, metil ester	50.234	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.45	2.68
16	Eikozan, 1-iyodo-	50.297	C ₂₀ H ₄₁ I	408.40	0.71
17	1-Hentetrakontanol	51.397	C ₄₁ H ₈₄ O	593.10	0.77
18	Oktadekan	51.562	C ₁₈ H ₃₈	254.50	0.77
19	Pentakozan	52.756	C ₂₅ H ₅₂	352.70	39.85
20	Kolesterol	54.896	C ₂₇ H ₄₆ O	386.70	13.05



Şekil 4.55 *S. orientalis* tohum ve toprak üstü kısımlarının Venn ağı

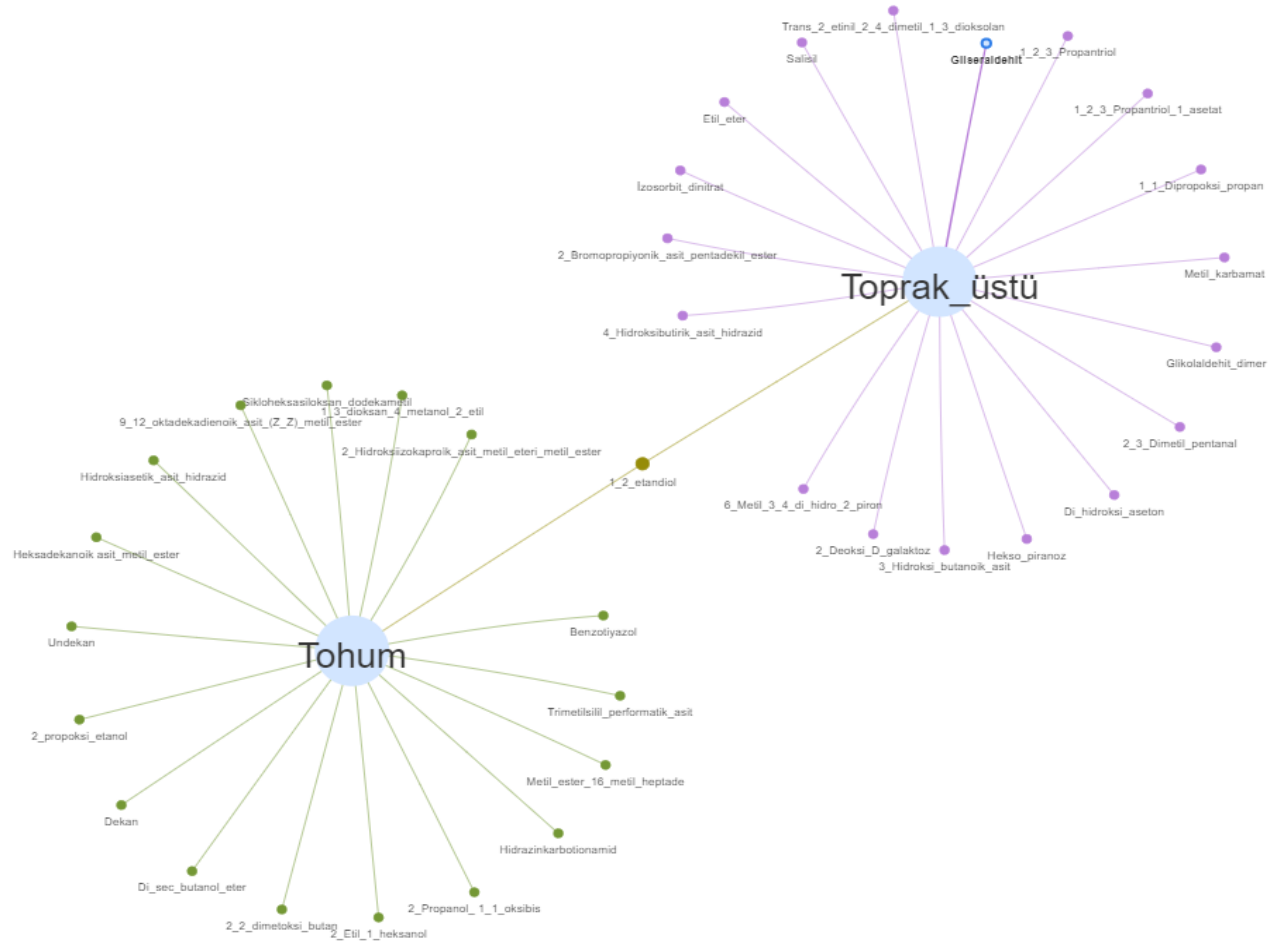
Tablo 4.15 *A. laxiflora* tohumlarının GC-MS analiz sonuçları

N o	Bileşik Adı	Tutma Süresi (dakika)	Moleküler Formül	Moleküler Ağırlık	Pik Alanı %
1	Hidroksiasetik asit, hidrazid	3.037	C ₂ H ₆ N ₂ O ₂	90.08	20.26
2	2-propoksi-etanol	3.280	C ₅ H ₁₂ O ₂	104.14	12.28
3	Hidrazinkarbotionamid	3.402	CH ₅ N ₃ S	91.135	7.21
4	Trimetilsilil performatik asit	3.472	C ₄ H ₁₀ O ₃ Si	134.21	5.58
5	1,2-etandiol	3.975	C ₂ H ₆ O ₂	62.06	0.67
6	2,2-dimetoksi-butan	5.027	C ₆ H ₁₄ O ₂	118.17	19.51
7	2-Propanol, 1,1'-oksibis-	7.107	C ₆ H ₁₄ O ₃	134.17	1.50
8	2-Hidroksiizokaproik asit, metil eteri, metil esteri	7.168	C ₈ H ₁₆ O ₃	160.21	3.05
9	Di-sec-butanol eteri	7.253	C ₈ H ₁₈ O	130.23	3.44
10	1,3-Dioksolan-4-metanol, 2- etil-	7.314	C ₆ H ₁₂ O ₃	132.16	6.12
11	Dekan	10.502	C ₁₀ H ₂₂	142.28	4.44
12	1-Heksanol, 2-etil-	11.112	C ₈ H ₁₈ O	130.22	0.32
13	Undekan	12.388	C ₁₁ H ₂₄	156.31	1.91
14	Benzotiyazol	14.674	C ₇ H ₅ NS	135.19	0.58
15	Sikloheksasiloksan, dodekametil-	15.980	C ₁₂ H ₃₆ O ₆ Si ₆	444.92	0.45
16	Heksadekanoik asit, metil ester	34.979	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.45	1.15
17	9,12-oktadekadienoik asit (Z, Z)-, metil ester	42.421	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294.47	2.34
18	Metil ester 16-metil heptade	43.902	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298.50	0.40

Tablo 4.16 A. *laxiflora* toprak üstü kısımlarının GC-MS analiz sonuçları

No	Bileşik Adı	Tutma Süresi (dakika)	Moleküler Formül	Moleküler Ağırlık	Pik Alanı%
1	Glikolaldehit dimer	3.056	C ₄ H ₈ O ₄	120.10	4.22
2	3-Hidroksi butanoik asit	3.410	C ₄ H ₈ O ₃	104.10	6.80
3	4-Hidroksibutirik asit hidrazid	3.640	C ₄ H ₁₀ N ₂ O ₂	118.13	2.61
4	1,1-Dipropoksi propan	3.744	C ₉ H ₂₀ O ₂	160.25	6.51
5	Gliseraldehit	4.280	C ₃ H ₆ O ₃	90.08	2.90
6	Metil karbamat	4.915	C ₂ H ₅ NO ₂	75.06	1.17
7	1,2-etandiol	4.957	C ₂ H ₆ O ₂	62.06	0.71
8	Di hidroksi aseton	5.109	C ₃ H ₆ O ₃	90.08	2.03
9	Etil eter	5.141	C ₄ H ₁₀ O	74.12	1.75
10	1,2,3-Propantriol	17.161	C ₃ H ₈ O ₃	92.09	4.58
11	6-Metil-3,4-di hidro-2-piron	18.981	C ₆ H ₈ O ₂	112.13	1.51
12	1,2,3-Propantriol, 1-asetat	23.422	C ₅ H ₁₀ O ₄	134.13	4.01
13	2,3-Dimetil pentanal	24.090	C ₇ H ₁₄ O	114.18	1.72
14	Trans-2-etinil-2,4-dimetil-1,3 dioksolan	25.311	C ₇ H ₁₂ O ₂	128.17	0.78
15	İzosorbit dinitrat	28.190	C ₆ H ₈ N ₂ O ₈	236.17	1.07
16	2-Deoksi-D-galaktoz	40.845	C ₆ H ₁₂ O ₅	164.16	5.15
17	Hekso piranoz	45.851	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.15	2.80
18	Salisil	51.995	C ₁₃ H ₁₈ O ₇	286.28	20.76
19	2-Bromopropiyonik asit, pentadekil ester	54.096	C ₁₈ H ₃₅ BrO ₂	364.40	4.08

S.orientalis ve *A. laxiflora* bütün kısımlarının ortak bileşiklerinin Venn ağı Şekil 4.56'de gösterildi.

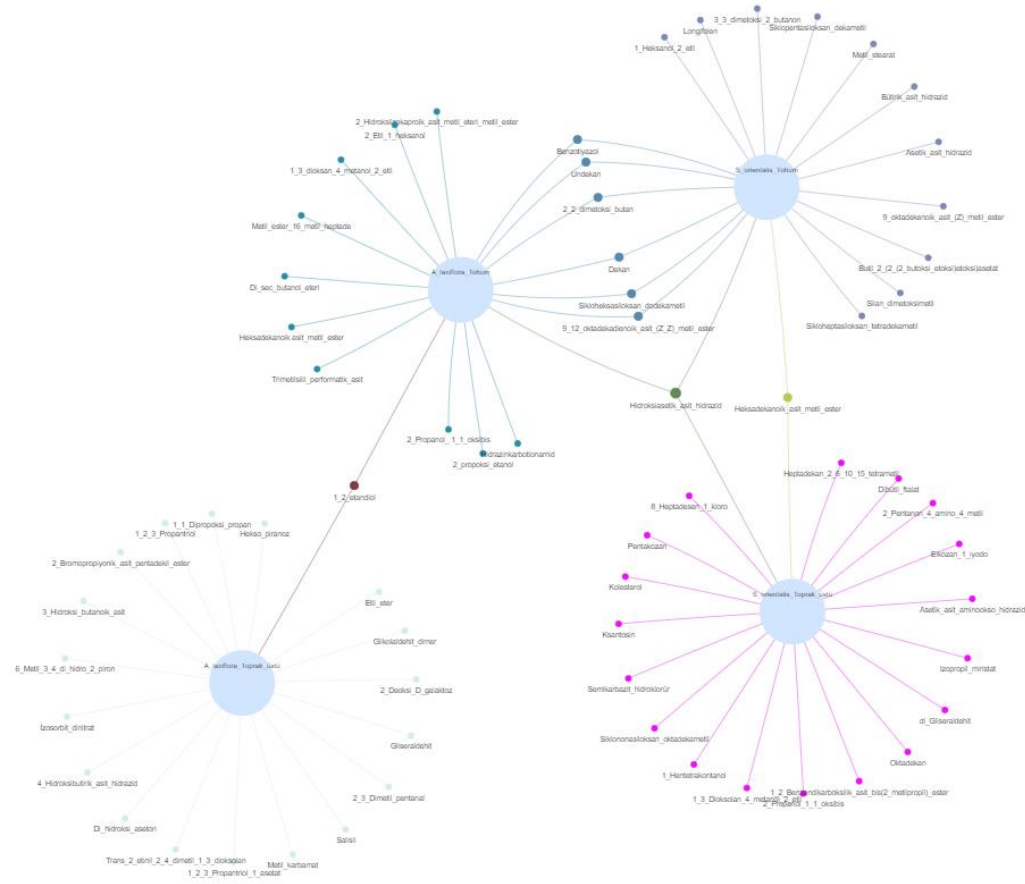


Şekil 4.56 A. *laxiflora* tohum ve toprak üstü kısımlarının Venn ağı

Bu sonuçlara göre *S. orientalis* ve *A. laxiflora* tohumlarında ortak olan moleküller, benzotiyazol, dekan, undekan, 2,2-dimetoksi-butan, sikloheksasiloksan, dodekametil- ve 9,12-oktadekadienoik asit (Z, Z)-, metil ester'dir.

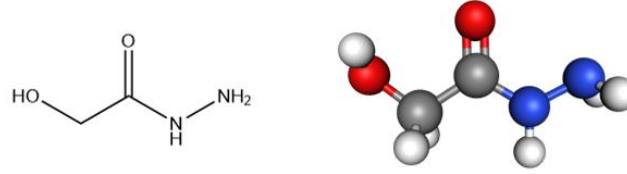
S. orientalis ve *A. laxiflora* bütün kısımlarının ortak bileşiklerinin Venn ağı Şekil 4.57'de gösterildi. Bu sonuçlara göre benzotiyazol, dekan, undekan, 2,2-dimetoksi-butan, sikloheksasiloksan, dodekametil- ve 9,12-oktadekadienoik asit (Z, Z)-, metil ester hem *S. orientalis* hem de *A. laxiflora* tohumlarında bulunmuştur.



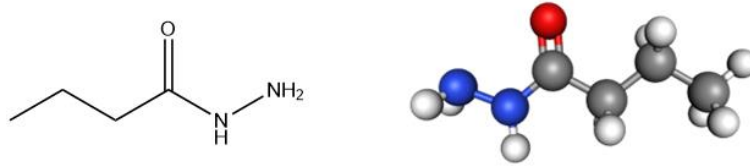


Şekil 4.57 *S.orientalis* ve *A.laxiflora* bileşiklerinin Venn ağı

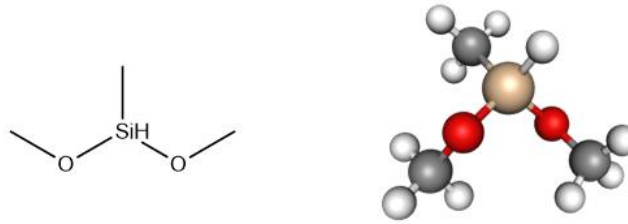
S. orientalis ve *A. laxiflora*'nın GC-MS sonucunda çıkan bileşiklerin iki boyutlu ve üç boyutlu yapıları Şekil 4.58 ile Şekil 4.101 arasında gösterilmektedir.



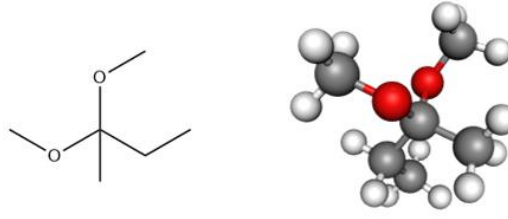
Şekil 4.58 Hidroksiasetik asit, hidrazid iki ve üç boyutlu yapısı



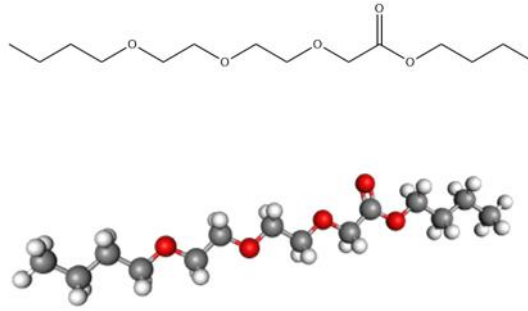
Şekil 4.59 Bütirik asit, hidrazid iki ve üç boyutlu yapısı



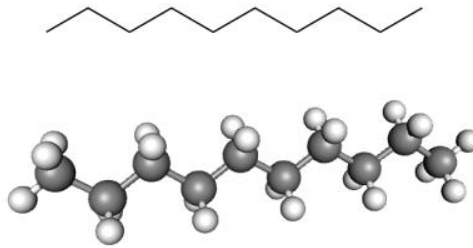
Şekil 4.60 Silan, dimetoksimetil iki ve üç boyutlu yapısı



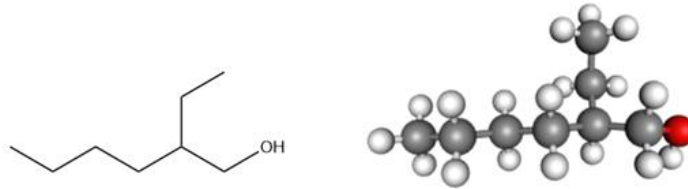
Şekil 4.61 2,2-dimetoksi-butan iki ve üç boyutlu yapısı



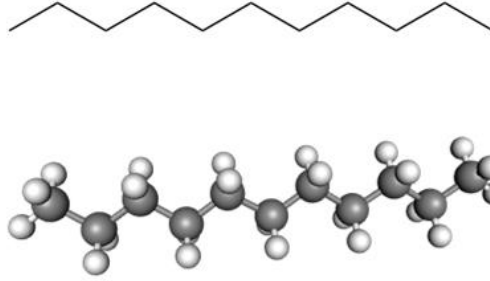
Şekil 4.62 Butil 2-(2-(2-butoksi etoksi)etoksi)asetat iki ve üç boyutlu yapısı



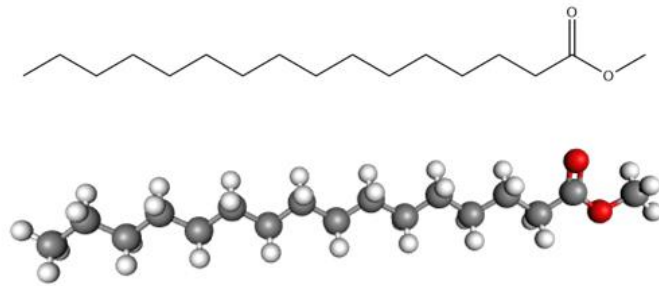
Şekil 4.63 Dekan iki ve üç boyutlu yapısı



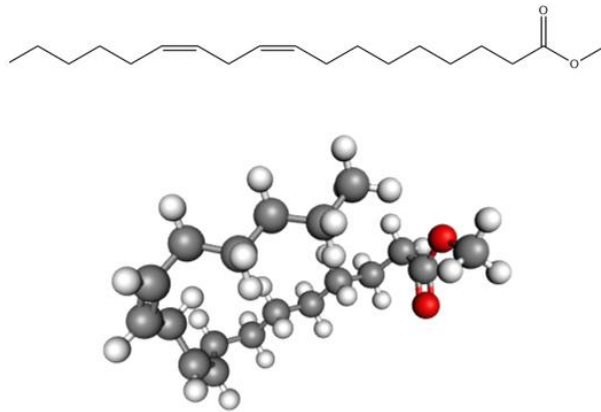
Şekil 4.64 1-Heksanol, 2-etil iki ve üç boyutlu yapısı



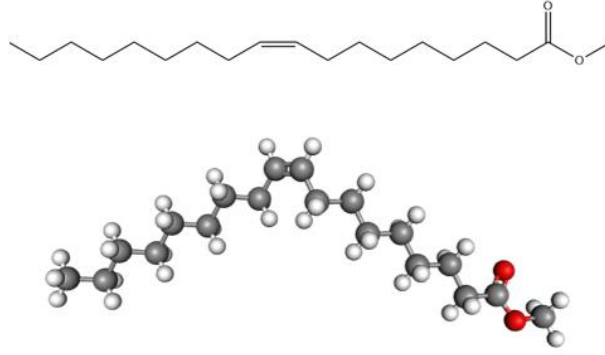
Şekil 4.65 Undekan iki ve üç boyutlu yapısı



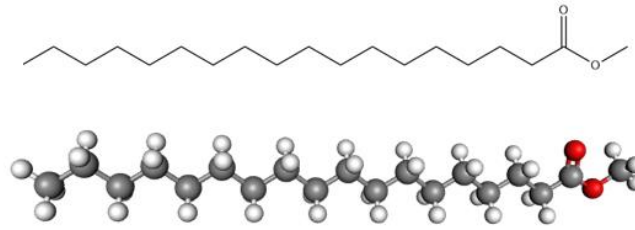
Şekil 4.66 Heksadekanoik asit, metil ester iki ve üç boyutlu yapısı



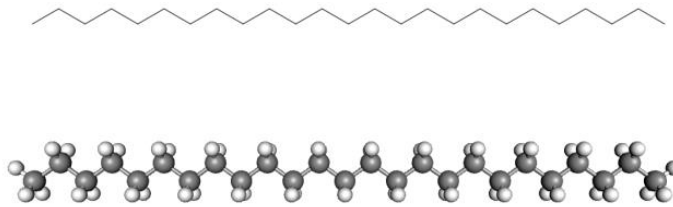
Şekil 4.67 6,12-oktadekadienoik asit (Z,Z)-, metil ester iki ve üç boyutlu yapısı



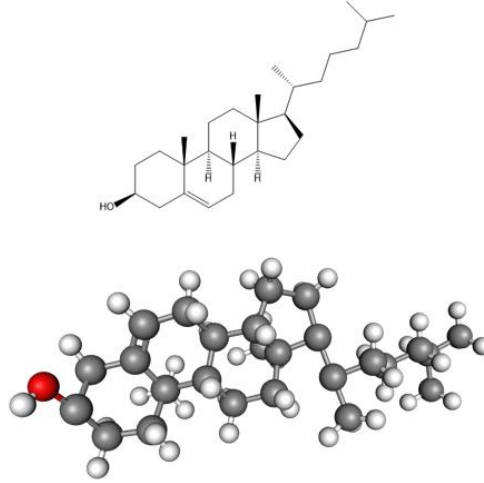
Şekil 4.68 9-oktadekenoik asit (Z)-, metil ester iki ve üç boyutlu yapısı



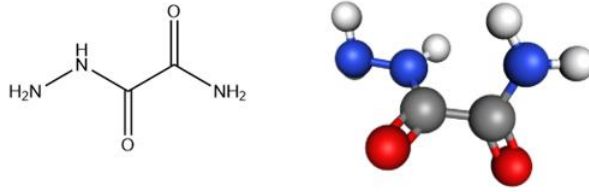
Şekil 4.69 Metil stearat iki ve üç boyutlu yapısı



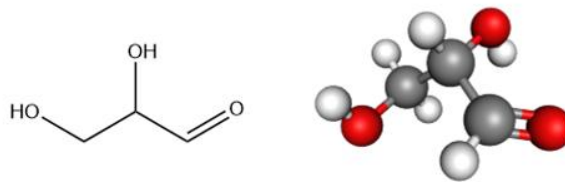
Şekil 4.70 Pentakozan iki ve üç boyutlu yapısı



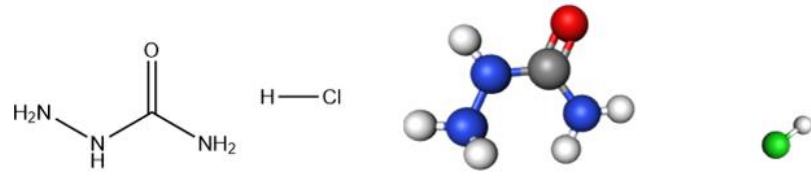
Şekil 4.71 Kolesterol iki ve üç boyutlu yapısı



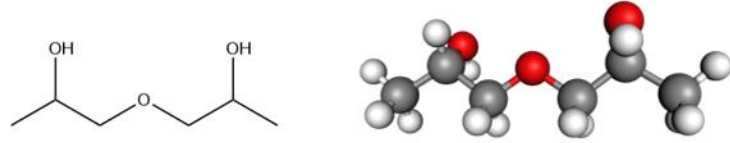
Şekil 4.72 Asetik asit, aminookso-, hidrazid iki ve üç boyutlu yapısı



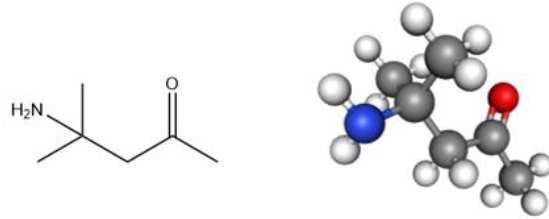
Şekil 4.73 dl-gliseraldehit iki ve üç boyutlu yapısı



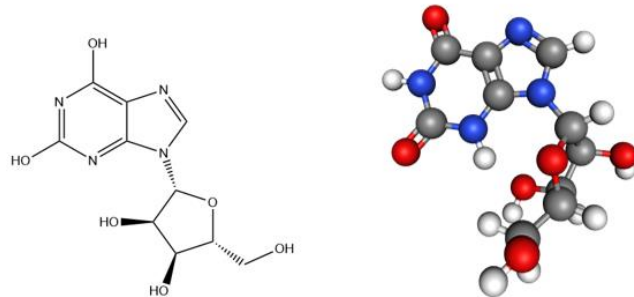
Şekil 4.74 Semikarbazithidroklorür iki ve üç boyutlu yapısı



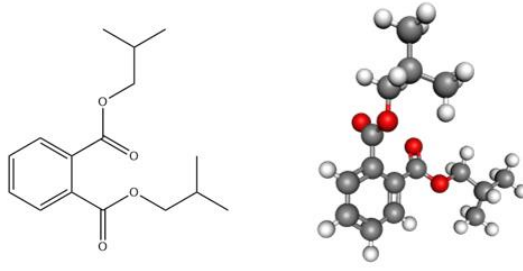
Şekil 4.75 2-Propanol, 1,1'-oksibis iki ve üç boyutlu yapısı



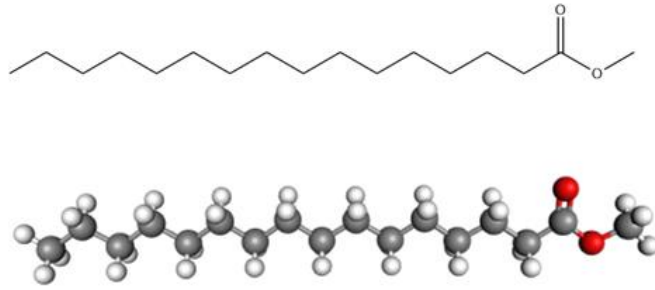
Şekil 4.76 2-Pentanon, 4-amino-4-metil iki ve üç boyutlu yapısı



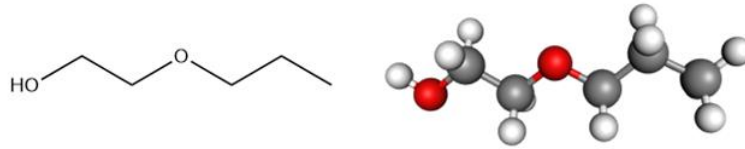
Şekil 4.77 Ksantosin iki ve üç boyutlu yapısı



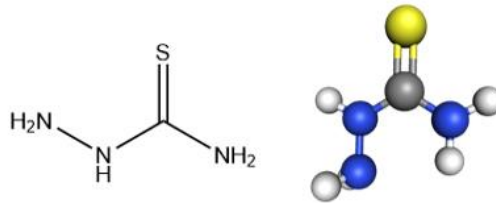
Şekil 4.78 1,2-Benzendikarboksilik asit, bis(2-metilpropil) ester iki ve üç boyutlu yapısı



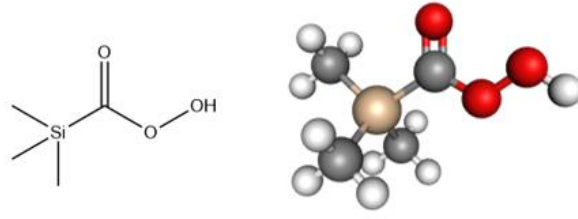
Şekil 4.79 Heksadekanoik asit, metil ester iki ve üç boyutlu yapısı



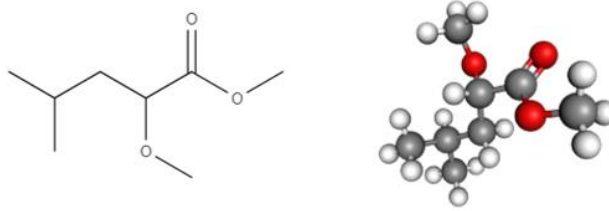
Şekil 4.80 2-propoksi-etanol iki ve üç boyutlu yapısı



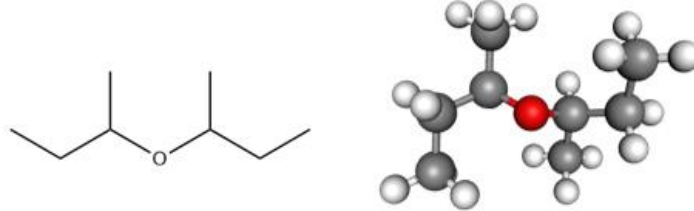
Şekil 4.81 Hidrazinkarbotionamid iki ve üç boyutlu yapısı



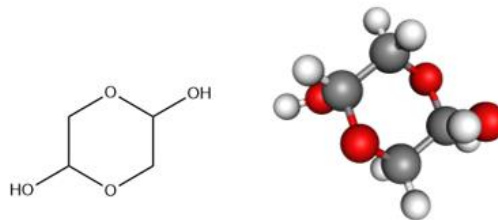
Şekil 4.82 Trimetilsilil performatik asit iki ve üç boyutlu yapısı



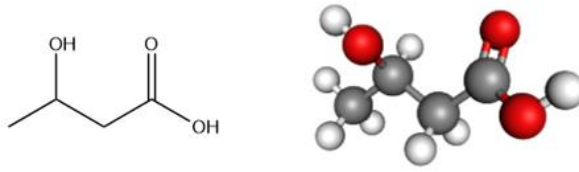
Şekil 4.83 2-Hidroksiizokaproik asit, metil eteri, metil ester i iki ve üç boyutlu yapısı



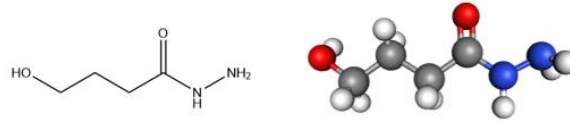
Şekil 4.84 Di-sec-butanol eteri iki ve üç boyutlu yapısı



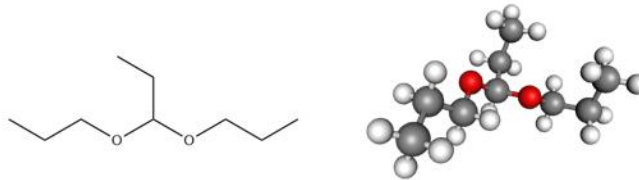
Şekil 4.85 Glikolaldehit dimer iki ve üç boyutlu yapısı



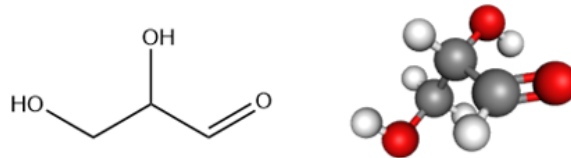
Şekil 4.86 3-Hidroksi butanoik asit iki ve üç boyutlu yapısı



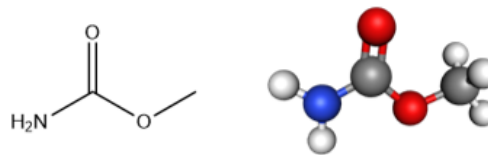
Şekil 4.87 4-Hidroksibutirik asit hidrazid iki ve üç boyutlu yapısı



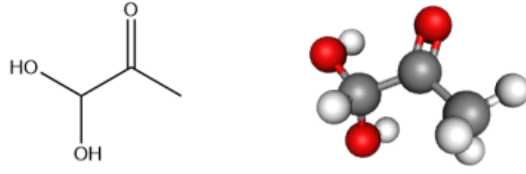
Şekil 4.88 1,1-Dipropoksi propan iki ve üç boyutlu yapısı



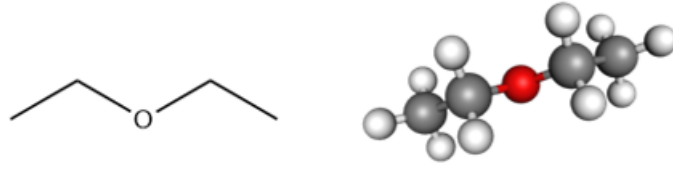
Şekil 4.89 Gliseraldehit iki ve üç boyutlu yapısı



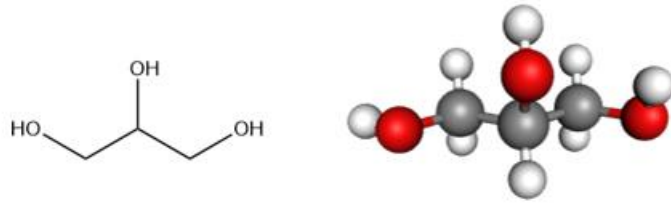
Şekil 4.90 Metil karbamat iki ve üç boyutlu yapısı



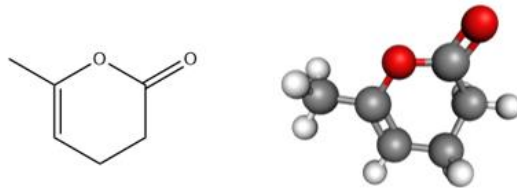
Şekil 4.91 Di hidroksi aseton iki ve üç boyutlu yapısı



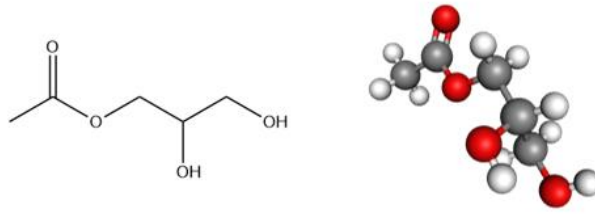
Şekil 4.92 Etil eter iki ve üç boyutlu yapısı



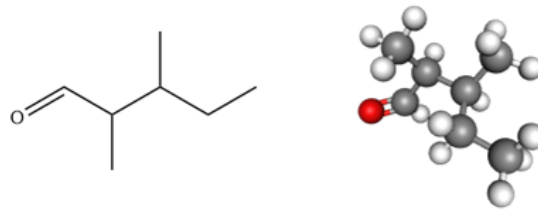
Şekil 4.93 1,2,3-Propantriol iki ve üç boyutlu yapısı



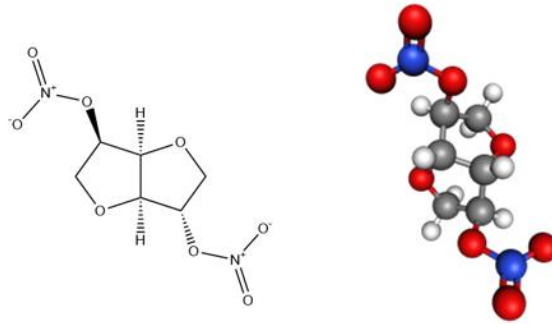
Şekil 4.94 6-Metil-3,4-di hidro-2-piron iki ve üç boyutlu yapısı



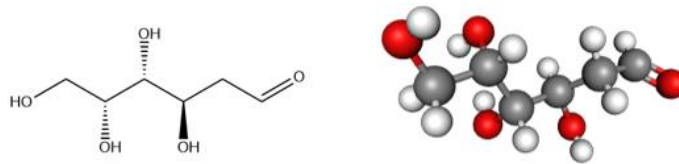
Şekil 4.95 1,2,3-Propantriol, 1-asetat iki ve üç boyutlu yapısı



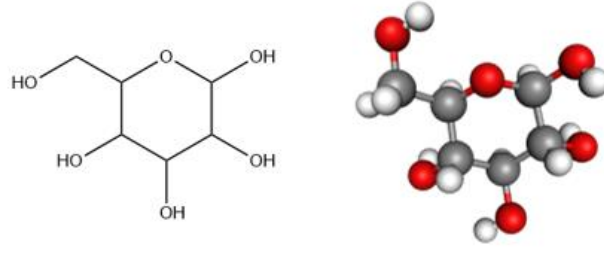
Şekil 4.96 2,3-Dimetil pentanal iki ve üç boyutlu yapısı



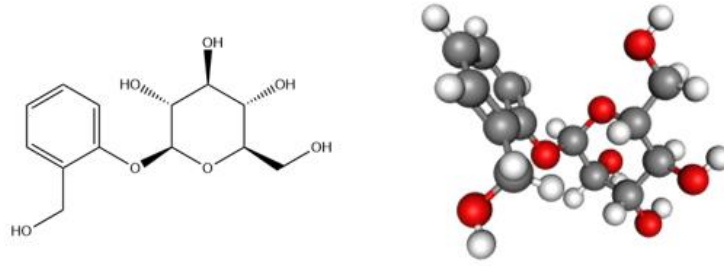
Şekil 4.97 İzosorbit dinitrat iki ve üç boyutlu yapısı



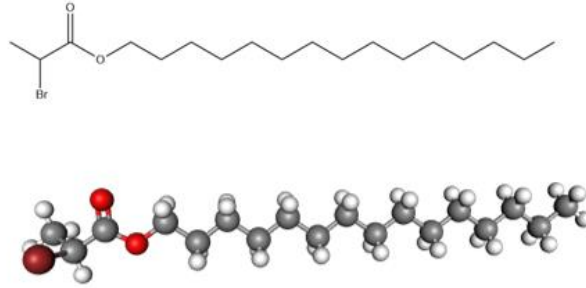
Şekil 4.98 2-Deoksi-D-galaktoz iki ve üç boyutlu yapısı



Şekil 4.99 Hekso piranoz iki ve üç boyutlu yapısı



Şekil 4.100 Salisin iki ve üç boyutlu yapısı



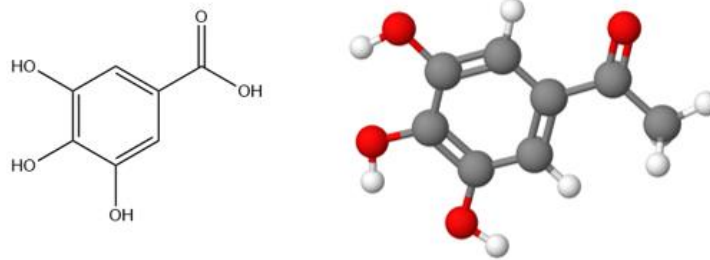
Şekil 4.101 2-Bromopropiyonik asit, pentadekil ester iki ve üç boyutlu yapısı

4.9. Fenolik Bileşik Analizi-LC-MS

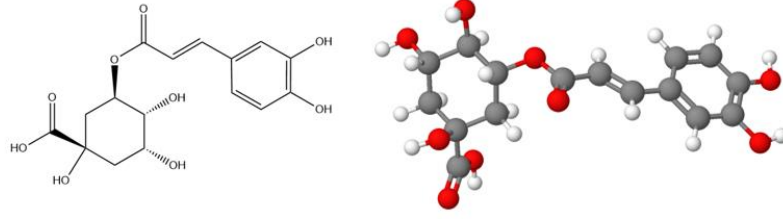
A. laxiflora ve *S. orientalis* 'in toprak üstü kısımlarının LC-MS fenolik madde analiz sonuçları Tablo 4.17'de gösterilmektedir. Bu sonuçlara göre hem *S. orientalis* hem de *A. laxiflora*'da en yüksek fenolik madde miktarı p- kumarik asit olarak belirlendi. *S. orientalis* ve *A. laxiflora*'nın LC-MS sonucunda çıkan bileşiklerin iki boyutlu ve üç boyutlu yapıları Şekil 4.102 ile Şekil 4.114 arasında gösterilmektedir. Şekil 4.115'de ise radar grafiği gösterilmektedir.

Tablo 4.17 *S. orientalis* ve *A. laxiflora* toprak üstü kısımlarının LC-MS analiz sonuçları ($\pm$ Standart sapma, n = 3)

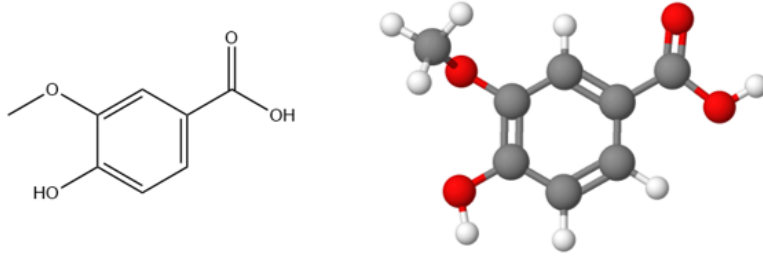
Fenolik maddeler	Orkide	
	<i>S. orientalis</i>	<i>A. laxiflora</i>
Gallik asit	$0,081 \pm 0,0008$	$0,081 \pm 0,0003$
Klorojenik asit	$0,245 \pm 0,0005$	$0,193 \pm 0,0002$
Vanilik asit	$0,683 \pm 0,0530$	$1,401 \pm 0,0979$
Kafeik asit	$3,258 \pm 0,0013$	$2,548 \pm 0,0370$
(-) EGCG (epigallokateksin-3-gallat)	$\leq 0,02$	$\leq 0,02$
Sirinjik asit	$\leq 0,02$	$\leq 0,02$
(-) Epikateşin	$\leq 0,1$	$\leq 0,1$
Salisilik asit	$0,045 \pm 0,0003$	$0,025 \pm 0,0010$
P-Kumarik asit	$18,29 \pm 0,1891$	$9,29 \pm 0,0414$
(+) Taksifolin	$0,710 \pm 0,0196$	$0,934 \pm 0,0431$
Trans ferulik asit	$2,52 \pm 0,0528$	$3,84 \pm 0,0873$
Kumarin	$\leq 0,002$	$\leq 0,002$
Rutin hidrat	$0,506 \pm 0,0233$	$0,096 \pm 0,0074$
Trans- resveratrol	$\leq 0,002$	$\leq 0,002$
Hesperidin	$\leq 0,005$	$\leq 0,005$
Mirisetin	$\leq 0,02$	$\leq 0,02$
Elajik asit	$\leq 0,2$	$0,661 \pm 0,0760$
Kuersetin dihidrat	$0,131 \pm 0,0007$	$0,495 \pm 0,0039$
Apigenin	$0,029 \pm 0,0028$	$0,031 \pm 0,0002$
İsorhamnetin	$0,008 \pm 0,0003$	$0,063 \pm 0,0020$



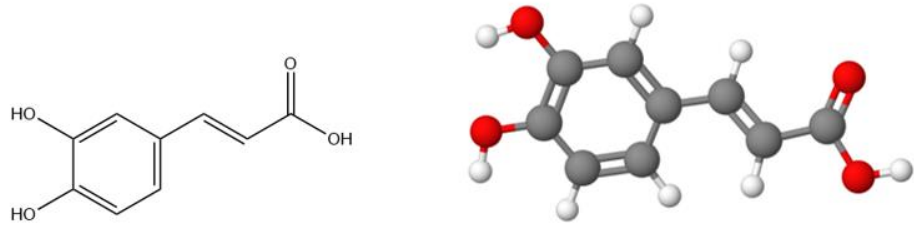
Şekil 4.102 Gallik asit iki ve üç boyutlu yapısı



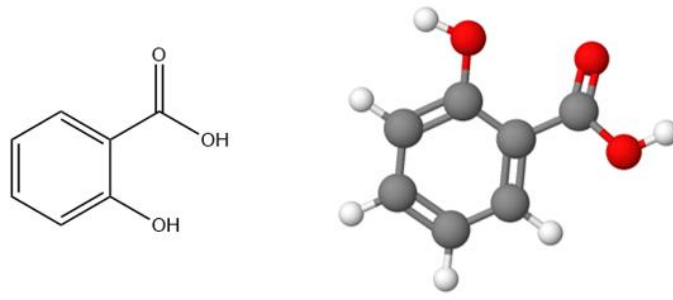
Şekil 4.103 Klorojenik asit iki ve üç boyutlu yapısı



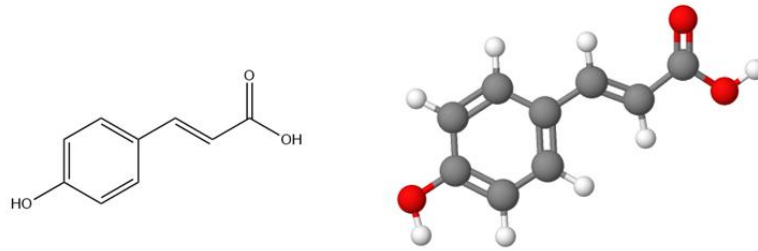
Şekil 4.104 Vanilik asit iki ve üç boyutlu yapısı



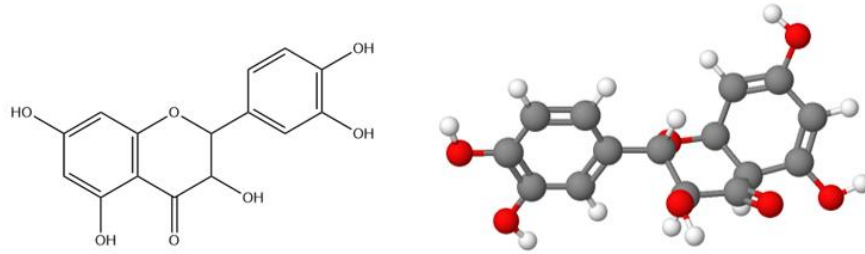
Şekil 4.105 Kafeik asit iki ve üç boyutlu yapısı



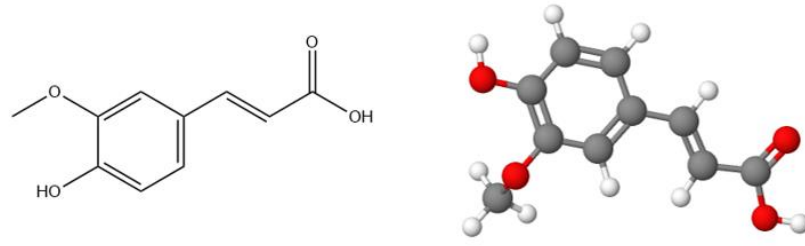
Şekil 4.106 Salisilik asit iki ve üç boyutlu yapısı



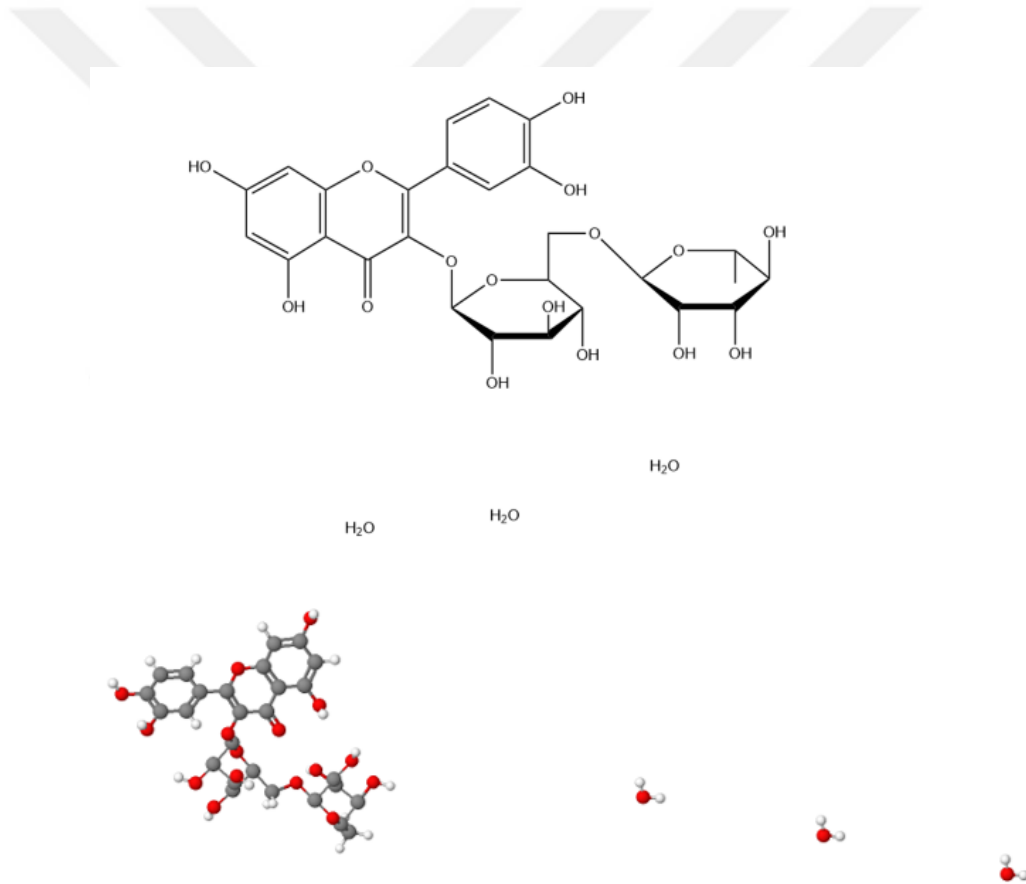
Şekil 4.107 P- Kumarik asit iki ve üç boyutlu yapısı



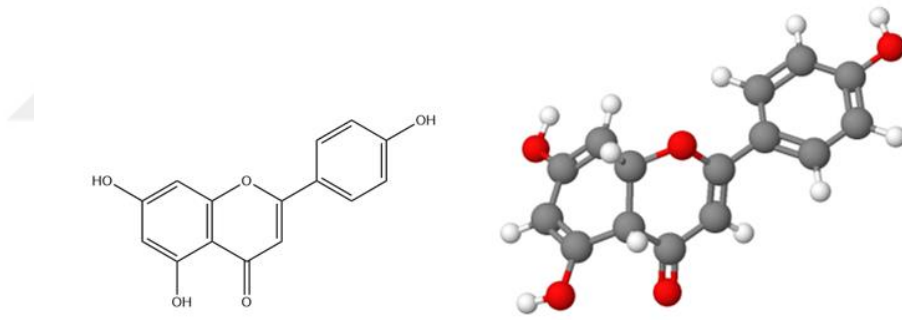
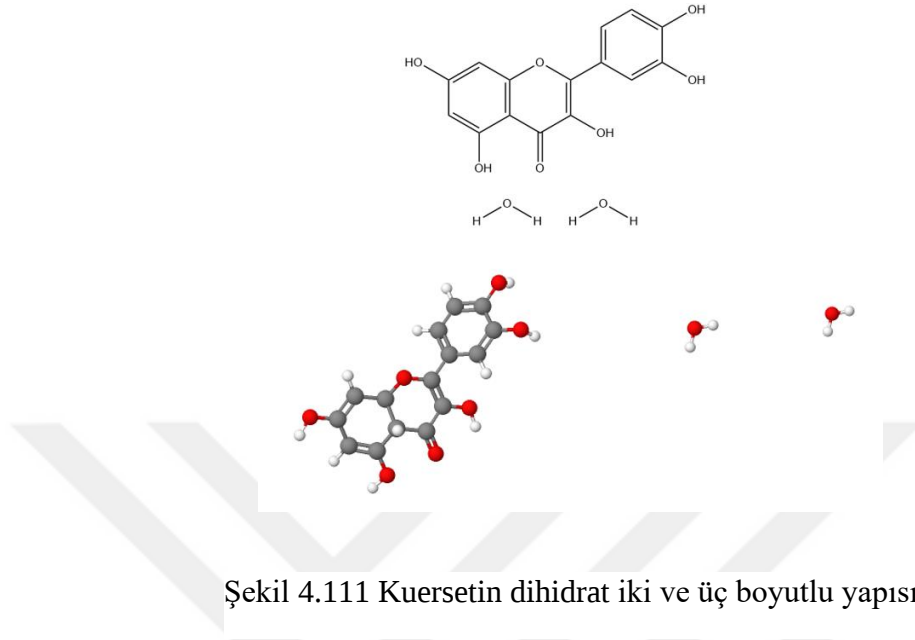
Şekil 4.108 Taksifolin iki ve üç boyutlu yapısı

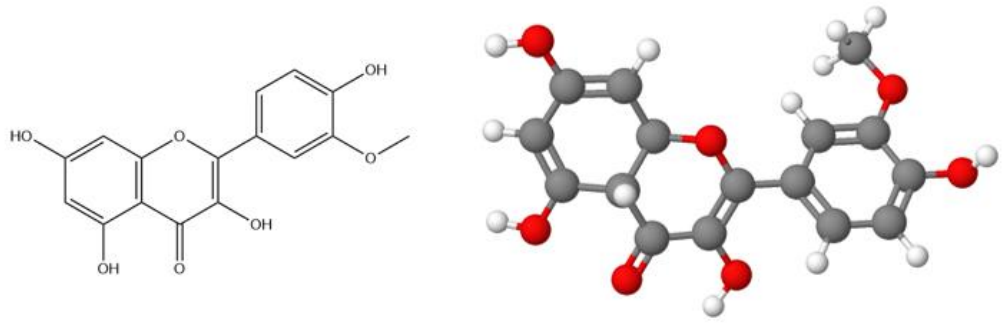


Şekil 4.109 Trans ferulik asit iki ve üç boyutlu yapısı

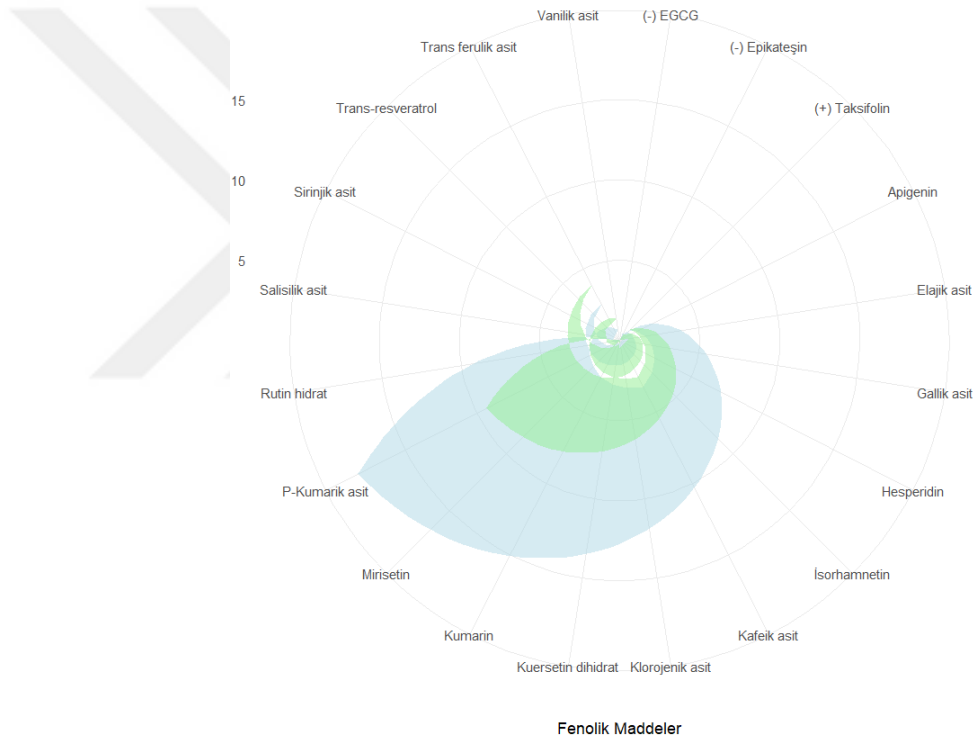


Şekil 4.110 Rutin hidrat iki ve üç boyutlu yapısı





Şekil 4.113 İsorhamnetin iki ve üç boyutlu yapısı



Şekil 4.114 *S. orientalis* ve *A. laxiflora* toprak üstü kısımlarının fenolik madde içeriklerinin radar grafiği

4.10. *A. laxiflora* ve *S. orientalis* 'in Bazı Fenolik Bileşik Grupları ve Antioksidan Aktivitelerin Belirlenmesi

Çalışmanın sonuçları, *S.orientalis* ve *A. laxiflora*'nın çiçek, tohum ve gövde kısımları incelenmiş ve antioksidan aktivite ile birlikte toplam flavonol, flavonoid, fenolik bileşik, proantosiyanidin ve tanen içeriği belirlenmiştir.

S. orientalis'in çiçek kısmında ölçülen antioksidan aktivitesi ve biyoaktif bileşen içeriği, bitkinin sağlık açısından önemli potansiyeller taşıdığını ortaya koymuştur. Benzer şekilde, *A. laxiflora*'nın çiçek kısmı da yüksek antioksidan aktivite ve zengin biyoaktif bileşen içeriği ile dikkat çekmektedir (Tablo 4.18)

S. orientalis ve *A. laxiflora*'nın çiçek, tohum ve gövde kısımlarının antioksidan aktivitesi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

S. orientalis'in çiçek kısmında antioksidan aktivitesi $75,48 \pm 7,07$ mg/mL olarak ölçülmüştür. Aynı kısımda toplam flavonol, flavonoid ve fenolik bileşiklerin miktarları sırasıyla $20,66 \pm 6,85$ mg QE/g ekstrakt, $226,02 \pm 65,73$ mg QE/g ekstrakt ve $122,33 \pm 4,02$ mg GAE/g ekstrakt olarak belirlenmiştir. Proantosiyanidin içeriği $171,97 \pm 8,59$ mg CAE/g ekstrakt ve tanen içeriği $3,45 \pm 0,46$ mg GAE/g ekstrakt olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde, *A. laxiflora*'nın çiçek kısmında antioksidan aktivitesi $90,12 \pm 14,60$ mg/mL olarak ölçülmüştür. Bu kısımda toplam flavonol, flavonoid ve fenolik bileşiklerin miktarları sırasıyla $24,74 \pm 6,60$ mg QE/g ekstrakt, $397,57 \pm 10,03$ mg QE/g ekstrakt ve $190,51 \pm 3,57$ mg GAE/g ekstrakt olarak belirlenmiştir. Ayrıca, proantosiyanidin içeriği $144,89 \pm 11,98$ mg CAE/g ekstrakt ve tanen içeriği $2,28 \pm 0,09$ mg GAE/g ekstrakt olarak belirlenmiştir. Bu veriler, her iki bitki türünün çeşitli kısımlarının antioksidan potansiyelini ve biyoaktif bileşen içeriği açısından önemli bir kaynak sağlamaktadır.

Tablo 4.18 *S.orientalis* ve *A.laxiflora* kısımlarının antioksidan parametreleri ($\pm$ Standart sapma, n = 3)

Orkide ve Kısımları	DPPH (IC ₅₀ mg/mL)	Toplam Flavonol İçeriği (mg QE/g ekstrakt)	Toplam Flavonoid İçeriği (mg QE/g ekstrakt)	Toplam Fenolik İçeriği (mg GAE/g ekstrakt)	Toplam Proantosiyanidin İçeriği (mg CAE/g ekstrakt)	Toplam Tanen İçeriği (mg GAE/g ekstrakt)
<i>Serapias orientalis</i> - Çiçek	75,48 $\pm$ 7,07	20,66 $\pm$ 6,85	226,02 $\pm$ 65,73	122,33 $\pm$ 4,02	171,97 $\pm$ 8,59	3,45 $\pm$ 0,46
<i>Serapias orientalis</i> - Tohum	54,37 $\pm$ 14,73	27,21 $\pm$ 3,72	177,84 $\pm$ 8,75	100,14 $\pm$ 1,18	133,42 $\pm$ 39,82	2,36 $\pm$ 0,16
<i>Serapias orientalis</i> - Gövde	71,77 $\pm$ 6,46	7,98 $\pm$ 3,66	67,11 $\pm$ 3,57	56,58 $\pm$ 5,10	126,52 $\pm$ 5,73	3,92 $\pm$ 0,44
<i>Anacamptis</i> <i>laxiflora</i> -Çiçek	90,12 $\pm$ 14,60	24,74 $\pm$ 6,60	397,57 $\pm$ 10,03	190,51 $\pm$ 3,57	144,89 $\pm$ 11,98	2,28 $\pm$ 0,09
<i>Anacamptis</i> <i>laxiflora</i> -Tohum	109,04 $\pm$ 20,92	21,77 $\pm$ 3,24	277,56 $\pm$ 36,29	183,76 $\pm$ 5,06	89,73 $\pm$ 11,90	3,16 $\pm$ 0,43
<i>Anacamptis</i> <i>laxiflora</i> -Gövde	14,62 $\pm$ 3,42	69,43 $\pm$ 7,44	59,38 $\pm$ 3,32	37,49 $\pm$ 3,14	138,34 $\pm$ 11,57	2,8 $\pm$ 0,22

5. TARTIŞMA

Koruma ve çevre yönetimi genellikle resmi istatistiklere dayanır, ancak özellikle kaçak avcılık ve ticaret gibi hassas konuları ele alırken doğrulukları ve güvenilirlikleri konusunda şüpheler ortaya çıkar. Her geçen gün, resmi kayıtlarda yer almayan yaban bitkileri ve hayvanları içeren yasa dışı ticarete dair artan sayıda örnek bulunmaktadır. Bitkiler, yasadışı ticaret veya yasa dışı yaban hayatı ticareti (YDT) nedeniyle tehlike altında olan birçok türün korunması için yapılan çalışmalar ve finansal destek, genellikle flora konusunu göz ardı eder. Bu durum, bitkilerin hayvanlara göre aşağıya doğru yanlış yönlendirilmiş bir insan merkezli sıralaması olarak adlandırılır. Botanik ticaretin, CITES ve IUCN listelenmiş fauna türleri ticareti ile birlikte hızla genişlediği ve bu durumun günümüzde ciddi bir endişe kaynağı olduğu bulunmuştur, çünkü bu durum biyolojik çeşitlilik ve ekoloji açısından öncü bir tehdittir. CITES, birçok türde uluslararası ticareti izler. Orkideler gibi karasal bitkiler de özellikle aşırı toplanmaya karşı duyarlıdır. Orchidaceae, 750'den fazla cins ve 30.000 - 35.000'den fazla türle çiçekli bitkilerin en büyük ve en çeşitli familyalarından biridir. Antarktika dışında her kıtada kendine yer bulmuştur (Chase vd.,2015; Phelps ve Webb 2015). Yalnızca kısıtlı bir orkide türü grubu IUCN Kırmızı Listesi tarafından değerlendirmeye tabi tutulmuş olmasına rağmen, bulgular endişe vericidir; örneğin, 85 tropikal *Paphiopedilum* türünün 84'ünün yok olma tehlikesiyle karşı karşıya olduğunu belirtmektedir (IUCN, 2020).

Orkideler, küçük popülasyonlara, sınırlı yaşam alanlarına ve çevreleri ile iklimdeki değişiklikler gibi çeşitli tehlikelere karşı doğal olarak hassas olmaları nedeniyle, aşırı hasat stresine özellikle duyarlıdır. Bu durum, orkidelerin şu anda CITES'in Ekler I ve II'nde listelenmiş tüm türler ile IUCN Küresel Kırmızı Listesi'nde yer alan 1601 tür dahil olmak üzere tehlike altındaki bitki türlerinin listelerinde yer aldığını göstermektedir (Singh ve Duggal, 2009).

Türkiye'de, orkidelerin korunması ve ticareti konusunda benzer zorluklarla karşılaşmaktadır. Ülkede bulunan orkideler de küçük popülasyonlara ve sınırlı yaşam alanlarına sahiptir, bu nedenle aşırı toplama ve ticaret gibi tehditlerle karşı karşıyadırlar. Türkiye'nin biyoçeşitlilik açısından zengin bir ülke olması ve çeşitli orkide türlerine ev sahipliği yapması, bu türlerin korunmasının ve sürdürülebilir ticaretinin önemini daha da artırmaktadır. Orkidelerin Türkiye'deki ticaretinde de yasa

dışı aktivitelerin varlığına dair endişeler bulunmaktadır. Özellikle nadir veya korunan orkide türlerinin yasa dışı toplanması ve ticareti, bu türlerin popülasyonlarını tehlikeye atmaktadır. Ancak, yasal ticaret ve koruma çabaları da mevcuttur. Türkiye'nin orkidelerin korunması ve ticareti konusunda uluslararası anlaşmalara taraf olduğunu ve CITES gibi düzenlemelere uymakta olduğunu belirtmek önemlidir. Ancak, yasal düzenlemelerin etkin bir şekilde uygulanması ve denetlenmesi gerekmektedir. Sonuç olarak, Türkiye'deki orkidelerin korunması ve ticareti konusunda, ulusal düzeyde güçlü koruma politikaları ve uluslararası işbirliği gerekmektedir. Orkidelerin ekolojik ve ekonomik önemini anlayarak, sürdürülebilir bir şekilde yönetilmeleri ve korunmaları önemlidir. Bu, hem yerel ekosistemlerin sağlığına katkıda bulunacak hem de Türkiye'nin biyoçeşitliliğini koruyarak gelecek nesillere aktarılmasını sağlayacaktır.

S. orientalis ve *A. laxiflora* gibi orkide türleri, ne yazık ki salep üretimi için toplanabilmektedir. Salep, orkide yumrularından elde edilen bir doğal karbonhidrat içeriğidir ve geleneksel olarak bazı bölgelerde içeceklerde ve tatlılarda kullanılmaktadır. Ancak, bu türlerin aşırı toplanması doğal popülasyonlarını ciddi şekilde tehdit etmekte ve nesillerinin tehlikeye girmesine yol açmaktadır. Bu türlerin salep üretimi için toplanması, sadece biyoçeşitliliğin azalmasına değil, aynı zamanda ekosistemlerin dengesinin bozulmasına da katkıda bulunabilir. Bu nedenle, bu türlerin korunması ve sürdürülebilir kullanımı için etkili koruma önlemleri alınmalı ve toplumun bu konuda bilinçlendirilmesi gerekmektedir.

Her iki türün tohumdan üretimiyle ilgili olarak, *S. orientalis* ve *A. laxiflora* türlerinin çoğaltılması, doğal popülasyonlarının korunması açısından önemlidir. Bu türlerin tohumları, uygun koşullarda uyumlu funguslarla simbiyotik olarak çimlendirilerek elde edilebilir. Özellikle "ex vitro" simbiyotik yöntemler, tohumların laboratuvar dışında uygun koşullarda çimlenmesini sağlar ve doğal ortama adaptasyon sürecini destekler. Bu yöntemlerle elde edilen fidelerin doğada başarılı bir şekilde popülasyon oluşturması, türlerin korunması ve biyoçeşitliliğin sürdürülebilirliği açısından büyük önem taşır.

S.orientalis ile daha önce yapılan çalışmada bu türün tohumlarının simbiyotik ve asimbiyotik yöntemlerle çimlenme ve fide gelişimi koşulları belirlenmiştir. *Tulasnella* fungusu ile gerçekleştirilen simbiyotik çimlendirme, *S. orientalis*'in

çimlenme ve fide gelişimi üzerine önemli bulgular sağlamaktadır. Bu çalışma, türün sürdürülebilir korunması ve üretimi için temel bir adım olarak kabul edilebilir. Asimbiyotik uygulamaların ise kitlesel üretim için uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu bulgular, *S. orientalis*'in ekolojik ve biyolojik gereksinimlerinin daha iyi anlaşılması ve korunmasına yönelik çalışmaların yolunu açabilir (Mutlu ve Kömpe 2021).

Özkoç (1991), *A. laxiflora*'nın in vitro koşullarda simbiyotik ve asimbiyotik çimlenme çalışmalarını yürütmüştür. Çalışmada, in vitro simbiyotik kültür koşullarında çeşitli *Rhizoctonia* benzeri fungal izolatlar farklı oranlarda çimlenme elde edilmiştir. Kömpe vd., (2021), *A. laxiflora* türüne ait yetişkin bireylerin köklerinden mevsimsel mikorizal fungus izolasyonu yaparak fungal çeşitliliği belirlemişler ve *Tulasnella*, *Ceratobasidium*, *Fusarium*, *Phoma* ve *Pezizales* üyelerinin mikorizal birliğe katıldığını ortaya koymuşlardır. Bu izolatlardan sadece *Tulasnella* ve *Ceratobasidium*'a dahil fungusların çimlenmeyi teşvik ettiğini gözlemişlerdir. Aytar ve Özden (2023) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, *A. laxiflora* tohumlarına *Ceratobasidium* sp. inokülasyonu yapılmış ve çeşitli organik substratlar içeren ortamlardaki in vitro çimlenme ve fide gelişimi takip edildi. Gerek *S. orientalis*, gerekse *A. laxiflora* üzerinde yapılan bu öncü çalışmalar, tez çalışmaları için ilham kaynağı olmuştur ve ex vitro simbiyotik koşullarda elde edilen fidelerin doğaya aktarılması sonucu ilk kez *A. laxiflora*'nın doğal koşullarda hayat döngüsünü tamamlaması başarılmıştır.

Bu tezde , *S. orientalis* tohumları ekildikten 20 gün sonra çimlenip protokorm oluşmuş ve 45 gün sonra çimlenme ve gelişme durumu değerlendirilmiştir. Tohumların %62,58 ($\pm 3,37$) oranında çimlendiği ve %18,49 ($\pm 1,98$) oranında gelişen yapraklarla fide aşamasına (aşama 4) geldiği saptanmıştır. *Ceratobasidium* sp. (AL5) ile aşılanan *A. laxiflora* tohumlarının ise inkübasyondan 15 gün sonra protokorm aşamasına geldiği ve 40 gün sonra çimlenme ve gelişme durumunun değerlendirildiği belirtilmiştir. Toplam çimlenme oranının %93,17 ($\pm 3,06$) olduğu ve yapraklı fide aşamasına ulaşma oranının %69,20 ($\pm 3,50$) olduğu belirlenmiştir. Doğaya aktarılan fidelerin ilk kez çiçeklenme meydana getirerek bir popülasyon oluşturmaktadır.

A. laxiflora ve *S.orientalis* bu çalışmada ilk kez tohumdan çiçek aşamasına kadar olan hayat döngüsü tamamlanıp doğada başarılı bir popülasyon oluşturmaları

sağlanmış ve sürdürülebilir orkide üretim modeli geliştirilmiştir. Ex vitro simbiyotik yöntem kullanılarak elde edilen bu sonuçlar, karasal orkidelerin tohumdan üretilip doğada populasyon oluşturmalarıyla birkaç çalışmada biri olması sebebiyle özellikle önemlidir.

Birkaç çalışma, orkide üretimi için uyumlu funguslar aracılığıyla simbiyotik fideleri elde etmenin, onları doğaya başarılı bir şekilde yeniden dahil etmenin sürdürülebilir bir populasyon oluşturma için daha kolay ve verimli olduğunu göstermiştir (Aewsakul vd., 2013; Aytar ve Özdenir Kömpe, 2023; Deniz vd., 2022; Kömpe vd., 2022). *S. orientalis* ile *A.laxiflora* doğada fenolojik süreci tamamlayarak tohum üretebilen bireyler elde edilmiş ve doğal bir populasyon oluşturulmuştur. Bu yöntem, nesli tükenme tehlikesi altındaki orkide türlerinin korunması için umut vadetmektedir. Ayrıca, bu yöndeki çalışmalar, yeni populasyonlar oluşturarak doğadaki bireylere zarar vermeden türlerin farmakolojik potansiyelini araştırma fırsatı sunmaktadır.

Son yıllarda, çeşitli araştırma grupları, tehlikede olan kara türlerinde simbiyotik ve asimbiyotik tohum çimlenmesinin moleküler temellerini keşfetmek için çalışmalar yapmışlardır. Bu bağlamda, orkide türlerinin tohum çimlenmesi, protokorm gelişimi ve bitki büyümesi, ılıman iklimlerde tropik koşullara göre genellikle fiziksel ve fizyolojik engellerin yanı sıra mikorizal funguslara olan bağımlılıkları nedeniyle daha zorlayıcı ve karmaşık olarak kabul edilir (Rasmussen vd., 2015; Zhao vd., 2021).

S.orientalis'in metanol özütünde pentakozan (%39), kolesterol (%13,05), hidroksiasetik asit hidrazidi (%7,38), dl-gliseraldehit (%5,42) ve semikarbazon hidroklorür (%5.06) bol miktarda bulunmuştur. Örneğin, hidroksiasetik asit hidrazidi antimikrobiyal özellikleri nedeniyle önemli bir bileşiktir. Bitkilerde doğal olarak bulunması, antimikrobiyal tedavi için etken madde kaynağı sağlar. Nergis bitkisinde yapılan çalışmalar, bitkinin etanol ve su özütlerinde bu bileşiğin %4.8 oranında bulunduğunu göstermiştir (Ahmad vd., 2021). Ayrıca, diğer çalışmalar bu bileşiğin mısır sapında %4, *Polyalthia bullata*'da %9 ve *Calotropis procera*'da %0.23 oranlarında bulunduğunu göstermiştir (Zaman vd., 2020; Ahmad vd., 2021) *S. orientalis* bitkisinde hidroksiasetik asit hidrazidi %7.38 oranı ile dikkat çekici ölçüde yüksektir. Azomethine grupları (–NH–N=CH–) içeren hidrazit-hidrazon türevleri antimikrobiyal ajanlar olarak da etkilidir. Bu bileşikler ayrıca ilaç geliştirme

süreçlerinde ara ürün olarak da kullanılabilirler. Bu nedenle, bitkilerde bu bileşiklerin bulunması, antimikrobiyal ajanların keşfi ve geliştirilmesi için önemli bir kaynak olabilir. Ayrıca, Paudel ve Pant (2017), *Dendrobium amoenum*'da %0.37 oranında kolesterol 3-O[(2-asetoksi) etil] bulunduğunu bildirmişlerdir. bitkideki *S.orientalis* %13'lük kolesterol oranının *D. amoenum*'da bulunan orandan daha yüksek olduğunu göstermektedir. Öte yandan, literatür araştırmaları dl-gliseraldehit'in orkide bitkilerinde tespit edilmediğini göstermektedir. Ancak, dl-gliseraldehit, *S. orientalis* bitkisinin metanol özütünde yaklaşık %5 oranında bulunmuştur. Bir çalışmada, *Seidenfia rheedii* orkide türünün kloroform özütünde yaklaşık %19 oranında 2-(3-hidroksi-4-metoksifenil) semikarbazid tespit edilmiştir (Ruthiska vd., 2017). Bu oran, *S. orientalis* bitkisine kıyasla yaklaşık dörtte bir kadardır. Literatürden bilinmektedir ki, bu bileşik sınıfının antiviral (Senkardes vd., 2016), anti-inflamatuar (Kumar vd., 2015) ve antikanser aktiviteleri gibi çeşitli biyolojik ve farmakolojik özellikleri vardır.

GC-MS analizinde, *S. orientalis*'in toprak üstü kısımlarında pentakozan (%39.85) en bollukla bulunan bileşik olarak belirlendi. Robustelli della Cuna ve ekibinin (2022) yaptığı bir çalışma, bitki türlerinde pentakozanın varlığına dair önemli kanıtlar sunmuştur. Örneğin, *Anacamptis morio* bitkisinde pentakozan oranı %17.14 olarak saptanırken, *Orchis purpurea* bitkisinde bu oran %2.2 olarak tespit edilmiştir. Aynı şekilde, *Himantoglossum robertianum* da *A. morio* gibi bir gıda aldatıcı bitki olarak kabul edilir ve pentakozan düzeyi %40.17 olarak belirlenmiştir. Diğer bir örnek olarak, *Ophrys sphegodes* bitkisinin pentakozan oranı %12.33'tür. Gervasi vd., (2017) yaptığı bir çalışmada, *Ophrys insectifera* ve *Ophrys aymoninii* türlerinde sırasıyla %12 ve %13 oranlarında pentakozan tespit edilmiştir. Ayrıca, Calevo vd., (2021) çalışmasında, *Orchis patens*, *Orchis provincialis* ve *Orchis fallax* türlerinde sırasıyla %7.16, %8.61 ve %7.69 oranlarında pentakozan bulunmuştur. Son olarak, Zito vd., (2018) yaptığı çalışmada, *Ophrys panormitana* çiçeklerinin n-heksan özütünde %9 oranında pentakozan tespit edilmiştir. Pentakozan molekülü, özellikle orkide ailesinin üyeleri arasında önemli bir yer tutar. Bu molekül, bitkilerin çiçeklerinin karmaşıklığını ve çeşitliliğini destekler, çünkü orkide çiçekleri genellikle tozlaşıcıları kendilerine çekmek için karmaşık ve çekici görünümlere sahiptir. Pentakozan gibi bileşenler, bitkilerin bu çiçeklerdeki aldatıcı hilelerini güçlendirir, böylece tozlaştırıcıları çekmeyi ve döllenmeyi sağlar. Ayrıca, pentakozan molekülü, bitkilerin çevreleriyle etkileşimlerini düzenleyen ve bu şekilde ekolojik dengenin korunmasına katkıda

bulunan bir role sahiptir. Örneğin, bu molekülün varlığı, bitkilerin çevresindeki tozlaşıcı böceklerin davranışlarını etkileyebilir ve bu da bitki ve böcek arasındaki karşılıklı ilişkilerin gelişimine katkıda bulunabilir. Pentakozan molekülü ayrıca bitkilerin çevresel streslere karşı dayanıklılığını artırabilir ve bu da bitkilerin adaptasyon yeteneklerini iyileştirir (Robusta della Cuna vd., 2022). Örneğin, *Euglossa cordata* erkeklerinde pentakozan düzeyinin %9,88 olduğunun bulunması, bu molekülün dişi böcekleri çekmede önemli olduğunu göstermektedir (Santos ve Nasciemto 2017). *S.orientalis*'de yüksek oranda bulunan pentakozan bileşiği böcekleri kendilerine çekmesi için kullanılan bileşiklerin başında gelmektedir.

S. orientalis ve *A. laxiflora*'nın toprak üstü kısımlarının yağ asitleri analizi, her iki orkide türünde de farklı yağ asitlerinin bulunduğunu göstermektedir. Örneğin, her iki türde de palmitik asit, palmitoleik asit, stearik asit, oleik asit, linoleik asit ve alfa-linolenik asit gibi belirli yağ asitlerinin bulunduğu gözlemlenmiştir. Ancak, türler arasında bazı farklılıklar da mevcuttur. *S. orientalis*'te en bol bulunan yağ asitleri palmitik asit (%23,55) ve alfa-linolenik asit (%20,68) iken, *A. laxiflora*'da en yüksek oranda linoleik asit (%25,28) ve alfa-linolenik asit (%21,75) tespit edilmiştir. Bu farklılıklar, her iki türün biyokimyasal bileşimindeki çeşitliliği ve adaptasyonunu yansıtabilir. Ayrıca, her iki türde de omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin bulunması, besin değerlerinin yanı sıra biyolojik aktiviteleri de etkileyebilecek önemli bir faktördür. Örneğin, alfa-linolenik asit, vücut için esansiyel olan omega-3 yağ asitlerinin bir türüdür ve sağlık açısından önemli bir rol oynar. Bu sonuçlar, *S. orientalis* ve *A. laxiflora*'nın biyokimyasal özelliklerinin anlaşılmasına ve bu orkide türlerinin ekolojik rollerinin daha iyi belirlenmesine yardımcı olabilir. Ayrıca, bu türlerin tıbbi veya beslenme amaçlı kullanım potansiyelini değerlendirmek için de önemli bir temel oluşturabilir.

S. orientalis üzerinde yapılan analizler, en yaygın yağ asitlerinin palmitik, stearik, oleik, linoleik, alfa-linolenik ve stearik asitler olduğunu göstermiştir. Dalar vd., (2015), endemik bir orkide türü olan *Dactylorhiza chuhensis* çiçek özütlerinde %4.2 linoleik asit tespit etmiştir. *S. orientalis*'te bu oran %22 olarak bulunmuştur. Palmitik asit, arılar için enerji kaynağıdır (Ferreira ve diğerleri, 2019). Robustelli della Cuna ve diğerleri (2019), *S. vomeracea*'da palmitik asit oranını %0,77 olarak belirlemiştir. *S. vomeracea* ve *S. orientalis* aynı cinsteki bitki türleridir. Analiz

sonuçlarına göre, *S. orientalis*'te palmitik asit oranı, *S. vomeracea*'nın yaklaşık 25 katı kadar yüksektir. Oleik asit *Dendrobium amoenum*'da %26,95 (Paudel ve Pant, 2017), *Dendrobium aphyllum*'un yaprak metanol özütünde %8,6 oranlarında tespit edilmiştir (Rahamtulla vd., 2023). Ayrıca, *Lusia tenuifolia*'nın %1,9 oleik asit içerdiği bulunmuştur (Sethuraman ve Ramachandran, 2022). *S. orientalis*'te bu oran, *Dendrobium aphyllum*'un oranına çok yakın bir şekilde %8,67'dir. Daha önceki bir çalışmada, Pathak vd., (2023), in vitro koşullarda üretilen *Vanda cristata* yapraklarının metanol özütünde %2,89 stearik asit bulmuşlardır. Diantina vd., (2021), *Dendrobium cunninghamii*, *Dendrobium strebloceras*, *Grevillea cunninghamii*, *Pterostylis banksii* ve *Thelymitra nervosa* taze tohumlarının yağ asitlerini belirlemişlerdir. Araştırmada, taze tohumlarda farklı oranlarda palmitik asit, oleik asit ve stearik asit tespit edilmiştir.

Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS), bitkilerden uçucu bileşiklerin ayrılması ve miktarlarının belirlenmesi için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Guo vd., 2022). GC-MS yöntemi sonucunda *A. laxiflora* tohumlarında bulunan ana bileşenler, hidroksiasetik asit hidrazidi ve 2,2-dimetoksibütan gelecekteki araştırmalarda potansiyel ilaç etken maddeleri olarak değerlendirilebilir. Örneğin, hidroksiasetik asit hidrazidi antimikrobiyal özellikleri nedeniyle önemli bir bileşiktir. Bitkilerde doğal olarak bulunması, antimikrobiyal tedavi için bir kaynak sağlar. Nergis (*Calendula officinalis*) bitkisi üzerinde yapılan çalışmalar, bu bileşiğin etanol ve su ekstraktlarında yaklaşık %4.8 oranında bulunduğunu göstermiştir (Al-Mussawi, 2019).

A. laxiflora tohumlarının metanol ekstresinde, hidrazinkarbottiyamid bulunmaktadır. Karbokarbazit ve tiyokarbokarbazit, karbonik ve tiyokarbonik asitlerin hidrazin türevleridir. Son yıllarda, tiyokarbokarbazit türevleri, heterosiklik bileşiklerin sentezinde, geçiş metal komplekslerinin sentezinde ve farmakolojik çalışmalarda uygulamaları nedeniyle oldukça dikkat çekmiştir. Ayrıca, karbohidrazit türevleri, su arıtma sistemlerinde oksijen tutucuları (metal pasivatörleri) olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Triazoller, beş üyeli bir halka içeren ve üç azot atomu içeren heterosiklik bileşikler (Dincel vd., 2021). Triazol türevleri, antikonvülsan, antidepresan, antioksidan, anti-enflamatuar, analjezik, antiseptik, antibakteriyel, antimikobakteriyel, antifungal, antiviral, antikanser, antiparazit, 5 α -redüktaz inhibitörü ve anti-üreaz aktiviteleri gibi çeşitli biyolojik etkinliklere sahip olduğu için araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Ayrıca, mevcut terapilerde kullanılan 1,2,4-triazol

yapısına sahip ilaçlar, flukonazol (antifungal), itrakonazol (antifungal), vorikonazol (antifungal), rizatriptan (5-hidroksitriptamin 1 reseptör alt tipi agonisti/migren) ve ribavirin (antiviral) gibi ilaçları içermektedir (Bastert vd., 2001). 1,2,4-triazol, orkide türlerinde ilk kez tanımlanmıştır.

Bitkiler, çeşitli streslere karşı kendilerini korumak için güçlü ve entegre bağışıklık sistemleriyle evrimleşmişlerdir. Salisilik asit, immün tepkileri hem lokal hem de sistemik olarak uyararak temel bir rol oynar. Doğal olarak meydana gelen bir bitki hormonu olarak, çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonlar üzerinde çeşitli etkiler yapar ve biyotik ve abiyotik stres toleransına katkıda bulunur (Alonso-Ramírez vd., 2009). *A. laxiflora*'nın toprak üstü kısmının GC-MS analizi, salisilik asidin varlığını ortaya koymuştur. Bu etken bileşik, standart farmasötik ilaçlarda kullanılan salisilik asit türevlerini içerir. Salisilik asit, bitki krallığı boyunca yaygın olarak bulunur ve tarihi 1878'e kadar uzanır; aynı yıl Almanya'da ilk sentezlenmiş ve dünya genelinde en çok satan ilaçlardan biri haline gelmiştir. "Salisilik asit" kelimesi, Latince "salix" kelimesinden gelir, bu da söğüt ağacını ifade eder ve 1938 yılında Rafacle Piria tarafından adlandırılmıştır (Brereton vd., 2017; Thakur vd., 2023). Keratolitik, bakteriyostatik, fungisidal ve fotokoruyucu özellikleri nedeniyle salisilik asit genellikle topikal olarak kullanılır. Topikal uygulama, keratinosit proliferasyon hızını azaltır ve kolesterol sülfotransferazı inhibe eder, bu enzim kolesterol sülfat oluşumundan sorumludur (Fu vd., 2012; Wani vd., 2017).

Kumarik asit, sinamik asidin hidroksi türevidir ve doğada üç farklı izomer şeklinde bulunur (orto, meta ve para). En yaygın bulunan form p-kumarik asittir (Boz, 2015). Nötr ve fitokimyasal bir bileşik olan p-kumarik asit (4-hidroksi-sinamik asit), tahıllarda ve birçok meyve ve sebze de önemli düzeylerde tanımlanır. Bu doğal fenolik asit bileşiği patates, domates, fasulye, soğan, portakal, armut, elma, üzüm, çilek, mısır, yulaf ve buğday gibi çeşitli sebzelerde, meyvelerde ve tahıllarda bulunur. Çeşitli biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahip olması nedeniyle p-kumarik asit, son yıllarda büyük ilgi görmüştür. Bu özellikler arasında anti-enflamatuar, antioksidan, anti-amiloidojenik, anti-apoptotik, antidepresan, anksiyolitik ve mekansal bilişsel artırıcı etkiler bulunmaktadır. Ayrıca, p-kumarik asidin nörokoruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, in vitro ve in vivo koşullarda omurilik iskemik yaralanma, iskemik inme, lipopolisakkarit (LPS)-indüklenmiş beyin hasarı,

skopolamin indüklenmiş nörotoksisite ve kortikosteron indüklenmiş nöronal hasar gibi çeşitli hasarlara karşı etkilidir (Ghaderi vd., 2022; Khan vd., 2023). LC-MS nicel analizine göre hem *A.laxiflora* hemde *S.orientalis* en yaygın bileşik p-kumarik asittir. p-Kumarik asit (4-hidroksisinnamik asit), çeşitli sağlık faydaları sunan bir fitokimyasaldır. Kimyasal yapısı hücrel melanogeneze yer alan tirozinaz için doğal bir substrat olan L-tirozin'e yakından benzemektedir. Son zamanlarda p-kumarik asidin insan tirozinazının güçlü ve seçici bir inhibitörü olduğu bulunmuştur (Boo, 2019).

LC-MS analizine göre *A.laxiflora* ve *S.orientalis* toprak üstü kısımlarında en fazla bulunan bileşiklerden bir diğeri ise ferulik asittir. Ferulik asit yaygın olarak bitkilerde bulunur ve antimikrobiyal, antioksidan, antikanser, antikoagülan ve anti-enflamatuar özellikler de dahil olmak üzere geniş bir biyolojik aktivite yelpazesi sergiler. Ayrıca, ferulik asit ve türevleri bitki virüslerine karşı güçlü inhibisyon aktivitesi gösterir. Trans-ferulik asit, iltihap, nefrotoksisite, oksidatif hepatotoksisite ve oksidatif hasar gibi çeşitli durumların tedavisinde potansiyel etkilere sahiptir. Bunun yanı sıra, kolon kanser hücrelerinde antiproliferatif etkiler gösterir, serviks kanseri hücrelerinde radyo-duyarlılığı artırır ve DNA iplik kırıklarına karşı koruyucu etkiler sunar (Fang vd., 2008; Sergent vd., 2010; Wang vd., 2017). Son yıllarda, ferulik asit, antiviral potansiyeli ve güçlü antioksidan aktivitesi nedeniyle umut vadeden bir fitokimyasal olarak dikkat çekmektedir. (Das et al., 2014). Özellikle, düşük sitotoksisite ve yüksek biyoyararlanabilirlik puanı ile ön plana çıkan ferulik asit, aynı zamanda CYP1A2 inhibitörü olarak rol oynar ve ilaç yarı ömrünü artırır ve önemli ilaç etkileşimlerini engeller (Antonopoulou vd., 2022; Appiah-Opong vd., 2007). Özet olarak, ferulik asit bitkilerde bulunan önemli bir doğal bileşiktir. Hem *S.orientalis* hem de *A.laxiflora*'da yüksek miktarlarda geniş bir biyolojik aktivite ve antiviral potansiyele sahiptir. Sağlığın teşvik edilmesinde önemli bir rol oynayabilir ve gelecekteki salgın hastalıklara karşı mücadeleye katkıda bulunabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, *A. laxiflora* ve *S. orientalis* tohumları, protokormları, fideleri ve yetişkin bitkilerinin morfolojik ve kimyasal özelliklerini kapsamlı bir şekilde incelemiştir. Mikro-morfolojik verilerin analizi, *A. laxiflora*'nın *S. orientalis*'e kıyasla tohum ve embriyo boyutlarıyla önemli ölçüde daha büyük olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, *S. orientalis*'in tohum hacmi/embriyo hacmi oranının ve hava boşluğu parametresinin *A. laxiflora*'dan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. İki orkide türünün simbiyotik ilişkileri incelenmiş ve *Tulasnella calospora* (S6) ve *Ceratobasidium* sp. (AL5) izolatlarının sırasıyla *S. orientalis* ve *A. laxiflora*'da tohumdan çiçek aşamasına kadar destekleyici rol oynadığı tespit edilmiştir. Ek olarak, ex vitro simbiyotik yöntem kullanılarak elde edilen fidelerin doğal alana dikilmesi sonucunda sağlıklı bir büyüme ve çiçeklenme süreci gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, ex vitro simbiyotik çimlendirme uygulamasının sürdürülebilir orkide üretimi için çok umut verici olduğunu bir kez daha vurgulamıştır.

Bitkilerin kimyasal bileşenlerinin analizi, tohum, protokorm, fide ve yetişkin bitkilerin farklı kısımlarında çeşitli biyoaktif bileşiklerin bulunduğunu göstermiştir. Özellikle, çiçek kısımlarında yüksek antioksidan aktivite ve zengin fenolik bileşik içeriği belirlenmiştir. Bu, hem *S. orientalis* hem de *A. laxiflora*'nın farmasötik açıdan önemli potansiyellere sahip olduğunu göstermektedir.

Araştırmanın sonuçları, *A. laxiflora* ve *S. orientalis*'in biyolojik özellikleri ve kimyasal bileşenleri hakkında değerli bilgiler sunmaktadır. Bu veriler, tarım, tıp ve endüstri gibi çeşitli alanlarda kullanılabilecek önemli uygulamaları teşvik etmektedir. Tarımsal uygulamalarda, simbiyotik ilişkilerin bitki yetiştiriciliğine önemli katkılar sunduğu bilinmektedir. *A. laxiflora* ve *S. orientalis* gibi orkide türlerinin özel olarak yetiştirilmesi ve simbiyotik ilişkilerin kullanımıyla ilgili yöntemlerin geliştirilmesi, tarımsal üretimde verimliliği artırabilir. Tıbbi uygulamalarda, bitkilerin antioksidan aktiviteleri ve biyoaktif bileşik içeriği, farmasötik ve tıbbi ürünlerde kullanım potansiyelini vurgulamaktadır. Bitkilerin antioksidan özelliklerinin insan sağlığına faydalı olabileceği düşünülmektedir. Endüstriyel uygulamalarda, bitkilerden elde edilen kimyasal bileşenlerin kozmetik, gıda ve ilaç endüstrilerinde kullanımı, potansiyel bir alandır. Bitkilerin yağları, fenolik bileşikler ve diğer biyoaktif maddelerin endüstriyel ürünlerin üretiminde kullanılması, çeşitli sektörlerde yenilikçi

ürünlerin geliştirilmesine olanak tanıyabilir. Koruma ve restorasyon çalışmalarında, *A. laxiflora* ve *S. orientalis* gibi orkide türlerinin doğal yaşam alanlarının korunması ve restorasyonu önemlidir. Bu türlerin habitatlarının korunması, biyolojik çeşitlilik açısından önemli olup, ormancılık uygulamalarının yeniden düzenlenmesi ve doğal alanların restorasyonu için çaba gösterilmesi gerekmektedir. Bu öneriler, araştırmanın bulgularının pratik uygulamalarını ve sonuçlarının toplum ve çevre üzerindeki olası etkilerini dikkate alarak yapılmıştır. Bu alanda daha fazla araştırma yapılması ve çeşitli uygulamaların geliştirilmesi, *A. laxiflora* ve *S. orientalis* potansiyelini tam olarak ortaya çıkarabilir.



KAYNAKLAR

- Abelilla, J. J., Liu, Y., & Stein, H. H. (2018). Digestible indispensable amino acid score (DIAAS) and protein digestibility corrected amino acid score (PDCAAS) in oat protein concentrate measured in 20- to 30-kilogram pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(1), 410–414.
- Abian, O., Ortega-Alarcon, D., Jimenez-Alesanco, A., Ceballos-Laita, L., Vega, S., Reyburn, H. T., Rizzuti, B., & Velazquez-Campoy, A. (2020). Structural stability of SARS-CoV-2 3CLpro and identification of quercetin as an inhibitor by experimental screening. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 1693–1703.
- Aewsakul, N., Maneesorn, D., Serivichyaswat, P., Taluengjit, A., & Nontachaiyapoom, S. (2013). Ex vitro symbiotic seed germination of *Spathoglottis plicata* Blume on common orchid cultivation substrates. *Scientia Horticulturae*, 160, 238–242.
- Agatonovic-Kustrin, S., Gegechkori, V., Kustrin, E., & Morton, D. W. (2022). The Effect of Lactic Acid Fermentation on Extraction of Phenolics and Flavonoids from Sage Leaves. *Applied Sciences* 2022, Vol. 12, Page 9959, 12(19), 9959.
- Ahmad, N., Anwar, F., Hameed, S., & Boyce, M. C. (2011). Antioxidant and antimicrobial attributes of different solvent extracts from leaves and flowers of akk [*Calotropis procera* (Ait.) Ait. F.]. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(19), 4879-4887.
- Ahmad Jan, H., Šurina, I., Zaman, A., Al-Fatesh, A. S., Rahim, F., & Al-Otaibi, R. L. (2022). Synthesis of Biodiesel from *Ricinus communis* L. Seed Oil, a Promising Non-Edible Feedstock Using Calcium Oxide Nanoparticles as a Catalyst. *Energies* (2022), Vol. 15, Page 6425, 15(17), 6425.
- Ahumada, I., Cairó, A., Hemmerlin, A., González, V., Pateraki, I., Bach, T. J., Rodríguez-Concepción, M., Campos, N., Boronat, A., Ahumada, I., Cairó, A., Hemmerlin, A., González, V., Pateraki, I., Bach, T. J., Rodríguez-Concepción, M., Campos, N., & Boronat, A. (2008). Characterisation of the gene family encoding acetoacetyl-CoA thiolase in *Arabidopsis*. *Functional Plant Biology*, 35(11), 1100–1111.
- Akhter, G., Khan, A., Ali, S. G., Khan, T. A., Siddiqi, K. S., & Khan, H. M. (2020). Antibacterial and nematocidal properties of biosynthesized Cu nanoparticles using extract of holoparasitic plant. *SN Applied Sciences*, 2(7), 1–6.
- Akinwumi, B. C., Bordun, K. A. M., & Anderson, H. D. (2018). Biological Activities of Stilbenoids. *International Journal of Molecular Sciences* 2018, Vol. 19, Page 792, 19(3), 792.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200–214.
- Alex, B., Koshy, E., Archives, G. T.-P., & 2018, undefined. (2018). Comprehensive metabolite profiling of *Haematocarpus validus* (Miers) Bakh. f. ex Forman leaf and fruit samples using FTIR spectroscopic analysis. *Plantarchives*, 18(1), 897–900.

- Alghamdi, S. A. (2020). Biological role of mycorrhizal fungi on the assimilation and transportation of carbon and nitrogen to *Anacamptis palustris* and *Anacamptis laxiflor*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(1), 465–473.
- Al-Mussawi, Z. K., & Al-Hussani, I. M. (2019). Phytochemical study of *Calendula officinalis* plant by used GC-MS and FTIR techniques.
- Alonso-Ramírez, A., Rodríguez, D., Reyes, D., Jiménez, J. A., Nicolás, G., López-Climent, M., ... & Nicolás, C. (2009). Evidence for a role of gibberellins in salicylic acid-modulated early plant responses to abiotic stress in *Arabidopsis* seeds. *Plant Physiology*, 150(3), 1335-1344.
- Alvarez-Suarez, J. M., Cuadrado, C., Redondo, I. B., Giampieri, F., González-Paramás, A. M., & Santos-Buelga, C. (2021). Novel approaches in anthocyanin research - Plant fortification and bioavailability issues. *Trends in Food Science & Technology*, 117, 92–105.
- Anantharaju, P. G., Gowda, P. C., Vimalambike, M. G., & Madhunapantula, S. V. (2016). An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. *Nutrition Journal* 2016 15:1, 15(1), 1–16.
- Antil, R., Singh, L., Gahlawat, D. K., & Dahiya, P. (2019). Investigation of chemical composition of methanolic extract of *Anisomeles indica* (L.) Kuntze by using FTIR and GC-MS. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(4), 49-54.
- Antonopoulou, I., Sapountzaki, E., Rova, U., & Christakopoulos, P. (2022). Ferulic acid from plant biomass: A phytochemical with promising antiviral properties. *Frontiers in nutrition*, 8, 777576.
- Araújo, W. L., Ishizaki, K., Nunes-Nesi, A., Larson, T. R., Tohge, T., Krahner, I., Witt, S., Obata, T., Schauer, N., Graham, I. A., Leaver, C. J., & Fernie, A. R. (2010). Identification of the 2-Hydroxyglutarate and Isovaleryl-CoA Dehydrogenases as Alternative Electron Donors Linking Lysine Catabolism to the Electron Transport Chain of *Arabidopsis* Mitochondria. *The Plant Cell*, 22(5), 1549–1563.
- Arditti, J., Flick, B. H., Ehmann, A., & Fisch, M. H. (1975). Orchid Phytoalexins. II. Isolation And Characterization Of Possible Sterol Companions. *American Journal of Botany*, 62(7), 738–742.
- Arditti, J., & 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. <https://doi.org/10.1046/J.1469-8137.2000.00587.X>
- Arditti, J., Michaud, J. D., & Healey, P. L. (1980). Morphometry of Orchid Seeds. II. Native California and Related Species of *Calypso*, *Cephalanthera*, *Corallorhiza* and *Epipactis*. *American Journal of Botany*, 67(3), 347. <https://doi.org/10.2307/2442345>
- Arts, I. C. W., Van De Putte, B., & Hollman, P. C. H. (2000). Catechin Contents of Foods Commonly Consumed in The Netherlands. 1. Fruits, Vegetables, Staple Foods, and Processed Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1746–1751.

- Appiah-Opong, R., Commandeur, J. N., Axson, C., & Vermeulen, N. P. (2008). Interactions between cytochromes P450, glutathione S-transferases and Ghanaian medicinal plants. *Food and chemical toxicology*, 46(12), 3598-3603.
- Asadova, R. A., Abbasov, V. M., Allahverdiyev, E. I., & Gurbanova, G. G. (2020). Study of the effect of synthesized compounds on the bases of organic acids on plant seeds. *Ppor.Az*, 21(1), 155–167.
- Aytar, E. C., Harzli, I., & Özdener Kömpe, Y. (2023). Phytochemical Analysis of *Anacamptis coriophora* Plant Cultivated Using Ex Vitro Symbiotic Propagation. *Chemistry & Biodiversity*, 20(12), e202301218.
- Aytar, E. C., & Özdener Kömpe, Y. (2023). Effect of different substrates on in vitro symbiotic seed germination for soilless production of *Anacamptis laxiflora* orchid. *Acta Botanica Croatica*, 82(2), 0-0.
- Aytar, E. C., & Kömpe, Y. O. (2024). Cultivation of *Serapias orientalis* Plant Using Symbiotic Methods and Investigation of Bioactive Compounds. *ACS Agricultural Science & Technology*.
- Azzini, E., Giacometti, J., & Russo, G. L. (2017). Antiobesity Effects of Anthocyanins in Preclinical and Clinical Studies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.
- Badshah, S. L., Faisal, S., Muhammad, A., Poulson, B. G., Emwas, A. H., & Jaremko, M. (2021). Antiviral activities of flavonoids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 140, 111596.
- Bagchi, T. B., Chattopadhyay, K., Sivashankari, M., Roy, S., Kumar, A., Biswas, T., & Pal, S. (2021). Effect of different processing technologies on phenolic acids, flavonoids and other antioxidants content in pigmented rice. *Journal of Cereal Science*, 100, 103263.
- Baker, M. E. (1995). Endocrine activity of plant-derived compounds: an evolutionary perspective. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 208(1), 131-138.
- Balestrini, R., & Lumini, E. (2018). Focus on mycorrhizal symbioses. *Applied Soil Ecology*, 123, 299–304.
- Ballhorn, D. J., Kautz, S., Heil, M., & Hegeman, A. D. (2009). Cyanogenesis of Wild Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) Is an Efficient Direct Defence in Nature. *PLOS ONE*, 4(5), e5450.
- Barreca, D., Gattuso, G., Bellocco, E., Calderaro, A., Trombetta, D., Smeriglio, A., Laganà, G., Daglia, M., Meneghini, S., & Nabavi, S. M. (2017). Flavanones: Citrus phytochemical with health-promoting properties. *BioFactors*, 43(4), 495–506.
- Barreca, D., Trombetta, D., Smeriglio, A., Mandalari, G., Romeo, O., Felice, M. R., Gattuso, G., & Nabavi, S. M. (2021). Food flavonols: Nutraceuticals with complex health benefits and functionalities. *Trends in Food Science & Technology*, 117, 194–204.

- Barsberg, S. T., Lee, Y. I., & Rasmussen, H. N. (2018). Development of C-lignin with G/S-lignin and lipids in orchid seed coats – an unexpected diversity exposed by ATR-FT-IR spectroscopy. *Seed Science Research*, 28(1), 41–51.
- Bastert, J., Schaller, M., Korting, H. C., & Evans, E. G. V. (2001). Current and future approaches to antimycotic treatment in the era of resistant fungi and immunocompromised hosts. *International journal of antimicrobial agents*, 17(2), 81–91.
- Bazzicalupo, M., Calevo, J., Smeriglio, A., & Cornara, L. (2023). Traditional, Therapeutic Uses and Phytochemistry of Terrestrial European Orchids and Implications for Conservation. *Plants* 2023, Vol. 12, Page 257, 12(2), 257.
- Beale, D. J., Pinu, F. R., Kouremenos, K. A., Poojary, M. M., Narayana, V. K., Boughton, B. A., Kanojia, K., Dayalan, S., Jones, O. A. H., & Dias, D. A. (2018). Review of recent developments in GC–MS approaches to metabolomics-based research. *Metabolomics*, 14(11), 1–31.
- Bellusci, F., Pellegrino, G., Palermo, A. M., & Musacchio, A. (2008). Phylogenetic relationships in the orchid genus *Serapias* L. based on noncoding regions of the chloroplast genome. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47(3), 986–991.
- Bensemmane, N., Bouzidi, N., Daghbouche, Y., Garrigues, S., de la Guardia, M., & El Hattab, M. (2021). Quantification of phenolic acids by partial least squares Fourier-transform infrared (PLS-FTIR) in extracts of medicinal plants. *Phytochemical Analysis*, 32(2), 206–221.
- Beyrle, H. F., Smith, S. E., Franco, C. M. M., & 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.
- Bhattacharyya, P., Kumar, V., Grúz, J., Doležal, K., & Van Staden, J. (2019). Deciphering the phenolic acid reserves and antioxidant activity within the protocorm like bodies of *Ansellia africana*: A vulnerable medicinal orchid. *Industrial Crops and Products*, 135, 21–29.
- Bilgin, Ö., Çarlı, U., Erdoğan, S., Maviş, M. E., Gursu, G. G., & Yılmaz, M. (2018). Karadeniz’de avlanan hamsi balığı, *Engraulis encrasicolus*, etinin amino asit içeriğinin LCMS/MS kullanılarak tespiti. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 5(4), 465–470.
- Bjarnholt, N., & Møller, B. L. (2008). Hydroxynitrile glucosides. *Phytochemistry*, 69(10), 1947–1961.
- Blakeman, J. P., Mokahel, M. A., & Hadley, G. (1976). Effect Of Mycorrhizal Infection On Respiration And Activity Of Some Oxidase Enzymes Of Orchid Protocorms. *New Phytologist*, 77(3), 697–704.
- Blažević, I., Montaut, S., Burčul, F., Olsen, C. E., Burow, M., Rollin, P., & Agerbirk, N. (2020). Glucosinolate structural diversity, identification, chemical synthesis and metabolism in plants. *Phytochemistry*, 169, 112100.

- Blomquist, G. J., Chu, A. J., & Remaley, S. (1980). Biosynthesis of wax in the honeybee, *Apis mellifera* L. *Insect biochemistry*, 10(3), 313-321.
- Boachon, B., Lynch, J. H., Ray, S., Yuan, J., Caldo, K. M. P., Junker, R. R., Kessler, S. A., Morgan, J. A., & Dudareva, N. (2019). Natural fumigation as a mechanism for volatile transport between flower organs. *Nature Chemical Biology* 2019 15:6, 15(6), 583–588.
- Bobo-Pinilla, J., Salmerón-Sánchez, E., Mendoza-Fernández, A. J., Mota, J. F., & Peñas, J. (2022). Conservation and Phylogeography of Plants: From the Mediterranean to the Rest of the World. *Diversity* 2022, Vol. 14, Page 78, 14(2), 78.
- Boeriu, C. G., Bravo, D., Gosselink, R. J. A., & Van Dam, J. E. G. (2004). Characterisation of structure-dependent functional properties of lignin with infrared spectroscopy. *Industrial Crops and Products*, 20(2), 205–218.
- Boncan, D. A. T., Tsang, S. S. K., Li, C., Lee, I. H. T., Lam, H. M., Chan, T. F., & Hui, J. H. L. (2020). Terpenes and Terpenoids in Plants: Interactions with Environment and Insects. *International Journal of Molecular Sciences* 2020, Vol. 21, Page 7382, 21(19), 7382.
- Bonnardeaux, Y., Brundrett, M., Batty, A., Dixon, K., Koch, J., & Sivasithamparam, K. (2007). Diversity of mycorrhizal fungi of terrestrial orchids: compatibility webs, brief encounters, lasting relationships and alien invasions. *Mycological Research*, 111(1), 51–61.
- Boo, Y. C. (2019). p-Coumaric acid as an active ingredient in cosmetics: A review focusing on its antimelanogenic effects. *Antioxidants*, 8(8), 275.
- Booth, J. K., Page, J. E., & Bohlmann, J. (2017). Terpene synthases from *Cannabis sativa*. *PLOS ONE*, 12(3), e0173911.
- Boots, A. W., Haenen, G. R. M. M., & Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*, 585(2–3), 325–337.
- Boz, H. (2015). p-Coumaric acid in cereals: presence, antioxidant and antimicrobial effects. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(11), 2323-2328.
- Borges Bubols, G., da Rocha Vianna, D., Medina-Remon, A., von Poser, G., Maria Lamuela-Raventos, R., Lucia Eifler-Lima, V., & Cristina Garcia, S. (2013). The Antioxidant Activity of Coumarins and Flavonoids. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(3), 318–334.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant science*, 161(5), 839-851.
- Braca, A., De Tommasi, N., Di Bari, L., Pizza, C., Politi, M., & Morelli, I. (2001). Antioxidant principles from *bauhinia t arapotensis*. *Journal of natural products*, 64(7), 892-895.

- Brereton, N. J., Berthod, N., Lafleur, B., Pedneault, K., Pitre, F. E., & Labrecque, M. (2017). Extractable phenolic yield variation in five cultivars of mature short rotation coppice willow from four plantations in Quebec. *Industrial crops and products*, 97, 525-535.
- Brooker, N., Windorski, J., & Bluml, E. (2008). Halogenated coumarin derivatives as novel seed protectants. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 73(2), 81-89.
- Brown, D. C. W., & Thorpe, T. A. (1995). Crop improvement through tissue culture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 1995 11:4, 11(4), 409-415.
- Buitimea-Cantúa, G. V., Welte-Chanes, J., & Escobedo-Avellaneda, Z. (2022). Metabolite transformation and β -d-glucosidase activity during the high hydrostatic pressure assisted curing of vanilla beans (*Vanilla planifolia*) to improve phenolic compounds formation. *Food Chemistry*, 384, 132497.
- Buitrago, M. F., Groen, T. A., Hecker, C. A., & Skidmore, A. K. (2016). Changes in thermal infrared spectra of plants caused by temperature and water stress. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 111, 22-31.
- Bulpitt, C. J., Li, Y., Bulpitt, P. F., & Wang, J. (2007). The use of orchids in Chinese medicine. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 100(12), 558-563.
- Bureau, S., Cozzolino, D., & Clark, C. J. (2019). Contributions of Fourier-transform mid infrared (FT-MIR) spectroscopy to the study of fruit and vegetables: A review. *Postharvest Biology and Technology*, 148, 1-14.
- Butler, H. J., McAinsh, M. R., Adams, S., & Martin, F. L. (2015). Application of vibrational spectroscopy techniques to non-destructively monitor plant health and development. *Analytical Methods*, 7(10), 4059-4070.
- Butnariu, M., & Bocso, N.-S. (2022). The biological role of primary and secondary plants metabolites Role of Water in the Metabolism and Life of Living Organisms View project Call for Book Chapters “Book Theme: Microbial Bio-remediation-Sustainable Management of Environmental Contamination” View project The biological role of primary and secondary plants metabolites. *Nutrition and Food Processing*, 5(3).
- Butts-Wilmsmeyer, C. J., Mumm, R. H., & Bohn, M. O. (2020). Quantitative genetic analysis of hydroxycinnamic acids in maize (*Zea mays* L.) for plant improvement and production of health-promoting compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(35),
- Caffrey, A., & Ebeler, S. E. (2021). The Occurrence of Glycosylated Aroma Precursors in *Vitis vinifera* Fruit and *Humulus lupulus* Hop Cones and Their Roles in Wine and Beer Volatile Aroma Production. *Foods* 2021, Vol. 10, Page 935, 10(5), 935.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., & Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74(17), 2157-2184.

- Cajka, T., & Fiehn, O. (2016). Toward Merging Untargeted and Targeted Methods in Mass Spectrometry-Based Metabolomics and Lipidomics. *Analytical Chemistry*, 88(1), 524–545.
- Calevo, J., Voyron, S., Adamo, M., Alibrandi, P., Perotto, S., & Girlanda, M. (2021). Can orchid mycorrhizal fungi be persistently harbored by the plant host? *Fungal Ecology*, 53, 101071.
- Calevo, J., & Duffy, K. J. (2023). Interactions among mycorrhizal fungi enhance the early development of a Mediterranean orchid. *Mycorrhiza*, 33(4), 229–240.
- Caniard, A., Zerbe, P., Legrand, S., Cohade, A., Valot, N., Magnard, J. L., Bohlmann, J., & Legendre, L. (2012). Discovery and functional characterization of two diterpene synthases for sclareol biosynthesis in *Salvia sclarea* (L.) and their relevance for perfume manufacture. *BMC Plant Biology*, 12(1), 1–13.
- Cao, G., Muccitelli, H. U., Sánchez-Moreno, C., & Prior, R. L. (2001). Anthocyanins are absorbed in glycosylated forms in elderly women: a pharmacokinetic study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(5), 920–926.
- Carneiro, A., Matos, M. J., Uriarte, E., & Santana, L. (2021). Trending Topics on Coumarin and Its Derivatives in 2020. *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 501, 26(2), 501.
- Casado, N., Morante-Zarcero, S., & Sierra, I. (2022). The concerning food safety issue of pyrrolizidine alkaloids: An overview. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 123–139.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871.
- Cesarino, I. (2019). Structural features and regulation of lignin deposited upon biotic and abiotic stresses. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 209–214.
- Cevallos-Casals, B. A., & Cisneros-Zevallos, L. (2003). Stoichiometric and Kinetic Studies of Phenolic Antioxidants from Andean Purple Corn and Red-Fleshed Sweetpotato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3313–3319.
- Chadwick, M., Trewin, H., Gawthrop, F., & Wagstaff, C. (2013). Sesquiterpenoids Lactones: Benefits to Plants and People. *International Journal of Molecular Sciences* 2013, Vol. 14, Pages 12780-12805, 14(6), 12780–12805.
- Chang, H., Mi, M., Ling, W., Zhu, J., Zhang, Q., Wei, N., Zhou, Y., Tang, Y., Yu, X., Zhang, T., Wang, J., & Yuan, J. (2010). Structurally Related Anticancer Activity Of Flavonoids: Involvement Of Reactive Oxygen Species Generation. *Journal of Food Biochemistry*, 34(SUPPL. 1), 1–14.
- Chang, Y., Lou, L. L., Zhang, X., Hou, J. Y., Yao, G. D., Huang, X. X., Song, S. J., Lin, B., & Bai, M. (2022). Solanoids F – I: Terpenoids from *Solanum lyratum* with neuroprotective effects against H₂O₂-induced SH-SY5Y cell injuries. *Fitoterapia*, 163, 105346.

- Chase, M. W., Cameron, K. M., Freudenstein, J. V., Pridgeon, A. M., Salazar, G., van den Berg, C., & Schuiteman, A. (2015). An updated classification of Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 177(2), 151–174.
- Chatterjee, B., & Vittal, R. R. (2023). Surface Disinfection and Sanitizing Action of the Alcohol-Free Essential Oil-based Green Formulation. *Current Microbiology*, 80(5), 170.
- Chen, C. Y., Qi, L. W., Li, H. J., Li, P., Yi, L., Ma, H. L., & Tang, D. (2007). Simultaneous determination of iridoids, phenolic acids, flavonoids, and saponins in Flos Lonicerae and Flos Lonicerae Japonicae by HPLC-DAD-ELSD coupled with principal component analysis. *Journal of Separation Science*, 30(18), 3181–3192.
- Chen, L., Pang, Y., Luo, Y., Cheng, X., Lv, B., & Li, C. (2021). Separation and purification of plant terpenoids from biotransformation. *Engineering in Life Sciences*, 21(11), 724–738.
- Chen, P. H., Peng, C. Y., Pai, H. C., Teng, C. M., Chen, C. C., & Yang, C. R. (2011). Denbinobin suppresses breast cancer metastasis through the inhibition of Src-mediated signaling pathways. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(8), 732–740.
- Chen, Q., Jiang, T., Liu, Y. X., Liu, H., Zhao, T., Liu, Z., Gan, X., Hallab, A., Wang, X., He, J., Ma, Y., Zhang, F., Jin, T., Schranz, M. E., Wang, Y., Bai, Y., & Wang, G. (2019). Recently duplicated sesterterpene (C25) gene clusters in *Arabidopsis thaliana* modulate root microbiota. *Science China Life Sciences* 2019 62:7, 62(7), 947–958.
- Chen, T. H., Pan, S. L., Guh, J. H., Chen, C. C., Huang, Y. T., Pai, H. C., & Teng, C. M. (2008). Denbinobin induces apoptosis by apoptosis-inducing factor releasing and DNA damage in human colorectal cancer HCT-116 cells. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 378(5), 447–457.
- Chen, X., Guo, S., & Meng, Z. (1994). Effects of fungal elicitors on growth of *Dendrobium candidum* protocorms. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*.
- Chen, Y., Goodale, U. M., Fan, X. L., & Gao, J. Y. (2015). Asymbiotic seed germination and in vitro seedling development of *Paphiopedilum spicerianum*: An orchid with an extremely small population in China. *Global Ecology and Conservation*, 3, 367–378.
- Cheng, Z., Sattler, S., Maeda, H., Sakuragi, Y., Bryant, D. A., & DellaPenna, D. (2003). Highly Divergent Methyltransferases Catalyze a Conserved Reaction in Tocopherol and Plastoquinone Synthesis in Cyanobacteria and Photosynthetic Eukaryotes. *The Plant Cell*, 15(10), 2343–2356.
- Cheong, Y. T., Chua, A. S. M., & Ngoh, G. C. (2023). Strategizing Assistive Heating Techniques on Delignification of Empty Fruit Bunch with Incorporation of Deep Eutectic Solvent. *Waste and Biomass Valorization*, 1, 1–14.
- Cherdkeattikul, S., Morisawa, Y., Tagami-Kanada, N., & Ida, T. (2023). FTIR and chemometric study of densified solid biofuel produced under subcritical water conditions and its compressive strength affected by lignocellulose substances. *Fuel*, 342, 127835.

- Cheynier, V. (2005). Flavonoids in wine. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*, 263–318.
- Cho, K. S., Lim, Y. R., Lee, K., Lee, J., Lee, J. H., & Lee, I. S. (2017). Terpenes from Forests and Human Health. *Toxicological Research* 2017 33:2, 33(2), 97–106.
- Chow, Y. Y., & Ting, A. S. Y. (2019). Influence of fungal infection on plant tissues: FTIR detects compositional changes to plant cell walls. *Fungal Ecology*, 37, 38–47.
- Chun, S. C., Gopal, J., Iyyakannu, S., & Muthu, M. (2020). An analytical retrospection of mass spectrometric tools established for plant tissue culture: Current endeavours and future perspectives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 126, 115843.
- Clements, M. A., Muir, H., & Cribb, P. J. (1986). A Preliminary Report on the Symbiotic Germination of European Terrestrial Orchids. *Kew Bulletin*, 41(2), 437.
- Cohen, J. E., Williams, H. N., Strong, Y. E., & Fisher, H. C. E. (2020). Non-detriment findings for international trade in wild orchids from developing countries; A case study for *Broughtonia sanguinea* in Jamaica. *Journal for Nature Conservation*, 56, 125840.
- Cowieson, A. J., Ruckebusch, J. P., Sorbara, J. O. B., Wilson, J. W., Guggenbuhl, P., & Roos, F. F. (2017). A systematic view on the effect of phytase on ileal amino acid digestibility in broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 225, 182–194.
- Cressey, P., & Reeve, J. (2019). Metabolism of cyanogenic glycosides: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 125, 225–232.
- Cui, Q., Du, R., Liu, M., & Rong, L. (2020). Lignans and Their Derivatives from Plants as Antivirals. *Molecules* 2020, Vol. 25, Page 183, 25(1), 183.
- Cushnie, T. P. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5), 377–386.
- da Silva Leite, R., Neves do Nascimento, M., Hernández-Navarro, S., Miguel Ruiz Potosme, N., & Karthikeyan, S. (2022). Use of ATR-FTIR spectroscopy for analysis of water deficit tolerance in *Physalis peruviana* L. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 280, 121551.
- Deciga-Campos, M., González-Trujano, E., Navarrete, A., & Mata, R. (2005). Antinociceptive effect of selected Mexican traditional medicinal species. In *Proceedings-Western Pharmacology Society* (Vol. 48, p. 196). Western Pharmacology Society; 1998.
- Dafni, A., Ivri, Y., & Brantjes, N. B. M. (1981). Pollination of *Serapias vomeracea* briq. (Orchidaceae) by imitation of holes for sleeping solitary male bees (hymenoptera). *Acta Botanica Neerlandica*, 30(1–2), 69–73.
- Dalar, A., Guo, Y., Esim, N., Bengu, A. S., & Konczak, I. (2015). Health attributes of an endemic orchid from Eastern Anatolia, *Dactylorhiza chuhensis* Renz&Taub.—In vitro investigations. *Journal of herbal medicine*, 5(2), 77-85.

- Das, A. K., Islam, M. N., Faruk, M. O., Ashaduzzaman, M., & Dungani, R. (2020). Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal of Botany*, 135, 58–70.
- Das, U., Manna, K., Sinha, M., Datta, S., Das, D. K., Chakraborty, A., ... & Dey, S. (2014). Role of ferulic acid in the amelioration of ionizing radiation induced inflammation: a murine model. *PloS one*, 9(5), e97599.
- Das, S., & Rosazza, J. P. N. (2006). Microbial and enzymatic transformations of flavonoids. *Journal of Natural Products*, 69(3), 499–508.
- David, M., Serban, A., Radulescu, C., Danet, A. F., & Florescu, M. (2019). Bioelectrochemical evaluation of plant extracts and gold nanozyme-based sensors for total antioxidant capacity determination. *Bioelectrochemistry*, 129, 124–134.
- de Elguea-Culebras, G. O., Bravo, E. M., & Sánchez-Vioque, R. (2022). Potential sources and methodologies for the recovery of phenolic compounds from distillation residues of Mediterranean aromatic plants. An approach to the valuation of by-products of the essential oil market – A review. *Industrial Crops and Products*, 175, 114261.
- de Pascual-Teresa, S., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2010). Flavanols and Anthocyanins in Cardiovascular Health: A Review of Current Evidence. *International Journal of Molecular Sciences* 2010, Vol. 11, Pages 1679-1703, 11(4), 1679–1703.
- Dearnaley, J. D. W., Martos, F., & Selosse, M. A. (2012). Orchid mycorrhizas: Molecular ecology, physiology, evolution and conservation aspects. *Fungal Associations*, 2nd Edition, 9, 207–230.
- DellaPenna, D., & Pogson, B. J. (2006). Vitamin synthesis in plants: tocopherols and carotenoids. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57, 711-738.
- Deniz İ. G. Resimli Türkiye Florası, Adil Güner, Ali Kandemir, Yusuf Menemen, Hasan Yıldırım, Serdar Aslan, Aşkın Öykü Çimen, Editör, ANG Vakfı NezahatGökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları, İstanbul, ss.1, 2020
- Deniz, İ. G., Kömpe, Y. Ö., Harzli, I., Aytar, E. C., Mutlu, V. A., & Uysal, D. İ. (2022). From seed to flowering tuberous orchid using ex vitro symbiotic seed germination: A breakthrough study with *Anacamptis sancta*. *Rhizosphere*, 24, 100597.
- Deyno, S., Mtewa, A. G., Hope, D., Bazira, J., Makonnen, E., & Alele, P. E. (2021). Antibacterial Activities of *Echinops kebericho* Mesfin Tuber Extracts and Isolation of the Most Active Compound, Dehydrocostus Lactone. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 2249.
- Diantina, S., McGill, C., Millner, J., Nadarajan, J., Pritchard, H. W., Colville, L., & Clavijo McCormick, A. (2022). Seed viability and fatty acid profiles of five orchid species before and after ageing. *Plant Biology*, 24(1), 168-175.
- Diantina, S., Clavijo McCormick, A., Pritchard, H. W., Millner, J., Nadarajan, J., Mastur, M., & McGill, C. (2021, July). Orchid seed micro-morphometry: importance to species

- biology, ecology, and conservation. In II International Symposium on Tropical and Subtropical Ornamentals 1334 (pp. 153-162).
- Dincel, E. D., Ulusoy-Güzeldemirci, N., Şatana, D., & Küçükbasmacı, Ö. (2021). Design, synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of some novel hydrazinecarbothioamide, 4-thiazolidinone and 1, 2, 4-triazole-3-thione derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 58(1), 195-205.
- Dinkeloo, K., Boyd, S., & Pilot, G. (2018). Update on amino acid transporter functions and on possible amino acid sensing mechanisms in plants. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 74, 105–113.
- Divekar, P. A., Narayana, S., Divekar, B. A., Kumar, R., Gadratagi, B. G., Ray, A., Singh, A. K., Rani, V., Singh, V., Singh, A. K., Kumar, A., Singh, R. P., Meena, R. S., & Behera, T. K. (2022). Plant Secondary Metabolites as Defense Tools against Herbivores for Sustainable Crop Protection. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5), 2690.
- Djordjević, V., Tsiftsis, S., Lakušić, D., Jovanović, S., & Stevanović, V. (2016). Factors affecting the distribution and abundance of orchids in grasslands and herbaceous wetlands. *Systematics and Biodiversity*, 14(4), 355–370.
- Dörnenburg, H., & Knorr, D. (1995). Strategies for the improvement of secondary metabolite production in plant cell cultures. *Enzyme and Microbial Technology*, 17(8), 674–684.
- Dubis, E. N., Dubis, A. T., & Morzycki, J. W. (1999). Comparative analysis of plant cuticular waxes using HATR FT-IR reflection technique. *Journal of Molecular Structure*, 511–512, 173–179.
- Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D. A., & Orlova, I. (2007). Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives, 25(5), 417–440.
- Dudek, B., Warskulat, A. C., & Schneider, B. (2016). The Occurrence of Flavonoids and Related Compounds in Flower Sections of *Papaver nudicaule*. *Plants 2016*, Vol. 5, Page 28, 5(2), 28.
- Dulić, J., Ljubojević, M., Ognjanov, V., Barać, G., & Dulić, T. (2019). In vitro germination and seedling development of two European orchid species, *Himantoglossum jankae* Somlyay, Kreutz & Óvári and *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 55(4), 380–391.
- Durak, T., & Depciuch, J. (2020). Effect of plant sample preparation and measuring methods on ATR-FTIR spectra results. *Environmental and Experimental Botany*, 169, 103915.
- Durazzo, A., Lucarini, M., Camilli, E., Marconi, S., Gabrielli, P., Lisciani, S., ... & Marletta, L. (2018). Dietary lignans: definition, description and research trends in databases development. *Molecules*, 23(12), 3251.

- Dutra, D., Johnson, T. R., Kauth, P. J., Stewart, S. L., Kane, M. E., & 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.
- Duwiejua, M., Woode, E., & Obiri, D. D. (2002). Pseudo-akuammigine, an alkaloid from *Picralima nitida* seeds, has anti-inflammatory and analgesic actions in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(1), 73–79.
- Ebrahimi, A., Asadi, A. A., Monfared, S. R., Sahebi, M., Rezaee, S., & Khaledian, Y. (2020). Evaluation of phenotypic diversity of the endangered orchid (*Orchis mascula*): Emphasizing on breeding, conservation and development. *South African Journal of Botany*, 132, 304–315.
- Edelmann, A., Diewok, J., Schuster, K. C., & Lendl, B. (2001). Rapid Method for the Discrimination of Red Wine Cultivars Based on Mid-Infrared Spectroscopy of Phenolic Wine Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1139–1145.
- Ejike, C. E. C. C., Gong, M., & Udenigwe, C. C. (2013). Phytoalexins from the Poaceae: Biosynthesis, function and prospects in food preservation. *Food Research International*, 52(1), 167–177.
- Ejima, H., Richardson, J. J., & Caruso, F. (2017). Metal-phenolic networks as a versatile platform to engineer nanomaterials and biointerfaces. *Nano Today*, 12, 136–148.
- El-Baba, C., Baassiri, A., Kiriako, G., Dia, B., Fadlallah, S., Moodad, S., & Darwiche, N. (2021). Terpenoids' anti-cancer effects: focus on autophagy. *Apoptosis* 2021 26:9, 26(9), 491–511.
- El-Sohaimy, S. A., Androsova, N. V., Toshev, A. D., & El Enshasy, H. A. (2022). Nutritional Quality, Chemical, and Functional Characteristics of Hemp (*Cannabis sativa* ssp. *sativa*) Protein Isolate. *Plants* 2022, Vol. 11, Page 2825, 11(21), 2825.
- Eriksson, O., & Kainulainen, K. (2011). The evolutionary ecology of dust seeds. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 13(2), 73–87.
- Fàbregas, N., & Fernie, A. R. (2022). The reliance of phytohormone biosynthesis on primary metabolite precursors. *Journal of Plant Physiology*, 268, 153589.
- Fackler, K., Stevanic, J. S., Ters, T., Hinterstoisser, B., Schwanninger, M., & Salmén, L. (2011). FT-IR imaging microscopy to localise and characterise simultaneous and selective white-rot decay within spruce wood cells. *Holzforschung*, 65(3).
- Fang, L., Kraus, B., Lehmann, J., Heilmann, J., Zhang, Y., & Decker, M. (2008). Design and synthesis of tacrine-ferulic acid hybrids as multi-potent anti-Alzheimer drug candidates. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 18(9), 2905-2909.
- Fanelli, N. S., Bailey, H. M., Thompson, T. W., Delmore, R., Nair, M. N., & Stein, H. H. (2022). Digestible indispensable amino acid score (DIAAS) is greater in animal-based

- burgers than in plant-based burgers if determined in pigs. *European Journal of Nutrition*, 61(1), 461–475.
- Farber, C., Li, J., Hager, E., Chemelewski, R., Mullet, J., Rogachev, A. Y., & Kurouski, D. (2019). Complementarity of Raman and Infrared Spectroscopy for Structural Characterization of Plant Epicuticular Waxes. *ACS Omega*, 4(2), 3700–3707.
- Fay, M. F. (2018). Orchid conservation: how can we meet the challenges in the twenty-first century? *Botanical Studies* 2018 59:1, 59(1), 1–6.
- Fatahi, M., Vafaei, Y., Tahir, N. A. R., & Khorshidi, J. (2022). Large-scale in vitro multiplication and phytochemical analysis of *Himantoglossum affine* (Boiss.) Schltr.: an endangered Euro-Mediterranean terrestrial Orchid. *Diversity*, 14(12), 1137.
- Ferreira, N. P., Chiavelli, L. U., Savaris, C. R., Oliveira, S. M., Lucca, D. L., Milaneze-Gutierrez, M. A., ... & Pomini, A. M. (2019). Chemical study of the flowers of the orchid *Oncidium baueri* Lindley and their visiting bees *Trigona spinipes* Fabricius. *Biochemical systematics and ecology*, 86, 103918.
- Fiedor, J., & Burda, K. (2014). Potential Role of Carotenoids as Antioxidants in Human Health and Disease. *Nutrients* 2014, Vol. 6, Pages 466-488, 6(2), 466–488.
- Fischer, M., & Stöcklin, J. (1997). Local Extinctions of Plants in Remnants of Extensively Used Calcareous Grasslands 1950 –1985. *Conservation Biology*, 11(3), 727–737.
- Fox, E. G. P., & Adams, R. M. (2022). On the biological diversity of ant alkaloids. *Annual Review of Entomology*, 67, 367-385.
- Fraenkel, G. S. (1959). The raison d'être of secondary plant substances. *Science*, 129(3361), 1466–1470.
- Freestone, M. W., Swarts, N. D., Reiter, N., Tomlinson, S., Sussmilch, F. C., Wright, M. M., Holmes, G. D., Phillips, R. D., & Linde, C. C. (2021). Continental-scale distribution and diversity of *Ceratobasidium* orchid mycorrhizal fungi in Australia. *Annals of Botany*, 128(3), 329–343.
- Fu, L., Chen, F., Zhao, S., Yu, J., Karimi-Maleh, H., & Lin, C. Te. (2021). Analysis of coumarin in food and plant tissue without extraction based on voltammetry of microparticles. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(6), 5439–5444.
- Galili, G., Avin-Wittenberg, T., Angelovici, R., & Fernie, A. R. (2014). The role of photosynthesis and amino acid metabolism in the energy status during seed development. *Frontiers in Plant Science*, 5, 447.
- Gamarra, R., Ortúñez, E., Cela, P. G., & Guadaño, V. (2012). *Anacamptis* versus *Orchis* (Orchidaceae): Seed micromorphology and its taxonomic significance. *Plant Systematics and Evolution*, 298(3), 597–607.
- Gao, W., He, Y., Li, F., Chai, C., Zhang, J., Guo, J., Chen, C., Wang, J., Zhu, H., Hu, Z., & Zhang, Y. (2019). Antibacterial activity against drug-resistant microbial pathogens of

- cytochalasan alkaloids from the arthropod-associated fungus *Chaetomium globosum* TW1-1. *Bioorganic Chemistry*, 83, 98–104.
- Gao, W., Yang, H., Qi, L. W., Liu, E. H., Ren, M. T., Yan, Y. T., Chen, J., & Li, P. (2012). Unbiased metabolite profiling by liquid chromatography–quadrupole time-of-flight mass spectrometry and multivariate data analysis for herbal authentication: Classification of seven *Lonicera* species flower buds. *Journal of Chromatography A*, 1245, 109–116.
- Garcia, C., & Blesso, C. N. (2021). Antioxidant properties of anthocyanins and their mechanism of action in atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 172, 152–166.
- Gaskett, A. C., & Gallagher, R. V. (2018). Orchid diversity: Spatial and climatic patterns from herbarium records. *Ecology and Evolution*, 8(22), 11235–11245.
- Ge, Y., & Li, Z. (2018). Application of Lignin and Its Derivatives in Adsorption of Heavy Metal Ions in Water: A Review. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 6(5), 7181–7192.
- Geiselhardt, S. F., Geiselhardt, S., & Peschke, K. (2011). Congruence of epicuticular hydrocarbons and tarsal secretions as a principle in beetles. *Chemoecology*, 21(3), 181–186.
- Gendrin, C., Roggo, Y., & Collet, C. (2008). Pharmaceutical applications of vibrational chemical imaging and chemometrics: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48(3), 533–553.
- Gerez, E., Korkut, Ö., Bayrak, B., & Kuşlu, Y. (2022). Production of natural rubber from *Euphorbia stricta* L. and *Tragopogon aureus* Boiss plants. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(11), 5385–5396.
- Gervasi, D. D. L., Selosse, M.-A., Sauve, M., Francke, W., Vereecken, N. J., Cozzolino, S., & Schiestl, F. P. (2017). Floral scent and species divergence in a pair of sexually deceptive orchids. *Wiley Online Library*, 7(6023), 6023–6034.
- Getz, W., A, K. S.-J. of C. P., & 1987, undefined. (1987). Olfactory sensitivity and discrimination of mixtures in the honeybee *Apis mellifera*. *Citeseer*, 160, 239–245.
- Ghaderi, S., Gholipour, P., Komaki, A., Salehi, I., Rashidi, K., Khoshnam, S. E., & Rashno, M. (2022). p-Coumaric acid ameliorates cognitive and non-cognitive disturbances in a rat model of Alzheimer's disease: The role of oxidative stress and inflammation. *International immunopharmacology*, 112, 109295.
- Ghorbani, A., Gravendeel, B., Selliah, S., Zarré, S., & de Boer, H. (2017). DNA barcoding of tuberous Orchidoideae: a resource for identification of orchids used in Salep. *Molecular Ecology Resources*, 17(2), 342–352.
- Ghorbani, A., Rashidi, R., & Shafiee-Nick, R. (2019). Flavonoids for preserving pancreatic beta cell survival and function: A mechanistic review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111, 947–957.

- Ghorbani, A., Zarre, S., Gravendeel, B., & de Boer, H. J. (2014). Illegal wild collection and international trade of CITES-listed terrestrial orchid tubers in Iran. *TRAFFIC Bulletin*, 26(2), 52–58.
- Ginzel, M. D., Millar, J. G., & Hanks, L. M. (2003). (Z)-9-pentacosene - Contact sex pheromone of the locust borer, *Megacyllene robiniae*. *Chemoecology*, 13(3), 135–141.
- Givnish, T. J., Spalink, D., Ames, M., Lyon, S. P., Hunter, S. J., Zuluaga, A., Doucette, A., Caro, G. G., McDaniel, J., Clements, M. A., Arroyo, M. T. K., Endara, L., Kriebel, R., Williams, N. H., & Cameron, K. M. (2016). Orchid historical biogeography, diversification, Antarctica and the paradox of orchid dispersal. *Journal of Biogeography*, 43(10), 1905–1916.
- Giweli, A. A., Džamić, A. M., Soković, M., Ristić, M. S., Janačković, P., & Marin, P. D. (2013). The chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Salvia fruticosa* growing wild in Libya. *Archives of Biological Sciences*, 65(1), 321–329.
- Gould, M. N. (1997). Cancer chemoprevention and therapy by monoterpenes. *Environmental Health Perspectives*, 105(SUPPL. 4), 977–979.
- Grayer, R. J., & Kokubun, T. (2001). Plant–fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants. *Phytochemistry*, 56(3), 253–263.
- Grayson, D. H. (1988). Monoterpenoids. *Natural Product Reports*, 5(5), 419–464.
- Großkinsky, D. K., van der Graaff, E., & Roitsch, T. (2012). Phytoalexin transgenics in crop protection—Fairy tale with a happy end? *Plant Science*, 195, 54–70.
- Grubb, C. D., & Abel, S. (2006). Glucosinolate metabolism and its control. *Trends in Plant Science*, 11(2), 89–100.
- Guo, X., Schwab, W., Ho, C. T., Song, C., & Wan, X. (2022). Characterization of the aroma profiles of oolong tea made from three tea cultivars by both GC–MS and GC-IMS. *Food chemistry*, 376, 131933.
- Guo, Y., Chen, X., Gong, P., Wang, R., Han, A., Deng, Z., Qi, Z., Long, H., Wang, J., Yao, W., Yang, W., Wang, J., & Li, N. (2023). Advances in the Role and Mechanisms of Essential Oils and Plant Extracts as Natural Preservatives to Extend the Postharvest Shelf Life of Edible Mushrooms. *Foods 2023, Vol. 12, Page 801*, 12(4), 801.
- Gurullah Alghamdi, A., & Abdullah Al Ghamdi, C. (2021). Toxicological and biological effects of some plant extracts on the house mosquito *Culex pipiens*, the dominant species in Jeddah governorate. *Entomological Research*, 51(8), 403–412.
- Gyebi, G. A., Ogunro, O. B., Adegunloye, A. P., Ogunyemi, O. M., & Afolabi, S. O. (2021). Potential inhibitors of coronavirus 3-chymotrypsin-like protease (3CLpro): an in silico screening of alkaloids and terpenoids from African medicinal plants. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(9), 3396–3408.
- Hanson, A. D., & Roje, S. (2001). One-carbon metabolism in higher plants. *Annual review of plant biology*, 52(1), 119–137.

- Hapeshi, A., Benarroch, J. M., Clarke, D. J., & Waterfield, N. R. (2018). Iso-propyl stilbene: A life-cycle signal? *BioRxiv*, 498857.
- Harwood, J. L. (1996). Recent advances in the biosynthesis of plant fatty acids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*, 1301(1–2), 7–56.
- Harzli, I., & Kömpe, Y. Ö. (2023). Assessing the effectiveness of in vitro and in situ symbiotic seed germination: case of *Anacamptis papilionacea* (L.) RM Bateman, Pridgeon & MW Chase. *Symbiosis*, 91(1), 91-100.
- Hayat, J., Akodad, M., Moumen, A., Baghour, M., Skalli, A., Ezrari, S., & Belmalha, S. (2020). Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon*, 6(11), e05609.
- He, J., Yao, L., Pecoraro, L., Liu, C., Wang, J., Huang, L., & Gao, W. (2023). Cold stress regulates accumulation of flavonoids and terpenoids in plants by phytohormone, transcription process, functional enzyme, and epigenetics. *Critical Reviews in Biotechnology*, 43(5), 680-697.
- He, M., He, C. Q., & Ding, N. Z. (2018). Abiotic stresses: General defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 871, 1771.
- He, M., Qin, C. X., Wang, X., & Ding, N. Z. (2020). Plant Unsaturated Fatty Acids: Biosynthesis and Regulation. *Frontiers in Plant Science*, 11, 390.
- Hapeshi, A., Benarroch, J. M., Clarke, D. J., & Waterfield, N. R. (2019). Iso-propyl stilbene: a life cycle signal?. *Microbiology*, 165(5), 516-526.
- Helenius, A. (2018). Virus Entry: Looking Back and Moving Forward. *Journal of Molecular Biology*, 430(13), 1853–1862.
- Hernandez-Trejo, A., Rodríguez-Herrera, R., Sáenz-Galindo, A., López-Badillo, C. M., Flores-Gallegos, A. C., Ascacio-Valdez, J. A., Estrada-Drouaillet, B., Osorio-Hernández, E., Osorio, E., Rodríguez-Herrera, R., Sáenz-Galindo, A. S., López-Badillo, C. M., Osorio-Hernández, E., Adolfo López Mateos, C. L., Victoria, C., & exico, M. (2021). Insecticidal capacity of polyphenolic seed compounds from neem (*Azadirachta indica*) on *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) larvae., 56(12), 1023–1030.
- Herrero, M., Plaza, M., Cifuentes, A., & Ibáñez, E. (2012). Extraction techniques for the determination of phenolic compounds in food. *Comprehensive Sampling and Sample Preparation: Analytical Techniques for Scientists*, 159–180.
- Hildebrandt, T. M., Nunes Nesi, A., Araújo, W. L., & Braun, H. P. (2015). Amino Acid Catabolism in Plants. *Molecular Plant*, 8(11), 1563–1579.
- Hinsley, A., & Roberts, D. L. (2018). The wild origin dilemma. *Biological Conservation*, 217, 203–206.

- Hong, J., Yang, L., Zhang, D., & Shi, J. (2016). Plant Metabolomics: An Indispensable System Biology Tool for Plant Science. *International Journal of Molecular Sciences* 2016, Vol. 17, Page 767, 17(6), 767.
- Hop, N. Q., & Son, N. T. (2022). A comprehensive review on phytochemistry and pharmacology of genus *Kopsia*: monoterpene alkaloids – major secondary metabolites. *RSC Advances*, 12(30), 19171–19208.
- Horikawa, Y., Hirano, S., Mihashi, A., Kobayashi, Y., Zhai, S., & Sugiyama, J. (2019). Prediction of Lignin Contents from Infrared Spectroscopy: Chemical Digestion and Lignin/Biomass Ratios of *Cryptomeria japonica*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 188(4), 1066–1076.
- Horn, P. J., & Benning, C. (2016). The plant lipidome in human and environmental health. *Science*, 353(6305), 1228–11232.
- Hospodarova, V., Singovszka, E., Stevulova, N., Hospodarova, V., Singovszka, E., & Stevulova, N. (2018). Characterization of Cellulosic Fibers by FTIR Spectroscopy for Their Further Implementation to Building Materials. *American Journal of Analytical Chemistry*, 9(6), 303–310.
- Hossain, M. S., & Ahmed, S. (2023). FTIR spectrum analysis to predict the crystalline and amorphous phases of hydroxyapatite: A comparison of vibrational motion to reflection. *RSC advances*, 13(21), 14625–14630.
- Hostetler, G. L., Ralston, R. A., & Schwartz, S. J. (2017). Flavones: Food Sources, Bioavailability, Metabolism, and Bioactivity. *Advances in Nutrition*, 8(3), 423–435.
- Hren, B., Katona, K., Mink, J., Kohán, J., & Isaák, G. Y. (2000). Long-path FTIR spectroscopic studies of air pollutants in the Danube refinery plant. *Analyst*, 125(9), 1655–1659.
- Hu, J.-M., Yang, J., Yang, L., & Kuang, M.-T. (2021). Medicinal Orchids: *Dendrobium Species* and *Gastrodia elata* Blume. *Medicinal Plants and Mushrooms of Yunnan Province of China*, 165–192.
- Huang, J., Liu, C., Duan, S., Lin, J., Luo, Y., Tao, S., Xing, S., Zhang, X., Du, H., Wang, H., Huang, C., & Wei, G. (2021). Gigantol inhibits proliferation and enhances DDP-induced apoptosis in breast-cancer cells by downregulating the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Life Sciences*, 274, 119354.
- Huang, S. H., Zeng, H. Bin, Zhang, J. Y., Wei, S., & Huang, L. Q. (2011). Characterization of enzymes involved in the interconversions of different forms of vitamin B6 in tobacco leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(11), 1299–1305.
- Huang, Y., Xie, F. J., Cao, X., & Li, M. Y. (2021). Research progress in biosynthesis and regulation of plant terpenoids. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35(1), 1799–1808.

- Hynson, N. A., Madsen, T. P., Selosse, M. A., Adam, I. K. U., Ogura-Tsujita, Y., Roy, M., & Gebauer, G. (2013). The physiological ecology of mycoheterotrophy. *Mycoheterotrophy: The Biology of Plants Living on Fungi*, 9781461452096, 297–342.
- Ibáñez, C., García-Cañas, V., Valdés, A., & Simó, C. (2013). Novel MS-based approaches and applications in food metabolomics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 52, 100–111.
- Idowu, P. E., Ibitoye, D. O., & Ademoyegun, O. T. (2010). Tissue culture as a plant production technique for horticultural crops. *African Journal of Biotechnology*, 8(16), 3782–3788.
- Harzli, I., & Kömpe, Y. Ö. (2023). Assessing the effectiveness of in vitro and in situ symbiotic seed germination: case of *Anacamptis papilionacea* (L.) RM Bateman, Pridgeon & MW Chase. *Symbiosis*, 91(1), 91-100.
- IUCN, S. (2020). Primate Specialist Group.(2020). Regional action plan for the conservation of western chimpanzees (*Pan troglodytes verus*) 2020, 2030.
- Iriti, M., & Faoro, F. (2009). Chemical Diversity and Defence Metabolism: How Plants Cope with Pathogens and Ozone Pollution. *International Journal of Molecular Sciences* 2009, Vol. 10, Pages 3371-3399, 10(8), 3371–3399.
- Ithal, N., Recknor, J., Nettleton, D., Maier, T., Baum, T. J., & Mitchum, M. G. (2007). Developmental transcript profiling of cyst nematode feeding cells in soybean roots. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(5), 510-525.
- Iwata, N., Kainuma, M., Kobayashi, D., Kubota, T., Sugawara, N., Uchida, A., ... & Shimazoe, T. (2016). The relation between hepatotoxicity and the total coumarin intake from traditional Japanese medicines containing cinnamon bark. *Frontiers in pharmacology*, 7, 174..
- Jaakola, L. (2013). New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. *Trends in Plant Science*, 18(9), 477–483.
- Jacquemyn, H., Brys, R., & Jongejans, E. (2010). Size-dependent flowering and costs of reproduction affect population dynamics in a tuberous perennial woodland orchid. *Journal of Ecology*, 98(5), 1204–1215.
- Jacquemyn, H., Waud, M., Merckx, V. S. F. T., Lievens, B., & Brys, R. (2015). Mycorrhizal diversity, seed germination and long-term changes in population size across nine populations of the terrestrial orchid *Neottia ovata*. *Molecular Ecology*, 24(13), 3269-3280.
- Jacquemyn, H., Duffy, K. J., & Selosse, M. A. (2017). Biogeography of orchid mycorrhizas. *Biogeography of mycorrhizal symbiosis*, 159-177.
- Jamwal, K., Bhattacharya, S., & Puri, S. (2018). Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 9, 26–38.

- Jan, R., Asaf, S., Numan, M., Lubna, & Kim, K. M. (2021). Plant secondary metabolite biosynthesis and transcriptional regulation in response to biotic and abiotic stress conditions. *Agronomy*, 11(5).
- Jeganathan, B., Punyasiri, P. A. N., Kottawa-Arachchi, J. D., Ranatunga, M. A. B., Abeysinghe, I. S. B., Gunasekare, M. T. K., & Bandara, B. M. R. (2016). Genetic variation of flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in the Sri Lankan tea (*Camellia sinensis* L.) and their health-promoting aspects. *International Journal of Food Science*, 2016.
- Jersáková, J., Jürgens, A., Šmilauer, P., & Johnson, S. D. (2012). The evolution of floral mimicry: identifying traits that visually attract pollinators. *Functional Ecology*, 26(6), 1381–1389.
- Jeyaram, S. (2022). Spectral, third-order nonlinear optical and optical switching behavior of β -carotenoid extracted from *phyllanthus niruri*. *Indian Journal of Physics*, 96(6), 1655–1661.
- Ji, R., Lei, J., Chen, I. W., Sang, W., Yang, S., Fang, J., & Zhu-Salzman, K. (2021). Cytochrome P450s CYP380C6 and CYP380C9 in green peach aphid facilitate its adaptation to indole glucosinolate-mediated plant defense. *Pest Management Science*, 77(1), 148–158.
- Jiang, S., Wang, M. Y., Yuan, H. W., Xie, Q., Liu, Y., Li, B. S., Jian, Y. Q., Liu, C. X., Lou, H. Y., Atta-Ur-Rahman, Pan, W. D., & Wang, W. (2020). Medicinal plant of *Bletilla striata*: A review of its chemical constituents, pharmacological activities, and quality control. *World Journal of Traditional Chinese Medicine*, 6(4), 393.
- Jiang, T., Dai, X., Gao, T., Wang, L., Yang, F., Zhang, Y., Wang, N., Huang, G., & Cao, J. (2022). Ancepsone A, a new cheilanthane sesterterpene from *Aleuritopteris anceps*. *Tetrahedron Letters*, 100, 153869.
- Jiang, Y., Wang, W., Xie, Q., Liu, N., Liu, L., Wang, D., Zhang, X., Yang, C., Chen, X., Tang, D., & Wang, E. (2017). Plants transfer lipids to sustain colonization by mutualistic mycorrhizal and parasitic fungi. *Science*, 356(6343), 1172–1173.
- Jitsopakul, N., Jenrob, Y., Pongket, U., & Thammasiri, K. (2022). Intergeneric hybridization of *Seidenfadenia mitrata* (Rchb.f.) Garay with *Ascocentrum* spp. *Acta Horticulturae*, 1339, 139–145.
- Johnson, S. R., Bhat, W. W., Bibik, J., Turmo, A., Hamberger, B., Consortium, E. M. G., & Hamberger, B. (2019). A database-driven approach identifies additional diterpene synthase activities in the mint family (Lamiaceae). *Journal of Biological Chemistry*, 294(4), 1349–1362.
- Johnson, T. R., Stewart, S. L., Dutra, D., Kane, M. E., & 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), 313–323.

- Jolman, D., Batalla, M. I., Hungerford, A., Norwood, P., Tait, N., & Wallace, L. E. (2022). The challenges of growing orchids from seeds for conservation: An assessment of asymbiotic techniques. *Applications in Plant Sciences*, 10(5), e11496.
- Joshi, P. R., Paudel, M. R., Chand, M. B., Pradhan, S., Pant, K. K., Joshi, G. P., Bohara, M., Wagner, S. H., Pant, B., & Pant, B. (2020). Cytotoxic effect of selected wild orchids on two different human cancer cell lines. *Heliyon*, 6(5), e03991.
- Joyard, J., Ferro, M., Masselon, C., Seigneurin-Berny, D., Salvi, D., Garin, J., & Rolland, N. (2009). Chloroplast Proteomics and the Compartmentation of Plastidial Isoprenoid Biosynthetic Pathways. *Molecular Plant*, 2(6), 1154–1180.
- Juliet, Y. S., Kalimuthu, K., Vajjiram, C., & Ranjitha, V. (2018). Evaluation and comparison of phytochemical, GCMS and FTIR analysis of wild and micropropagated *cadaba fruticosa* (L.). *Wjpr.S3.Ap-South-1.Amazonaws*, 7, 746.
- Jurgenson, C. T., Begley, T. P., & Ealick, S. E. (2009). The structural and biochemical foundations of thiamin biosynthesis. *Annual review of biochemistry*, 78, 569-603.
- Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., & He, X. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2, 377–392.
- Kachroo, P., Shanklin, J., Shah, J., Whittle, E. J., & Klessig, D. F. (2001). A fatty acid desaturase modulates the activation of defense signaling pathways in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(16), 9448–9453.
- Kačuráková, M., Wellner, N., Ebringerová, A., Hromádková, Z., Wilson, R. H., & Belton, P. S. (1999). Characterisation of xylan-type polysaccharides and associated cell wall components by FT-IR and FT-Raman spectroscopies. *Food Hydrocolloids*, 13(1), 35–41.
- Kanniah, P., Radhamani, J., Chelliah, P., Muthusamy, N., Joshua Jebasingh Sathiya Balasingh Thangapandi, E., Reeta Thangapandi, J., ... & Shanmugam, R. (2020). Green synthesis of multifaceted silver nanoparticles using the flower extract of *Aerva lanata* and evaluation of its biological and environmental applications. *ChemistrySelect*, 5(7), 2322-2331.
- Kao, Y. Y., Harding, S. A., & Tsai, C. J. (2002). Differential Expression of Two Distinct Phenylalanine Ammonia-Lyase Genes in Condensed Tannin-Accumulating and Lignifying Cells of Quaking Aspen. *Plant Physiology*, 130(2), 796–807.
- Karasawa, M. M. G., & Mohan, C. (2018). Fruits as Prospective Reserves of bioactive Compounds: A Review. *Natural Products and Bioprospecting*, 8(5), 335–346.
- Katz, D. L., Doughty, K., & Ali, A. (2011). Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antioxidants and Redox Signaling*, 15(10), 2779–2811.
- Kaur, H., & Kaur, G. (2014). *A Critical Appraisal of Solubility Enhancement Techniques of Polyphenols*.

- Kaur, J., Mankoo, R. K., & Chahal, G. K. (2023). Synthesis of rice straw biopolymers based hydrogels and their use as media for growth of monocot (wheat) and dicot (moong bean) plants. *Chemical Papers*, 1, 1–17.
- Kendel, A., & Zimmermann, B. (2020). Chemical Analysis of Pollen by FT-Raman and FTIR Spectroscopies. *Frontiers in Plant Science*, 11, 352.
- Kęszycka, P. K., Szkop, M., & Gajewska, D. (2017). Overall Content of Salicylic Acid and Salicylates in Food Available on the European Market. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(50), 11085–11091.
- Khan, M., Khan, M., Kuniyil, M., Adil, S. F., Al-Warthan, A., Alkhathlan, H. Z., Tremel, W., Tahir, M. N., Rafiq, M., & Siddiqui, H. (2013). Biogenic synthesis of palladium nanoparticles using *Pulicaria glutinosa* extract and their catalytic activity towards the Suzuki coupling reaction. *Pubs.Rsc.Org*, 00, 1–3.
- Khan, R., & Naseem, I. (2023). Antiglycation and antioxidant potential of coumaric acid isomers: a comparative in-vitro study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-15.
- Khanbabaee, K., & van Ree, T. (2001). Tannins: Classification and Definition. *Natural Product Reports*, 18(6), 641–649.
- Khapugin, A. A., Kuzmin, I. V., & Silaeva, T. B. (2020). Anthropogenic drivers leading to regional extinction of threatened plants: insights from regional Red Data Books of Russia. *Biodiversity and Conservation*, 29(8), 2765–2777.
- Khiya, Z., Oualcadi, Y., Mourid, E. H., Tagnaout, I., Berrekhis, F., Zair, T., & El Hilali, F. (2021). Evaluation antioxidant and antibacterial activities of silver nanoparticles synthesized by aqueous extract of *Pistacia atlantica*. *Research on Chemical Intermediates*, 47(8), 3131–3144.
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *SNF Swedish Nutrition Foundation*, 61.
- Kilambi, H. V., Kumar, R., Sharma, R., & Sreelakshmi, Y. (2013). Chromoplast-Specific Carotenoid-Associated Protein Appears to Be Important for Enhanced Accumulation of Carotenoids in hp1 Tomato Fruits. *Plant Physiology*, 161(4), 2085–2101.
- Kim, B., Han, J. W., Thi Ngo, M., Le Dang, Q., Kim, J. C., Kim, H., & Choi, G. J. (2018). Identification of novel compounds, oleanane- and ursane-type triterpene glycosides, from *Trevesia palmata*: their biocontrol activity against phytopathogenic fungi. *Scientific Reports* 2018 8:1, 8(1), 1–11.
- Kim, P. G., Lee, A., Shin, J., Song, E., Koo, Y., Mohamed, D. F. M. S., Choi, S., Hong, Y., Song, S., Noh, I., & Kwon, J. H. (2023). Determination of terpene levels after the use of essential oil diffusers in vehicles and studio apartments using passive sampling. *Science of The Total Environment*, 879, 163071.

- Kim, Y. J., Zhang, D., & Yang, D. C. (2015). Biosynthesis and biotechnological production of ginsenosides. *Biotechnology Advances*, 33(6), 717–735.
- Kline, L. M., Hayes, D. G., Womac, A. R., & Labbé, N. (2010). Simplified determination of lignin content in hard and soft woods via UV-spectrophotometric analysis of biomass dissolved in ionic liquids. *BioResources*, 5(3), 1366–1383.
- Kłos, P., & Chlubek, D. (2022). Plant-Derived Terpenoids: A Promising Tool in the Fight against Melanoma. *Cancers 2022, Vol. 14, Page 502, 14*(3), 502.
- Knapp, W. M., Frances, A., Noss, R., Naczi, R. F. C., Weakley, A., Gann, G. D., Baldwin, B. G., Miller, J., McIntyre, P., Mishler, B. D., Moore, G., Olmstead, R. G., Strong, A., Kennedy, K., Heidel, B., & Gluesenkamp, D. (2021). Vascular plant extinction in the continental United States and Canada. *Conservation Biology*, 35(1), 360–368.
- Kocheva, L. S., Karmanov, A. P., Mironov, M. V., Belyy, V. A., Polina, I. N., & Pokryshkin, S. A. (2020). Characteristics of chemical structure of lignin biopolymer from *Araucaria* relict plant. Questions and answers of evolution. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159, 896–903.
- Kömpe, Y., Akin Mutlu, V., Özkoç, İ., Demiray, S., & Serhat, B. (2022). Fungal diversity and ex vitro symbiotic germination of *Serapias vomeracea* (Orchidaceae). *Acta Botanica Croatica*, 81(1), 108–116.
- Kömpe, Y. O., & Mutlu, V. A. (2021). Ex vitro symbiotic germination of the seeds of *Anacamptis coriophora* (L.) R.M. Bateman, Pritgeon & M.W. Chase and *Orchis anatolica* Boiss. *Biologia Futura*, 72(4), 509–516.
- Kompe, Y. O., Mutlu, V. A., & Ozkoc, İ. (2019). The viability of *Anacamptis laxiflora* (Orchidaceae) seeds and the symbiotic germination. <https://doi.org/10.1080/11263504.2019.1701118>, 154(6), 800–805.
- Kong, J. M., Goh, N. K., Chia, L. S., & Chia, T. F. (2003). Recent advances in traditional plant drugs and orchids. *Acta Pharmacologica Sinica*, 24(1), 7–21.
- Kopjar, M., Buljeta, I., Ćorković, I., Kelemen, V., Šimunović, J., & Pichler, A. (2022). Plant-based proteins as encapsulating materials for glucosyl-hesperidin. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(1), 728–737.
- Kovács, A., Vasas, A., & Hohmann, J. (2008). Natural phenanthrenes and their biological activity. *Phytochemistry*, 69(5), 1084–1110.
- Kull, T., & Hutchings, M. J. (2006). A comparative analysis of decline in the distribution ranges of orchid species in Estonia and the United Kingdom. *Biological Conservation*, 129(1), 31–39.
- Kull, T., Kuk, T., Leht, M., Krall, H., Kuk, Ü., Kull, K., & Kuusk, V. (2002). Distribution trends of rare vascular plant species in Estonia. *Biodiversity & Conservation* 2002 11:2, 11(2), 171–196.

- Kull, T., Selgis, U., Peciña, M. V., Metsare, M., Ilves, A., Tali, K., Sepp, K., Kull, K., & Shefferson, R. P. (2016). Factors influencing IUCN threat levels to orchids across Europe on the basis of national red lists. *Ecology and Evolution*, 6(17), 6245–6265.
- Kumar Dhingra, A., Chopra, B., Dass, R., & Kumar Mittal, S. (2015). An update on anti-inflammatory compounds: a review. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*, 14(2), 81-97.
- Kumar, J. K., & Prasad, A. D. (2011). Identification and comparison of biomolecules in medicinal plants of *Tephrosia tinctoria* and *Atylosia albicans* by using FTIR. *Romanian Journal of Biophysics*, 21(1), 63-71.
- Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, e00370.
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, 2013.
- Kuppusamy, S., Thavamani, P., Megharaj, M., & Naidu, R. (2015). Bioremediation potential of natural polyphenol rich green wastes: A review of current research and recommendations for future directions. *Environmental Technology & Innovation*, 4, 17–28.
- Kurniawan, Y. S., Setiyono, E., Yulianti, L., Alfasisurya, M., Adhiwibawa, S., Tata, K., & Priyanga, A. (2021). Spectroscopy Study of Honey Pineapple Peels Extracted in Different Solvents. *03(1)*, 32–35.
- Kytidou, K., Artola, M., Overkleeft, H. S., & Aerts, J. M. F. G. (2020). Plant Glycosides and Glycosidases: A Treasure-Trove for Therapeutics. *Frontiers in Plant Science*, 11, 357.
- Lake, B. G., & Grasso, P. (1996). Comparison of the Hepatotoxicity of Coumarin in the Rat, Mouse, and Syrian Hamster: A Dose and Time Response Study. *Fundamental and Applied Toxicology*, 34(1), 105–117.
- Lankadurai, B. P., Nagato, E. G., & Simpson, M. J. (2013). Environmental metabolomics: An emerging approach to study organism responses to environmental stressors. *Environmental Reviews*, 21(3), 180–205.
- Laoué, J., Fernandez, C., & Ormeño, E. (2022). Plant Flavonoids in Mediterranean Species: A Focus on Flavonols as Protective Metabolites under Climate Stress. *Plants* 2022, Vol. 11, Page 172, 11(2), 172.
- Larkin, T., Price, W. E., & Astheimer, L. (2008). The key importance of soy isoflavone bioavailability to understanding health benefits. *Critical reviews in food science and nutrition*, 48(6), 538-552.
- Lawler, J. (1984). Ethnobotany of the Orchidaceae. *Orchid biology, reviews and perspectives*, 3.

- Le Roux, J. J., Hui, C., Castillo, M. L., Iriondo, J. M., Keet, J. H., Khapugin, A. A., Médail, F., Rejmánek, M., Theron, G., Yannelli, F. A., & Hirsch, H. (2019). Recent Anthropogenic Plant Extinctions Differ in Biodiversity Hotspots and Coldspots. *Current Biology*, 29(17), 2912-2918.e2.
- Le, V., Sukhikh, A., Larichev, T., Ivanova, S., Prosekov, A., & Dmitrieva, A. (2023). Isolation of the Main Biologically Active Substances and Phytochemical Analysis of Ginkgo biloba Callus Culture Extracts. *Molecules* 2023, Vol. 28, Page 1560, 28(4), 1560.
- Li, D. D., Ni, R., Wang, P. P., Zhang, X. S., Wang, P. Y., Zhu, T. T., Sun, C. J., Liu, C. J., Lou, H. X., & Cheng, A. X. (2020). Molecular Basis for Chemical Evolution of Flavones to Flavonols and Anthocyanins in Land Plants. *Plant Physiology*, 184(4), 1731–1743.
- Li, D. Sen, Hua, J., Luo, S. H., Liu, Y. C., Chen, Y. G., Ling, Y., Guo, K., Liu, Y., & Li, S. H. (2021). An extremely promiscuous terpenoid synthase from the Lamiaceae plant Colquhounia coccinea var. mollis catalyzes the formation of sester-/di-/sesqui-/monoterpenoids. *Plant Communications*, 2(5), 100233.
- Li, T., Wu, S., Yang, W., Selosse, M. A., & Gao, J. (2021). How Mycorrhizal Associations Influence Orchid Distribution and Population Dynamics. *Frontiers in Plant Science*, 12, 833.
- Liang, N., & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant Property of Coffee Components: Assessment of Methods that Define Mechanisms of Action. *Molecules* 2014, Vol. 19, Pages 19180-19208, 19(11), 19180–19208.
- Li-Beisson, Y., Shorrosh, B., Beisson, F., Andersson, M. X., Arondel, V., Bates, P. D., Baud, S., Bird, D., DeBono, A., Durrett, T. P., Franke, R. B., Graham, I. A., Katayama, K., Kelly, A. A., Larson, T., Markham, J. E., Miquel, M., Molina, I., Nishida, I., ... Ohlrogge, J. (2013). Acyl-Lipid Metabolism. *The Arabidopsis Book / American Society of Plant Biologists*, 11, e0161.
- Liljegren, S. J., Ditta, G. S., Eshed, Y., Savidge, B., Bowmant, J. L., & Yanofsky, M. F. (2000). SHATTERPROOF MADS-box genes control seed dispersal in Arabidopsis. *Nature* 2000 404:6779, 404(6779), 766–770.
- Lim, G. H., Singhal, R., Kachroo, A., & Kachroo, P. (2017). Fatty acid–and lipid-mediated signaling in plant defense. *Annual review of Phytopathology*, 55, 505-536.
- Liu, H., Liu, Z., Jin, X., Gao, J., Chen, Y., Liu, Q., & Zhang, D. Y. (2020). Assessing conservation efforts against threats to wild orchids in China. *Biological Conservation*, 243, 108484.
- Liu, L., Wang, W., Zhao, Z., Hu, C., Tao, L., & Zhang, X. (2019). Pholidonone, an active stilbene derivative from Pholidota cantonensis, exhibits pro-apoptotic effect via induction of endoplasmic reticulum stress in human gastric cancer. *Food & Nutrition Research*, 63.

- Liu, L., Yin, Q. M., Yan, X., Hu, C., Wang, W., Wang, R. K., Luo, X., & Zhang, X. W. (2019). Bioactivity-Guided Isolation of Cytotoxic Phenanthrenes from *Spiranthes sinensis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(26), 7274–7280.
- Liu, Q., Luo, L., & Zheng, L. (2018). Lignins: Biosynthesis and Biological Functions in Plants. *International Journal of Molecular Sciences* 2018, Vol. 19, Page 335, 19(2), 335.
- Liu, Q., Zheng, L., He, F., Zhao, F. J., Shen, Z., & Zheng, L. (2015). Transcriptional and physiological analyses identify a regulatory role for hydrogen peroxide in the lignin biosynthesis of copper-stressed rice roots. *Plant and Soil*, 387(1–2), 323–336.
- Lopez-Juez, E., & Pyke, K. A. (2004). Plastids unleashed: their development and their integration in plant development. *International Journal of Developmental Biology*, 49(5–6), 557–577.
- López-Lázaro, M. (2002). Flavonoids as Anticancer Agents: Structure-Activity Relationship Study. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents*, 2(6), 691–714.
- Losuwannarak, N., Roytrakul, S., & Chanvorachote, P. (2020). Gigantol Targets MYC for Ubiquitin-proteasomal Degradation and Suppresses Lung Cancer Cell Growth. *Cancer Genomics & Proteomics*, 17(6), 781–793.
- Lou, W., Chen, Y., Ma, H., Liang, G., & Liu, B. (2018). Antioxidant and α -amylase inhibitory activities of tannic acid. *Journal of food science and technology*, 55, 3640–3646.
- Ludwiczuk, A., Skalicka-Woźniak, K., & Georgiev, M. I. (2017). Terpenoids. *Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy*, 233–266.
- Lwashina, T. (2000). The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants. *J. Plant Res*, 113, 287–299.
- Madhavan, A., Reshmy, R., Arun, K. B., Philip, E., Sindhu, R., Nair, B. G., Awasthi, M. K., Pandey, A., & Binod, P. (2023). *Murraya koenigii* extract blended nanocellulose-polyethylene glycol thin films for the sustainable synthesis of antibacterial food packaging. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 32, 101021.
- Maia, M., Carré, V., Aziz, A., & Jeandet, P. (2022). Molecular Localization of Phytoalexins at the Micron Scale: Toward a Better Understanding of Plant-Phytoalexin-Pathogen Dynamics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(30), 9243–9245.
- Mahmoudi, M., Boughalleb, F., Maaloul, S., Zaidi, S., Bakhshandeh, E., & Abdellaoui, R. (2023). The effect of seasonality on the phytochemical composition of two *Limonium* species naturally growing in a Mediterranean arid-salt marsh: Harvesting time optimization by modeling approach. *Scientia Horticulturae*, 309, 111616.
- Majumder, P. L., Roychowdhury, M., & Chakraborty, S. (1998). Thunalbene, a stilbene derivative from the orchid *Thunia alba*. *Phytochemistry*, 49(8), 2375–2378.

- Mala, B., Kuegkong, K., Sa-ngiaemsri, N., & 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.
- Manikyam, H. K., Joshi, S. K., Vakadi, S., & Patil, S. B. (2021). Anticancer activity of terpenoid saponin extract of *Psidium guajava* on MCF-7 cancer cell line using DAPI and MTT assays. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 15(12), 206–211.
- Mark, R., Lyu, X., Lee, J. J. L., Parra-Saldívar, R., & Chen, W. N. (2019). Sustainable production of natural phenolics for functional food applications. *Journal of Functional Foods*, 57, 233–254.
- Martel, C., Francke, W., & Ayasse, M. (2019). The chemical and visual bases of the pollination of the Neotropical sexually deceptive orchid *Telipogon peruvianus*. *New Phytologist*, 223(4), 1989–2001.
- Martín, A., Etxebeste, I., Pérez, G., Álvarez, G., Sánchez, E., & Pajares, J. (2013). Modified pheromone traps help reduce bycatch of bark-beetle natural enemies. *Agricultural and Forest Entomology*, 15(1), 86–97.
- Martin, K. W., & Ernst, E. (2003). Antiviral agents from plants and herbs: a systematic review. *Antiviral therapy*, 8(2), 77–90.
- Mastrangelo, A., Ferrarini, A., Rey-Stolle, F., García, A., & Barbas, C. (2015). From sample treatment to biomarker discovery: A tutorial for untargeted metabolomics based on GC-(EI)-Q-MS. *Analytica Chimica Acta*, 900, 21–35.
- Mattila, P., & Hellström, J. (2007). Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3–4), 152–160.
- Mattio, L. M., Catinella, G., Pinto, A., & Dallavalle, S. (2020). Natural and nature-inspired stilbenoids as antiviral agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 202, 112541.
- Mccormick, M. K., & Jacquemyn, H. (2014). What constrains the distribution of orchid populations? *New Phytologist*, 202(2), 392–400.
- McCormick, M. K., Whigham, D. F., & Canchani-Viruet, A. (2018). Mycorrhizal fungi affect orchid distribution and population dynamics. *New Phytologist*, 219(4), 1207–1215.
- Mehrshahi, P., Gonzalez-Jorge, S., Akhtar, T. A., Ward, J. L., Santoyo-Castelazo, A., Marcus, S. E., Lara-Núñez, A., Ravanel, S., Hawkins, N. D., Beale, M. H., Barrett, D. A., Knox, J. P., Gregory, J. F., Hanson, A. D., Bennett, M. J., & DellaPenna, D. (2010). Functional analysis of folate polyglutamylation and its essential role in plant metabolism and development. *The Plant Journal*, 64(2), 267–279.
- Mène-Saffrané, L., & DellaPenna, D. (2010). Biosynthesis, regulation and functions of tocochromanols in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(5), 301–309.
- Metodiewa, D., Kochman, A., & Karolczak, S. (1997). Evidence for antiradical and antioxidant properties of four biologically active N,N-Diethylaminoethyl ethers of

- flavaone oximes: A comparison with natural polyphenolic flavonoid rutin action. *IUBMB Life*, 41(5), 1067–1075.
- Mikołajczak, N., Tańska, M., & Ogrodowska, D. (2021). Phenolic compounds in plant oils: A review of composition, analytical methods, and effect on oxidative stability. *Trends in Food Science & Technology*, 113, 110–138.
- Millar, A. A., Smith, M. A., & Kunst, L. (2000). All fatty acids are not equal: discrimination in plant membrane lipids. *Trends in Plant Science*, 5(3), 95–101.
- Miret, J. A., & Munné-Bosch, S. (2014). Plant amino acid-derived vitamins: Biosynthesis and function. *Amino Acids*, 46(4), 809–824.
- Misra, A., Chaudhary, M. K., Tripathi, D., Srivastava, P. K., Gupta, V., Acharya, R., & Srivastava, S. (2023). Nutritional potential of an edible terrestrial orchid *Eulophia nuda* LINDL and validation of its traditional claim in arthritis. *Journal of Ethnopharmacology*, 306, 116123.
- Moe, L. A. (2013). Amino acids in the rhizosphere: From plants to microbes. *American Journal of Botany*, 100(9), 1692–1705.
- Mokarom Hossain, M., & Ahmed, S. (2022). *Study of FTIR spectroscopy combined with Chemometrics in the characterization of vegetable tannin from Ceriops decandra*.
- Møller, B. L. (2010). Functional diversifications of cyanogenic glucosides. *Current Opinion in Plant Biology*, 13(3), 337–346.
- Mosayyebi, B., Imani, M., Mohammadi, L., Akbarzadeh, A., Zarghami, N., Edalati, M., Alizadeh, E., & Rahmati, M. (2020). An update on the toxicity of cyanogenic glycosides bioactive compounds: Possible clinical application in targeted cancer therapy. *Materials Chemistry and Physics*, 246, 122841.
- Mota, M. F. S., Waktola, H. D., Nolvachai, Y., & Marriott, P. J. (2021). Gas chromatography – mass spectrometry for characterisation, assessment of quality and authentication of seed and vegetable oils. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 138, 116238.
- Mozafarpour, R., & Koocheki, A. (2023). Effect of ultrasonic pretreatment on the rheology and structure of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) protein emulsion gels induced by transglutaminase. *Ultrasonics Sonochemistry*, 92, 106278.
- Mozzi, F., Ortiz, M. E., Bleckwedel, J., De Vuyst, L., & Pescuma, M. (2013). Metabolomics as a tool for the comprehensive understanding of fermented and functional foods with lactic acid bacteria. *Food Research International*, 54(1), 1152–1161.
- Mujtaba, M., Fernández-Marín, R., Robles, E., Labidi, J., Yilmaz, B. A., & Nefzi, H. (2021). Understanding the effects of copolymerized cellulose nanofibers and diatomite nanocomposite on blend chitosan films. *Carbohydrate Polymers*, 271, 118424.
- Musharof Hossain, M. (2011). Therapeutic orchids: traditional uses and recent advances — An overview. *Fitoterapia*, 82(2), 102–140.

- Mutis, A., Parra, L., Palma, R., Pardo, F., Perich, F., & Quiroz, A. (2009). Evidence of Contact Pheromone Use in Mating Behavior of the Raspberry Weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*, 38(1), 192–197.
- Mutlu, V. A., Şehirli, H., & Kömpe, Y. Ö. (2020). Serapias orientalis' in mikorizal fungus çeşitliliği. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 21(2), 301-309.
- Mutlu, V. A., & Kömpe, Y. Ö. (2021). Serapias orientalis (Greuter) Bauman & Künkele (Orchidaceae) Tohumlarının İn Vitro Çimlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 8(1), 85-93.
- Nagana Gowda, G. A., & Djukovic, D. (2014). Overview of mass spectrometry-based metabolomics: Opportunities and challenges. *Methods in Molecular Biology*, 1198, 3–12.
- Nagegowda, D. A., & Gupta, P. (2020). Advances in biosynthesis, regulation, and metabolic engineering of plant specialized terpenoids. *Plant Science*, 294, 110457.
- Nandiyanto, A. B. D., Oktiani, R., & Ragadhita, R. (2019). How to Read and Interpret FTIR Spectroscopy of Organic Material. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 4(1), 97–118.
- Navarro-Orcajada, S., Conesa, I., Vidal-Sánchez, F. J., Matencio, A., Albaladejo-Maricó, L., García-Carmona, F., & López-Nicolás, J. M. (2023). Stilbenes: Characterization, bioactivity, encapsulation and structural modifications. A review of their current limitations and promising approaches. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(25), 7269-7287.
- Neveu, V., Perez-Jiménez, J., Vos, F., Crespy, V., du Chaffaut, L., Mennen, L., Knox, C., Eisner, R., Cruz, J., Wishart, D., & Scalbert, A. (2010). Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. *Database*, 2010.
- Newman, R. A., Yang, P., Pawlus, A. D., & Block, K. I. (2008). Cardiac Glycosides as Novel Cancer Therapeutic Agents. *Molecular Interventions*, 8(1), 36.
- Nicolè, F., Brzosko, E., & Till-Bottraud, I. (2005). Population viability analysis of *Cypripedium calceolus* in a protected area: longevity, stability and persistence. *Journal of Ecology*, 93(4), 716–726.
- Nikolic, D., Bosco, L., Moschetti, M., Tinnirello, V., Pucci, M., Corleone, V., Raimondo, S., Alessandro, R., & Fontana, S. (2023). Anti-inflammatory properties of an aldehydes-enriched fraction of grapefruit essential oil. *Journal of Food Science*, 88(3), 1172–1187.
- Nisar, N., Li, L., Lu, S., Khin, N. C., & Pogson, B. J. (2015). Carotenoid Metabolism in Plants. *Molecular Plant*, 8(1), 68–82.
- Njoku, C. E., Omotoyinbo, J. A., Alaneme, K. K., & Daramola, M. O. (2020). Characterization of *Urena lobata* Fibers after Alkaline Treatment for Use in Polymer Composites., 19(2), 485–496.

- Nojima, S., Shimomura, K., Honda, H., Yamamoto, I., & Ohsawa, K. (2007). Contact sex pheromone components of the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Chemical Ecology*, 33(5), 923–933.
- Nontachaiyapoom, S., Sasirat, S., & 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.
- Noor Hashim, N. H., Ali, A. H., Khatib, A., & Latip, J. (2019). Discrimination of *Clinacanthus nutans* extracts and correlation with antiplasmodial activity using ATR-FTIR fingerprinting. *Vibrational Spectroscopy*, 104, 102966.
- Oelschlägel, B., Nuss, M., von Tschirnhaus, M., Pätzold, C., Neinhuis, C., Dötterl, S., & Wanke, S. (2015). The betrayed thief – the extraordinary strategy of *Aristolochia rotunda* to deceive its pollinators. *New Phytologist*, 206(1), 342–351.
- Ojemann, L. M., Nelson, W. L., Shin, D. S., Rowe, A. O., & Buchanan, R. A. (2006). Tian ma, an ancient Chinese herb, offers new options for the treatment of epilepsy and other conditions. *Epilepsy & Behavior*, 8(2), 376–383.
- Okumura, H. (2021). Application of phenolic compounds in plants for green chemical materials. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 27, 100418.
- Onrubia, M., Cusido, R. M., Ramirez, K., Hernandez-Vazquez, L., Moyano, E., Bonfill, M., & Palazon, J. (2013). Bioprocessing of Plant In Vitro Systems for the Mass Production of Pharmaceutically Important Metabolites: Paclitaxel and its Derivatives. *Current Medicinal Chemistry*, 20(7), 880–891.
- Osman, L. S., Hamidon, T. S., Latif, N. H. A., Elias, N. H. H., Saidin, M., Shahidan, S., Abdullah, S. H. A., Ali, N. A., Rusli, S. S. M., Ibrahim, M. N. M., Raja, P. B., & Hussin, M. H. (2023). Rust conversion of archeological cannonball from Fort Cornwallis using oil palm frond lignin. *Industrial Crops and Products*, 192, 116107.
- Osuna-Ruiz, I., López-Saiz, C. M., Burgos-Hernández, A., Velázquez, C., Nieves-Soto, M., & Hurtado-Oliva, M. A. (2016). Antioxidant, antimutagenic and antiproliferative activities in selected seaweed species from Sinaloa, Mexico. *Pharmaceutical biology*, 54(10), 2196-2210.
- Ozdal, T., Ceylan, F. D., Eroglu, N., Kaplan, M., Olgun, E. O., & Capanoglu, E. (2019). Investigation of antioxidant capacity, bioaccessibility and LC-MS/MS phenolic profile of Turkish propolis. *Food Research International*, 122, 528-536.
- Özkoç, İ., & Dalcı, M. (1992). İki farklı kültür ortamında *Serapias vomeracea* (Burm fil.) Brig. Subsp. *Laxiflora* (500) Gözl et. Rein hard (Orchidaceae) tohumlarının çimlenme ve gelişmesi üzerine bazı fungusların etkisi. *Doğa-Tr. J. of Biology*, 16, 158-164.
- Özkoç, I., Dalcı, M. (1993) İki farklı kültür ortamında *Orchis laxiflora* Lam. (Orchidaceae) tohumlarının çimlenme ve gelişmesi üzerine bazı fungusların etkisi. (The effects of some fungi on germination and development of the seeds of *Orchis laxiflora* Lam.). *Turkish Journal of Biology* 17: 23–28.

- Özkoç, İ. (1994). An effective symbiotic fungus for germinating the seed of *Serapşas vomeracea* subsp. *laxiflora* from Turkey. *The Orchid Journal of the Royal Horticultural Society*, 102, 1197.
- Park, E. S., Moon, W. S., Song, M. J., Kim, M. N., Chung, K. H., & Yoon, J. S. (2001). Antimicrobial activity of phenol and benzoic acid derivatives. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 47(4), 209–214.
- Park, J., & Park, Y. (2022). Hydrolyzed protein treatment to natural cellulosic lightweight and scattering fibers for improving the hydrophilicity. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 29,
- Pathak, P., Kumari, A., & Thakur, B. (2022). Regeneration competence of an endangered orchid, *Vanda cristata* Wall. ex Lindl. using leaf explants: A study in vitro. *South African Journal of Botany*, 151, 1018-1024.
- Paudel, M. R., & Pant, B. (2017). Cytotoxic activity of crude extracts of *Dendrobium amoenum* and detection of bioactive compounds by GC-MS. *Bot. Orient. J. Plant Sci*, 11, 38-42.
- Paudel, M. R., Chand, M. B., Pant, B., & Pant, B. (2018). Antioxidant and cytotoxic activities of *Dendrobium moniliforme* extracts and the detection of related compounds by GC-MS. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 1–9.
- Pedras, M. S. C., Yaya, E. E., & Glawischnig, E. (2011). The phytoalexins from cultivated and wild crucifers: Chemistry and biology. *Natural Product Reports*, 28(8), 1381–1405.
- Peluso, M. R. (2006). Flavonoids attenuate cardiovascular disease, inhibit phosphodiesterase, and modulate lipid homeostasis in adipose tissue and liver. *Experimental Biology and Medicine*, 231(8), 1287-1299.
- Peng, J., Xu, Q., Xu, Y., Qi, Y., Han, X., & Xu, L. (2007). A new anticancer dihydroflavanoid from the root of *Spiranthes australis* (R. Brown) Lindl. <https://doi.org/10.1080/14786410701371165>, 21(7), 641–645.
- Pengelly, A. (2020). The constituents of medicinal plants: An introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine. *The Constituents of Medicinal Plants: An Introduction to the Chemistry and Therapeutics of Herbal Medicine*, 1–172.
- Peterson, R. L., Uetake, Y., & Zelmer, C. (1998). *Fungal Symbioses with Orchid Protocorms*. 25, 29–55.
- Philippe, R. N., De Mey, M., Anderson, J., & Ajikumar, P. K. (2014). Biotechnological production of natural zero-calorie sweeteners. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 155–161.
- Pichersky, E., & Raguso, R. A. (2018). Why do plants produce so many terpenoid compounds? *New Phytologist*, 220(3), 692–702.

- Pizzi, A. (2008). Tannins: Major Sources, Properties and Applications. *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*, 179–199.
- Pizzi, A. (2021). Tannins medical / pharmacological and related applications: A critical review. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 22, 100481.
- Pizzi, A., Pasch, H., Rode, K., & Giovando, S. (2009). Polymer structure of commercial hydrolyzable tannins by matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Applied Polymer Science*, 113(6), 3847–3859.
- Phelps, J., & Webb, E. L. (2015). “Invisible” wildlife trades: Southeast Asia’s undocumented illegal trade in wild ornamental plants. *Biological conservation*, 186, 296–305.
- Plata-Rueda, A., Martínez, L. C., Rolim, G. da S., Coelho, R. P., Santos, M. H., Tavares, W. de S., Zanuncio, J. C., & Serrão, J. E. (2020). Insecticidal and repellent activities of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) essential oil and its terpenoids (citral and geranyl acetate) against *Ulomoides dermestoides*. *Crop Protection*, 137, 105299.
- Pokhriyal, M., Rakesh, P. K., Rangappa, S. M., & Siengchin, S. (2023). Effect of alkali treatment on novel natural fiber extracted from *Himalayacalamus falconeri* culms for polymer composite applications. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1, 1–17.
- Poletto, M., Pistor, V., Zeni, M., & Zattera, A. J. (2011). Crystalline properties and decomposition kinetics of cellulose fibers in wood pulp obtained by two pulping processes. *Polymer Degradation and Stability*, 96(4), 679–685.
- Popescu, M. C., Popescu, C. M., Lisa, G., & Sakata, Y. (2011). Evaluation of morphological and chemical aspects of different wood species by spectroscopy and thermal methods. *Journal of Molecular Structure*, 988(1–3), 65–72.
- Popova, E., Kim, H. H., Saxena, P. K., Engelmann, F., & Pritchard, H. W. (2016). Frozen beauty: The cryobiotechnology of orchid diversity. *Biotechnology Advances*, 34(4), 380–403.
- Porter, L. J., & Woodruffe, J. (1984). Haemanalysis: the relative astringency of proanthocyanidin polymers. *Phytochemistry*, 23(6), 1255–1256.
- Pradhan, S., Paudel, Y. P., & Pant, B. (2016). Efficient regeneration of plants from shoot tip explants of *Dendrobium densiflorum* Lindl., a medicinal orchid. *African Journal of Biotechnology*, 12(12), 1378–1383.
- Prasad, S., Phromnoi, K., Yadav, V. R., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Targeting inflammatory pathways by flavonoids for prevention and treatment of cancer. *Planta Medica*, 76(11), 1044–1063.
- Prasongsom, S., Thammasiri, K., & Pritchard, H. W. (2017). Seed micromorphology and ex vitro germination of *Dendrobium* orchids. *Acta Horticulturae*, 1167, 339–344.
- Pratelli, R., & Pilot, G. (2014). Regulation of amino acid metabolic enzymes and transporters in plants. *Journal of Experimental Botany*, 65(19), 5535–5556.

- Pritchard, H. W., & Seaton, P. T. (1993). Orchid seed storage: historical perspective, current status, and future prospects for long-term conservation. *Selbyana*, 14, 89–104.
- Prutsch, J., Schardt, A., & Schill, R. (2000). Adaptations of an orchid seed to water uptake and -storage. *Plant Systematics and Evolution* 220:1, 220(1), 69–75.
- Qadir, R., Anwar, F., Batool, F., Mushtaq, M., & Jabbar, A. (2019). Enzyme-assisted extraction of *Momordica balsamina* L. fruit phenolics: process optimized by response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(1), 697–706.
- Qiu, H., Tang, W., Tong, X., Ding, K., & Zuo, J. (2007). Structure elucidation and sulfated derivatives preparation of two α -D-glucans from *Gastrodia elata* Bl. and their anti-dengue virus bioactivities. *Carbohydrate Research*, 342(15), 2230–2236.
- Quay, L., McComb, J. A., & Dixon, K. W. (1995). Methods for ex Vitro Germination of Australian Terrestrial Orchids. *HortScience*, 30(7), 1445–1446.
- Quiles, J. L., Rivas-García, L., Varela-López, A., Llopis, J., Battino, M., & Sánchez-González, C. (2020). Do nutrients and other bioactive molecules from foods have anything to say in the treatment against COVID-19? *Environmental Research*, 191, 110053.
- Radebe, N., Rode, K., Pizzi, A., Giovando, S., & Pasch, H. (2013). MALDI-TOF-CID for the microstructure elucidation of polymeric hydrolysable tannins. *Journal of Applied Polymer Science*, 128(1), 97–107.
- Raffo, A., La Malfa, G., Fogliano, V., Maiani, G., & Quaglia, G. (2006). Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(1), 11–19.
- Rafiq, A., Zahid, K., Qadir, A., Khan, M. N., Khalid, Z. M., & Ali, N. (2020). Inhibition of microbial growth by silver nanoparticles synthesized from *Fraxinus xanthoxyloides* leaf extract. *Academic.Oup.Com*, 131(1), 124–134.
- Raguso, R. A. (2004). Flowers as sensory billboards: progress towards an integrated understanding of floral advertisement. *Current Opinion in Plant Biology*, 7(4), 434–440.
- Rahamtulla, M., Mallikarjuna, K., & Khasim, S. M. (2023). GC-MS analysis and therapeutic importance of leaf extracts of *Dendrobium aphyllum* (Roxb.) CEC Fischer: An In vitro study. *South African Journal of Botany*, 153, 62–76.
- Ralph, J., Lundquist, K., Brunow, G., Lu, F., Kim, H., Schatz, P. F., Marita, J. M., Hatfield, R. D., Ralph, S. A., Christensen, J. H., & Boerjan, W. (2004). Lignins: Natural polymers from oxidative coupling of 4-hydroxyphenyl- propanoids. *Phytochemistry Reviews* 2004 3:1, 3(1), 29–60.
- Ramachandra Rao, S., & Ravishankar, G. (2020). *Review Vanilla flavour: production by conventional and biotechnological routes.*

- Ramachandra Rao, S., & Ravishankar, G. A. (2002). Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 20(2), 101–153.
- Ramamurthy, N., Biophysics, S. K.-R. journal of, & 2007, undefined. (2007). Fourier transform infrared spectroscopic analysis of a plant (*Calotropis gigantea* Linn) from an industrial village, Cuddalore dt, Tamilnadu, India. *Rjb.Ro*, 17(4), 269–276.
- Ranilla, L. G., Kwon, Y. I., Genovese, M. I., Lajolo, F. M., & Shetty, K. (2010). Effect Of Thermal Treatment On Phenolic Compounds And Functionality Linked To Type 2 Diabetes And Hypertension Management Of Peruvian And Brazilian Bean Cultivars (*Phaseolus Vulgaris* L.) Using In Vitro Methods. *Journal Of Food Biochemistry*, 34(2), 329–355.
- Rashid, T., Kait, C. F., & Murugesan, T. (2016). A “Fourier Transformed Infrared” Compound Study of Lignin Recovered from a Formic Acid Process. *Procedia Engineering*, 148, 1312–1319.
- Rashmi, H. B., & Negi, P. S. (2020). Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits. *Food Research International*, 136, 109298.
- Rasmussen, H., Andersen, T. F., & Johansen, B. (1990). Temperature sensitivity of in vitro germination and seedling development of *Dactylorhiza majalis* (Orchidaceae) with and without a mycorrhizal fungus. *Plant, Cell & Environment*, 13(2), 171–177.
- Rasmussen, H. N. (2002). Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. *Plant and Soil* 2002 244:1, 244(1), 149–163.
- Rasmussen, H. N., & Rasmussen, F. N. (2009). Orchid mycorrhiza: implications of a mycophagous life style. *Oikos*, 118(3), 334–345.
- Rasmussen, H. N., & 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., Dixon, K. W., Jersáková, J., & Těšitelová, T. (2015). Germination and seedling establishment in orchids: a complex of requirements. *Annals of Botany*, 116(3), 391–402.
- Reiter, N., Whitfield, J., Pollard, G., Bedggood, W., Argall, M., Dixon, K., Davis, B., & Swarts, N. (2016). Orchid re-introductions: an evaluation of success and ecological considerations using key comparative studies from Australia. *Plant Ecology*, 217(1), 81–95.
- Rengasamy, K. R. R., Khan, H., Gowrishankar, S., Lagoa, R. J. L., Mahomoodally, F. M., Khan, Z., Suroowan, S., Tewari, D., Zengin, G., Hassan, S. T. S., & Pandian, S. K. (2019). The role of flavonoids in autoimmune diseases: Therapeutic updates. *Pharmacology & Therapeutics*, 194, 107–131.
- Reumann, S., Babujee, L., Changle, M., Wienkoop, S., Siemsen, T., Antonicelli, G. E., Rasche, N., Lüder, F., Weckwerth, W., & Jahnd, O. (2007). Proteome Analysis of

- Arabidopsis Leaf Peroxisomes Reveals Novel Targeting Peptides, Metabolic Pathways, and Defense Mechanisms. *The Plant Cell*, 19(10), 3170–3193.
- Revegilia, P., Cimmino, A., Masi, M., Nocera, P., Berova, N., Ellestad, G., & Evidente, A. (2018). Pimarane diterpenes: Natural source, stereochemical configuration, and biological activity. *Chirality*, 30(10), 1115–1134.
- Richardson, K. A., Peterson, R. L., & Currah, R. S. (2011). Seed reserves and early symbiotic protocorm development of *Platanthera hyperborea* (Orchidaceae), 291–300.
- Rincón-López, L. B., Flores-Naveda, A., Buenrostro-Figueroa, J., Reyes Valdés, M. H., Martínez-Ávila, G. C. G., Rojas, R., & Tafolla-Arellano, J. C. (2021). Ftir Analysis Reveals Chemical Response during Sorghum (*Sorghum bicolor*)-Sugarcane Aphid, *Melanaphis sacchari*1, Interaction., 46(3), 693–700.
- Rios, L. Y., Bennett, R. N., Lazarus, S. A., Rémésy, C., Scalbert, A., & Williamson, G. (2002). Cocoa procyanidins are stable during gastric transit in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(5), 1106–1110.
- Risaliti, L., Pini, G., Ascrizzi, R., Donato, R., Sacco, C., Bergonzi, M. C., Salvatici, M. C., & Bilia, A. R. (2020). *Artemisia annua* essential oil extraction, characterization, and incorporation in nanoliposomes, smart drug delivery systems against *Candida* species. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 59, 101849.
- Robustelli della Cuna, F. S., Cortis, P., Esposito, F., De Agostini, A., Sottani, C., & Sanna, C. (2022). Chemical Composition of Essential Oil from Four Sympatric Orchids in NW-Italy. *Plants* 2022, Vol. 11, Page 826, 11(6), 826.
- Ros, R., Muñoz-Bertomeu, J., & Krueger, S. (2014). Serine in plants: biosynthesis, metabolism, and functions. *Trends in Plant Science*, 19(9), 564–569.
- Rossetto, M., Vanzani, P., Lunelli, M., Scarpa, M., Mattivi, F., & Rigo, A. (2007). Peroxyl radical trapping activity of anthocyanins and generation of free radical intermediates. *Free radical research*, 41(7), 854-859.
- Ruan, J. X., Li, J. X., Fang, X., Wang, L. J., Hu, W. L., Chen, X. Y., & Yang, C. Q. (2016). Isolation and Characterization of Three New Monoterpene Synthases from *Artemisia annua*. *Frontiers in Plant Science*, 7, 638.
- Ruthisha, P. K., Ratheesh Chandra, P., & Khaleel, K. M. (2017). Phytochemical Evaluation and GC-MS Analysis of Whole Plant Extract Of *Seidenfia Rheedii* (Sw.) Szlach.(Orchidaceae). *World Journal of Pharmaceutical Research*, 6(2), 594-603.
- Safapour, S., Rather, L. J., & Mazhar, M. (2023). Coloration and Functional Finishing of Wool via *Prangos ferulacea* Plant Colorants and Bioactive Agents: Colorimetric, Fastness, Antibacterial, and Antioxidant Studies. *Fibers and Polymers*, 24(4), 1379–1388.
- Sahu, A. K., & Mishra, A. K. (2022). Photophysical Behavior of Plant Flavonols Galangin, Kaempferol, Quercetin, and Myricetin in Homogeneous Media and the DMPC Model

- Membrane: Unveiling the Influence of the B-Ring Hydroxylation of Flavonols. *Journal of Physical Chemistry B*, 126(15), 2863–2875.
- Salas, M. P., Céliz, G., Geronazzo, H., Daz, M., & Resnik, S. L. (2011). Antifungal activity of natural and enzymatically-modified flavonoids isolated from citrus species. *Food Chemistry*, 124(4), 1411–1415.
- Salminen, A., Lehtonen, M., Suuronen, T., Kaarniranta, K., & Huuskonen, J. (2008). Terpenoids: natural inhibitors of NF- κ B signaling with anti-inflammatory and anticancer potential. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2008 65:19, 65(19), 2979–2999.
- Salvi, P., Kumar, G., Gandass, N., Kajal, Verma, A., Rajarammohan, S., Rai, N., & Gautam, V. (2022). Antimicrobial Potential of Essential Oils from Aromatic Plant *Ocimum* sp.; A Comparative Biochemical Profiling and In-Silico Analysis. *Agronomy* 2022, Vol. 12, Page 627, 12(3), 627.
- Samrot, A. V., Bisyarah, U., Kudaiyappan, T., Etel, F., & Abubakar, A. (2021). Ficus iyrata plant gum derived polysaccharide based nanoparticles and its application. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31, 101871.
- Sani, H. L., Malami, I., Hassan, S. W., Alhassan, A. M., Halilu, M. E., & Muhammad, A. (2015). Effects of standardized stem bark extract of *Mangifera indica* L. in wistar rats with 2, 4-dinitrophenylhydrazine-induced haemolytic anaemia. *Pharmacognosy Journal*, 7(2).
- Sánchez-Martínez, J. D., Alvarez-Rivera, G., Gallego, R., Fagundes, M. B., Valdés, A., Mendiola, J. A., Ibañez, E., & Cifuentes, A. (2022). Neuroprotective potential of terpenoid-rich extracts from orange juice by-products obtained by pressurized liquid extraction. *Food Chemistry: X*, 13, 100242.
- Sangpueak, R., Phansak, P., Thumanu, K., Siriwong, S., Wongkaew, S., & Buensanteai, N. (2021). Effect of Salicylic Acid Formulations on Induced Plant Defense against Cassava Anthracnose Disease. *The Plant Pathology Journal*, 37(4), 356.
- Santos, A. B., & Nascimento, F. S. (2017). Do Distinct Biomes Influence the Cuticular Chemical Profile in Orchid Bees? *Environmental Entomology*, 46(2), 335–342.
- Sapir-Mir, M., Mett, A., Belausov, E., Tal-Meshulam, S., Frydman, A., Gidoni, D., & Eya, Y. (2008). Peroxisomal Localization of Arabidopsis Isopentenyl Diphosphate Isomerases Suggests That Part of the Plant Isoprenoid Mevalonic Acid Pathway Is Compartmentalized to Peroxisomes. *Plant Physiology*, 148(3), 1219–1228.
- Sazak, A., & Ozdener, Y. (2006). Symbiotic and asymbiotic germination of endangered *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall. and *Dactylorhiza osmanica* (Kl.) Soó var. *osmanica* (endemic). *Pakistan journal of Biological sciences*, 9(12).
- Scano, P. (2021). Characterization of the medium infrared spectra of polyphenols of red and white wines by integrating FT IR and UV–Vis spectral data. *LWT*, 147, 111604.

- Schalk, M., Pastore, L., Mirata, M. A., Khim, S., Schouwey, M., Deguerry, F., Pineda, V., Rocci, L., & Daviet, L. (2012). Toward a biosynthetic route to sclareol and amber odorants. *Journal of the American Chemical Society*, 134(46), 18900–18903.
- Schirch, V., & Szebenyi, D. M. E. (2005). Serine hydroxymethyltransferase revisited. *Current Opinion in Chemical Biology*, 9(5), 482–487.
- Schläger, S., & Dräger, B. (2016). Exploiting plant alkaloids. *Current Opinion in Biotechnology*, 37, 155–164.
- Schuetz, M., Benske, A., Smith, R. A., Watanabe, Y., Tobimatsu, Y., Ralph, J., Demura, T., Ellis, B., & Samuels, A. L. (2014). Laccases Direct Lignification in the Discrete Secondary Cell Wall Domains of Protoxylem. *Plant Physiology*, 166(2), 798–807.
- Schulz, B., & Boyle, C. (2005). The endophytic continuum. *Mycological Research*, 109(6), 661–686.
- Seeram, N. P., Momin, R. A., Nair, M. G., & Bourquin, L. D. (2001). Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant cyanidin glycosides in cherries and berries. *Phytomedicine*, 8(5), 362–369.
- Selosse, M. A., & 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., Schneider-Maunoury, L., & Martos, F. (2018). Time to re-think fungal ecology? Fungal ecological niches are often prejudged. *New Phytologist*, 217(3), 968–972.
- Sergent, T., Piront, N., Meurice, J., Toussaint, O., & Schneider, Y. J. (2010). Anti-inflammatory effects of dietary phenolic compounds in an in vitro model of inflamed human intestinal epithelium. *Chemico-Biological Interactions*, 188(3), 659–667.
- Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A. M., & Saura-Calixto, F. (2009). Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(S2), S310–S329.
- Sethuraman, S. P., & Ramachandran, K. P. (2022). Chemical profiling of volatile bioactives in *Luisia tenuifolia* Blume successive extracts by GC–MS analysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1–15.
- Sezik, E. (2002). Turkish orchids and salep. *Acta Pharmaceutica Turcica*, 44(3), 151–157.
- Shah, S., Thapa, B. B., Chand, K., Pradhan, S., Singh, A., Varma, A., ... & Pant, B. (2019). *Piriformospora indica* promotes the growth of the in-vitro-raised *Cymbidium aloifolium* plantlet and their acclimatization. *Plant signaling & behavior*, 14(6), 1596716.
- Shahar, B., Dolma, N., & Chongtham, N. (2023). Phytochemical analysis, antioxidant activity and identification of bioactive constituents from three wild medicinally important underutilized plants of Ladakh, India using GCMS and FTIR based metabolomics approach. *Food and Humanity*, 1, 430–439.

- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820–897.
- Shao, S. C., Wang, Q. X., Beng, K. C., Zhao, D. K., & Jacquemyn, H. (2020). Fungi isolated from host protocorms accelerate symbiotic seed germination in an endangered orchid species (*Dendrobium chrysotoxum*) from southern China. *Mycorrhiza*, 30(4), 529–539.
- Sharma, A., Mazumdar, B., & Keshav, A. (2021). Extraction and phytochemical analysis of coccinia indica fruit using UV-VIS and FTIR spectroscopy. *Lecture Notes in Bioengineering*, 1–7.
- Sharma, K. P. (2019). Tannin degradation by phytopathogen's tannase: A Plant's defense perspective. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 101342.
- Sharma, R., Martins, N., Kuca, K., Chaudhary, A., Kabra, A., Rao, M. M., & Prajapati, P. K. (2019). Chyawanprash: A Traditional Indian Bioactive Health Supplement. *Biomolecules* 2019, Vol. 9, Page 161, 9(5), 161.
- Sharma, V., & Ali, S. W. (2023). Nanoarchitectonics of Vanillin-Metal Complexes as Eco-friendly Multifunctional Agents on Cellulosic Fabric. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 1, 1–14.
- Shefferson, R. P., Jacquemyn, H., Kull, T., & Hutchings, M. J. (2020). The demography of terrestrial orchids: life history, population dynamics and conservation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 192(2), 315–332.
- Shi, H., Jiang, X., Cao, L., Peng, X., Tan, Q., Teng, X., Gu, Q., & He, L. (2023). Chemical constituents of *Ajuga forrestii* and their anti-ferroptosis activity. *Fitoterapia*, 166, 105461.
- Shi, M. M., Piao, J. H., Xu, X. L., Zhu, L., Yang, L., Lin, F. L., Chen, J., & Jiang, J. G. (2016). Chinese medicines with sedative-hypnotic effects and their active components. *Sleep Medicine Reviews*, 29, 108–118.
- Shriram, V., Kumar, V., Kishor, P. B. K., Suryawanshi, S. B., Upadhyay, A. K., & Bhat, M. K. (2010). Cytotoxic activity of 9,10-dihydro-2,5-dimethoxyphenanthrene-1,7-diol from *Eulophia nuda* against human cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 128(1), 251–253.
- Shukla, M. K., Monika, Thakur, A., Verma, R., Lalhlenmawia, H., Bhattacharyya, S., Bisht, D., Singh, A., Parcha, V., & Kumar, D. (2022). Unravelling the therapeutic potential of orchid plant against cancer. *South African Journal of Botany*, 150, 69–79.
- Shyur, L.-F., Chen, C.-H., Lo, C.-P., Wang, S.-Y., Kang, P.-L., Sun, S.-J., Allen Chang, C., Tzeng, C.-M., & Yang, N.-S. (2004). Induction of apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells by phytochemicals from *Anoectochilus formosanus*. *Journal of Biomedical Science* 2004 11:6, 11(6), 928–939.

- Siddiqui, B. S., Gulzar, T., Begum, S., & Afshan, F. (2006). Piptigrine, a new Insecticidal Amide from Piper Nigrum Linn., 18(5), 473–477.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Singh, A., & Duggal, S. (2009). Medicinal Orchids - An Overview. *Ethnobotanical Leaflets*, 2009(3). <https://opensiuc.lib.siu.edu/eb/vol2009/iss3/3>
- Singh, M., Kaur, M., & Silakari, O. (2014). Flavones: An important scaffold for medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 84, 206–239.
- Slika, H., Mansour, H., Wehbe, N., Nasser, S. A., Iratni, R., Nasrallah, G., Shaito, A., Ghaddar, T., Kobeissy, F., & Eid, A. H. (2022). Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146, 112442.
- Somade, O. T., Ajiboye, B. O., Osukoya, O. A., Jarikre, T. A., & Oyinloye, B. E. (2023). Syringic acid ameliorates testicular oxidative stress via the conservation of endogenous antioxidant markers and inhibition of the activated Nrf2-Keap1-NQO1-HO1 signaling in methyl cellosolve-administered rats. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, 6, 100207.
- Song, F., Huo, X., & Guo, Z. (2021). Anti-breast Cancer Potential of Natural and Synthetic Coumarin Derivatives. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 21(18), 1692–1709.
- Soudzilovskaia, N. A., Vaessen, S., Barcelo, M., He, J., Rahimlou, S., Abarenkov, K., ... & Tedersoo, L. (2020). FungalRoot: global online database of plant mycorrhizal associations. *New Phytologist*, 227(3), 955-966.
- Sousa, B. C. M. de, Castro, S. P. de, Lourido, K. A., Kasper, A. A. M., Paulino, G. da S., Delarmelina, C., Duarte, M. C. T., Sartoratto, A., Vieira, T. A., Lustosa, D. C., & Barata, L. E. S. (2022). Identification of Coumarins and Antimicrobial Potential of Ethanolic Extracts of *Dipteryx odorata* and *Dipteryx punctata*. *Molecules* 2022, Vol. 27, Page 5837, 27(18), 5837.
- Spagnuolo, C., Moccia, S., & Russo, G. L. (2018). Anti-inflammatory effects of flavonoids in neurodegenerative disorders. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 153, 105–115.
- Sproll, C., Ruge, W., Andlauer, C., Godelmann, R., & Lachenmeier, D. W. (2008). HPLC analysis and safety assessment of coumarin in foods. *Food Chemistry*, 109(2), 462–469.
- Stamp, N. (2003). Out of the quagmire of plant defense hypotheses. *The Quarterly review of biology*, 78(1), 23-55.
- Staniszewska, I., Królicka, A., Maliński, E., Łojkowska, E., & Szafranek, J. (2003). Elicitation of secondary metabolites in in vitro cultures of *Ammi majus* L. *Enzyme and Microbial Technology*, 33(5), 565–568.

- Stefanachi, A., Leonetti, F., Pisani, L., Catto, M., & Carotti, A. (2018). Coumarin: A Natural, Privileged and Versatile Scaffold for Bioactive Compounds. *Molecules* 2018, Vol. 23, Page 250, 23(2), 250.
- Stegelmeier, B. L., Edgar, J. A., Colegate, S. M., Gardner, D. R., Schoch, T. K., Coulombe, R. A., & Molyneux, R. J. (1999). Pyrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity. *Journal of Natural Toxins*, 8(1), 95–116.
- Steinmetz, I., ... E. S.-P. of the, & 2003, undefined. (2003). Cuticular lipids as trail pheromone in a social wasp. *Royalsocietypublishing.Org*, 270(1513), 385–391.
- Štípková, Z., Tsiftsis, S., & Kindlmann, P. (2021). How did the agricultural policy during the communist period affect the decline in orchid biodiversity in central and eastern Europe? *Global Ecology and Conservation*, 26, e01498.
- Stringer, K. A., McKay, R. T., Karnovsky, A., Quémerais, B., & Lacy, P. (2016). Metabolomics and its application to acute lung diseases. *Frontiers in Immunology*, 7(FEB), 44.
- Stuetz, W., Prapamontol, T., Hongsisong, S., & Biesalski, H. K. (2010). Polymethoxylated Flavones, Flavanone Glycosides, Carotenoids, and Antioxidants in Different Cultivation Types of Tangerines (*Citrus reticulata* Blanco cv. Sainampung) from Northern Thailand. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(10), 6069–6074.
- Stuper-Szablewska, K., & Perkowski, J. (2019). Phenolic acids in cereal grain: Occurrence, biosynthesis, metabolism and role in living organisms. Critical reviews in food science and nutrition, 59(4), 664-675.
- Suyal, R., Rawat, S., Rawal, R. S., & Bhatt, I. D. (2020). A Review on Phytochemistry, Nutritional Potential, Pharmacology, and Conservation of *Malaxis acuminata*: An Orchid with Rejuvenating and Vitality Strengthening Properties. *Reference Series in Phytochemistry*, 1–19.
- Suzuki, R. M., Moreira, V. C., Pescador, R., & de Melo Ferreira, W. (2012). Asymbiotic seed germination and in vitro seedling development of the threatened orchid *Hoffmannseggella cinnabarina*. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 48(5), 500–511.
- Swarts, N. D., & Dixon, K. W. (2009a). Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. *Annals of Botany*, 104(3), 543–556.
- Swarts, N. D., & Dixon, K. W. (2009b). Perspectives on orchid conservation in botanic gardens. *Trends in Plant Science*, 14(11), 590–598.
- Szabados, L., & Savouré, A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89–97.
- Şenkardeş, S., Kaushik-Basu, N., Durmaz, I., Manvar, D., Basu, A., Atalay, R., & Küçükgülzel, Ş. G. (2016). Synthesis of novel diflunisal hydrazide–hydrazones as anti-hepatitis C virus agents and hepatocellular carcinoma inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*, 108, 301-308.

- Tadaka, S., Saigusa, D., Motoike, I. N., Inoue, J., Aoki, Y., Shirota, M., Koshiba, S., Yamamoto, M., & Kinoshita, K. (2018). jMorp: Japanese Multi Omics Reference Panel. *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D551–D557.
- Tagousop, C. N., Tamokou, J. D. D., Ekom, S. E., Ngnokam, D., & Voutquenne-Nazabadioko, L. (2018). Antimicrobial activities of flavonoid glycosides from *Graptophyllum grandulosum* and their mechanism of antibacterial action. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 1–10.
- Tahir, M. S., Almezgagi, M., Zhang, Y., Bashir, A., Abdullah, H. M., Gamah, M., Wang, X., Zhu, Q., Shen, X., Ma, Q., Ali, M., Solangi, Z. A., Malik, W. S., & Zhang, W. (2021). Mechanistic new insights of flavonols on neurodegenerative diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 137, 111253.
- Tanaka, N., Amuti, S., Takahashi, S., Tsuji, D., Itoh, K., & Kashiwada, Y. (2021). Studies on non-medicinal parts of plant materials: Triterpenes from the roots of *Schisandra chinensis*. *Fitoterapia*, 152, 104939.
- Tang, C., Wen, J., Wang, W., Fan, G., Liu, Y., Ren, F., Meng, X., Sun, S., Tu, Y., & Zhang, Y. (2020). Rapid identification of three *Rhodiola* species by multi-step IR spectroscopy coupled with multivariate data analysis. *Infrared Physics & Technology*, 109, 103384.
- Teale, W. D., Paponov, I. A., & Palme, K. (2006). Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2006 7:11, 7(11), 847–859.
- Teka, T., Zhang, L., Ge, X., Li, Y., Han, L., & Yan, X. (2022). Stilbenes: Source plants, chemistry, biosynthesis, pharmacology, application and problems related to their clinical Application-A comprehensive review. *Phytochemistry*, 197, 113128.
- Tekinşen, K. K., & Güner, A. (2010). Chemical composition and physicochemical properties of tubera salep produced from some Orchidaceae species. *Food Chemistry*, 121(2), 468–471.
- Teoh, E. S. (2019). An Ancient Fantasy: Salep as Aphrodisiac. *Orchids as Aphrodisiac, Medicine or Food*, 13–54.
- Theodoridis, G., Gika, H. G., & Wilson, I. D. (2011). Mass spectrometry-based holistic analytical approaches for metabolite profiling in systems biology studies. *Mass Spectrometry Reviews*, 30(5), 884–906.
- Thimmappa, R., Geisler, K., Louveau, T., O'Maille, P., & Osbourn, A. (2014). Triterpene Biosynthesis in Plants. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120229>, 65, 225–257.
- Tholl, D. (2015). Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 148, 63–106.
- Thom, C., Gilley, D. C., Hooper, J., & Esch, H. E. (2007). The Scent of the Waggle Dance. *PLOS Biology*, 5(9), e228.

- Thombare, N., Mahto, A., Singh, D., Chowdhury, A. R., & Ansari, M. F. (2023). Comparative FTIR Characterization of Various Natural Gums: A Criterion for Their Identification. *Journal of Polymers and the Environment*, 1–9.
- Tian, L., & Dellapenna, D. (2001). Characterization of a second carotenoid β -hydroxylase gene from *Arabidopsis* and its relationship to the LUT1 locus. *Plant Molecular Biology* 2001 47:3, 47(3), 379–388.
- Tian, X. Y., Li, M. X., Lin, T., Qiu, Y., Zhu, Y. T., Li, X. L., Tao, W. Di, Wang, P., Ren, X. X., & Chen, L. P. (2021). A review on the structure and pharmacological activity of phenylethanoid glycosides. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112563.
- Ticktin, T., Charitonidou, M., Douglas, J., Halley, J. M., Hernández-Apolinar, M., Liu, H., Mondragón, D., Pérez-García, E. A., Tremblay, R. L., & Phelps, J. (2023). Wild orchids: A framework for identifying and improving sustainable harvest. *Biological Conservation*, 277, 109816.
- Tiwari, P., Bose, S. K., Gautam, A., & Chen, J. T. (2023). Emerging trends and insights into the cultivation strategies, ethnomedicinal uses, and socio-economic attributes of orchids. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 98(3), 273–298.
- Thakur, S., Tiwari, G., Kumawat, R. K., Kumhare, A., Singh, S., & Singh, R. (2023). Synthetic PGR's modify phenology, stress tolerance and mean productivity in wilt and cold stressed chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Environment and Climate Change*, 13(11), 1055–1068.
- Tondi, G., Zhao, W., Pizzi, A., Du, G., Fierro, V., & Celzard, A. (2009). Tannin-based rigid foams: A survey of chemical and physical properties. *Bioresource Technology*, 100(21), 5162–5169.
- Traoré, M., Kaal, J., & Martínez Cortizas, A. (2018). Differentiation between pine woods according to species and growing location using FTIR-ATR. *Wood Science and Technology*, 52(2), 487–504.
- Trinsoutrot, I., Jocteur Monrozier, L., Cellier, J., Waton, H., Alamercery, S., & Nicolardot, B. (2001). Assessment of the biochemical composition of oilseed rape (*Brassica napus* L.) ¹³C-labelled residues by global methods, FTIR and ¹³C NMR CP/MAS. *Plant and Soil*, 234(1), 61–72.
- Tripoli, E., Guardia, M. La, Giammanco, S., Majo, D. Di, & Giammanco, M. (2007). Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food Chemistry*, 104(2), 466–479.
- Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G., Sa, T., & Singh, B. K. (2020). Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology* 2020 18:11, 18(11), 607–621.
- Triyasmono, L., Schollmayer, C., Schmitz, J., Hovah, E., Lombo, C., Schmidt, S., & Holzgrabe, U. (2023). Simultaneous Determination of the Saponification Value, Acid Value, Ester Value, and Iodine Value in Commercially Available Red Fruit Oil

- (*Pandanus conoideus*, Lam.) Using ^1H qNMR Spectroscopy. *Food Analytical Methods*, 16(1), 155–167.
- Tsiftsis, S., Tsiripidis, I., & Trigas, P. (2011). Identifying important areas for orchid conservation in Crete. *European Journal of Environmental Sciences*, 1(2), 28–37.
- Tsugawa, H., Tsujimoto, Y., Arita, M., Bamba, T., & Fukusaki, E. (2011). GC/MS based metabolomics: Development of a data mining system for metabolite identification by using soft independent modeling of class analogy (SIMCA). *BMC Bioinformatics*, 12(1), 1–13.
- Tung, Y. C., Chou, Y. C., Hung, W. L., Cheng, A. C., Yu, R. C., Ho, C. T., & Pan, M. H. (2019). Polymethoxyflavones: Chemistry and Molecular Mechanisms for Cancer Prevention and Treatment. *Current Pharmacology Reports*, 5(2), 98–113.
- Ucella-Filho, J. G. M., Freire, A. da S. M., Carréra, J. C., Lucas, F. M. F., Zucolotto, S. M., Dias Júnior, A. F., & Mori, F. A. (2022). Tannin-rich bark extract of plants as a source of antimicrobial bioactive compounds: A bibliometric analysis. *South African Journal of Botany*, 150, 1038–1050.
- Umar, A. H., Ratnadewi, D., Rafi, M., & Sulistyaningsih, Y. C. (2021). Untargeted Metabolomics Analysis Using FTIR and UHPLC-Q-Orbitrap HRMS of Two Curculigo Species and Evaluation of Their Antioxidant and α -Glucosidase Inhibitory Activities. *Metabolites* 2021, Vol. 11, Page 42, 11(1), 42.
- Usman, K., Al-Ghouti, M. A., & Abu-Dieyeh, M. H. (2019). The assessment of cadmium, chromium, copper, and nickel tolerance and bioaccumulation by shrub plant *Tetraena qataranse*. *Scientific Reports* 2019 9:1, 9(1), 1–11.
- Vârban, R., Crişan, I., Vârban, D., Ona, A., Olar, L., Stoie, A., & Ştefan, R. (2021). Comparative FT-IR Prospecting for Cellulose in Stems of Some Fiber Plants: Flax, Velvet Leaf, Hemp and Jute. *Applied Sciences* 2021, Vol. 11, Page 8570, 11(18), 8570.
- Velu, G., Palanichamy, V., & Rajan, A. P. (2018). Phytochemical and pharmacological importance of plant secondary metabolites in modern medicine. *Bioorganic Phase in Natural Food: An Overview*, 135–156.
- von Aulock, F. W., Kennedy, B. M., Schipper, C. I., Castro, J. M., E. Martin, D., Oze, C., Watkins, J. M., Wallace, P. J., Puskar, L., Bégué, F., Nichols, A. R. L., & Tuffen, H. (2014). Advances in Fourier transform infrared spectroscopy of natural glasses: From sample preparation to data analysis. *Lithos*, 206–207(1), 52–64.
- Wang, L. X., Wang, H. L., Huang, J., Chu, T. Z., Peng, C., Zhang, H., ... & Tan, Y. Z. (2022). Review of lignans from 2019 to 2021: Newly reported compounds, diverse activities, structure-activity relationships and clinical applications. *Phytochemistry*, 202, 113326.
- Wang, Q., Ge, X., Tian, X., Zhang, Y., Zhang, J., & Zhang, P. (2013). Soy isoflavone: The multipurpose phytochemical (Review). *Biomedical Reports*, 1(5), 697–701.

- Wang, R., Ren, Q., Gao, D., Paudel, Y. N., Li, X., Wang, L., Zhang, P., Wang, B., Shang, X., & Jin, M. (2022). Ameliorative effect of *Gastrodia elata* Blume extracts on depression in zebrafish and cellular models through modulating reticulon 4 receptors and apoptosis. *Journal of Ethnopharmacology*, 289, 115018.
- Wang, S., Wang, K., Liu, Q., Gu, Y., Luo, Z., Cen, K., & Fransson, T. (2009). Comparison of the pyrolysis behavior of lignins from different tree species. *Biotechnology Advances*, 27(5), 562–567
- Wang, T. T., Wang, S., Shao, S., Wang, X. Di, Wang, D. Y., Liu, Y. S., Ge, C. J., Ying, G. G., & Chen, Z. B. (2022). Perfluorooctanoic acid (PFOA)-induced alterations of biomolecules in the wetland plant *Alisma orientale*. *Science of The Total Environment*, 820, 153302.
- Wang, Y. H., Avula, B., Abe, N., Wei, F., Wang, M., Ma, S. C., Ali, Z., Elsohly, M. A., & Khan, I. A. (2016). Tandem Mass Spectrometry for Structural Identification of Sesquiterpene Alkaloids from the Stems of *Dendrobium nobile* Using LC-QToF. *Planta Medica*, 82(7), 662–670.
- Wang, Z., Jiang, Y., Deane, D. C., He, F., Shu, W., & Liu, Y. (2019). Effects of host phylogeny, habitat and spatial proximity on host specificity and diversity of pathogenic and mycorrhizal fungi in a subtropical forest. *New Phytologist*, 223(1), 462–474.
- Wani, I. A., Kumar, V., Verma, S., Jan, A. T., & Rather, I. A. (2020). *Dactylorhiza hatagirea* (D. Don) Soo: A Critically Endangered Perennial Orchid from the North-West Himalayas. *Plants*, Vol. 9, Page 1644, 9(12), 1644.
- Wani, A. B., Chadar, H., Wani, A. H., Singh, S., & Upadhyay, N. (2017). Salicylic acid to decrease plant stress. *Environmental Chemistry Letters*, 15(1), 101–123.
- Watanabe, K., Tanaka, R., Sakurai, H., Iguchi, K., Yamada, Y., Hsu, C.-S., Sakuma, C., Kikuchi, H., Shibayama, H., & Kawai, T. (2007). Structure of cymbidine A, a monomeric peptidoglycan-related compound with hypotensive and diuretic activities, isolated from a higher plant, *Cymbidium goeringii*. *Jstage.Jst.Go.Jp*, 55(5), 780–783.
- Watanabe, M., Balazadeh, S., Tohge, T., Erban, A., Giavalisco, P., Kopka, J., Mueller-Roeber, B., Fernie, A. R., & Hoefgen, R. (2013). Comprehensive Dissection of Spatiotemporal Metabolic Shifts in Primary, Secondary, and Lipid Metabolism during Developmental Senescence in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 162(3), 1290–1310.
- Waud, M., Busschaert, P., Lievens, B., & Jacquemyn, H. (2016). Specificity and localised distribution of mycorrhizal fungi in the soil may contribute to co-existence of orchid species. *Fungal Ecology*, 20, 155–165.
- Weinberg, E. D. (1971). Secondary Metabolism: Raison d'Être. *Perspectives in Biology and Medicine*, 14(4), 565–577.
- Whigham, D., McCormick, M., Brooks, H., Josey, B., Floyd, R., & Applegate, J. (2021). *Isotria medeoloides*, a North American Threatened Orchid: Fungal Abundance May Be as Important as Light in Species Management. *Plants 2021*, Vol. 10, Page 1924, 10(9), 1924.

- Wiesner, J. (2022). Regulatory Perspectives of Pyrrolizidine Alkaloid Contamination in Herbal Medicinal Products. *Planta Medica*, 88(2), 118–124.
- Wishart, D. S. (2016). Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine. *Nature Reviews Drug Discovery* 2016 15:7, 15(7), 473–484.
- Wolfe, R. R., Rutherford, S. M., Kim, I. Y., & Moughan, P. J. (2016). Protein quality as determined by the Digestible Indispensable Amino Acid Score: evaluation of factors underlying the calculation. *Nutrition Reviews*, 74(9), 584–599.
- Wu, L., Georgiev, M. I., Cao, H., Nahar, L., El-Seedi, H. R., Sarker, S. D., Xiao, J., & Lu, B. (2020). Therapeutic potential of phenylethanoid glycosides: A systematic review. *Medicinal Research Reviews*, 40(6), 2605–2649.
- Wu, X., Huang, H., Childs, H., Wu, Y., Yu, L., & Pehrsson, P. R. (2021). Glucosinolates in Brassica Vegetables: Characterization and Factors That Influence Distribution, Content, and Intake. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-070620-025744>, 12, 485–511.
- Wu, Z., Gao, R., Li, H., Liao, X., Tang, X., Wang, X., & Su, Z. (2022). How steaming and drying processes affect the active compounds and antioxidant types of *Gastrodia elata* Bl. f. *glaucula* S. chow. *Food Research International*, 157, 111277.
- Wuyts, N., De Waele, D., & Swennen, R. (2006). Extraction and partial characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musa acuminata* Grande naine) roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44(5–6), 308–314.
- Xi, Z., & Chen, B. (2014). Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from aqueous solution by raw and modified plant residue materials as biosorbents. *Journal of Environmental Sciences*, 26(4), 737–748.
- Xie, H., Chen, Y., Wu, W., Feng, X., & Du, K. (2021). *Gastrodia elata* Blume Polysaccharides Attenuate Vincristine-Evoked Neuropathic Pain through the Inhibition of Neuroinflammation. *Mediators of Inflammation*, 2021.
- Yagame, T., Yamato, M., Mii, M., Suzuki, A., & Iwase, K. (2007). Developmental processes of achlorophyllous orchid, *Epipogium roseum*: From seed germination to flowering under symbiotic cultivation with mycorrhizal fungus. *Journal of Plant Research*, 120(2), 229–236.
- Yam, T. W., & Arditti, J. (2009). History of orchid propagation: A mirror of the history of biotechnology. *Plant Biotechnology Reports*, 3(1), 1–56.
- Yamazaki, J., & Miyoshi, K. (2006). In vitro Asymbiotic Germination of Immature Seed and Formation of Protocorm by *Cephalanthera falcata* (Orchidaceae). *Annals of Botany*, 98(6), 1197–1206.
- Yang, B., Liu, H., Yang, J., Gupta, V. K., & Jiang, Y. (2018). New insights on bioactivities and biosynthesis of flavonoid glycosides. *Trends in Food Science & Technology*, 79, 116–124.

- Yang, C., Gao, X., Jiang, Y., Sun, B., Gao, F., & Yang, S. (2016). Synergy between methylerythritol phosphate pathway and mevalonate pathway for isoprene production in *Escherichia coli*. *Metabolic Engineering*, 37, 79–91.
- Yang, C. K., & Lee, Y. I. (2014). The seed development of a mycoheterotrophic orchid, *Cyrtosia javanica* Blume. *Botanical Studies*, 55(1), 1–7.
- Yang, C. R., Shih, K. S., Liou, J. P., Wu, Y. W., Hsieh, I. N., Lee, H. Y., Lin, T. C., & Wang, J. H. (2014). Denbinobin upregulates miR-146a expression and attenuates IL-1 β -induced upregulation of ICAM-1 and VCAM-1 expressions in osteoarthritis fibroblast-like synoviocytes. *Journal of Molecular Medicine*, 92(11), 1147–1158.
- Yang, J., & Yen, H. E. (2002). Early Salt Stress Effects on the Changes in Chemical Composition in Leaves of Ice Plant and *Arabidopsis*. A Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study. *Plant Physiology*, 130(2), 1032–1042.
- Yang, L. C., Lu, T. J., & Lin, W. C. (2013). A type II arabinogalactan from *Anoectochilus formosanus* for G-CSF production in macrophages and leukopenia improvement in CT26-bearing mice treated with 5-fluorouracil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.
- Yang, L., Li, T., Yang, L., Dong, L., & Chen, J. (2022). Two-dimensional correlation spectroscopy indicates the infrared spectral markers of the optimum scorching degree of rhubarb (*Rhei Radix et Rhizoma*) to enhance the anti-inflammatory activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 270, 120853.
- Yang, M., Zheng, T., Zhan, J., Wang, M., Sun, W., Zhou, M., Tang, Z., Bu, T. L., Li, Q., & Chen, H. (2022). *Conyza blinii* responds to the changes of exogenous iron through auxin-terpenoids metabolism pathway. *Journal of Plant Interactions*, 17(1), 485–495.
- Yeom, S. J., Kim, M., Kim, S. K., Lee, D. H., Kwon, K. K., Lee, H., Kim, H., Kim, D. M., & Lee, S. G. (2018). Molecular and biochemical characterization of a novel isoprene synthase from *Metrosideros polymorpha*. *BMC Plant Biology*, 18(1), 1–10.
- Yeung, E. C. (2017). A perspective on orchid seed and protocorm development. *Botanical Studies*, 58(1), 1–14.
- Yeung, E. C., Li, Y.-Y., & Lee, Y.-I. (2018). *Understanding Seed and Protocorm Development in Orchids*. 3–26.
- Yoshikawa, M., Murakami, T., Kishi, A., Sakurama, T., Matsuda, H., Nomura, M., ... & Kubo, M. (1998). Novel indole S, O-bisdesmoside, calanthoside, the precursor glycoside of tryptanthrin, indirubin, and isatin, with increasing skin blood flow promoting effects, from two *Calanthe* species (Orchidaceae). *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 46(5), 886–888.
- Yu, Y., Che, S., Ren, C., Jin, B., Tian, Z., Liu, J., & Men, Y. (2022). Microbial Defluorination of Unsaturated Per- and Polyfluorinated Carboxylic Acids under Anaerobic and Aerobic Conditions: A Structure Specificity Study. *Environmental Science and Technology*, 56(8), 4894–4904.

- Yu, Z., Jiang, Q., Yu, D., Dong, J., Xu, Y., & Xia, W. (2022). Physical, antioxidant, and preservation properties of chitosan film doped with proanthocyanidins-loaded nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 130, 107686.
- Yu, Z. X., Li, J. X., Yang, C. Q., Hu, W. L., Wang, L. J., & Chen, X. Y. (2012). The Jasmonate-Responsive AP2/ERF Transcription Factors AaERF1 and AaERF2 Positively Regulate Artemisinin Biosynthesis in *Artemisia annua* L. *Molecular Plant*, 5(2), 353–365.
- Yuan, J., Zhang, W., Sun, K., Tang, M. J., Chen, P. X., Li, X., & Dai, C. C. (2019). Comparative transcriptomics and proteomics of *Atractylodes lancea* in response to endophytic fungus *gilmaniella* sp. AL12 reveals regulation in plant metabolism. *Frontiers in Microbiology*, 10(MAY), 1208.
- Yulvianti, M., & Zidorn, C. (2021). Chemical Diversity of Plant Cyanogenic Glycosides: An Overview of Reported Natural Products. *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 719, 26(3), 719.
- Zagrobelny, M., Bak, S., & Møller, B. L. (2008). Cyanogenesis in plants and arthropods. *Phytochemistry*, 69(7), 1457–1468.
- Zálešák, F., Bon, D. J. Y. D., & Pospíšil, J. (2019). Lignans and Neolignans: Plant secondary metabolites as a reservoir of biologically active substances. *Pharmacological Research*, 146, 104284.
- Zaman, M. A. K., Azzeme, A. M., Ramle, I. K., Normanshah, N., Ramli, S. N., Shaharuddin, N. A., ... & Abdullah, S. N. A. (2020). Induction, multiplication, and evaluation of antioxidant activity of *Polyalthia bullata* callus, a woody medicinal plant. *Plants*, 9(12).
- Zancajo, V. M. R., Lindtner, T., Eisele, M., Huber, A. J., Elbaum, R., & Kneipp, J. (2020). FTIR Nanospectroscopy Shows Molecular Structures of Plant Biominerals and Cell Walls. *Analytical Chemistry*, 92(20), 13694–13701.
- Zeier, J. (2013). New insights into the regulation of plant immunity by amino acid metabolic pathways. *Plant, Cell & Environment*, 36(12), 2085–2103.
- Zerbe, P., & Bohlmann, J. (2015). Plant diterpene synthases: exploring modularity and metabolic diversity for bioengineering. *Trends in Biotechnology*, 33(7), 419–428.
- Zettler, L. W., & Dvorak, C. J. (2021). *Tulasnella calospora* (UAMH 9824) retains its effectiveness at facilitating orchid symbiotic germination in vitro after two decades of subculturing. *Botanical Studies*, 62(1), 1–8.
- Zhai, H., Luo, Y., Ren, W., Schyns, G., & Guggenbuhl, P. (2020). The effects of benzoic acid and essential oils on growth performance, nutrient digestibility, and colonic microbiota in nursery pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 262, 114426.
- Zhan, H. D., Zhou, H. Y., Sui, Y. P., Du, X. L., Wang, W. hao, Dai, L., Sui, F., Huo, H. R., & Jiang, T. L. (2016). The rhizome of *Gastrodia elata* Blume – An ethnopharmacological review. *Journal of Ethnopharmacology*, 189, 361–385.

- Zhang, A., Sun, H., Wang, P., Han, Y., & Wang, X. (2011). Modern analytical techniques in metabolomics analysis. *Analyst*, 137(2), 293–300.
- Zhang, F. Da, Xu, C. H., Li, M. Y., Huang, A. M., & Sun, S. Q. (2014). Rapid identification of *Pterocarpus santalinus* and *Dalbergia louvelii* by FTIR and 2D correlation IR spectroscopy. *Journal of Molecular Structure*, 1069(1), 89–95.
- Zhang, H., Wang, X., Guo, Y., Liu, X., Zhao, X., Teka, T., Lv, C., Han, L., Huang, Y., & Pan, G. (2021). Thirteen bisbenzylisoquinoline alkaloids in five Chinese medicinal plants: Botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacokinetic and toxicity studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 268, 113566.
- Zhang, Q., Gonzalez de Mejia, E., Luna-Vital, D., Tao, T., Chandrasekaran, S., Chatham, L., Juvik, J., Singh, V., & Kumar, D. (2019). Relationship of phenolic composition of selected purple maize (*Zea mays* L.) genotypes with their anti-inflammatory, anti-adipogenic and anti-diabetic potential. *Food Chemistry*, 289, 739–750.
- Zhang, Y., Li, Y., & Guo, S. (2020). Effects of the mycorrhizal fungus *Ceratobasidium* sp. AR2 on growth and flavonoid accumulation in *Anoectochilus roxburghii*. *PeerJ*, 2020(1), e8346.
- Zhao, D. K., Selosse, M. A., Wu, L., Luo, Y., Shao, S. C., & Ruan, Y. L. (2021). Orchid Reintroduction Based on Seed Germination-Promoting Mycorrhizal Fungi Derived From Protocorms or Seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 12.
- Zhao, M., Yang, N., Yang, B., Jiang, Y., & Zhang, G. (2007). Structural characterization of water-soluble polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladodes in relation to their anti-glycated activities. *Food Chemistry*, 105(4), 1480–1486.
- Zhao, S., & Li, L. (2020). Chemical derivatization in LC-MS-based metabolomics study. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 131, 115988.
- Zhao, Z., Shao, S., Liu, N., Liu, Q., Jacquemyn, H., & Xing, X. (2021). Extracellular Enzyme Activities and Carbon/Nitrogen Utilization in Mycorrhizal Fungi Isolated From Epiphytic and Terrestrial Orchids. *Frontiers in Microbiology*, 12.
- Zheng, C., Feng, G., & Liang, H. (1998). *Bletilla striata* as a vascular embolizing agent in interventional treatment of primary hepatic carcinoma. *Chinese medical journal*, 111(12), 1060-1063.
- Zhou, H. R., Zhang, F. F., Ma, Z. Y., Huang, H. W., Jiang, L., Cai, T., Zhu, J. K., Zhang, C., & He, X. J. (2013). Folate Polyglutamylation Is Involved in Chromatin Silencing by Maintaining Global DNA Methylation and Histone H3K9 Dimethylation in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 25(7), 2545–2559.
- Zhou, W., Ge, X., Zhu, D., Langdon, A., Deng, L., Hua, Y., & Zhao, J. (2011). Metal adsorption by quasi cellulose xanthogenates derived from aquatic and terrestrial plant materials. *Bioresource Technology*, 102(3), 3629–3631.
- Zhou, Z., Shi, R., Zhang, Y., Xing, X., & Jin, X. (2021). Orchid conservation in China from 2000 to 2020: Achievements and perspectives. *Plant Diversity*, 43(5), 343-349.

Zito, P., Rosselli, S., Bruno, M., Maggio, A., & Sajeve, M. (2019). Floral scent in a sexually deceptive *Ophrys* orchid: from headspace collections to solvent extractions. *Plant signaling & behavior*, 14(1), 1552056.



ÖZ GEÇMİŞ

Lisans eğitimimi 2013 yılında Adnan Menderes Üniversitesi'nde Biyoloji bölümünde tamamladım. Daha sonra yüksek lisans eğitimimi 2016 yılında Gazi Üniversitesi Biyoloji bölümünde aldım. 2019 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi'nde doktora eğitimime başladım. 2021 yılında Uşak Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde araştırma görevlisi olarak atandım ve halen bu görevime devam etmekteyim.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : <https://orcid.org/0000-0001-6045-0183>.

Yayınlar:

1. Aytar, E. C., & Özmen, A. (2020). Cytotoxic and apoptotic activities of *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. Fr. extracts. *International Journal of Secondary Metabolite*, 7(1), 54-62.
2. Aytar, E. C., Akata, İ., & Leyla, Açık (2020). Antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative activity of *Suillus luteus* (L.) Roussel extracts. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 44(3), 373-387.
3. Aytar, E. C., Akata, I., & Leyla, Açık (2020). Antioxidant and antimicrobial activities of *Armillaria mellea* and *Macrolepiota procera* extracts. *Mantar Dergisi*, 11(2), 121-128.
4. Aytar, E. C., & Kömpe, Y. Ö. (2021). Orkidelerin Geleneksel Kullanımları, Fitokimyasal İçerikleri ve Biyolojik Aktiviteleri. *Black Sea Journal of Engineering and Science*, 9-10.
5. Tosun, F., Aytar, E., Beutler, J., Wilson, J., & Miski, M. (2021). Cytotoxic sesquiterpene coumarins from the roots of *Heptaptera cilicica*. *Records of Natural Products*, 15(6).
6. Deniz, İ. G., Kömpe, Y. Ö., Harzli, I., Aytar, E. C., Mutlu, V. A., & Uysal, D. İ. (2022). From seed to flowering tuberous orchid using ex vitro symbiotic seed germination: A breakthrough study with *Anacamptis sancta*. *Rhizosphere*, 24, 100597.

7. Aytar, E. C., & Özdener Kömpe, Y. (2023). Effect of different substrates on in vitro symbiotic seed germination for soilless production of *Anacamptis laxiflora* orchid. *Acta Botanica Croatica*, 82(2), 0-0.
8. Durmaz, Ö., Durmaz, A., Aytar, E. C., & Kömpe, Y. Ö. (2023). A class of plant hormones with different properties and special aspects: strigolactones.
9. Kahyaoğlu, İ. M., Aytar, E. C., Durmaz, A., & Karakuş, S. (2023). Nanostructured Biomaterials in Drug Delivery. In *Engineered Biomaterials: Synthesis and Applications* (pp. 233-259). Singapore: Springer Nature Singapore.
10. Aytar, E. C., Harzli, I., & Özdener Kömpe, Y. (2023). Phytochemical Analysis of *Anacamptis coriophora* Plant Cultivated Using Ex Vitro Symbiotic Propagation. *Chemistry & Biodiversity*, 20(12), e202301218.
11. Aytar, E. C., & Kömpe, Y. O. (2024). Cultivation of *Serapias orientalis* Plant Using Symbiotic Methods and Investigation of Bioactive Compounds. *ACS Agricultural Science & Technology*.
12. *Sideritis trojana* ve *Sideritis athoa* (Lamiaceae)'nın Biyolojik Aktivitelerinin Karşılaştırılması. Sözlü Sunum Özet bildiri Ulusal Botanik/Bitki Bilimi Kongresi 24.10.2014
13. OP-22 Novel Sesquiterpene Coumarin Ethers from The Dichloromethane Extract of The Roots of *Heptaptera ciliçica* Sözlü Sunum Özet bildiri 11th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds 01.10.2014
14. Ex vitro Symbiotic Germination of *Gymnadenia conopsea* Seeds Poster Özet bildiri 3 rd International Congress on Plant Biology 21.09.2022
15. Ex vitro Symbiotic Germination of Endemic *Dactylorhiza osmanica* subsp.*osmanica* Poster Özet bildiri 3 rd International Congress on Plant Biology 21.09.2022
16. Sustainable cultivation of *Anacamptis coriophora* plant in Turkey: Antioxidant properties Sözlü Sunum Özet bildiri 6th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences 11.10.2023.

17. Analysis of the chemical composition of *Leucojum aestivum* L. seed coats. Poster
Özet bildiri 6th International Eurasian Conference on Biological and Chemical
Sciences 11.10.2023

18. Seed And Protocorm Morphology of *Serapias Orientalis*, And Aminoacid
Analysis of Aerial Part Sözlü Sunum Özet Bildiri ISPEC 13th International
Conference On Agriculture, Animal Sciences And Rural Development 28.11.2023

19. The Use Of Halophytic Plants in Saline Agricultural Areas And Their İmpact on
Bioremediation İn Such Environments Sözlü Sunum Özet Bildiri ISPEC 13th
International Conference On Agriculture, Animal Sciences And Rural
Development 28.11.2023

20. *Aristolochia bodamae* Plant's Antioxidant Activity and Bioactive Compound
Content Sözlü Sunum Özet Bildiri ISPEC 13th International Conference On
Agriculture, Animal Sciences And Rural Development 28.11.2023

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. Chemical and Ecological Study of Some Turkish Coasts Benthic Invertebrates
Bursiyer: Erdi Can Aytar, Avrupa Birliği Projesi-Tubitak (İtalya-Türkiye)