



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



FARKLI SALEP TÜRLERİNDE DOKU
KÜLTÜRÜ, SERA VE TARLA
KOŞULLARINDA ÜRETİM ÇALIŞMALARI

Yasemin SEYMAN

DOKTORA TEZİ

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Ağustos-2023
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Yasemin SEYMAN tarafından hazırlanan “**Farklı salep türlerinde doku kültürü, sera ve tarla koşullarında üretim çalışmaları**” adlı tez çalışması .../.../... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Atalay SÖKMEN

.....

Danışman

Prof. Dr. Yüksel KAN

.....

Üye

Doç. Dr. Mustafa YORGANCILAR

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Rabia Serpil GÜNHAN

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Münüre TANUR ERKOYUNCU

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ömer Faruk YÜKSEL
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından TAGEM/TBAD/A/21/A7/P6/2430 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Yasemin SEYMAN

Tarih:

ÖZET

DOKTORA TEZİ FARKLI SALEP TÜRLERİNDE DOKU KÜLTÜRÜ, SERA VE TARLA KOŞULLARINDA ÜRETİM ÇALIŞMALARI

Yasemin SEYMAN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yüksel KAN

2023, 106 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Yüksel KAN

Prof. Dr. Atalay SÖKMEN

Doç. Dr. Mustafa YORGANCILAR

Dr. Öğr. Üyesi Rabia Serpil GÜNHAN

Dr. Öğr. Üyesi Münüre TANUR ERKOYUNCU

Bu çalışmada; ülkemizde yumruları salep olarak kullanılan bazı türlerin (*Serapias vomeracea* (Burm.f.) Briq., *Ophrys apifera* Huds. ve *Anacamptis pyramidalis* (L.) Rich) vejetatif ve asimbiyotik üretim olanakları araştırılmıştır. Doku kültürü yöntemi ile *in vitro* koşullarda *S. vomeracea* ve *A. pyramidalis* türlerine ait tohumlar EBP besi ortamında çimlenirken *O. apifera*'da çimlenme gözlemlenememiştir. Çimlenen ve gelişen fidelerin aklimatizasyon çalışması yapılmıştır, fakat bitkiler 15-45 günde hızla solarak canlılığını kaybetmiştir. Tarla ve sera şartlarında yumru dikimi ile üretiminden fenolojik, morfolojik ve kimyasal bileşenlerine ait veriler kaydedilmiştir. Tarla koşullarında üretimi için türlerin doğal florası olan Samsun'da deneme kurulmuş olup bitkisel ve kimyasal özellikleri kaydedilmiş ayrıca Ankara şartlarında gölgelendirme serasında türlerin adaptasyonu ve bazı fenolojik gözlemleri alınmıştır. Denemede son birkaç yıldır kullanılan sök ve yerine yeniden dik olarak adlandırılan işlem uygulanmıştır ve tarla şartlarında salep yumru sayısının çoğaltılması için çiçeklenme başlangıcında kullanılabileceği ama salep yumru ağırlığının artırılmasına etkisi gözlemlenmemiştir. Çiçeklenme başlangıcı, % 50 çiçeklenme dönemi ve çiçeklenme sonunda 'sök-dik' yöntemi uygulanarak tesadüf bloklarında bölünmüş parseller deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Denemeden, *A.pyramidalis*, *O.apifera*, *S. vomeracea*, tür sıralamasına göre bitkisel özelliklerine ait elde edilen değerler: bitki boyları 37.91-39.25-47.08 cm, yaprak sayıları 7.5-5.92-5.83 adet/bitki, 5.83-7.5 adet/bitki, çiçek sayıları 77.25-7.33-9.25 adet/bitki, yavru yumru sayıları 1.9-1.7-1.6 adet/bitki, yumru ağırlıkları 5.92-5.14-5.32 g/bitki, yumru büyüklükleri 2.4-1.8-1.8 cm³'dür. Kullanılan üç farklı salep orkidesi türünün ortalama nişasta oranı % 11.41-38.9, müsilaaj oranı %23.9-26., nem oranı % 7.06-8.22, ham protein oranı % 5.45-6.45, toplam makro besin elementi %0.27-0.53, toplam mikro besin elementi 166-203 Ppb arasında tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Anacamptis pyramidalis*, *in vitro*, *Ophrys apifera*, orkide, salep, *Serapias vomeracea*, , sök-dik, yumru verimi.

ABSTRACT

Ph.D THESIS

PRODUCTION STUDIES IN DIFFERENT ORCHID SPECIES *IN VITRO* CULTURE, GREENHOUSE AND FIELD CONDITIONS

Yasemin SEYMAN

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY

DEPARTMENT OF FIELD CROPS

Advisor: Title Unvanı Adı SOYADI

2023, 106 Pages

Jury

Prof. Dr. Yüksel KAN

Prof. Dr. Atalay SÖKMEN

Assoc. Prof. Dr. Mustafa YORGANCILAR

Asst. Prof. Dr. Rabia Serpil GÜNHAN

Asst. Prof. Dr. Münüre TANUR ERKOYUNCU

In this study, vegetative and asymbiotic production possibilities of some species (*Serapias vomeracea* (Burm.f.) Briq., *Ophrys apifera* Huds. and *Anacamptis pyramidalis* (L.) Rich) whose tubers are used as salep in our country were investigated. Under *in vitro* conditions with tissue culture method, while seeds of *S. vomeracea* and *A. pyramidalis* species germinated in EBP medium, no germination was observed in *O. apifera*. The acclimatization study of the germinated and developed seedlings was conducted, but the plants quickly withered in 15-45 days and lost their vitality. The data on the phenological, morphological and chemical components of tuber planting and production of these salep species under field and greenhouse conditions were recorded. For the production under field conditions, the experiment was established in Samsun, which is the natural flora of the species, and its herbal and chemical properties were recorded. In addition, the adaptation of the species and some phenological observations were taken in the shading greenhouse under Ankara conditions. In the experiment, the process called uproot and upright, which has been used for the last few years, was applied and it could be used at the beginning of flowering to increase the number of salep tubers under field conditions, but no effect on increasing the weight of salep tubers was observed. In the beginning of flowering, in the middle of the flowering period (50 % flowering) and at the end of the flowering, the 'removal-upright' method was applied in randomized blocks according to the divided plots experimental design with three replications. The values obtained for the vegetative characteristics of *A.pyramidalis*, *O.apifera*, *S. vomeracea* species in the experiment, respectively: plant heights 37.91-39.25-47.08 cm, number of leaves 7.5-5.92-5.83 /plant, 5.83-7.5 units/plant, flower numbers 77.25-7.33-9.25 units/plant, juvenile tuber numbers 1.9-1.7-1.6 units/plant, tuber their weight is 5.92-5.14-5.32 g/plant, tuber size is 2.4-1.8-1.8 cm³. The ratios of starch, crude protein, mucilage, moisture, macro and micro nutrients in the composition of the species were determined. Average starch ratio of three different salep orchid species was detected between 11.41% and 38.9%, mucilage ratio 23.9-26%, moisture ratio 7.06-8.22%, crude protein ratio 5.45-6.45%, total macronutrient 0.27-0.53%, total micronutrient 166-203 Ppb.

Keywords: *Anacamptis pyramidalis*, *in vitro*, *Ophrys apifera*, orchid, salep, *Serapias vomeracea*, tuber yield, uproot.

ÖNSÖZ

Ülkemizde çok eski zamanlardan beri geleneksel bir içecek olan ve özellikle dondurma endüstrimizde kullanılan değerli ve ekonomik salep yumrularının kültüre alınamaması konusundaki belirsizlikleri ve gerçekleri deneyimlemek üzere bu çalışmanın gerçekleşmesi için yardım ve desteğini esirgemeyen değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Yüksel KAN'a teşekkür ederim.

Çalışmalarımın materyal temini ve salep orkidelerinin yetiştiriciliği konusunda yardımlarıyla beni yönlendiren her türlü bilgi ve yardımını esirgemeyen çok değerli Hocam Sayın Doç.Dr. Ömer ÇALIŞKAN'a çok teşekkür ederim. Projenin değerlendirilmesi ve izleme faaliyetlerini yürüten, proje finansmanını sağlayan TAGEM/Tıbbi Aromatik Bitkiler Çalışma Grubu Sorumlusu Sayın Aydın KARAKUŞ'a ve doktora eğitimimin her döneminde beni destekleyen ve yardım eden Sevgili Dr. İrem AYRAN'a çok teşekkür ederim.

Tez izleme komite toplantılarımızda tavsiyeleriyle destek veren ve yol gösteren Sayın Prof. Dr. Atalay SÖKMEN ve Doç. Dr. Mustafa YORGANCILAR'a teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvarını kullanma imkânı sunan ve çalışmalarımın her türlü kolaylığı sağlayan Sayın Dr. Esra BULUNUZ PALAZ'a, tarla ve sera şartlarında bana yardımcı olan ve tez süresince destek veren beni cesaretlendiren Sevgili arkadaşlarım Dr.Merve YILMAZ, Dr.Tuğba UÇAR AKYÜREK, Dr.Özlem MAVİ İDMAN ve Dr.Fatma ÖZKAY teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Son olarak doktora çalışmam süresince her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen Sevgili eşim Eren SEYMAN'a, evimden ayrı kaldığım süreçlerde beni anlayışla karşıladığı için biricik oğlum Aras SEYMAN'a sevgilerimi ve minnettarlığımı sunarım.

Yasemin SEYMAN
KONYA-2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ÇİZELGELER LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Salep Orkidelerinin Tahribatı ve Tanımlanmasına İlişkin Literatürler	5
2.2. Bitkinin Üretimi, Fizyoloji ve Morfolojisine İlişkin Literatürler	8
2.3. Bitkinin <i>In Vitro</i> ile Çoğaltımı Üzerine İlişkin Literatürler	11
2.4. Salebin Kullanımı ve Bileşenlerine İlişkin Literatürler	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
3.1. Materyal	23
3.1.1. <i>Ophrys apifera</i> Huds. türünün bitkisel özellikleri	23
3.1.2. <i>Serapias vomeracea</i> (Burm.f.) Briq. türünün bitkisel özellikleri	25
3.1.3. <i>Anacamptis pyramidalis</i> (L.) Rich. türünün bitkisel özellikleri	27
3.1.4. Tarla ve sera ile doku kültürü çalışmalarının yürütüldüğü yerler	28
3.2. Yöntem.....	31
3.2.1. Doku kültürü çalışmasında uygulanan yöntem ve alınan gözlemler	31
3.2.1.1. Tohumların elde edilmesi, tasnifi ve yüzey sterilizasyonu	32
3.2.1.2. Doku kültürü çalışmasında kullanılan materyallerin sterilizasyonu	34
3.2.1.3. Uygun besi yerlerinin hazırlanması ve tohumların besi yerlerine ekimi ..	34
3.2.1.4. Farklı besi ortamlarının tohumların çimlenme ve protokorm oluşturma üzerine etkilerinin belirlenmesi	35
3.2.1.5. Aklimatizasyon	36
3.2.2. Tarla ve sera deneme yöntemi ve alınan gözlemler.....	36
3.2.2.1. Tarla ve sera deneme deseni ve yumruların dikim yöntemi	37
3.2.2.2. Tarla ve sera denemelerinde salep orkidelerinden alınan gözlem ve yöntemleri	39
3.2.2.3. Tarla ve sera denemelerinden alınan gözlem ve yöntemleri.....	40
3.2.3. Farklı salep orkide yumrularının bileşenlerine ait yapılan analizler.....	40
3.2.3.1. Nişasta analizi	41
3.2.3.2. Müsilaj analizi.....	42
3.2.3.3. Nem tayini.....	43
3.2.3.4. Mineral madde analizi	43

3.2.3.5. Ham protein analizi.....	44
4. ARASTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	45
4.1. Farklı Salep Orkidelerinin Doku Kültürü Yöntemi ile Çoğaltım Çalışmasına Ait Elde Edilen Sonuçlar	45
4.1.1. Doku kültürü yönteminde eksplant olarak kullanılan farklı salep orkidesi tohumlarına ait bilgiler.....	45
4.1.2. Farklı salep orkidelerinin çimlenmesi için uygun besi yerinin belirlenmesi	48
4.1.3. Farklı salep orkidelerinin çimlenme ve protokorm oluşturmaya ait elde edilen sonuçlar	51
4.1.4. Doku kültürü ile çimlenen tohumlardan elde edilen bitkiciklerin aklimitizasyonu	51
4.2. Tarla ve Sera Koşullarında Salep Orkidelerinin Üretimi.....	53
4.2.1. Farklı salep yumrularının üretiminde alınan fenolojik gözlemler	53
4.2.2. Farklı salep orkidelerinden alınan morfolojik gözlemler	58
4.3. Farklı salep orkidesi yumrularının bazı kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi	73
4.3.1. Nişasta Oranı.....	74
4.3.2. Müsilaj Oranı	77
4.3.3. Nem Oranı.....	78
4.3.4. Mineral Madde Oranları	79
4.3.5. Ham Protein Oranları.....	80
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	83
5.1 Sonuçlar	83
5.2 Öneriler	85
KAYNAKLAR	87
EKLER	97
ÖZGEÇMİŞ	102

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: yüzde işareti
°C	: santigrat derece
<i>A. pyramidalis</i>	: <i>Anacamptis pyramidalis</i> (L.) Rich.
AK	: aktif karbon
B	: Bor
CITES	: Convention on the International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna
cm	: santimetre
cm ³	: santimetre küp
Cu	: Bakır
dk.	: dakika
EBP	: Esra Bulunuz Palaz besi ortamı
Fe	: Demir
g/bitki	: gram/bitki
g/l	: gram/litre
GA3	: giberalik asit
HCl	: Hidrojen klorür
HNO ₃	: Hidrojen nitrat
KC	: Knudson C besi ortamı
kg	: kilogram
kg/da	: kilogram/dekar
m	: metre
mg	: miligram
mg.kg ⁻¹	: miligram per kilogram
mg/l	: miligram/litre
ml	: mililitre
mm	: milimetre
Mn	: Mangan
MS	: Murashige ve Skoog besi ortamı
NaOCl	: Sodyum hipoklorit
<i>O. apifera</i>	: <i>Ophrys apifera</i> Huds.
OCM	: Orkide kültür ortamı
Ö.B.	: Ölçüm Belirsizliği
Ph	: asitlik derecesi
Plb	: protocorm like body (protokorm benzeri vücut yapıları)
Ppb	: parts per billion (milyarda bir)
<i>S. vomeracea</i>	: <i>Serapias vomeracea</i> (Burm.f.) Briq.
TAGEM	: Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
UV	: Ultraviyole
VW&D	: Van Waes-Deberg
Zn	: Çinko
µg	: mikrogram

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 3. 1. Samsun-Terme İlçesi lokasyonunun toprağına ait bazı fiziksel ve kimyasal özellikler	29
Çizelge 3. 2. Samsun-Terme İlçesine ait bazı önemli iklim özellikleri.....	30
Çizelge 3. 3. Türkiye Mart Ortalama Sıcaklık Verileri	31
Çizelge 3. 4. EBP (Bulunuz, 2018) besi ortamı kimyasal içeriğı	34
Çizelge 4. 1. Tarla koşullarından alınan fenolojik gözlemlere ilişkin veriler.....	55
Çizelge 4. 2. Bazı salep orkidesi türlerinde saptanan bitki boylarına ilişkin varyans analiz tablosu	58
Çizelge 4. 3. Bazı salep orkidesi türlerinde saptanan farklı zamanlarda uygulanan sök-dik işlemine göre taksonlara ait ortalama bitki boyları.....	59
Çizelge 4. 4. Bazı salep orkidesi türlerine ait ortalama bitki boyları.....	60
Çizelge 4. 5. Bazı salep orkidesi türlerinde saptanan bitkide yaprak sayısına ilişkin varyans analiz tablosu.....	61
Çizelge 4. 6. Bazı salep orkidesi türlerine ait ortalama bitki başına yaprak sayısı.....	61
Çizelge 4. 7. Bazı salep orkidesi türlerinde saptanan bitki başına çiçek sayısına ilişkin varyans analizi	63
Çizelge 4. 8. Bazı salep orkidesi türlerine ait ortalama bitki başına çiçek sayısı	63
Çizelge 4. 9. Tarla koşullarında, bazı salep orkidesi türlerine uygulanan sök-dik uygulamasının bitki başına yavru yumru sayısına ilişkin varyans analizi.....	65
Çizelge 4. 10. Farklı zamanlarda yapılan sök-dik uygulamasından elde edilen bitki başına ortalama yumru sayıları (adet/bitki)	66
Çizelge 4. 11. Farklı zamanlarda yapılan sök-dik uygulamasının türlere ait bitki başına ortalama yumru sayısı (adet/bitki)	67
Çizelge 4. 12. Tarla koşullarında, bazı salep orkidesi türlerine uygulanan sök-dik uygulamasının bitki başına yavru yumru ağırlıklarına ilişkin varyans analizi	68
Çizelge 4. 13. Türlerle ait bitki başına ortalama yumru ağırlığı (g/bitki).....	69
Çizelge 4. 14. Farklı zamanlarda yapılan sök-dik uygulamasından elde edilen bitki başına ortalama yumru ağırlıkları (g/bitki).....	70
Çizelge 4. 15. . Farklı zamanlarda yapılan sök-dik uygulamasının türlere ait ortalama yumru ağırlıkları (adet/bitki)	70
Çizelge 4. 16. Bazı salep orkidelerinin en, boy ve yüksekliklerine ait ortalama değerler (mm).....	72
Çizelge 4. 17. Bazı salep orkidelerinin ortalama nişasta oranları (%).....	75
Çizelge 4. 18. Bazı salep orkidelerinin ortalama müsilaj oranları (%).....	77
Çizelge 4. 19. Bazı salep orkidelerinin ortalama nem oranları (%).....	79
Çizelge 4. 20. Türlerle ait mikro (Ppb) ve makro besin elementleri (%).....	80
Çizelge 4. 21. Türlerle ait ham protein oranları (%).....	81

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. <i>Ophrys apifera</i> türünün coğrafi yayılışı	24
Şekil 3.2. <i>Ophrys apifera</i> türünün çiçeğı (arı orkidesi)	24
Şekil 3.3. <i>Ophrys apifera</i> türünün tohumları	24
Şekil 3.4. <i>Ophrys apifera</i> türünün yeni hasat edilmiş (A) ve anaç, kesik, çürük yumruları (B)	25
Şekil 3.5. <i>Serapias vomeracea</i> türünün Türkiye’de coğrafi yayılışı;	25
Şekil 3.6. <i>Serapias vomeracea</i> türünün çiçeğı (sağırkulağı)	26

Şekil 3.7. <i>Serapias vomeracea</i> türünün tohumları.....	26
Şekil 3.8. <i>Serapias vomeracea</i> türünün yeni hasat edilmiş (A) ve anaç, kesik, çürük yumruları (B)	26
Şekil 3.9. <i>Anacamptis pyramidalis</i> türünün coğrafi yayılışı.....	27
Şekil 3.10. <i>Anacamptis pyramidalis</i> türünün çiçeği (sivrisalep)	27
Şekil 3.11. <i>Anacamptis pyramidalis</i> türünün tohumları	28
Şekil 3.12. <i>Anacamptis pyramidalis</i> türünün yeni hasat edilmiş (A) ve anaç, kesik, çürük yumruları(B)	28
Şekil 3.13. Tasnif edilen salep orkidesi tohumları.....	32
Şekil 3.14. Yüzey sterilizasyonundan önce tohumların paketlenmesi.....	33
Şekil 3.15. Paketlenen tohumların % 35 lik NaOCl'de bekletilmesi.....	33
Şekil 3.16. Tohumların EBP besi ortamına aktarımı	35
Şekil 3.17. 10*10 cm dikim normunda tasnifi yapılan dikime hazır salep yumruları	38
Şekil 3.18. Çıkış başlangıcında yabancı ot alımı	38
Şekil 3.19. Kurutulmaya hazır salep orkidesi yumruları, öğütülmesi ve salep tozu.....	41
Şekil 3.20. Nişasta analizinin aşamaları A- Salep tozunun HCl ile muamelesi, B- Su banyosunda kaynatma, C-Carez çözeltileri ile muamele D- Süzme, E-Polorimetrede ölçme.....	42
Şekil 3.21. Müsilaj tayini için numune hazırlığı.....	43
Şekil 3.22. Hassas terazide numunelerin tartımı.....	44
Şekil 4. 1. <i>Anacamptis pyrimidalis</i> tohumlarının stereo mikroskopta görüntüsü.....	46
Şekil 4. 2. <i>Serapias vomeracea</i> tohumlarının stereo mikroskopta görüntüsü	47
Şekil 4. 3. <i>Ophrys apifera</i> tohumlarının stereo mikroskopta görüntüsü.....	47
Şekil 4. 4. Konya Gıda Tarım Üniversitesi Orchimax besi yerine sürgün uçlarının dikimi	49
Şekil 4. 5. Çimlenen kültür kaplarından görüntü.....	50
Şekil 4. 6. Aklimatizasyon aşamasında yapılan işlemler.....	52
Şekil 4. 7. 2021-2022 Vejetasyon döneminde tül serada salep orkidelerinin çıkıştan sonra donması	54
Şekil 4. 8. Bazı salep orkide türlerinin fenolojik gözlemlerine ilişkin değerler	56
Şekil 4. 9. Samsun-Terme lokasyonunda salep orkide türlerinin çıkış zamanı (Kasım-2022).....	57
Şekil 4. 10. Salep orkidesi yaprakları	62
Şekil 4. 11. Hasat edilen taze salep yumruları.....	68
Şekil 4. 12. Salep orkide yumrularının dijital terazideki ağırlığı (10 adet)	71
Şekil 4. 13. Mekanik kumpas ile yumru boyu ölçümü	73
Şekil 4. 14. Polorimetre tüpüne salep numunesinden hazırlanan solüsyonun doldurulması	76
Şekil 4. 15. Müsilaj numunelerinin 3 saat (sol) ve 6 saat (sağ) sonraki görüntüleri.....	78
Ek Şekil 1. Ankara-Türkiye Milli Botanik Bahçesi gölgelendirme serasında deneme düzeni.....	97
Ek Şekil 2. Salep orkideleri üretiminde sök-dik yönteminin uygulanmasına ait görüntüler.....	98
Ek Şekil 3. Konya Gıda, Tarım Üniversitesi'nde uygulanan in vitro çalışmaları	99
Ek Şekil 4. Çiçeklenme başlangıcı ve kontrol parsellerinden rasgele seçilen yumruların ağırlıkları.....	100
Ek Şekil 5. Tarla koşullarında yapılan çalışmalara ait görüntüler.....	101

1. GİRİŞ

Ülkemiz tarımında bugünkü gelinen seviyeye gelişen teknolojinin yanı sıra biyoçeşitlilik zenginliğin katkısı ile ulaşılmıştır. Bu zenginliği sağlayan Türkiye'nin farklı iklim ve ekolojik koşullara sahip, batı ve güneyinde Akdeniz, kuzeyinde Avrupa-Sibirya ile İç Anadolu ve Doğu Anadolu platolarını içeren İran-Turan flora alanlarının kesişiminde yer alması, dünya ülkeleri içerisinde biyoçeşitlilik açısından en zengin alanlarından biri olmasını sağlamaktadır. 1950'li yıllarda 2480 adet bitki türü tespit edilmişken, yapılan flora çalışmaları ile bitkilerin yetişme ortamlarındaki farklılıklar, iklim değişiklikleri, farklı toprak tipleri, morfolojik özelliklerinde meydana gelen değişimler gibi birçok faktör bitki formlarının değişmesine ve tür sayısının artmasına yol açmaktadır (Avcı, 1993). Ayrıca yeni türlerin ve alt türlerin tespit edilmesinde değişen ekolojik faktörler ve coğrafik şartların yanı sıra, taksonlar arasında tozlaşma ile meydana gelen açılmalar, mutasyona uğrama, farklı ülkelere rüzgar ile taşınan tohumların adaptasyonu gibi birçok faktör ile bugün ülkemizde yaklaşık 12.000 adet takson varlığından söz edilmektedir. Mevcut olan bu varlığın yaklaşık 1/3'ünü endemik bitkiler, 3/4'ünü çiçekli bitkiler oluşturmaktadır. Bitkisel biyoçeşitlilik bakımından dünyanın en zengin takson sayısına sahip ülkelere biri olarak yapılan koruma çalışmaları, arazi bankaları, tohum gen bankalarına rağmen bazı taksonlar hala zarar görmektedir. Ülkemizde çoğunluğu doğadan toplama ile elde edilen olmakla birlikte kültürü yapılan veya geleneksel tarımı yapılanlar dâhil toplamda halk ilacı olarak kullanılan yaklaşık 500 adet tıbbi bitki türü vardır (Baytop, 1999). Ekonomik açıdan büyük öneme sahip, kültüre alınmayan ve tıbbi potansiyeli olan taksonların doğadan toplanarak tahrip edilmesi, toplanması yasak olmasına rağmen yöre halkı tarafından bilinçsizce toplanmasına maruz kalmaları bitkilerin neslinin yok olmasına neden olmaktadır. Doğu Akdeniz Kalkınma Ajansının Eylül-2017 yılında yayınlanan bülteninde, bu durumun önlenmesi için risk grubuna giren bitkilerin korunmaya alınması için tedbirlerin alınmasından bahsedilmekte, bu tehlikeyle karşı karşıya kalan en riskli tıbbi bitkilerin salep orkideleri olduğu bildirilmektedir. Ayrıca ülkemizde yetişen orkidelerin % 13'ünün endemik olması (Kreutz, 2002) sebebiyle orkide gen kaynağı açısından zenginlik kavramının göz ardı edilemeyecek boyutlarda olduğunu ve bu değerlere hak ettiği önemi vermek ve hassasiyet göstermek gerektiğini ortaya koymaktadır (Erdem, 2004).

Salep orkideleri, sistematik botanik açısından *Orchidaceae* familyasına ait *Anacamptis*, *Ophrys*, *Serapias*, *Orchis*, *Dactylorhiza*, *Barlia*, *Spiranthes*, *Cephalanthera*, *Gymnadenia*, *Coeloglossum*, *Epipactis*, *Corallorhiza*, *Epipogium*, *Gennaria*, *Goodyera*, *Himantoglossum*, *Traunsteinera*, *Limodorum*, *Listera*, *Neotinea*, *Neottia*, *Platanthera*, ve *Steveniella* olarak adlandırılan toplam 23 cinse ait, 191 adet takson olduğu bildirilmektedir (Bulunuz Palaz, 2018). Ancak yumrulu olan salep tür ve alt türlerinin hepsi salep üretimine uygun olmamaktadır.

Orchidaceae (Orkidegiller) familyasına dâhil türlerin yaşam alanlarında ve fiziksel boyutlarında büyük bir varyasyon görülmektedir. Çok farklı ortamlarda yetişen bu familyaya ait türler temel benzerliklerine göre; epifit (ağaçlar üzerine hava kökleriyle tutunanlar), terrestrial (kökleriyle toprağa bağlı olan orta kuşak orkideler), litofit (taşlara tutunanlar), çürükçül ve parazit orkideler olarak beş gruba ayrılmaktadır. Toprakta yaşayan (terrestrial) orkide türleri, genellikle orta kuşak bölgelerde yayılış göstermekte ve toprak altında yumru, kök veya rizom yapıları bulunmaktadır. Yumrulu olan türler, salep orkideleri olarak adlandırılmakta ve kullanılmaktadır (Bulpitt, 2005; Jalal ve Jayanthi, 2012; Şen, 2017; Turgay ve Çınar, 2017).

Salep orkidelerinin ilaç, gıda, parfümeri ve kozmetik, bitki koruma faaliyetlerinde hammadde olarak kullanılması ile piyasada ekonomik bir değeri bulunmaktadır. Halk arasında geleneksel bir içecek olarak bilinen salep yapımında *Orchis*, *Ophrys*, *Serapias*, *Barlia*, *Dactylorhiza* gibi yabani salep orkide cinslerine ait taksonların toprak altı yumrularının öğütülmesinden elde edilen salep tozu kullanılmaktadır. Gösterişli ve cezbedici çiçeklere sahip orkideler ayrıca peyzaj alanlarında süs bitkisi olarak kullanılma potansiyeline sahiptir. İbn-i Sina'nın 'Kanun' isimli eserinde tıbbi ve aromatik bir bitki olarak kullanılan salebin iştah açıcı, balgam söktürücü ve afrodizyak etkilerinden bahsedilmiştir (Sezik, 1984; Sezik ve ark., 2007). Salep tozlarının bileşiminde 'glikomannan' maddesinin Maraş dondurmasının geç erimesini ve sertliğini sağlamasıyla özel bir kıvam ve aroma vermesi ile dünyada ve ülkemizde gıda endüstrisinde kullanımı ve özellikle stabilizatör etkisiyle ilaç sanayiinde kullanımı sebebiyle bu ürüne olan talep yıldan yıla artmaktadır.

Salep yumrularının bileşiminde glikomannan hariç, nişasta, şeker, müsilaj ve azotlu maddeler vardır. Özellikle çocuklarda ishal kesici ve kuvvet verici özellikleri ile kullanılırlar. Kış aylarında sıcak içecek olarak tüketilirken, dondurma sanayi olmak üzere birçok gıda maddesinde kullanılmaktadır. Ancak "salep" bitkisi adı altında toplanan taksonların tarla şartlarında üretimi ya çok zordur ya da pahalıya mal

olmaktadır. Bu nedenle üretiminin tamamı doğadan sökülen salep yumruları ile gerçekleştirilmektedir. Sökülen bitkilerin doğal şartlarda en az 7-8 yılda büyümeleri ve tohumlarının çimlenip gelişerek yeni bitkiler meydana getirmesi için çok özel şartlar istemesi doğal popülasyonların giderek azalmasına ve hatta tükenmesine neden olmaktadır. Oysa bitki biyoteknolojisinde yaygın olarak kullanılan hücre kültürü teknikleriyle çoğaltılabilen bitkisel ürünler, ilgili endüstri sanayiinde üretilebilmektedir. Böylelikle ekolojik tahribatı önlenmiş olur, istenildiği zaman gerekli miktarda yani arz-talep dengesi göz önüne alınarak üretimi yapılabilir. İlgili türlerin yok olma riski nedeniyle ihracatında karşılaşılan sınırlamalar veya kısıtlamalar da ortadan kalkar. Salep orkidelerini vejetatif ve generatif çoğaltımı mümkündür. Fakat bu bitkilerin tohumları endopermsiz ve oldukça küçük olmaları sebebiyle çimlenmeleri için kendilerine besin sağlayacak mikorizal mantarlara gereksinim duymaktadır. Uygun koşulları bulması durumunda dahi bitkinin çiçek açması ve yeniden tohum vermesi uzun zaman almaktadır, türlere göre değişmekle birlikte bu süre genellikle 9-12 yıl arasında gerçekleşmektedir (Arditti, 1967; Sezik, 1967; Sezik, 1984; Sezik ve ark., 2007). Tohumların çimlendirme çalışmalarına yönelik mikorizal ortamlar sağlanarak çimlendirme çalışmaları bulunmaktadır (Arditti, 1980).

Tohumlarında çimlenme direncine sahip, generatif çoğaltımı sağlanamayan bitkilerin hastalıklardan ari doku kültürü yöntemleri ile çoğaltımında bitkilerin daha hızlı üretimi sağlanmaktadır (Babaoğlu ve ark., 2001). Dolayısıyla laboratuvar koşullarında simbiyotik ve asimbiyotik olarak orkide çimlendirme çalışmaları yapılmaya başlanmıştır. Bazı salep türlerinin *in vitro* koşullarda en iyi çimlendiği besin ortamı kombinasyonları ait çalışmalar yapılmıştır. Salep orkidelerinin *in vitro* koşullarda tohum çimlendirilmesi üzerine ülkemizde de çalışmalar yapılmaktadır (Gönülşen, 1983; 1987; Özkoç, 1991; Kabakcı, 2022).

Aşırı toplama nedeniyle yok olma tehlikesi ile karşı karşıya olan salep türlerinin bitki biyoteknolojisi yöntemleriyle üretimi temel hedeftir. Tüm bitki türleri için evrensel bir mikroçoğaltım yöntemi olmaması ile birlikte her bitki türü için özel bir protokolün optimize edilmesi gerekmektedir (Kabakcı, 2022). Yapılan çalışmalara bakıldığında bitki türü, kullanılan eksplant tipi, besin ortamına eklenen bitki büyüme düzenleyicileri ve bunların farklı konsantrasyonları farklı sonuçlar vermiştir. Yapılan çalışmalarda bitkinin *in vitro* çalışmalarından yumru elde edilmesine yönelik başarılı sonuçlar alınamadığı veya çimlense bile çiçek açacak olgunluğa gelmesi için uzun yıllar gerektiği bildirilmektedir. Bu çalışmada *in vitro* ' kültür koşullarında yetiştirilen

fidelerin dış koşullara adaptasyonu gözlemlenmiş olup, ayrıca ‘sök-dik’ olarak yapılan uygulamanın türlere göre uygun çiçeklenme aşaması belirlenmiştir. Böylelikle bitkinin ziraatını mümkün kılmayan yılda tek bir yumru veren salep orkidelerinden daha fazla yumru alınmasının tespitiyle doğadan bilinçsizce sökülümünün de önüne geçilmesi hedeflenmiştir.

Araştırma bütününde; ülkemizde yumruları salep olarak kullanılan bazı türlerin (*Serapias vomeracea*, *Ophrys apifera* ve *Anacamptis pyramidalis*) serada, tarlada ve doku kültürü yoluyla üretim olanakları araştırılmıştır. Projede iki farklı üreme organı kullanılmıştır. Doku kültürü üretiminde çalışmada kullanılan salep türlerinin generatif üreme organı tohumları eksplant olarak iki farklı besi ortamında *in vitro* kültür koşullarında çimlenme kabiliyetleri tespit edilmiş, doğal yetiştirme koşullarına uygun tarlada ve sera koşullarında türlere ait vejetatif üreme organları olan yumrularından çoğaltım çalışması yapılmış ve bitki büyüme mevsimi süresince bazı verim kriterlerine ait bitkisel özellikleri ve kimyasal bileşenleri tespit edilmiştir. Vejetatif çoğaltımında çiçeklenme başlangıcı, % 50 çiçeklenme ve çiçeklenme sonunda ‘sök-dik’ yöntemi uygulanarak tesadüf bloklarında bölünmüş parseller deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak denemeleri yürütülmüş ayrıca sök-dik yönteminin uygulanmadığı kontrol parsellerde denemede yer almıştır.

Bugüne kadar yapılan çalışmalar ile orkidelerin tarıma kazandırılması konusunda önemli adımlar atılmıştır. Salep orkidelerinde *in vitro* ’da çimlendirme ve bitki elde edilmesi sağlanmıştır. Ancak ne diğer ülkelerde ne de ülkemizde tarıma kazandırılması şu an için başarılamamıştır. Bu nedenle, bu bitkinin kültüre alınabilmesi için somut çalışmaların yapılması ve sonuçlandırılması kaçınılmazdır. Özellikle kışın sıcak içecek olarak kullanılan salep, Kahramanmaraş tipi dondurma olarak bilinen ve çoğunlukla ülkemizin güneydoğusunda üretilen ancak tüm bölgelerimizde sevilerek tüketilen geleneksel dondurmanın da vazgeçilmez bir bileşenidir. Çalışmada kullanılan türlere ait bazı kimyasal bileşenlerde tespit edilerek, salep üretiminde kullanılan türlerin uygunluğu hakkında bilgi sağlanmıştır. Aşırı toplama nedeniyle yok olma tehlikesi ile karşı karşıya olan salep türlerinin pratikte üreticilerin tarımını yapmasına yönelik bir uygulamanın ortaya konması; birim zamanda daha fazla miktarda ve standart kalitede verimlilik, doğadan sökülümün azalması ile oluşan ekolojik tahribatın engellenmesi, *In vitro* kültürde çoğaltılan bitkilerin ticari boyutta salep tohumluğu üretilerek ülke ekonomisine katkı sağlanması hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Salep Orkidelerinin Tahribatı ve Tanımlanmasına İlişkin Literatürler

Biyokaçakçılık doğada belli bir bölgede yetişen nesli tehlike altında olan bitkilerin ve hayvanların yaşam alanı olan devletten izinsiz yurt dışına çıkarılması olarak tanımlanmaktadır. Türkiye'nin bulunduğu coğrafi konum, biyolojik çeşitliliğinin zengin olmasını sağlamıştır. Bu zenginlik, biyokaçakçılığa maruz kalacak bitkisel genetik kaynaklara sahip olmasını sağlamakta, salep, lale ve kardelen gibi türler bu konuda ön plana çıkmaktadır. İlaç, kozmetik ve koleksiyon amacıyla kaçırılan genetik kaynaklarımızın biyokaçakçılık ile mücadelesi için gerekli önlemlerin alınması ve ülkemizde bulunan tür çeşitliliğinin korunması elzemdir (Yılmaz ve ark., 2019).

Doğada kendiliğinden yetişen salep orkidelerinin yumruları, bitkiler daha çiçek açmadan ya da çiçekteyken meyve bağlayıp tohum oluşturmadan toplanmakta bu durumda ülkemiz orkidelerinin tahribatına sebep olmaktadır (Sezik, 1984; 2002b; Sezik ve ark., 2007).

Orkidelerin yumrularının kontrolsüz ve aşırı toplanması, tohumlarının olgunlaşmasına fırsat vermeden bitkilerin toplanması bu türlerin sayılarında azalmaya ve hatta bazılarının yok olma tehlikesiyle karşı karşıya kalmasına neden olmaktadır. Bu türlerin kültürünün yapılamaması ve vejetatif olarak çoğaltılamamaları, var olanı sökmek yerine bitkiyi üretmeye yönelik hızlı ve kontrollü çoğaltım yöntemlerinin geliştirilmesi ve bu şekilde kullanılması son derece önemlidir (Bektaş, 2016).

Doğada çimlenebilen salep orkidesi bitkileri uzun yıllar içinde hasat edilebilir yumru bağlamaktadırlar. En kısa ortalama süre 2-4 yıl, çiçeklenmesi ve tekrar tohum oluşturmaları için en kısa ortalama süre 9-12 yıldır. Dolayısıyla bir tohumdan bir salep orkidesinin oluşması için uzun zaman gerekmektedir (Arditti, 1967; Sezik, 1967; Arditti, 1980; Sezik, 1984; Sezik ve ark., 2007). Bir tohum kapsülünde milyonlarca tohum olmasına rağmen bunların çok az bir kısmı yaşama imkânı bulmaktadır (Parlak ve Tutar, 2011). Bu kadar zor ve uzun zamanda oluşan yumruların toplanması, doğadaki salep popülasyonlarının azalmasına neden olmaktadır.

'Van salebinin menşei ve Van civarının orkideleri' isimli doktora tezinde, her yıl milyonlarca salep orkidesi tahrip edildiği özellikle dağlık bölgelerden toplanan orkide yumrularının toplanmasının verdiği tahribatın bu türlerin neslini tehlikeye soktuğu, salep tozu elde etmek için yapılan bu eylemin sürdürülmesi durumunda bölgedeki

orkidelerin tükeneyeceği bildirilmektedir. *O. anatolica* ve *Ophrys* cinsine ait türlerin doğadan toplanması devam ederse, tarihi birer kayıt olarak yayınlarda örneklerinin ise herbaryumlarda yer alacağı ifade edilmektedir (İşler, 2005).

Orchis cinsine ait bazı türler, sıcak bir içecek olan salep üretiminde kullanılması sebebiyle ekonomik öneme sahiptir. Bununla birlikte, bu bitkiler yetiştirilmemekte, daha çok doğadan toplanmaktadır ve özensiz toplama nedeniyle pek çoğu şimdiden nesli tükenmekte olan bitkiler olarak listelenmiştir (Bektaş ve ark., 2013)

Biyçeşitliliği korumak için pek çok ülke önlem almaya başlamıştır. 1 Temmuz 1975’de yürürlüğe giren “Nesli Tehlike Altında Olan Yabani Hayvan ve Bitki Türlerinin Uluslararası Ticaretine İlişkin Sözleşme”sine (CITES) 183 ülke imza atmıştır. CITES, yabani hayvan ve bitki türlerinin canlı ve ölü örnekleri ile bunların kolayca tanınabilen parçaları ile türevlerinin sözleşmeye taraf ülkeler arasındaki ithalatını, ihracatını, reeksportunu ve denizden girişini kısacası uluslararası ticaretini; temeli izin ve belgelere dayanan ve ancak sözleşmede belirtilen bazı şartların yerine getirilmesi halinde bu izin ve belgelerin verilmesini öngören uluslararası bir düzenlemedir (Anonim, 2023h). Küresel ölçekte korumaya alınan salep orkidesi türleri, bu sözleşmenin Ek II listesinde yer almaktadır (Kasperek ve Grimm, 1999; Whigham ve Willems, 2003; Kayıkçı ve Oğur, 2012; Ghorbani ve ark., 2014; Kurt ve Çalışkan, 2020). Buna rağmen geçmiş yıllardan günümüze kadar salep orkidelerinin yumruları toplanmaktadır (Kreutz, 2002; Kurt ve Çalışkan, 2020). CITES sözleşmesinin amacı, türlerin neslini koruyacak şekilde kontrol altına almaktır ve bu amaçla 300.000 den fazla tür bu sözleşme ile koruma altına alınmaktadır (Sezik ve ark., 2007).

A. pyramidalis, *S. vomeracea* ve *O. apifera* CITES’in listesinde nesli tehdit altında bulunabilecek türler arasında belirtilmiştir ve bu türlerin yumruları doğadan toplanmakta yani nesli azaltılmaktadır (Sezik ve ark., 2007). Ülkemizin bazı bölgelerinde kendiliğinden yetişen bu türler yumrulu köke sahip olmaları sebebiyle salep ve bazı gıdaların yapımında kullanılmak üzere toplanmaktadır. Toplanarak tahrip edilmesinin yanı sıra hayvan otlatılması, yetiştikleri alanlarda tarımsal faaliyetlere geçilmesi, kentleşme gibi diğer tehditler ile karşı karşıya kalmaktadır (Koyuncu ve ark., 2011).

Çok yıllık otsu formda olan orkidelerin bazıları toprakta yaşarken (orta kuşak orkideleri) bazıları epifit yani ormanlık alanlarda başka bir bitkinin üzerinde yaşamaktadır (Sezik, 1990). Avrupa’da koruma altına alınan orta kuşak orkidelerinin hem yumrularının sökülmesi hem de çiçeklerinin koparılması ceza gerektiren eylem

olarak kabul edilmektedir. Avrupa ülkelerindeki korunması gereken bitki türleri için 1974 ve 1983 yıllarında ‘Red Data Book’, 1994 yılında IUCN, 1998 yılında WCMC gibi tehlike kategorilerini gösterir sınıflandırma sistemleri yayımlamıştır (Sezik ve ark., 2007). Ülkemizde ise 1989 yılında ‘‘Türkiye’nin Tehlike Altındaki Nadir ve Endemik Bitkileri’’ isimli kitap yayımlanmış (Ekim ve ark., 1989), daha sonra bu kitap revize edilerek Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı yayımlanmıştır. Bu kitapta ülkemizdeki 14 adet endemik salep orkidesi bildirilmektedir (Ekim ve ark., 2000). CITES Sözleşmesine ülkemiz 22.12.1996 tarihinde imzasını atarak taraf olmuştur.

Ülkemizde yılda 45-180 milyon yabancı orkide türüne ait yumrular toplanarak yaklaşık 50 ton yerli salep ticareti yapılmaktadır. Bu bitki türlerinin tarımı yapılamayıp bu şekilde doğadan tahrip edilen türlerin neslini tehlikeye sokmaktadır. Bu bitki türlerinin neslinin korunması Avrupa ülkelerinde toplanması ve ticaretinin kontrollü yapılması zorunluluğu bulunmaktadır (Tekinşen, 2006).

Salep orkidelerin toplanması hususundaki tüm yasaklara rağmen alıcılardan temin edilen bilgilere göre ülkemizde yılda 80-100 ton salep tozu için yaklaşık 500 ton salep yumrusu toplanmaktadır. Bizim ülkemizden hariç başka ülkelerde de yasak olmasına rağmen salep orkideleri doğal ortamlarından toplanmaktadır. Dolayısıyla her yıl milyonlarca salep orkidesi popülasyonu azalmakta, genetik erozyonu artmaktadır. Bu nedenle, tarla koşullarında salebin ziraatı ile üretimi yapılmalıdır (Çalışkan ve Kurt, 2019).

Ülkemizde *Orchidaceae* (Orkidegiller) familyasında ait 15 cins ve 60 türün bulunduğu bilgisi ilk olarak Boisser tarafından ‘Flora Orientalis’ isimli kitapta verilmiştir (Boissier, 1884). Daha sonraki yıllarda birçok araştırmacı tarafından Türkiye orkideleri konusunda araştırma yapılmıştır. 2023 yılı itibarıyla TUBİVES’de 6 varyete, 35 alttür ve 146 tür olmak üzere toplam 187 takson içerdiği görülmektedir (Anonim, 2023b). Dünya genelindeki orkide türlerinin yaklaşık % 2’sinin IUCN tehdit kategorilerinden birinde sınıflandırıldığı, küresel ölçekte en çok tehdit altında olan familyanın *Orchidaceae* (Orkidegiller) olduğu bildirilmektedir (Petrou ve ark., 2016; Bulunuz Palaz, 2018). Dünya genelinde ise yaklaşık 28.484 içeren en büyük çiçekli bitki ailelerinden birini oluşturmaktadır (Govaerts ve ark., 2017; Khasim ve ark., 2020; Kurt ve Çalışkan, 2020).

Küresel ölçekte en çok tehdit altında olan bu familya grubunun % 2’si IUCN tehdit kategorilerinde yer almaktadır. Bu türlerin yaklaşık % 85’i yumruludur (Sezik ve ark., 2007). Yumruları kullanılan orkideler çok fazla sayıda fusiform yani su ve hava

direncine karşı gelişmiş bir vücut yapısına sahip tohumlar bırakırlar. Ancak bu tohumlar sadece testa ve embriyodan oluşmakta olup besi dokusu gelişmemiş yani endosperm bulundurmamaktadırlar (Sezik ve ark., 2007). Endospermden yoksun olmaları Orkideler familyasını diğer familyalardan ayıran en önemli husustur (Kurt ve Çalışkan, 2020). Bütün çiçekli bitkiler arasında en küçük tohuma sahip bitkilerdir. Ancak bu bitki türlerinin tohumlarından çimlenmeleri çok güçtür ve uzun zaman almaktadır (Mitchell, 1989; Bektaş, 2016).

Doğada bulunan tüm tohumlar çimlenmek için ışık, oksijen, sıcaklık ve nem gibi ekolojik koşullara ihtiyaç duymaktadır. Orkide tohumlarının çimlenmesi tüm bu gereksinimlerden hariç bulundukları ortamda ‘mikorizal fungus’ ile bir ortaklık kurma ihtiyacı duyarlar. Bu bitki türlerinin vejetatif yollarla üretimi ise ya sınırlı ya da hiç yoktur. Bu nedenlerden dolayı, salep orkidelerinin kültürü yapılamamaktadır (Kurt ve Çalışkan, 2020). Kültüre alınamamasının birçok sebebi bulunmaktadır. Salep orkide bitkilerine ait tohumların çimlenme oranları çok düşük olmasının yanı sıra çimlenebilenler uzun yıllar sonra yetişkin bir bitki haline gelmektedir. Her salep orkidesi türünün bu hale gelmesi yani bitkinin çiçek açıp, yumru oluşturmaları ortalama 2-16 yıldır (Sezik, 1984). Bitkinin tekrar tohum vermesi için geçen sürenin bu kadar uzun olması, pek çok türün yılda tek yumru vermesi, vejetatif yollarla çoğaltılamaması salep elde etmek için toplanan salep orkidelerinin kültüre alınmasını zorlaştırmaktadır (Bulunuz Palaz, 2018).

2.2. Bitkinin Üretimi, Fizyoloji ve Morfolojisine İlişkin Literatürler

Türkiye orkidelerindeki tohum karakterlerinin taksonomik değeri üzerine yapılan bir çalışmada ülkemizdeki 19 orkide türünün tohum morfometrisi taramalı elektron mikroskobu kullanılarak incelenmiştir. İncelenen orkide tohumlarının ve embriyolarının morfometrik özellikleri kaydedilmiş ve istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Orkide tohumlarının morfometrik analizi, testa ve embriyo boyutlarının ve morfolojisinin yanı sıra tohum kabuğu duvarlarında retikülasyonun varlığı, yokluğu veya doğasının tanısal değere sahip olduğunu göstermiştir. Edinilen gözlemler sonucunda, farklı orkide taksonları arasında tohum ve embriyo boyutları ile hava boşluğu yüzdesi farklılıkları tespit edilmiştir. Hava boşluğu yüzdeleri en yüksek olan ise *Dactylorhiza iberica* türünün tohumlarında bulunmuştur (Akçin ve ark., 2009).

Edirne ve çevresindeki *Ophrys* L. türlerinin incelendiği araştırmada, *O. apifera* türünün bitkisel özelliklerine ait ortalama değerler; bitki boyunun 55 cm, yumru eninin 1.4 cm, yumru boyunun 2.4 cm, bitkide yaprak sayısının 6 adet, bitkide çiçek sayısı 5-7 adet ve meyvelerinin çok tohumlu lokulusit kapsül özelliğinde olduğu bildirilmiştir (Aybeke, 1997).

Çanakkale ve Balıkesir’de yetişen orkidelerin morfolojik ve korolojik özelliklerinin incelendiği çalışmada; *Anacamptis pyramidalis* (çam salebi, peynircik, peynirçiçeği, yoğurtçuk), bazı *Ophrys* L. cinsinin türleri (kazankarası, kedigözü, kedi tırnağı, Pisipisi, tülekdokuyan), *Serapias vomeracea*’nın katırtırnağı, sağır kulağı olarak yöresel isimleri bildirilmektedir. Bu taksonların bitkisel özellikleri incelenmiştir. *Ophrys apifera* için; bitki boyu 13-47 cm, yumru sayısı 2 adet/bitki, küresel yumrular 1.3-1.8 cm x 1.5-2.1 cm, yaprak sayısı 6-8 adet/bitki, çiçek sayısı 5-6 adet/bitki olup çiçeklenme zamanı Mayıs-Haziran ayları olduğu raporlanmıştır. *Serapias vomeracea* için; bitki boyu 16-46 cm, yumru sayısı 2-3 adet/bitki, küresel-ovoid yumrular 0.7-2.0 cm x 0.9-3.1 cm, yaprak sayısı 4-9 adet/bitki, çiçek sayısı 2-10 adet/bitki olup çiçeklenme zamanı Mart-Mayıs ayları olduğu bildirilmektedir. *Anacamptis pyramidalis* için; bitki boyu 20-65 cm, yumru sayısı 2 adet/bitki, küresel-oblong yumrular 1-1.8 cm x 1.5-2.5 cm, yaprak sayısı 7-15 adet/bitki, çiçek sayısı 20-75 adet/bitki olup çiçeklenme zamanı Nisan-Haziran ayları olduğu ifade edilmektedir (Güler, 2005).

Doğu Akdeniz Bölgesi’nde yayılış gösteren orkide türlerinden *O. apifera*’nın 15-60 cm uzunluğunda, 5-9 adet yapraklı, Mayıs - Haziran aylarında çiçeklendiği, çiçek sayısının 2-10 adet aralığında ve oldukça küçük yumrulu olduğu tespit edilmiştir. *S. vomeracea*’nın ise 10-30 cm uzunluğunda, 4-6 adet yapraklı, Mart sonu - Mayıs aylarında çiçeklendiği ve bitkinin çiçek sayısı 3-6 adet olduğu gözlemlenmiştir (Sandal, 2009).

Türkiye’deki salep orkidesi türlerinden biri olan *Anacamptis pyramidalis* türünün 21 farklı popülasyondan örnekleri toplanarak morfolojik, anatomik ve ekolojik özelliklerinin incelendiği çalışmada; bitki boyu 248 mm-655 mm, bitki başına yaprak sayısı 2-14 adet, yumru boyu 17.3-44.8 mm ve yumru eninin 6-40 mm olduğu tespit edilmiştir (Sevgi ve ark., 2012b). Akdeniz Bölgesi’ndeki *Orchis* cinsine ait 8 salep orkide taksonunun morfolojik özelliklerine ilişkin yapılan çalışmada; bitki boyunun 29.6-49.4 cm, bitki başına yaprak sayısının 4.5 -10.4 adet, yumru boyunun 1.73-4.48 cm ve yumru eninin 1.17-3.67 cm olduğu tespit edilmiştir (Sevgi ve ark., 2012a).

Aydın ilinin tarla koşullarında salep orkidesi türü olan *Orchis sancta* L.'nin hasat zamanını belirlemek amacıyla yürütülen denemede, bitki boyu ortalama 20.11 cm, yumru sayısı 1.33 adet/bitki, yumru çapı 13.37 mm, yaş yumru ağırlığı 1.717 g/bitki olduğu bildirilmiştir (Arabacı ve ark., 2014) .

2010-2013 yılları arasında 30 farklı popülasyondan toplanan *Ophrys lutea* subsp. *minor*'in türünden alınan örneklerin morfolojik, anatomik ve ekolojik özellikleri incelenmiştir. Elde edilen bulgulardan; bitki boyu minimum 69 mm maksimum 323 mm, toprak altı kısmının minimum uzunluğu 29 mm maksimum 49 mm olup, yaprak sayısı 2-6 adet/bitki, çiçek sayısı 1-10 adet/bitki, yumru boyu 16-39 mm, yumru eni 12-33 mm arasında değişmektedir. Bitki örnekleme alanlarından da toprak örnekleri toplanmış ve 18 özellik için analiz yapılmıştır. *O. lutea* subsp. *minor* türünün kayalık kireçtaşları, kalkerli alanlarda zeytin bahçelerinde, ormanlık kenarlarında yayılış gösterdiği gözlemlenmiştir (Durmuşkahya ve ark., 2014).

Çanakkale ilinde yayılış gösteren ve yöresel ismi sarı salep olarak bilinen *Ophrys lutea* subsp. *minor* türünün bazı morfolojik özelliklerine ilişkin; bitkide çiçek sayısı 1-7 adet, yaprak sayısı 2-6 adet, yaprak enini 1,7-3,3 ve yaprak boyu 1,5-6,2 cm olarak saptanmıştır (Bozyel ve Gönüz, 2017).

Kahramanmaraş il sınırları içinden toplanan salep orkidelerinden Nisan-Haziran aylarında çiçeklenen *O. apifera* türünün 3-14 adet çiçek sayısına sahip olduğu ve 70 cm ye kadar uzadığı belirtilmektedir (Kocabaş ve ark., 2022).

İsviçre'deki birçok bölgede (Cenevre dâhil), *Gymnadenia conopsea* ve *A. pyramidalis* türlerinin çiçeklenme dönemleri benzer olup Mayıs ortasından Ağustos ortasına kadar devam etmektedir (Kowalkowska ve ark., 2012). Kuzey Afrika'da arı orkidesi olarak adlandırılan *O. apifera* türünün tohum verme olgunluğuna 5 yılda geldiği, nadiren 2-3 adet çiçekli olan bitkinin 10 adet çiçek oluşturabildiği ve gövdesinin 50 cm'ye kadar boylandığı ifade edilmiştir (El Mokni ve ark., 2013). 'Red Book Azarbaijan' isimli kitapta *O. apifera*'nın 20-40 cm boyunda olup bitki başına çiçek sayısının 5-6 adet olduğu bilgisi verilmiştir (Nigar, 2021). Romanya'nın Transilvanya bitki varlığının farklı popülasyondan alınan *O. apifera* türüne ait bireylerin genellikle 5-7 adet çiçek açtığı ve 15-50 cm boyunda olduğu bildirilmektedir (Paul-Marian, 2016).

Bucak yöresinde yayılış gösteren 13 doğal orkide türünün morfolojik ve fenolojik özelliklerinin gözlemlendiği çalışmada; çiçeklenme başlangıçlarının Mart başı-Nisan ortası, yumru olgunlaşma zamanlarının Nisan sonu- Temmuz sonu, bitkilerin

yayılış gösterdiği arazi eğimlerinin % 5-40 arasında ve 300 m-1451 m yükseklik aralığında olduğu verileri kaydedilmiştir. İncelenen türlerden *O. mammosa*'nın morfolojik özelliklerine ait; bitki boyu 15,25-18,02 cm, çiçek sayısı 2-6 adet, yumru eni 8,23-17 mm, yumru boyu 8,02-20,40 mm, yumru sayısı 2 adet, yumru ağırlığı 0,21-3,30 g bulguları verilmiştir (Tıgılı ve Fakir, 2017).

‘Öksin ve Kolsik Zonda Bulunan Geofitlerin Tespiti ve Bitkisel Özelliklerinin Belirlenmesi’ isimli çalışmada *A.pyramidalis* türünün 30 cm ye kadar uzadığı ve toprak altı yumrularının 2-4 cm büyüklüğünde olduğu, *O. apifera* türünün ise 2-18 adet çiçekli olup Mayıs başından Haziran sonuna kadar çiçeklendiği raporlanmıştır (Duman, 2010). Genellikle çiçeklenme döneminde toplanan salep yumrularının 5-30 mm genişliğinde, 10-40 mm boyunda oval veya parçalı şekilde olduğu bildirilmiştir (Arslan, 2012).

2.3. Bitkinin *In Vitro* ile Çoğaltımı Üzerine İlişkin Literatürler

Biyoteknolojik yöntemler daha kısa sürede daha fazla sayıda bitkilerin üretilmesini sağlamaktadır. Bu yöntemlerden biri olan bitki doku kültürü yöntemi, klasik yöntemlerle çoğaltımı zor olan bitkilerin çoğaltılmasında kullanılan üretim yöntemidir. Bu üretim yöntemi, eksplant olarak adlandırılan bitkinin çeşitli kısımlarından alınan küçük bir hücre, doku veya organ gibi kısımlarının sterilize edildikten sonra, çeşitli besin maddelerini içeren steril besi ortamına (*in vitro*) ve uygun çevre koşullarında (ışık, nem ve sıcaklık) kültüre alınması yani bitkilerin üretilmesi amacıyla yapılan çalışmaların bütünüdür (Srivastava ve Steinhauer, 1981; Gönülşen, 1987; Babaoğlu ve ark., 2001). Nesli tükenmekte olan ya da doğada yayılış alanı dar halde bulunan, çoğaltılması faydalı bulunan türlerin üretiminin artırılmasında *in vitro* çoğaltım yöntemine başvurulmaktadır. İlk olarak 1899 yılında orkide tohumlarının çimlenmesinde mikorizanın önemi keşfedilmiş bununla birlikte orkidelerin çoğaltılması için yeni tekniklerin gelişmesine katkı sağlamıştır (Bernard, 1899). Doğada kendiliğinden çimlenemeyen orkide tohumlarının çimlendirilmesinde kullanılan simbiyotik çimlendirme yönteminin, bütün orkide türlerinde başarı sağlanamadığı ve bu nedenle etkili olmayan bir yöntem olduğu bildirilmiştir (Watkinson, 2002). Orkidelerin korunması için standart çoğaltım yönteminin olmaması ve bu sorunun doku kültürü tekniği ile aşılabileceği bildirilmiştir (Pradhan ve ark., 2013).

1840’lı yıllarda başlayan ve 1920’li yıllara kadar yapılan çalışmalarda, orkide tohumlarının çimlenme yeteneğine sahip oldukları gözlemlenmiş bununla birlikte,

orkide tohumlarının çimlenmesini etkileyen faktörler belirsizliğini korumuştur. Daha önceden tohumların çimlenmesine eşlik eden mantarların görülmesi ve tanınmasına rağmen tohumlarla mantarlar arasındaki simbiyotik ilişki fark edilmemiştir. Orkide mikorizasının evrensel oluşumu, orkidelerin dikkatli bir şekilde incelenmesinin ardından kesin olarak bulunmuştur (Arditti, 1967). Knudson isimli araştırmacı tarafından geofit orkidelerin tohumlarında doku kültürü yöntemi ile bitkiler elde edilmiştir, böylelikle fungusların olmadığı mineral ve şeker içeren basit bir besin ortamında çimlenmenin olabileceği gösterilmiştir (Knudson, 1921). Bitkilerin sonraki gelişme evrelerinde fungusların çok az bir öneme sahip olduğu belirtilmiştir (Knudson, 1922). Araştırmacının orkide tohumlarının asimbiyotik çimlenme üzerine yaptığı ilave çalışmalarında embriyoların klorofil içermesine rağmen, muhtemelen bazı iç faktörlerin eksikliğinden dolayı fotosentetik sürecin gerçekleşmediği ve bitkinin yapraklarının görülmesinden sonra bulundukları ortamda başka maddelerin varlığına ihtiyaç duydukları ortaya konulmuştur (Knudson, 1924). Karasal orkide tohumlarının embriyolarının tamamen saprofitik olduğu, çimlenmek için klorofile ihtiyaç duymadığı, doğal koşullar altında orkide embriyolarının sürekli gelişimi için, tohumların filizlendiği ortamlarda uygun bir organik gıda kaynağına bağlı olduğu gözlemlenmiştir (Knudson, 1925).

Farklı orkide cins ve türlerinde en iyi çimlendirme ortamlarının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda, çok farklı besin ortamı içerikleri denenmiştir. Bazı türlere ait tohumların çimlenmesi için ışıklanma ve fotoperiyodik ortamlara ihtiyaç duyulduğu, bazı türlerin karanlığa ihtiyaç duyduğu bildirilmiştir (Arditti, 1967).

Ophrys lutea Cav. ve *Ophrys fusca* Link türlerinin *in vitro* çoğaltım çalışmasında çimlenme sağlanmış, türlerin tohumlarının Curtis ortamına ekiminden 2 ay sonra elde edilen protokormlar, orkide kültür ortamına aktarılmış, 2 ay sonra birçok bitkiciğin geliştiği ve çalışmanın sonucunda 5 cm çapında köklü bitkiciklerin olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada OCM besi yeri modifiye edilerek *Ophrys lutea* ve *Ophrys speculum* türlerinin tohumları kültüre alınmış ve yavru yumrular elde edilmiştir (Barroso ve ark., 1990).

Serapias vomeracea subsp. *laxiflora*, *Orchis laxiflora* ve *Orchis tridentata* orkide tohumlarının simbiyotik ve asimbiyotik ortamda çimlendirilmesi ile ilgili yapılan çalışmanın sonucunda yüzeysel sterilizasyon işlemlerinin türlere göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Simbiyotik ortamda *Orchis laxiflora* ve *Serapias vomeracea* subsp. *laxiflora* türlerinin tohumlarından fide oluşurken, asimbiyotik ortamda bu

türlerin tohumları seyreltik ortamda bile çimlenmiş ancak gelişmenin yalnızca protokorm oluşturma safhasında kaldığı, epidermal tüylerin oluşmadığı tespit edilmiştir. Araştırmada kullanılan *Orchis tridentata* türünde ise çimlenme gerçekleşmediği bildirilmiştir. Yüzey sterilizasyonu işleminde NaOCl'nin farklı yoğunlukları ve farklı uygulama sürelerinin denenmesi sonucunda *Serapias vomeracea* subsp. *laxiflora*'nın tohumlarının 5 dk. % 20'lik NaOCl 'de, *Orchis laxiflora* tohumlarının ise 15 dk. % 30'luk NaOCl solüsyonundaki sterilizasyonlarda tohumlarda maksimum çimlenme olduğu gözlemlenmiştir (Özkoç, 1991).

Bazı *Ophrys* L. türlerinden simbiyotik fungusların izolasyonu ve *Ophrys apifera* tohumlarının asimbiyotik ve simbiyotik ortamlarda çimlendirilmesi üzerine yapılan bir çalışmaya göre *O. apifera* tohumlarının asimbiyotik kültür ortamlarında 4-6 ay içinde çimlendiği protokormlar taze kültür ortamlarına aktararak, daha gelişmiş fidelerin olduğu gözlemlenirken, simbiyotik kültürlerde ise çimlenme gözlemlenememiştir (Aytaş, 1994).

Kahramanmaraş doğal florasında geniş yayılım gösteren salep orkidelerinin embriyo kültürü kullanarak yumru oluşturma yetenekleri üzerine yapılan araştırmada, *Orchis coriophora* ve *Orchis anatolica* türlerinde yumru elde edildiği bildirilmiştir. Denemelerde besi ortamı olarak Phytamax, Van Waes-Deberg (VW&D), Knudson-C ve bu besi ortamlarına % 10'ar patates, salep, domates ve doğal bitki ekstratları ve 1 g/L aktif karbon (AK) ilave edilerek toplam 22 ortam kombinasyonu kullanılmıştır. En kısa çimlenme *Orchis coriophora* türünde 37 gün sonra VW&D+AK besi ortamından elde edilmiştir. En iyi çimlenme oranını % 9.23 ile *Orchis coriophora* göstermiştir. Diğer en yüksek çimlenme oranları *Ophrys phrygia* türünde % 2.81 ve *Orchis anatolica* türünde % 2.50 elde edilmiştir. *Orchis coriophora* türünden VW&D+DE+AK ortamından % 8.715 oranı ile en iyi bitki gelişimi ve % 4.906 oranı ile en iyi yumru oluşumu kaydedilmiştir (Özsavcı, 1995).

Orchidaceae familyasında bulunan ve Ege Bölgesi'nde en yaygın yayılış gösteren 21 adet ve Doğu Akdeniz Bölgesi'nde 16 adet taksonun *in vitro* ve *in vivo* koşullarda üretimi üzerine yapılan bir araştırmada; *in vitro* koşullarda yapılan embriyo kültürlerinde *O.laxiflora* Lam., *O.sancta* L. ve *S.vomeracea* Briq. türlerinden olumlu sonuç alınmıştır. Embriyo kullanılarak *in vitro*'da *O. anatolica* Boiss., *O.coriophora* L., *Oph. bornmuelleri* Schulze ve *S. vomeracea* (Burm.fil) Briq. kültüre alınmışlardır. Sürgün ucu kültürleri kullanılarak yapılan çoğaltma çalışmaları sonucunda ise sadece *O.*

anatolica Boiss. ve *H. affine* (Boiss) Schlechter türlerinde çoğalma sağlanmış, ancak aşırı kararmalar nedeniyle bitki elde edilememiştir (Gönülşen ve ark., 1995).

Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yaygın olarak yetişen *Serapias vomeracea*, *Ocrhis anatolica*, *Ophrys bornmuelleri*, *Orchis coriophora*, *Ophrys phrigra* ve *Himantoglossum affine* orkide türlerinin *in vitro* embriyo kültürü kullanılarak çimlenmesi üzerine yapılan araştırma sonucunda, en iyi sonucu *O.anatolica* ve *O. coriophora* orkide türlerinde bulmuşlardır. En yüksek ortalama çimlenme oranını % 2.39 ve protokorm oluşum oranını % 1.86 olarak Van Waes Debergh + Domates Ekstraktı + Aktif Karbon ortamından elde ettiklerini belirtmişlerdir. *In vitro*da en yüksek yumru oluşum oranı % 2.453 ile aynı ortamdan elde edildiği bildirilmiştir. Bitkilerin dış koşullara aktarılmasıyla yaşama oranı ortalama % 20 olarak tespit edilmiştir (Çaglayan ve ark., 1998)

Ege Bölgesi'nden toplanan *Orchis*, *Ophrys*, *Dactylorhiza*, *Serapias*, *Aceras* ve *Anacamptis* cinsine ait 21 orkide türünün tohumlarının embriyo kültürü ile çoğaltılmasının araştırıldığı çalışma sonucuna göre, *Orchis laxiflora*, *Orchis sancta* ve *Serapias vomeracea* türlerinde embriyo kültürü ile başarılı olunurken, diğer türlerde başarı sağlanamamıştır (Önal, 1999).

Ege Bölgesi'nde doğal yetişen *Orchis italica* ve *Serapias vomeracea* türlerine ait tohumlarda *in vitro* teknikler kullanarak en uygun protokorm oluşturma yöntemlerini belirlemeye ve elde ettikleri protokormları alginate matriksleri ile kaplayarak suni tohum elde etmek amacıyla yapılan çalışmada, tohumlarda canlılık tespiti yapmak amacıyla farklı konsantrasyonlarda Floresan diasetat (FDA) kullanılarak canlılık testleri uygulanmıştır. Tohumların yüzey sterilizasyonu tamamlandıktan sonra, gelişme ortamı olarak Knudson C, MS ve Phytamax sıvı ortamlarına ekimleri yapılmıştır. En iyi çimlenme yüzdesi Knudson C ortamında saptanmıştır. Suni tohumların Alginate-Chitosan ile kaplanarak katı MS ortamında gelişmesini sürdürdüğü bildirilmiştir (Oğuz ve ark., 2005).

Florida' da nesli tehlike altında olan subtropikal karasal orkide olan *Habenaria macroceratitis* türünün tohumlarının *in vitro* kültüre alındığı bir çalışmada, en yüksek çimlenme oranı yaklaşık % 89 olup 7 hafta sonra gözlemlenirken hazırlanan başka besi ortamlarında 16 hafta sonra protokormlardan ilk yaprak oluşumu tespit edilmiştir. (Stewart ve Kane, 2006).

Orchis italica ve *Ophrys tenthredinifera* orkide tohumlarının *in vitro* koşullarda çimlendirilmesi için ultrasonik dalga uygulamasına ilişkin yapılan denemenin

sonucunda *Orchis italica* tohumları hipoklorit ve ultrasonik dalga uygulamasından 15 gün sonra % 81 oranında çimlenme, sadece hipoklorit uygulananlarda 90 gün sonra % 89 oranında çimlenme sağlanmıştır. *Orchis italica* türünde 7 ay sonunda dış koşullara aktarılacak büyüklükte bitkiler elde edilirken *Ophrys tendridinifera*'da yalnızca ultrason uygulaması ile çimlenme gerçekleşmediği için ayrıca 18 kV'luk kısa süreli doğru akım uygulamasından sonra % 5.3 oranında tohum çimlenmesi tespit edilmiştir (Yararbaş, 2008).

Kahramanmaraş doğal florasında bulunan salep orkidelerinin kültüre alınması amacıyla yürütülen ve Kahramanmaraş doğal florasından toplanan *Orchis coriophora*, *Orchis morio* var. *morio*, *Orchis laxiflora* ve *Dactylorhiza romana* türlerinin *in vitro* koşullarda kültüre alındığı araştırmada, Knudson C, Pfeffer ve Van Waes & Debergh, ortamları kullanılmıştır. Karanlık uygulamalarını da içeren çalışmada, ortamların türlerin çimlenmeleri üzerine etkisinin yanı sıra protokormların gelişimi üzerine etkileri de incelenmiştir. Çalışma sonucunda *Dactylorhiza romana* türü dışındaki tüm türler çimlenmiştir. En iyi çimlenen ve fide oluşturan türler *Orchis coriophora*, *Orchis morio* var. *morio* olurken, en iyi çimlenme ortamı Knudson C olarak belirlenmiştir. Çalışmada 16 saat/gün aydınlık uygulamasının türlerin çimlenmesi üzerine olumlu etkileri gözlenmiştir (Kısakürek ve Arpacı, 2010).

Salep orkideleri bakımından oldukça zengin olan Batı Karadeniz Bölgesi'nde salep orkidelerinde *in vitro* ve *in vivo* koşullarda çoğaltım olanaklarının geliştirilmesi amacıyla yürütülen çalışmada, endospermi bulunmayan tohumların asimbiyotik olarak doku kültüründe çimlendirilmesi için toplam 16 tür kullanılmıştır. Farklı besin ortamı bileşimleri, besin ortamlarına farklı dozlarda GA3 katkısı yapılması ve inkübasyon sırasında farklı aydınlatma rejimi uygulamaları yapılarak, bu uygulamaların çimlenme, protokorm oluşumu ve bitki gelişme oranları üzerine etkileri gözlemlenmiştir. Denemeye alınan tüm türlerde çimlenme ve protokorm elde edilmiş; ancak bunlardan üçünde çok düşük oranlarda olmakla birlikte sadece sekiz tanesinde bitkiye dönüşüm sağlanabilmiştir. Doku kültüründeki başarı, başta genotip olmak üzere besin ortamı, inkübasyon koşulları ve bitkinin yetiştirme koşullarından etkilenmektedir. Bu nedenle interaksiyonlar ön plana çıkmaktadır. En yüksek bitki oluşum oranı *Orchis morio*'da % 89.88; *Serapias vomeracea*'da % 57.65; *Orchis coriophora*'da % 48.35 ve *Orchis laxiflora*'da % 14.57 değerleriyle KC ortamından; *Dactylorhiza neschalkiorum*'da % 19.87'lik bir değerle 0.5mg/l GA3 ilave edilen KC besin ortamından elde edilmiştir. Dış koşullara alıştırmada tam bir başarı sağlanamamış, bitkiler en fazla birkaç ay içerisinde

canlılıklarını yitirmişlerdir. Yumruların bölünmesi ve ana yumrulu bitkinin doğal ortamına dikilmesi ile kurulan *in situ* denemelerde ise çıkış meydana gelmemiştir (Gümüş, 2009).

Karasal bir orkide türü olan *Chloraea crispa*'nın *in vitro* ortamda asimbiyotik çimlendirme tekniği ile çoğaltımı üzerine yapılan bir çalışmada, temel besi ortamlarına farklı derişimlerde bitki büyüme düzenleyicilerinin ve ışık rejimlerinin (Sürekli karanlık, 16/8 h aydınlık/karanlık) çimlenmeye etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda, tüm uygulamalardan 60 gün sonra ilk protokorm oluşumu gerçekleşirken, en iyi protokorm oluşumu sürekli karanlık rejiminde bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen Van Waes ortamında elde edildiği belirlenmiştir. Kültür ortamı ve ışık rejimi arasındaki etkileşimin tohumların morfojenik tepkisi üzerinde önemli bir etkisi ortaya çıkmıştır (Quiroz ve ark., 2017).

Tehlike altında olan *Phaius tankervillea* karasal orkidesinin yeşil kapsüller içerisinde bulunan tam olgunlaşmamış tohumlarının eksplant kaynağı olarak kullanıldığı *in vitro* kültüründe, MS ortamında tohum çimlenmesi ve fide gelişiminde başarılı sonuçlar alınmıştır. En erken tohum çimlenmesi 2.87 hafta da, en erken protokorm oluşumu 5.07 haftada gözlemlenirken, çimlenme için en uzun sürenin 16.47 hafta olduğu ve protokorm oluşumu için en uzun sürede (23.93 haftada) gerçekleştiği bildirilmiştir (Thokchom ve ark., 2017).

Endemik karasal orkidelerinin süs bitkisi olduğu, bu bitkilerin tohumlarının çimlenmesi için funguslarla simbiyotik ilişkiye ihtiyacı olduğu, asimbiyotik teknik ile çimlendirmenin gayet başarılı olduğu belirlenmiştir. Üç karasal orkide türü 7 *in vitro* kültür ortamına alınmış, tohumlar karanlıkta 24 ± 1 °C'de 2 hafta ardından 14 hafta 16/8 saat aydınlık/karanlık fotoperiyotta inkübe edildikten sonra çimlendirme ve embriyo gelişimi gözlemlenmiştir. 8 hafta sonunda *Chloraea* türlerinde çimlenme gerçekleştiği, kullanılan besi yerlerinden bazılarında % 90 çimlenme gerçekleştiği bildirilmiştir (Pereira ve ark., 2017).

Salep orkidelerinden *Anacamptis pyramidalis*, *Anacamptis morio*, *Dactylorhiza romana* ve *Neotinea tridentata* türlerinin çimlenme performanslarının Orchimax ve Knudson C ticari ortamları ile bir adet özel olarak hazırlanan (SV) besin ortamlarında denendiği bir çalışma sonucunda, tohum çimlenmesinde ve protokorm gelişiminde, besin ortamlarının sebep olduğu önemli farklılıklar tespit edilmiştir. En iyi çimlenme ortamının % 79.11'lik oran ile SV besin ortamı olduğu ve tohumların besin ortamlarına

kültüründen 16 hafta sonra protokorm yapısına dönüştüğü bildirilmiştir (Kemeç Hürkan ve ark., 2018).

In vitro kültür koşullarında *Orchis sancta* L.'nin çimlenmesi ve çoğaltılmasının amaçlandığı çalışmada Van Waes Debergh kültür besisi yerine farklı konsantrasyonlarında sakaroz, glukoz, maltoz, galaktoz ve fruktoz eklenerek tohumlarının çimlenmesi ve gelişimine etkisinin incelendiği çalışmada çimlenme, protokorm oluşumu ve sürgün dönemleri ile oranları tespit edilmiştir. En yüksek ortalama çimlenme oranı % 77,85 ile Maltose40 ortamında, en düşük ortalama ise % 44,36 ile Galaktose100 ortamında elde edilmiştir. Protokorm oluşumunda en yüksek ortalama oran % 68,53 ile Sucrose100'de, en düşük ortalama ise % 25,33 ile Fruktose100 ortamlarında tespit edilmiştir. Çimlenme süresi 12.50-21.33 gün, protokorm oluşum süresi 22.50-50.83 gün ve sürgün oluşum süresi 50.66-105.33 gün aralıklarla belirlenmiştir (Bozdemir ve ark., 2018).

Ülkemiz florasında doğal yayılış gösteren orkide türlerinden biri olan *Serapias vomaracea* türünün olgun tohumlarının *in vitro* kültür koşullar altında en uygun besisi ortamının belirlenmesi amacıyla EBP, MS, KC besisi ortamlarına bu türe ait olgun tohumlar ekildiği bir araştırmada çimlenme, protokorm ve bitki gelişimi bakımından en iyi EBP besisi ortamından sonuç alınmıştır. Ayrıca bu *in vitro* kültür ortamında yaklaşık 10-12 ay içerisinde çiçekli bitkiler elde edildiği bildirilmektedir (Bulunuz Palaz, 2018).

Barlia robertiana (Loisel.) Greuter salep orkide tohumlarının *in vitro* çimlenmesinin incelendiği bir çalışmada en yüksek çimlenme ve protokorm oluşumu, ½ MS + 4 mg/l Kin + 0,5 NAA ortamından gözlemlenmiştir. Araştırmada en iyi sonucun 19 adet protokorm oluşumu ile tohumların yüzey sterilizasyonunda % 50 NaOCl kullanıldığı ve tamamen aydınlık ortamdan alındığı bildirilmiştir. Bununla beraber hem en yüksek çimlenme oranının hem en fazla protokorm oluşumunun 3 ay karanlık kültür ortamında gerçekleştiği tespit edilmiştir (Ağar, 2018).

2.4. Salebin Kullanımı ve Bileşenlerine İlişkin Literatürler

Glukomannan, bazı bitki türlerinin bileşenlerinde bulunan mannan familyasına ait bir polisakkarittir. Salep tozu olarak bilinen bazı orkide türlerinin yumrularının kurutulup toz haline getirilmiş hali, insanların tüketimi için ticari olarak önemli bir üründür. Glukomannan içeriği, salep tozunun verim ve kalitesinin birincil göstergesidir. Herhangi bir saflaştırma yapmadan önce yumru tozu içindeki glukomannan içeriğinin

belirlenmesi amacıyla 14 farklı orkide türü üzerine yapılan bir araştırmada, en fazla *Himantoglossum caprinum* ve *Serapias vomeracea* yumrularının analiz edilen türler arasında en yüksek glikomannan konsantrasyonlarına sahip olduğu bulunmuştur. *Serapias vomeracea* yumruları üzerinde farklı ön işleme adımları uygulandıktan sonra, yumru köklerin sütle veya yüksek sıcaklıkla işlenmesi ile glikomannan konsantrasyonlarında belirgin bir artışa yol açtığı tespit edilmiştir. Bu yüzden sonuç olarak bu salep orkide türlerinin içerdiği glikomannan konsantrasyonundan dolayı kültüre alınıp ticari açıdan uygun olduğu belirlenmiştir. Ayrıca farklı orkide türlerinin glikomannan içeriğini doğrudan karşılaştırmak için herhangi bir ön işlem uygulanmadan analizinin yapılmasının en etkili ve güvenilir yöntem olduğundan bahsedilmiştir (Acemi ve ark., 2019).

Yozgat İli Akdağmadeni İlçesi'nde yetişen salep türlerinin tarla koşullarında yetiştirilmesi amacıyla denemeler kurulmuş, toprak analizleri ve glikomannan oranları ölçülmüştür. Karşılaştırma amacıyla Ege Bölgesinde yetişen 2 salep türü de denemeye konu edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda Akdağmadeni'nde yetişen saleplerin glikomannan oranının daha fazla olduğu ifade edilmiştir. Genç dikimlerde kış şartlarından etkilenmemesi için malç kullanımı, toprak özelliklerine üretim alanlarında dikkat edilmesi ve dikim öncesi yumruların ıslatılması projenin sonucunda yer alan öneriler arasındadır. Ayrıca raporda salebin; içecek, ilaç niteliğinde kimyasal üretimi, dondurma, yoğurt gibi gıda üretimi, kozmetik alanında kullanımının olduğu ifade edilmiştir. Ülkemizde Osmanlı döneminden beri yoğun olarak tüketildiği ve dünyada da tüketiminin yaygınlaştığı belirtilmektedir. Dondurmalarda, pastalarda stabilizatör olarak kullanılan ve halk arasında yoğurt kıvamını arttıran salebin, kullanıldığı ürünlerde tat ve aromaya önemli katkılar yapması ve ticaretinin önemi nedeniyle doğadan toplamanın yoğun olarak yaşandığı ifade edilerek kültüre almanın önemi vurgulanmıştır (Gülşen ve Atilabey, 2017).

Türkiye'de tarla koşullarında yetiştirilen salep orkidesinin (*Orchis sancta* L.) bazı kalite özelliklerine azotlu gübrelemenin etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan araştırmanın sonucunda; azotlu gübre uygulamalarının *Orchis sancta* L.'nin nişasta ve protein oranlarına olumlu, müsilaaj oranına olumsuz etki ettiği belirtilmiştir. Nişasta oranı ve protein oranı sırasıyla % 17.134-25.099 ve % 12.054-13.426 olarak tespit edilmiştir. En yüksek değerler sırasıyla 5 kg/da ve 10 kg/da azot uygulamalarında ortaya çıkmıştır. Müsilaaj oranı ise % 16-24 arasında belirlenmiş ve en yüksek değerler kontrol uygulamasından elde edilmiştir. Denemede kül içeriği % 9.82-13.99 arasında bulunmuş

ve en düşük değerler 15 kg/da azot uygulaması ile belirlenmiştir. Araştırmadan elde edilen bulgulara göre nişasta oranı için 5 kg/da, müsilaaj oranı için 0 kg/da, protein için 10 kg/da ve kül oranı için 15 kg/da azot gübrelemesi önerilmektedir. Maraş tipi dondurmalarda koyulaştırıcı olarak müsilaaj oranı kullanıldığı için *Orchis sancta* L. yetiştiriciliğinde 0 kg/da azotlu gübre önerilmektedir (Arabacı ve ark., 2017a).

Türkiye'nin farklı yörelerinden toplanan 10 farklı yabani salep orkidenin ve ticari salebin fizikokimyasal, biyoaktif ve reolojik özelliklerinin incelendiği çalışmada, en yüksek glikomannan miktarı *Anacamptis pyramidalis* (38,7 g/100g), *Orchis morio* (46,1 g/100g) ve *Orchis sancta* (16,4 g/100g) türlerinde tespit edilirken, ticari salebin 27,4 g/100g olarak bildirilmiştir (Arslan, 2023).

Salep orkide türlerinden biri olan *Orchis anatolica*'ya ait fiziksel, kimyasal ve yoğunlaştırıcı özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada; % 41.6 nişasta, % 32.3 diyet lif, % 18.5 glikomannan, % 7.73 nem, % 6.73 protein, % 2.34 sakkaroz, % 2.25 kül, % 1.52 ham lif, % 0.19 glikoz ve % 0.28 yağ değerleri rapor edilmiştir (Bulut-Solak ve ark., 2017).

Türkiye'de yetişen salep orkidesi yumrularının yağ asidi bileşimlerinin incelendiği çalışmada lipid içeriği ortalama % 2,02 olarak tespit edilirken en çok linoleik ve palmitik yağ asitlerine sahip olduğu bildirilmiştir (Citil ve Tekinsen, 2011).

1884 yılında yayımlanan 'Flora Orientalis' (Boissier, 1884)'den sonra Türkiye orkideleri ilk 1967 yılında Türk Eczacı Ekrem Sezik isimli araştırmacı tarafından listelenmiştir (Sezik, 1967; Sezik, 2002a). 1984 yılına kadar Türkiye Orkideleri konusunda farklı araştırmalar yapılmış, dönem içerisinde 'Flora of Turkey' isimli yayında Orkidegiller familyasının bir kısmı (Renz ve Taubenheim, 1984) yayımlanmış aynı yıl 'Orkidelerimiz-Türkiye'nin Orkideleri' isimli kitap yayımlanmıştır (Sezik, 1984; 2002a). Araştırmacı 1967 yılında doktora çalışmasında, salep bileşiminin türlerin bulunduğu cinslerine göre değişmekle birlikte genel olarak bu bitkilere ait yumruların % 7-61 glikomannan, % 1-36 nişasta, % 0.5-1 azotlu maddeler, % 0.2-6 kuru madde halinde kül ve % 6-12 nem ihtiva ettiğini, içeriğinde bulunan nişastanın da şişme özelliği ile glikomannanlara yardımcı olduğunu bildirmiştir (Sezik, 1967; Sezik, 1984; Kaya ve Tekin, 2001; Sezik ve ark., 2007). Orkidelerin yumrularından elde edilen salep içeriği yetiştiği yöreye göre farklılık göstermektedir (Sezik, 1967; Baytop ve Sezik, 1968; Sezik ve Özer, 1983; Sezik, 1984). Salep türlerinin çiçek, yaprak ve yumru morfolojilerindeki farklılıklar gibi bunların kimyasal içerikleri bakımından da farklı oldukları belirlenmiş ve nişasta, şeker (glikoz ve fruktoz), azotlu maddeler,

glikomannan özelliğinde müsilaaj taşıdıkları tespit edilmiştir (Baytop ve Sezik, 1968). Salep tozu, Türkiye'de dondurma veya sütle hazırlanan sıcak bir içecek hazırlamak için kullanılmaktadır. Salep yumrusu glikomannan denilen poliholozitlere sahiptir. Salep, içerdiği glikomannan nedeniyle dondurmanın erimesini geciktirmek ve bağlayıcı olarak dondurma üretiminde kullanılmaktadır (Sezik ve Baykal, 1988; Sezik, 1991; Sezik, 2002a).

Salep tozundan hazırlanan drog üzerinde ilk kez 1965 yılında Dragendorf tarafından kimyasal bileşenleri rapor edilmiştir. Araştırmacı, tubera salebin % 48 müsilaaj, % 24 nişasta, % 5 protein % 2 kül ve % 1 şeker ihtiva ettiğini tespit etmiştir (Dragendorf, 1965; Sezik ve ark., 2007).

İran'a özgü iki salep türünün reolojik özellikleri üzerine yapılan bir çalışmada salep içeren formülasyonların kalitesi, kullanılan salep tozunun glikomannan ve nişasta miktarına göre farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Farhoosh ve Riazi, 2007).

Kahramanmaraş dondurmasının en önemli özelliği formülasyonunda salep kullanılmasıdır. Böylelikle dondurmaya kendine has tat ve aroma katmakta hem de dondurmada stabilizatör görevi yapmaktadır (Gürsel ve Karacabey, 1998).

‘Keçi sütü ve salebin’ Maraş dondurmasının yapımında kullanılmasıyla elde edilen ürünün meşhur olmasını sağlamıştır. Keçi sütü, inek sütüne kıyasla karoten ve karotenoidleri içermemesi sebebiyle dondurmanın rengi daha beyaz olmakta, salebin bileşimindeki glikomannan ise tıpkı bir yapıştırıcı gibi (stabilizatör olarak) dondurmanın özlü, düzgün ve homojen oluşumu sağlamaktadır (Or, 2009; Kaya ve ark., 2017).

Doğada yok olma olasılığı bulunan ve pahalı olan salebe alternatif stabilizatörleri aramaya yönelik yapılan bir çalışmada; keçiyoynuzu, arap sakızı, jelatin, CMC ve çöven kökü gibi stabilizatör maddelerin inek sütlerinden yapılan dondurmalarındaki etkileri araştırılmıştır. En yüksek hacim artışı salep katkılı dondurmalarla tespit edilirken, şeklini en iyi koruyan ve en geç erimeyi sağlayan keçiyoynuzu katkılı dondurmalarla gözlemlenmiştir. Araştırma sonucunda salebe alternatif CMC ve keçiyoynuzunun kullanabileceği önerilmiştir (Keçeli ve Konar, 2003).

Yumruları glikozit olan *Orchis mascula* türünün kimyasal bileşiminde % 43,67 glikomannan, % 21,92 nişasta, % 48 müsilaaj, % 10,62 nem, % 1 şeker, % 5 azotlu bileşikler, % 2 kül içerdiği bildirilmiştir (Allimuthu ve Walter, 2008; Khare, 2008; Aziz ve ark., 2009; Al-Snafi, 2020).

Tanzanya’da iki yabancı orkide türünün besin bileşenlerine ait yapılan çalışmada; taze salep orkide yumrularında C vitamini, kalsiyum, beta karoten, demir ve çinko bulunduğu tespit edilmiştir (Lalika ve ark., 2013).

Tarla koşullarında yetiştirilen salep orkidelerinden *Serapias vomeracea* (Burm.Fill.) Brig. türünde farklı dikim zamanlarının bazı kalite özelliklerine ait bulunan değerler; % 13,83-17,49 nişasta, % 18.2-20 müsilaç, % 12.012-13.072 protein, % 90.7-91.25 kuru madde, % 8.75-9.30 nem oranı ve % 4.91-6.06 kül oranı tespit edilmiştir (Arabacı ve ark., 2017b).

Taze salep eser miktarda uçucu yağ da içerir. Salebin yüzde ikisi, potasyum ve kalsiyumun fosfatları ve klorlarından oluşan küldür (Tamer ve ark., 2006). Türkiye'nin 6 farklı yöresinden toplanan saleplerin kimyasal bileşimlerine ait elde edilen bulgular; % 8,40-19,13 nişasta, % 11,62-44,04 müsilaç, % 2,45-9,68 kül ve % 0,76-1,95 sakkaroz olarak bildirilmiştir (Özkan, 1991; Tamer ve ark., 2006).

Kahramanmaraş yöresinin doğal florasında yetişen *Orchis mascula* L.türüne ait salep yumrularındaki azot miktarının % 0,83-4,35, toplam potasyum miktarının % 0,14-1,30, toplam fosfor miktarının % 0.070-0.376 arasında olduğu belirlenmiştir (Topçuoğlu ve ark., 1996).

Bazı *Orchidaceae* türlerinden üretilen tubera salebin kimyasal bileşimi ve fizikokimyasal özelliklerine ait yapılan deneylerde, salep örneklerinin % 17.7-54.6 glikomannan, % 5.44-38.7 nişasta, % 3.11-4.95 protein ve % 0.95-2.83 kül içerdiği ortaya çıkmıştır (Tekinşen ve Güner, 2010).

Kahramanmaraş doğal florasında yetişen salep orkidelerinden *Dactylorhiza romana* türü yumrularının bazı makro ve mikro besin elementi içeriklerine ait elde edilen değerler; % 0.170 fosfor, % 0.152 kalsiyum, % 0.734 potasyum, % 0.066 magnezyum, 117.62 mg.kg⁻¹ demir, 12.91 mg.kg⁻¹ mangan, 4.05, mg.kg⁻¹ bakır ve 13.85 mg.kg⁻¹ çinko olarak tespit edilmiştir (Bulunaz Palaz ve ark., 2018).

Salep yumrularında bulunan nişasta, karışımın viskozitesinin düşmesine ve bulanıklığın artmasına yol açmaktadır (Yoshimura ve ark., 1998). Salebin kalitesini içerdiği glikomannan miktarı belirlemektedir. Bu değer artırılması için yapılan bir doktora çalışmasının sonucunda salep tozuna uygulanacak basit etanol işlemi ile safsızlık bileşenlerinin yani glikomannan dışında nişasta, protein ve kül gibi bileşenler (Xu ve ark., 2014) azaltılmasını sağlayarak salebin kalitesi artırılabilirliği önerilmiştir. Çalışmada % 40’lık etanol uygulaması ile nişasta oranının % 36’dan % 21’e düşürülmesi sağlanmıştır (Kurt, 2017).

Farklı yörelerden toplanan orkide çeşitlerinden elde edilen saleplerin kimyasal özellikleri, sulu ve şekerli çözeltilerdeki davranışları incelenerek, bu saleplerin Maraş usulü dondurma üretiminde farklı oranlarda kullanılmasının, miks ve dondurmanın fiziksel, kimyasal, reolojik ve duysal özellikleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yürütülen bir doktora çalışmasında 20 orkide türünden hazırlanan salep örneği kullanılmıştır. Salep örneklerinde kurumadde % 89,1-93,53, kül % 1,46-6,72, protein % 2,70-11,83, glikomannan % 7,84-48,54, nişasta % 4,58-43,98 arasında kaydedilmiştir. Yüksek glikomannan içeren salep türlerinin Maraş usulü dondurma yapımında kullanılabileceği, toplayıcıların glikomannan oranını bilmeyen bilinçsiz toplayıcıların doğada kendiliğinden yetişen bitkilerin nesillerinin yok olma tehlikesine maruz bıraktığı sebebiyle devlet kurumlarının ve üniversitelerin halkı bilinçlendirmesi gerektiği vurgulanmıştır. Tarla şartlarında yapılan ve başarıya ulaşan yetiştirme çalışmalarının desteklenmesi gerektiği bildirilmiştir (Şen, 2016).

Saleplerin viskozite ve çözünürlüğüne ait yapılan bir çalışmada, *Serapias vomeracea* subsp. *vomeracea*, *Orchis mascula* subsp. *pinetorum*, *Serapias levantina* subsp. *feldwegiana*, *Dactylorhiza romana* subsp. *georgica*, *Orchis tridentata*, *Orchis pallens*, 'da % 40'tan fazla glikomannan içerdiği fakat bunlardan sadece *Dactylorhiza romana* subsp. *georgica*, *Orchis tridentata* ve *Serapias vomeracea* subsp. *vomeracea* türlerinin su ve süt çözeltilerinde viskoziteyi en çok artırarak iyi teknolojik özellikler sergilendiği bildirilmiştir (Şen ve ark., 2018).

Türkiye’de yetişen 10 farklı salep orkidesinden hazırlanan salep örneklerinin Maraş tipi dondurma yapımında kullanarak, dondurmanın kalite ve duysal özelliklerine etkileri araştırılmıştır. Araştırmada; *Serapias lingua*, *Orchis mascula*, *Dactylorhiza majalis*, *Ophrys sphegodes* ve *Habenaria repens* türlerinin yüksek glikomannan içermeleri sebebiyle Maraş tipi dondurma üretiminde kullanılabileceği bildirilirken *Ophrys apifera* ve *Himantoglossum hircinum* türlerinin Maraş tipi dondurma yapımına uygun olmadığı sonucu bildirilmiştir. Bu türlerin doğadan toplanmaması durumunda yabani orkide bitki biyoçeşitliliğinin korunması önerilmiştir. Çalışmada ayrıca dondurmalarda glikomannan artışı ile hacim artışı değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir (Türkmen ve ark., 2021).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma, 2021-2022 yıllarında salep orkidesi bitkisinin tarla koşullarında, sera koşullarında yumrudan üretimi, bitkinin tohumlarından mikroçoğaltım yöntemi ile

üretimi olmak üzere 3 farklı ortamda 3 farklı salep bitkisi taksonunun üretim çalışmalarını içermektedir. Sera ve tarla koşullarında üretim çalışmalarında bazı salep toplayıcılarının uyguladıkları sök-dik uygulamasının yumru verimine ve sayısına etkisi araştırılmış olup araştırmada kullanılan taksonların fenolojik ve morfolojik özellikleri incelenmiştir.

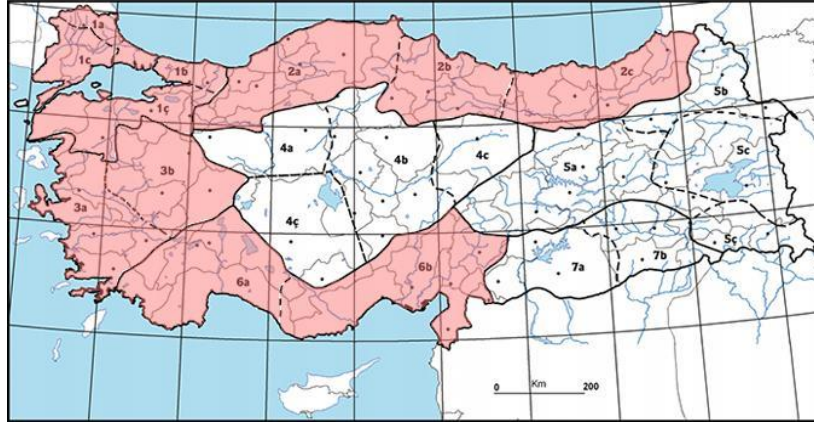
3.1. Materyal

Araştırmada kullanılacak olan salep orkide türlerinin seçiminde ülkemizde geniş yayılış göstermesi, yumru sayısının literatürlerde genellikle birden fazla yumru sayısına sahip olması, tarla denemesinin yürütüleceği Karadeniz Bölgesine adaptasyon kabiliyetinin yüksek olması göz önünde bulundurulmuştur.

Serapias vomeracea (Burm.f.) Briq., *Ophrys apifera* Huds. ve *Anacamptis pyramidalis* (L.) Rich.'in olgun meyvelerinden alınacak olan tohumlar mikroçoğaltım çalışmalarında; türlerin hasat olgunluğuna gelmiş yumruları ise tarla ve sera şartlarında kullanılmıştır. Bu materyaller Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıbbi Aromatik Bitkiler Ana Bilim Dalı Doç. Dr. Ömer ÇALIŞKAN'ın danışmanlığında Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü izni ile üretim yapan 19 Mayıs Salep Evi-EKOMDER Derneğinden temin edilmiştir.

3.1.1. *Ophrys apifera* Huds. türünün bitkisel özellikleri

Ülkemizde adı arı orkidesi olarak bilinen *O. apifera* Huds., güneş alan ormanlık ve bazofilik kuru otlaklarda yayılış göstermektedir (Jäger, 2017). Dünyadaki bitki türlerinin en kapsamlı Küresel Koruma durumu envanteri olarak çalışan, Nesli Tükenme Tehlikesi Altında Olan Türlerin Kırmızı Listesi (International Union for the Conservation of Nature-IUCN)'nde *O. apifera* en son 2010 yılında güncellenen bilgilere göre 'Least Concern (LC)' yani düşük riskli bitki olarak listelenmektedir. Bitkinin ülkemizde popülasyonlarının bulunduğu bölümler (Şekil 3.1.), çiçek şekli (Şekil 3.2.), tohum (Şekil 3.3) ve yumrularına ait görseller (Şekil 3.4.) aşağıda verilmektedir.



Şekil 3.1. *Ophrys apifera* türünün coğrafi yayılışı

Ophrys apifera Huds. türünün Türkiye’de dağılımı: (1a) Istanca Bölümü, (1b) Çatalca-Kocaeli Bölümü, (1c) Ergene Bölümü, (1ç) Güney Marmara Bölümü, (2a) Batı Karadeniz Bölümü, (2b) Orta Karadeniz Bölümü, (2c) Doğu Karadeniz Bölümü, (3a) Asıl Ege Bölümü, (3b) İç Batı Anadolu Bölümü, (6a) Antalya Bölümü, (6b) Adana Bölümü (Anonim, 2023d).



Şekil 3.2. *Ophrys apifera* türünün çiçeği (arı orkidesi)



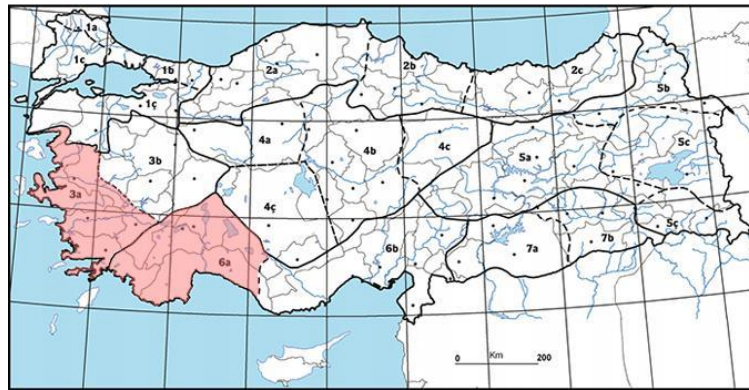
Şekil 3.3. *Ophrys apifera* türünün tohumları



Şekil 3.4. *Ophrys apifera* türünün yeni hasat edilmiş (A) ve anaç, kesik, çürük yumruları (B)

3.1.2. *Serapias vomeracea* (Burm.f.) Briq. türünün bitkisel özellikleri

Salep orkideleri içinde ülkemizde çayır salebi, sağır kulağı olarak en yaygın bilinen türlerden biri olan *Serapias vomeracea* türünün diğer salep orkide türlerine kıyasla iki veya daha fazla yumru yapma yeteneği olduğu söylenmektedir. Birden fazla yumru verme kabiliyeti olması sebebiyle salep yetiştiriciliğinde en çok önerilen türlerden biri olarak bu çalışmada kullanılmıştır. Aynı zamanda ülkemiz bitki veri tabanı için kullanılan TÜBİVES ve Bizim Bitkiler 'de bulunan haritalarda (Şekil 3.5.) asıl Ege Bölümü ve Antalya Bölümü'nde yayılış gösterdiği bildirilse de bu çalışmanın yürütüldüğü Orta Karadeniz Bölgesinde ve ülkemizin birçok yerinde deniz seviyesinde ve yakın civarda sık rastlanmaktadır. Bitkinin çiçek şekli (Şekil 3.6.), tohum (Şekil 3.7.) ve yumrularına ait görseller (Şekil 3.8.) aşağıda verilmektedir.



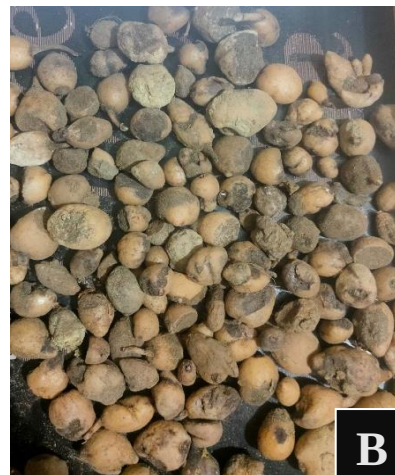
Şekil 3.5. *Serapias vomeracea* türünün Türkiye'de coğrafi yayılışı; (3a) Asıl Ege Bölümü, (6a) Antalya Bölümü (Anonim, 2023a).



Şekil 3.6. *Serapias vomeracea* türünün çiçeği (sağırkulağı)



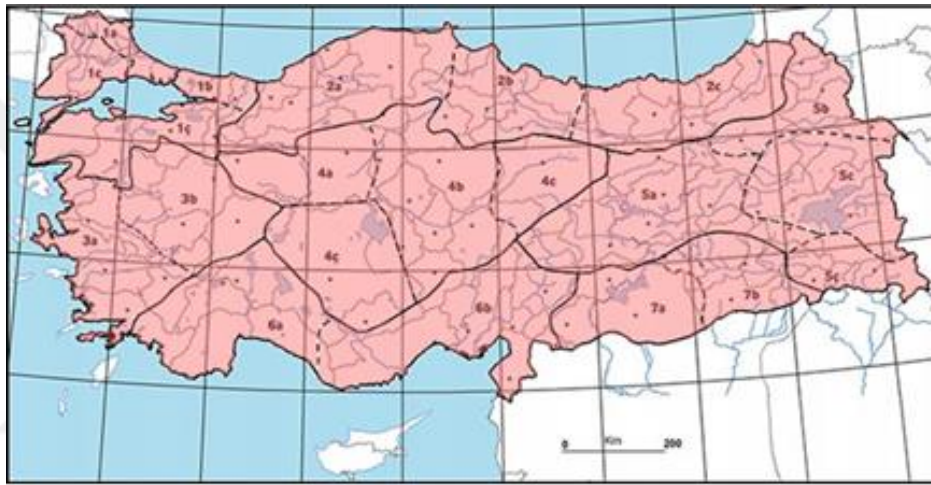
Şekil 3.7. *Serapias vomeracea* türünün tohumları



Şekil 3.8. *Serapias vomeracea* türünün yeni hasat edilmiş (A) ve anaç, kesik, çürük yumruları (B)

3.1.3. *Anacamptis pyramidalis* (L.) Rich. türünün bitkisel özellikleri

Ülkemizin tüm bölgelerinde yayılış gösteren salep orkide türlerinden biri olup yöre halkı tarafından sivri salep veya piramit salebi olarak adlandırılmaktadır. Deniz seviyesinden yüksek kesimlere kadar geniş bir adaptasyonu vardır. Yumrularının diğer salep orkidelerine nispeten daha iri yapılı olması 2-3 yumru verme kabiliyetine sahip olduğu varsayımından yola çıkılarak bu çalışmada kullanılmıştır. Bitkinin ülkemizde bulunduğu bölümler ve bazı morfolojik özelliklerine ilişkin görseller Şekil 3.9., Şekil 3.10. ve Şekil 3.11. ve Şekil 3.12.'de verilmektedir.



Şekil 3.9. *Anacamptis pyramidalis* türünün coğrafi yayılışı

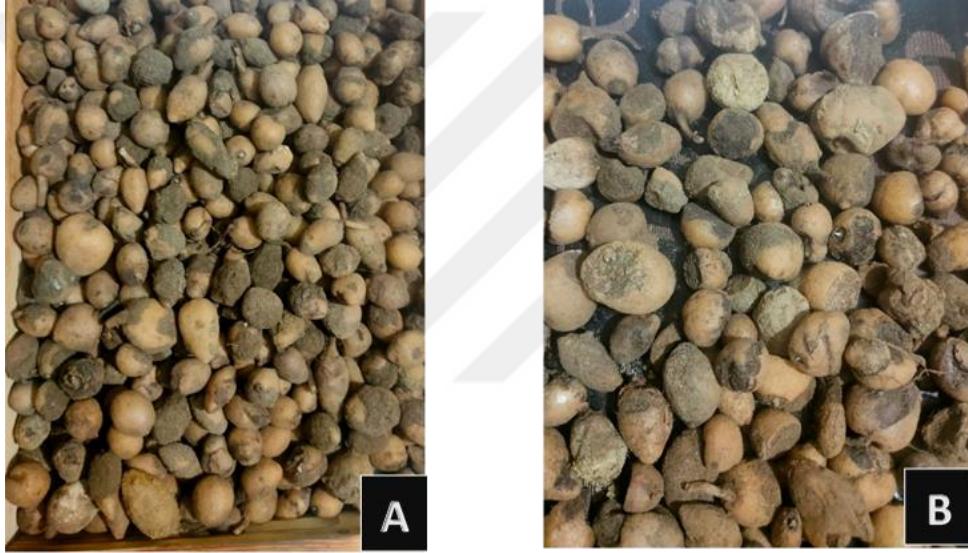
Anacamptis pyramidalis (L.) Rich. türünün Türkiye’de dağılımı: (1a) Istanca Bölümü, (1b) Çatalca-Kocaeli Bölümü, (1c) Ergene Bölümü, (1ç) Güney Marmara Bölümü, (2a) Batı Karadeniz Bölümü, (2b) Orta Karadeniz Bölümü, (2c) Doğu Karadeniz Bölümü, (3a) Asıl Ege Bölümü, (3b) İç Batı Anadolu Bölümü, (4a) Yukarı Sakarya Bölümü, (4b) Orta Kızılırmak Bölümü, (4c) Yukarı Kızılırmak Bölümü, (4ç) Konya Bölümü, (5a) Yukarı Fırat Bölümü, (5b) Erzurum-Kars Bölümü, (5c) Yukarı Murat-Van Bölümü, (5ç) Hakkari Bölümü, (6a) Antalya Bölümü, (6b) Adana Bölümü, (7a) Orta Fırat Bölümü, (7b) Dicle Bölümü (Anonim, 2023e)



Şekil 3.10. *Anacamptis pyramidalis* türünün çiçeği (sivrisalep)



Şekil 3.11. *Anacamptis pyramidalis* türünün tohumları



Şekil 3.12. *Anacamptis pyramidalis* türünün yeni hasat edilmiş (A) ve anaç, kesik, çürük yumruları(B)

3.1.4. Tarla ve sera ile doku kültürü çalışmalarının yürütüldüğü yerler

Bu araştırmada, Karadeniz Bölgesinin Orta Karadeniz bölümünde yer alan Samsun İlinin Terme İlçesi'nde tarla, Konya Gıda Tarım Üniversitesi ve Kahramanmaraş Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nde doku kültürü çalışmaları ve Ankara-Türkiye Milli Botanik Bahçesi Müdürlüğü sınırlarında yer alan %95 elek sıklığındaki gölgelendirme serasında denemeler kurulmuştur.

3.1.4.1. Deneme yerinin toprak özellikleri

Araştırmanın tarla koşullarında yürütüldüğü deneme alanından 0-30 cm derinlikten alınan toprak örnekleri Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi

ve Bitki Besleme Bölümü Laboratuvarı'nda analiz edilmiş olup analiz sonuçları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3. 1. Samsun-Terme İlçesi lokasyonunun toprağına ait bazı fiziksel ve kimyasal özellikler

Analiz Adı	Birimi	Sonuç	Yorum
pH		7.77	Hafif Alkali
EC	dS/m	0.48	
Tuz	%	0.0169	Tuzsuz
Organik Madde	%	1.43	Az
Fosfor (P_2O_5)	kg/da	8.11	Yeterli
Potasyum (K_2O)	kg/da	28.22	Zengin
Kalsiyum (Ca)	mg/kg	347.2	Zengin
Magnezyum (Mg)	mg/kg	261.7	İyi
Sodyum (Na)	mg/kg	43.05	Az
Bakır (Cu)	mg/kg	1.592	Yeterli
Demir (Fe)	mg/kg	4.546	Yeterli
Çinko (Zn)	mg/kg	0.73	Orta
Mangan (Mn)	mg/kg	1.059	Orta
$CaCO_3$ (Kireç)	%	7.99	Orta Kireçli
Bünye	%	55	Killi-Tınlı

Deneme alanının kışın su tutmaması sebebiyle eğimli ve süzek, hafif bünyeli, genelde derin topraklardan oluşmaktadır. Çizelge 3.1.'de görüldüğü gibi denemenin kurulduğu yerin toprağı, orta kireçli yapıda ve pH'sı yaklaşık 7.8 olup alkali bir özellik göstermektedir. Organik madde ve azot bakımından az, potasyum miktarı bakımından zengin, tuzluluğu ise önemsizdir.

3.1.4.2. Deneme yerinin iklim özellikleri

Tarla deneme alanı olarak, fındık üretiminin yapıldığı bahçe içerisinde sıra araları kullanılmıştır. Terme ilçesi; Samsun iline bağlı olup Ordu il sınırında yer almakta, yüzölçümü 583 km² olup, Terme Çayı kenarında ve denizden 3 km içeride kurulmuştur. Toplam arazi varlığı 548.570 dekar olup bu alanının yaklaşık % 78 ini oluşturan 426.310 dekarı üzerinde tarımsal üretim yapılmaktadır (Coşkun ve Dengiz, 2016). Tipik Karadeniz ikliminin hüküm sürdüğü bölgede her mevsim yağışlı, kışlar ılık, yazlar ise serin geçmektedir. Yıl içinde en fazla yağış sonbahar mevsiminde, en uzun yağış ise ilkbahar sonu ve yaz başında görülmektedir. Yıllık yağış bakımından Karadeniz bölgesinin en az yağış alan yörelerinden birisidir (Anonim, 2023f). Çevre,

Şehircilik ve İklim Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğünden alınan resmi istatistiklere göre Samsun ilinin uzun yıllar yıllık yağış ortalamaları toplamı 719.5 mm iken Terme Kaymakamlığının yayımladığı bilgide ilçenin yıllık yağış miktarı ortalama 870 mm civarındadır. Araştırmanın yürütüldüğü yıllara bakacak olursak 2021-2022 yılında ilçenin toplam yağış miktarı mevsim normallerinin üzerinde gerçekleşerek 1046.6-1074.2 mm gözlemlenmiştir (MGM, 2023).

Terme ilçesinde ortalama nispi nem % 80-82 olup, yağışların büyük çoğunluğu 2021 yılı sonbahar, 2022 yılında kış aylarında gerçekleşmiştir. Çalışmanın yürütüldüğü vejetasyon döneminde (Eylül 2021- Ağustos 2022) ortalama sıcaklık 22.92°C'dir. Deneme alanının 2021-2022 bitki yetiştirme yıllarındaki ortalama sıcaklıkları 14.5°C ve 22.2°C olup alınan verilerde maksimum sıcaklıklar 27.2°C ve 27.4°C ve minimum sıcaklıklar 4.4°C ve 5.3°C olarak belirlenmiştir. Samsun ili için uzun yıllar (1929- 2022 yılları arası) ve araştırmanın yürütüldüğü ilçenin aylara ait ortalama, maksimum, minimum sıcaklık (°C), nem (%) ve yağış değerleri (mm) Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3. 2. Samsun-Terme İlçesine ait bazı önemli iklim özellikleri

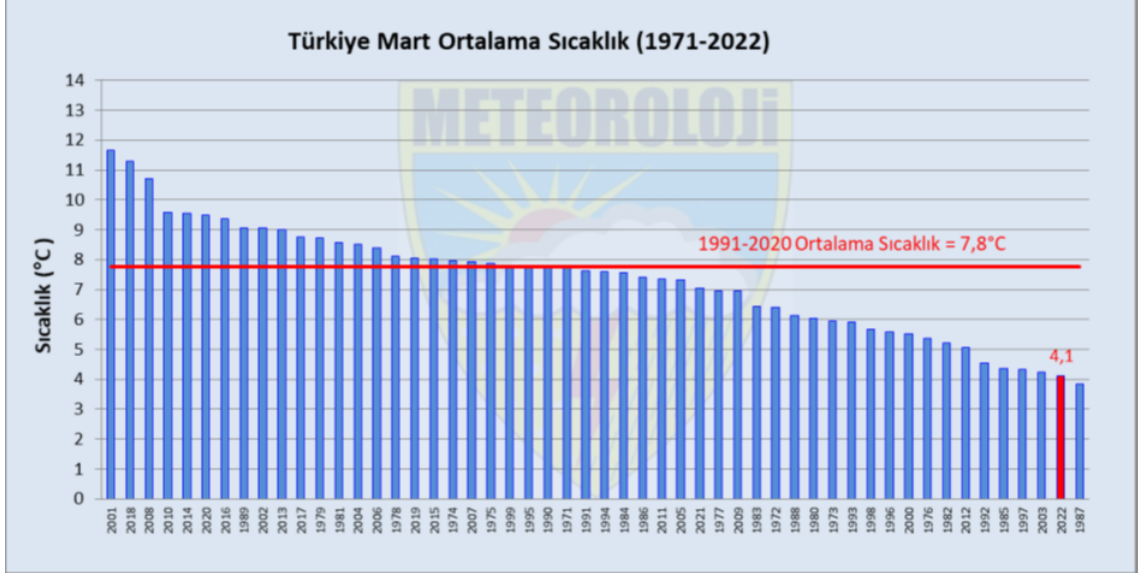
Ay	Ortalama Sıcaklık (°C)* (Samsun) Uzun yıllar (1929- 2022)	Toplam Yağış (mm)* (Samsun) Uzun yıllar (1929- 2022)	Ortalama Sıcaklık (°C) TERME**		Maksimum Sıcaklık (°C)**		Minimum Sıcaklık (°C)**		Ortalama Nispi Nem (%)**		Toplam Yağış (mm)**	
			2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022
Ocak	7.2	72.7	8.4	22.9	22.9	19.6	-4.2	-4.3	73.6	80.3	87.5	262.8
Şubat	7.2	58.8	7.3	24.8	24.8	21.3	-4.7	-1.3	74.4	80.6	70.3	156.4
Mart	8.0	67.4	7.2	22.9	22.9	26.3	-1.9	-1.5	79.1	81.8	92.4	163.8
Nisan	11.3	56.6	11.5	27.7	27.7	33.7	2.6	2.5	82.8	78.8	75.6	29.7
Mayıs	15.6	48.8	15.9	29.0	29.0	27.4	3.4	5.2	79.5	81.6	88.1	73.4
Haziran	20.2	46.2	20.1	29.6	29.6	30.2	11.8	14.2	82.1	81.6	72.3	40.0
Temmuz	23.2	34.8	24.8	30.5	30.5	29.5	16.7	15.3	80.3	77.4	68.4	15.4
Ağustos	23.6	37.5	24.3	32.8	32.8	32.2	16.8	19.0	82.7	82.1	133.9	23.1
Eylül	20.3	54.3	19.0	30.3	30.3	32.1	9.8	8.3	82.3	82.0	124.4	85.3
Ekim	16.5	78.1	15.1	27.7	27.7	26.4	5.0	4.4	85.5	86.7	117.7	107.5
Kasım	12.7	83.4	11.9	25.6	25.6	27.8	1.7	3.3	85.4	85.3	67.2	31.0
Aralık	9.4	80.9	8.9	23.7	23.7	23.4	-3.7	-0.5	77.8	86.5	48.8	85.8
Ort.	14.6	59.9	14.5	27.2	27.2	27.4	4.4	5.3	80.5	82.1	87.2	89.5
Toplam	-	719.5	-	-	-	-	-	-	-	-	1046.6	1074.2

*(Anonim, 2023g) **(MGM, 2023)

2022 yılı Mart ayında ortalama sıcaklıklar, Ankara ilinde mevsim normallerinin altında gerçekleşmiştir. Uzun yıllar Mart ayı sıcaklıkları dikkate alındığında, 2022 Mart ayı ortalama sıcaklığı 4.1°C ile uzun yıllar ortalamasının (7.8°C) 3.7°C altında gerçekleşerek 1971-2022 döneminde Çizelge 3.3.'den anlaşılabacağı üzere, 1987 Mart ayından sonra ikinci soğuk Mart ayı olmuştur. Ankara ilinin bulunduğu İç Anadolu

Bölgesi Mart ayı uzun yıllar ortalama sıcaklığı 5.5°C iken, 2022 Mart ayı 0.4°C olarak gerçekleşmiştir.

Çizelge 3. 3. Türkiye Mart Ortalama Sıcaklık Verileri



(Anonim, 2023g)

2022 yılı vejetasyon döneminde Mart ayında yaşanan bu negatif anomaliden kaynaklı Ankara-TMBBM sahasında yer alan tül serada Ekim sonu-Kasım başında çıkış sağlayan salep bitkilerinde Mart ayında donma meydana gelmiştir. Bu nedenden dolayı çalışmada kullanılan salep orkidelerinin morfolojik özellikleri tarla şartlarında kontrol edilmiştir.

3.2. Yöntem

Farklı salep orkide türlerinin çoğaltım olanaklarının araştırılmasının hedeflendiği bu çalışmada farklı üretim yöntemleri denenmiştir. Araştırmada, ilk olarak doku kültürü çalışmalarına ait izlenen yöntem ikinci olarak tarla ve serada çoğaltımına ilişkin izlenen yöntem ve alınan gözlemler aşağıda verilmektedir.

3.2.1. Doku kültürü çalışmasında uygulanan yöntem ve alınan gözlemler

Salep orkide türlerinin, bitki başına yumru verimlerinin genellikle tek yumru olması, tohumlarının doğada uzun yıllar içerisinde çimlenmesi nedenlerinden dolayı

kısa vadede daha fazla yumru elde etmek amacıyla doku kültürü yöntemi ile çoğaltım çalışması yapılmıştır. Çalışmada kullanılan üç salep orkide türüne ait eksplantların farklı besi yerlerinde çimlenme, protokorm oluşumu ve aklimatizasyon çalışmaları yapılmış olup yapılan işlemler aşağıda ayrı başlıklar halinde yer almaktadır.

3.2.1.1. Tohumların elde edilmesi, tasnifi ve yüzey sterilizasyonu

Çalışmada kullanılan üç farklı salep orkide türüne ait tohumlar Samsun-Terme lokasyonunda doğal olarak yetişen bitkilerden toplanmıştır. Bitkilerin çiçeklenme döneminden sonra meydana gelen kapsülleri toplanmış olup kaba filtre kâğıttan hazırlanan zarflara etiketlenerek konmuştur. Daha sonra laboratuvar ortamında iyice kuruması için 15 gün bekletilmiştir. Kuru ve kahverengi olan kapsüller 40*40 kaba filtre kâğıdı üzerinde avuç içinde yuvarlayarak kapsüllerin parçalanması ve tohumların çıkması sağlanmıştır. İstenmeyen bitki materyallerinden, kapsüllerden temizlemek için tohumlar 60 mesh'lik elekten geçirilmiştir. Tasnif edilen tohumlar 5 ml lik ependorf tüplere doldurulmuştur (Şekil 3.13.). Bu şekilde hazırlanan tüplere tür isimlere yazılarak kullanılacağı zamana kadar +5 °C'de buzdolabında bekletilmiştir.



Şekil 3.13. Tasnif edilen salep orkidesi tohumları

Tohumların sterilizasyonunda ‘Paketleme Tekniği’ kullanılmıştır. Çok az miktarda ya da çoğu kez hiç endosperm içermeyen salep bitkisinin tohum boyutları çok küçük olmaları sebebiyle sterilizasyona hassastır. Yaklaşık 4*4 cm boyutlarında kesilen kaba filtre kâğıdın ortasına 2 mg tasnif edilen tohum konarak (Şekil 3.14.) kapatılan içi

tohum dolu paketler ip ile sıkıca sarılmıştır. Saf su ile hazırlanan % 35 lik sodyum hipoklorit (NaOCl) solüsyonunda 25 dakika bekletilmiştir (Şekil 3.15.). Daha sonra paketler 3 kez 5'er dk. steril saf su ile yıkanmış ve kuruması için steril kabin içerisinde kurumaya bırakılarak besi yerine ekimi için hazır hale getirilmiştir (Bulunuz Palaz, 2018).



Şekil 3.14. Yüzey sterilizasyonundan önce tohumların paketlenmesi



Şekil 3.15. Paketlenen tohumların % 35 lik NaOCl 'de bekletilmesi

3.2.1.2. Doku kültürü çalışmasında kullanılan materyallerin sterilizasyonu

Doku kültürü uygulamaları boyunca kullanılan petri, cam şişe, pens ve bisturiler alüminyum folyoya sarılmış bir şekilde 121°C’de 20 dakika boyunca otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuştur. Steril kabinin bulunduğu ve bitkisel materyalin kültüre alındığı aktarma odası düzenli olarak hem hypo marka çamaşır suyu (NaOCl) ile hem UV (Ultraviyole) lamba çalışmadan önce ve sonra açılarak kabin içinde sterilize edilmiştir. Çalışma süresince kullanılan pens ve bisturilerde kabin içerisindeki sterilizatörde tutulup üzerine alkolle dezenfekte edilmiştir.

3.2.1.3. Uygun besi yerlerinin hazırlanması ve tohumların besi yerlerine ekimi

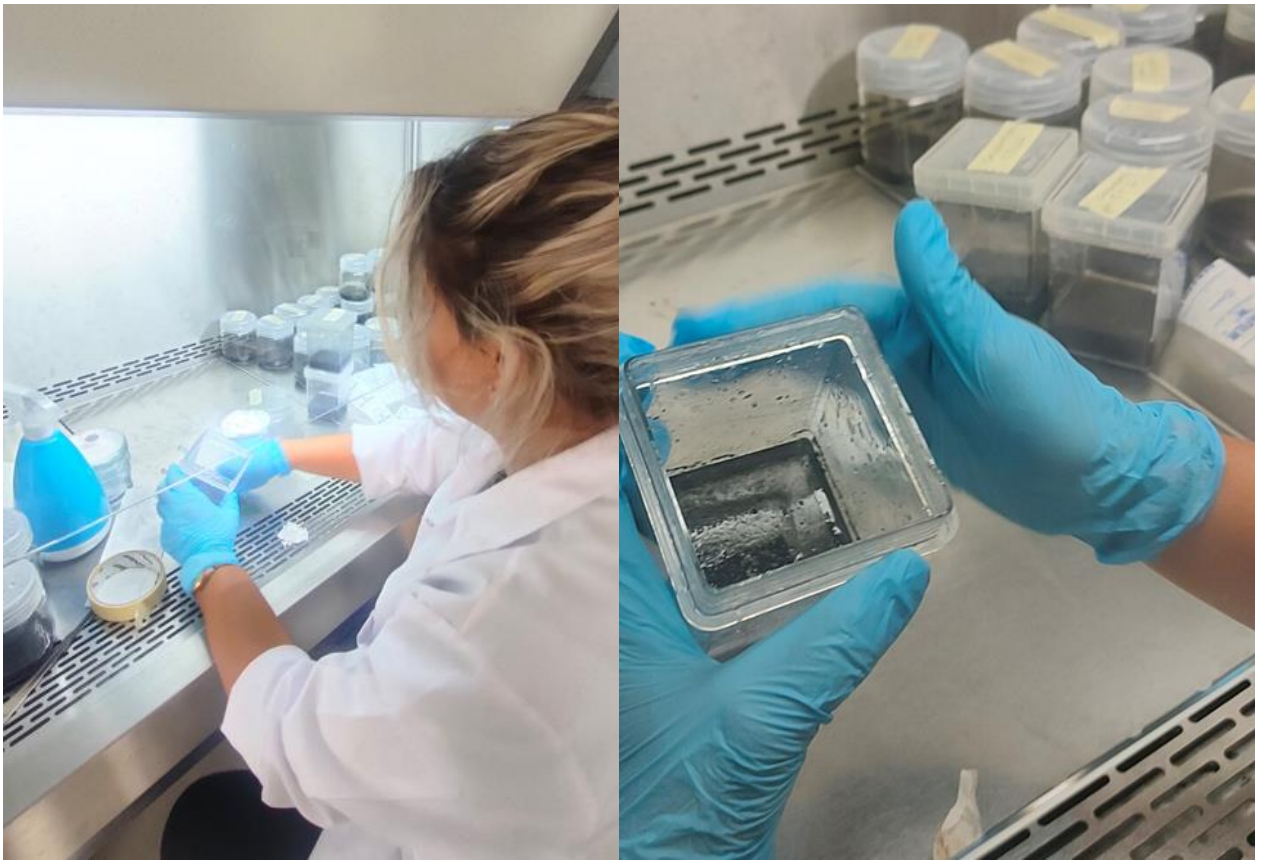
Çalışmada kullanılan salep orkide türlerinin tohumlarının doku kültürü şartlarında protokorm oluşturduğunu gözlemlemek amacıyla öncelikle en yaygın kullanılan Orchimax reçetesi ve yeni patentine başvuru EBK reçeteleri hazırlanmıştır. İki besin ortamı ve kullanılan malzemeler aseptik koşullar altında hazırlanmıştır. İlk doku kültürü çalışması, Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi Moleküler Biyoloji laboratuvarında hazırlanan Orchimax reçetesi kullanılarak yapılmıştır. Orchimax reçetesi için; 25,281 g Orchimax, 5 g aktif karbon, 1 lt saf su, 5 ml kinetinden oluşan besi ortamının otoklavlanma işleminden önce pH 5.5-5.8 arasında (5.77) ayarlanmış, son olarak 5 g agar ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcı ile agarın eritilmesi işlemi yapılmıştır. Hazırlanan besin ortamlarının sterilizasyonu 121°C sıcaklıkta 15 dk. süre ile 1.2 atmosfer basınçta otoklavda gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3. 4. EBK (Bulunuz Palaz, 2013; 2018) besi ortamı kimyasal içeriği

Kimyasallar	Ortam Konsantrasyonu (mg/l)
NH ₄ NO ₃	120 (mg/l)
MgSO ₄ .7H ₂ O	75 (mg/l)
KH ₂ PO ₄	80 (mg/l)
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	85 (mg/l)
FeSO ₄ .4H ₂ O	30 (mg/l)
Sukroz	15 (mg/l)
Agar	6.5(mg/l)
Ananas Suyu	50 (ml/l)
Patates Suyu	100(g/l)

EBP reçetesi, Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından patentine başvurulmuş ve salep orkidelerinin protokorm oluşturmaya amacıyla geliştirilen EBP (Esra Bulunuz Palaz) besi yerinin hazırlanması ve tohumların bu besi yerine ekimi ise adı geçen Enstitü Müdürlüğünün Doku Kültürü Laboratuvarlarında uygulanmıştır. Çizelge 3.4.'de EBP reçetesinde yer alan kimyasallar ve ortam konsantrasyonları gösterilmektedir.

Yüzey sterilizasyonu yapılan ve steril kabin içerisinde kurumaya bırakılan paketlerin içindeki tohumların kuruduktan sonra steril pens ve bistiği yardımı ile paketler açılıp besi yerine kuruyan ve steril edilen tohumlar dökülmüştür (Şekil 3.16.).



Şekil 3.16. Tohumların EBP besi ortamına aktarımı

3.2.1.4. Farklı besi ortamlarının tohumların çimlenme ve protokorm oluşturma üzerine etkilerinin belirlenmesi

Yüzey sterilizasyonunun ardından *Serapias vomeracea*, *Ophrys apifera* ve *Anacamptis pyramidalis* türlerinin olgun tohumlarının, kullanılacak besi ortamlarını içeren kültür kaplarına ekimleri yapılmıştır. Ekimden sonra 2 ay (çimlenme) veya 3 ay

boyunca (protokorm oluşturma) 23 ± 1 °C sıcaklıkta 16/8 saat fotoperiyotda ve $32\text{ }\mu\text{mol s}^{-1}\text{ m}^{-2}$ ışık rejimine ayarlanan iklimlendirme dolabında inkübe edilmiştir. Kùltür kaplarının, her bir türün denenen besi ortamlarındaki çimlenme sürelerinin belirlenebilmesi için günlük periyotlarda kontrollü olarak takibi yapılmıştır. Ekim işleminden 60 gün sonra kùltür kaplarındaki çimlenen tohum sayısı tespit edilerek, canlı tohum sayısına göre çimlenme yüzdeleri belirlenmiştir. 90 gün sonunda tekrar sayım yapılp protokorm oluşturma yüzdeleri tespit edilmiştir (Bektaş, 2014).

3.2.1.5. Aklimatizasyon

Çimlendirildikten sonra toprak üstü kısımları ve kök oluşumları gerçekteşen *Serapias vomeracea*, *Ophrys apifera* ve *Anacamptis pyramidalis* türlerine ait fideler, besi ortamlarından alınarak toprak koşullarına aktarılmıştır. Toprak koşullarına aktarılan fidelerin belirlenen zaman dilimlerindeki canlılık durumları ve gelişimleri gözlenmiştir. Toprak türü olarak ticari olarak satılan torf ortamı kullanılmıştır. *In vitro*'da üretilen orkide fidelerinin dış koşullara aktarılması sırasında fazla kayıp olmaması için fidelerin kademeli olarak dış ortamlara adaptasyonları gerçekteştirilmiştir. Bunun için ilk olarak sterilize edilen torf ortamına fideler dikilip bu ortamda canlılıklarını sürdüren fideler daha sonra dış koşullara (sera koşullarına) dikilmiştir.

Tesadüfen seçilen 10 adet bitkinin toprak üstü aksamı tamamen kuruduktan sonra, yumrular hasat edilerek, temizlenmiş, tartılmış ve elde edilen verilerden bitki başına verim hesap edilmiştir.

3.2.2. Tarla ve sera deneme yöntemi ve alınan gözlemler

Orchidaceae familyasından yumrulu salep orkidelerinin etkin üretimi henüz sağlanamamıştır. Bu nedenle bu familyaya ait tüm türler, ulusal ve uluslararası anlaşmalarla dünya çapında koruma altına alınmıştır. Bu çalışmada, *Serapias vomeracea*, *Ophrys apifera* ve *Anacamptis pyramidalis* türlerinin sürdürülebilir bir üretim yöntemi denenmiş ve bitkilerin bir vejetasyon döneminde daha fazla yumru üretme potansiyeli gözlemlenmiştir. Bu amaçla ilk kez 2021 yılında Doç. Dr. Ömer ÇALIşKAN ve arkadaşlarının salep orkidesi türlerinden *Serapias orientalis* (Greuter) H. Baumann & Kunkele için sürdürülebilir yeni bir üretim yöntemi olarak çalıştıkları araştırma sonucunda 'sök ve yeniden dik' olarak adlandırdıkları yöntem (Çalışkan ve

ark., 2021) kullanılmıştır. Bu yöntemin 3 farklı çiçeklenme döneminde (çiçeklenme başlangıcı, % 50 çiçeklenme ve çiçeklenme sonunda) ve hiç uygulanmayan kontrol parsellerinden araştırmada kullanılan türlerin bazı verim kriterlerine olan etkileri gözlemlenmiş ve elde edilen bulgular açıklanmıştır.

3.2.2.1. Tarla ve sera deneme deseni ve yumruların dikim yöntemi

Projenin ilk yılında, ülkemizde salebin doğal olarak yetiştiği Samsun-Terme’de tarla ve Ankara-Türkiye Milli Botanik Bahçesi Müdürlüğünde sera denemeleri kurulmuştur. Denemeler, tesadüf bloklarında bölünmüş parseller deneme desenine göre hem tarla hem sera koşullarında 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Her tekerrürde;

- 3 türe ait kontrol parselleri (sök-dik uygulanmayan)
- 3 türün çiçeklenme başlangıcında sök-dik yönteminin uygulandığı parseller
- 3 türün % 50 çiçeklenme döneminde sök-dik yönteminin uygulandığı parseller
- 3 türün çiçeklenme sonunda sök-dik yönteminin uygulandığı parseller olmak üzere 12 parsel olup 3 tekerrürlü uygulamayla toplam 36 parsel düzenlenmiştir.

Tarla Hazırlığı: Salep üretimi yapılan alanlarda kurulacak olan deneme alanı dikim öncesi havalandırılarak uygun tarla yatağı hazırlanmıştır. Toprak işleme öncesi toprak yüzeyine yanmış ahır gübresi serilerek ve toprak işleme ile birlikte karıştırılmıştır. Tarla denemesi için dikim yastığının her iki yanı derinden pulluk ile karık açılmıştır. Böylelikle yastık yüksekliği 20 cm olup, yastık yüzeyine ters V şeklinde hafif bir eğim verilerek fazla suyun tahliyesi sağlanmıştır. Zira salep yumrularının toprak altında kalması çeşitli mantari hastalıklara neden olmaktadır. Sıra arası ve sıra üzeri 10 cm olacak şekilde bir mukavva kartona 20 mm çapa sahip yumruların geçeceği şekilde delikler açılmış olup eni 1 m ve boyu 1 m olan parsellere aynı büyüklükte yerleştirilen bu mukavvadaki deliklerden yumruların dikimi yapılmıştır (Şekil 3.17).

Sera Hazırlığı: Tam kontrollü serada bulunan 25 cm derinliğindeki tavalara hazırlanan toprak harcı (2:1:2:2 ölçeğinde sırasıyla steril torf+perlit+orman toprağı+nehir kumu) doldurularak, parsel büyüklüğü 1 m², 3 tekerrürde toplam 36 adet parsel olup, her tür için 1200’er yumru olmak üzere toplam 3600 adet yumru dikilmiştir.

Her iki denemenin araştırma dönemi süresince yabancı ot kontrolü yapılmış, tarla denemesi lokasyon itibariyle yağışlı bölgede olduğu için ilave sulama yapılmamış olup sera denemesinde gerektiğinde sulama yapılmıştır. Her iki denemeninde yabancı ot alma işlemleri düzenli olarak yapılmıştır (Şekil 3.18).



Şekil 3.17. 10*10 cm dikim normunda tasnifi yapılan dikime hazır salep yumruları



Şekil 3.18. Çıkış başlangıcında yabancı ot alımı

3.2.2.2. Tarla ve sera denemelerinde salep orkidelerinden alınan gözlem ve yöntemleri

Denemelerden fenolojik olarak çıkış ve çiçeklenme tarihleri ile çıkış süresi, çiçeklenme süresi, çiçeklenme periyodu gün olarak aşağıda yazılan yöntemlere göre belirlenmiştir.

1. Çıkış Tarihi

Her parselde % 70 çıkışın sağlandığı tarih belirlenmiştir.

2. Çıkış Süresi (gün)

Her parselde, dikim tarihinden itibaren % 70 çıkışın sağlandığı tarihe kadar geçen süre, gün olarak belirlenmiştir.

3. Çiçeklenme Tarihi

İlk çiçeklenmenin başladığı tarih gün olarak kaydedilmiştir.

4. Çiçeklenme Süresi (gün)

Parsellerde, çıkıştan itibaren çiçeklenme başlangıcına kadar geçen süre, gün olarak belirlenmiştir.

5. Çiçeklenme Periyodu (gün)

Parsellerde çiçeklenme başlangıcından, sonuna kadar geçen süre, gün olarak belirlenmiştir.

6. Vejetasyon Süresi (gün)

Parsellerde, çıkıştan toprak üstü bitki aksamının tamamen kurduğu tarihe kadar geçen süre, gün olarak belirlenmiştir.

7. Bitki Boyu (cm)

Tesadüfi olarak seçilen 10 bitkide toprak seviyesinden itibaren gövde ucuna kadar olan kısım, cm cinsinden ölçülerek ortalamaları alınmıştır.

8. Bitkide Yaprak Sayısı (adet/bitki)

Bitkilerde sararma başladığında, tesadüfi olarak seçilen 10 bitkide yaprak sayısı sayılarak ortalamaları alınmıştır.

9. Bitki Başına Çiçek Sayısı (adet/bitki)

Her parselden tesadüfi olarak seçilen 10 bitkide çiçek sayısı sayılarak ortalamaları alınmıştır.

10. Yavru Yumru Sayısı (adet/bitki)

Kontrol parsellerinde tesadüfi olarak seçilen 10 adet bitkiden hasat edilen yavru yumru sayısının aritmetik ortalaması, sök-dik işleminin yapıldığı parsellerde 1. ve 2.

hasat zamanlarında tesadüfi olarak seçilen 10+10 bitkinin yumru sayısı toplanarak 10'a bölünmesi ile elde edilen sayı tespit edilmiştir.

11. Bitki Başına Yumru Ağırlığı (g/bitki)

Kontrol parsellerinde tesadüfi olarak seçilen 10 adet bitkiden hasat edilen yavru yumru sayısının ağırlığının aritmetik ortalaması, sök-dik işleminin yapıldığı parsellerde 1. ve 2. hasat zamanlarında tesadüfi olarak seçilen 10'ar bitkinin hasat edilen yumru ağırlıkları toplanarak 10'a bölünmesi ile elde edilen sayı tespit edilmiştir. Hasat edilen yumrular temizlendikten sonra tartılmış ve elde edilen verilerden bitki başına ağırlığı hesap edilmiştir.

12. Yumru Büyüklüğü (En-Boy-Yükseklik) (mm)

Türlere ait hasat edilen yumrulardan tesadüfi olarak seçilen 30 adet bitkinin oluşturduğu yeni yumrunun en, boy ve yükseklik uzunlukları kumpas ile ölçülerek mm cinsinden ölçülmüş olup aritmetik ortalamaları hesaplanarak her bir türün ortalama yumru büyüklükleri belirlenmiştir.

3.2.2.3. Tarla ve sera denemelerinden alınan gözlem ve yöntemleri

Verilerin istatistiksel analizleri Microsoft Excel (Office 2007, ToolPack Analyser) ve SPSS, Versiyon 17,0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ile yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar ve farklılıkların önem dereceleri One-way ANOVA değişken analizi Duncan testi ile 0.05 olasılık seviyesinde hesaplanmıştır.

3.2.3. Farklı salep orkide yumrularının bileşenlerine ait yapılan analizler

Ülkemizde daha çok sıcak bir içecek olan tüketilen salep, gıda sanayiinde özellikle dondurma üretiminde kullanılmaktadır. Kullanımı başlıca içerdiği etkin madde olan glikomannandan kaynaklanmaktadır. Bitkinin üretim miktarının düşük kullanım arzının yüksek olması bu bitki türlerinin ekonomik açıdan değerini artırmaktadır. Salep yetiştiriciliğinde karşılaşılan sorunlar ve özellikle veriminin çok düşük ve pahalı bir ürün haline gelmesi, salebin bileşenlerini içeren veya salep gibi stabilizatör özelliği olan alternatif ürünlerin kullanılmasına neden olmaktadır. Bu araştırmada, ülkemizde en çok toplanan ve bilinen 3 farklı salep orkidesi yumrularının bazı kalite özellikleri tespit edilmiştir. Bu kalite özelliklerinden, nişasta oranı (%), müsilaj oranı (%), protein oranı (%), nem oranı (%) ve bazı mineral madde oranları (%) incelenmiştir. Tüm oranların

belirlenmesi için çalışmada kullanılan 3 farklı salep orkide yumrularının kurutulup öğütülmesi ile elde edilen salep tozu numuneleri kullanılmıştır. Hasat edilen orta büyüklükteki salep yumruları önce yıkanıp temizlendikten sonra birbirlerine değmeyecek şekilde ipe dizme işlemi tamamlanmış daha sonra suda kaynama noktasına gelince 5 dakika daha kaynatılmıştır. Şekil 3.19’da görüldüğü üzere hafif yumuşayan ve ipe dizili olan yumrular bir hafta boyunca gölge bir yerde kurutulmaya bırakılmıştır. Sertleşen yumrular değirmende 0.5 mm’lik elekten geçebilecek incelikte öğütülerek her bir türün homojen hale getirilen salep tozu ayrı olarak paketlenmiş ve etiketlenmiştir.



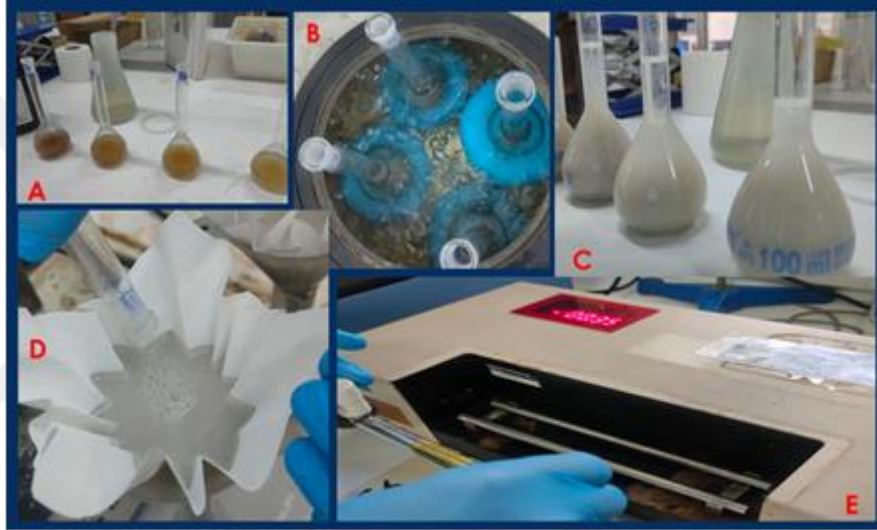
Şekil 3.19. Kurutulmaya hazır salep orkidesi yumruları, öğütülmesi ve salep tozu

3.2.3.1. Nişasta analizi

Nişasta ihtiva eden doğal salep yumrularının mevcut nişasta miktarının belirlenmesinde Konya Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü’nün nişasta tayini analiz çalışma talimatı izlenmiştir. Bu talimata göre 1 mg hassasiyetle 2,5 g öğütülmüş örnek tartılmış ve 100 ml’lik balon jojeye konmuştur. 25 ml % 1,13’lük hidroklorik asit eklenerek, test örneğinin homojen dağılımı sağlanana kadar çalkalanmış ve bir 25 ml daha % 1,13 lük HCl eklenmiştir. Balon kuvvetlice çalkalanarak 120 °C kaynayan su banyosuna yerleştirilmiş ve 15 dakika boyunca kaynamaya bırakılmıştır. Kaynamanın ilk 3 dakikasında topaklanma olmaması için balonlar su içerisinden çıkarılmadan çalkalamaya devam edilmiştir. Su banyosunda çıkarılan balonlar soğutma banyosuna konarak hemen 20 °C ye soğutulmuştur. Numunelerin berraklaşması için 10 ar ml Carrez I ve Carrez II çözeltileri eklenerek 30 sn. boyunca çalkalanmıştır. Son olarak balonlara saf su eklenerek 100 ml ye tamamlandıktan sonra karıştırılmış ve steril kabin

içerisinde filtre edilmiştir. Farklı salep türlerinin nişasta oranlarını belirlemek üzere hazırlanan numunelerden her bir türden 3 kez tüp uzunluğu 20 cm olan polarimetreye konmuş ve cihazda okunan optik sapma (P) sonucu aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Formülde yer alan saf nişastanın özel saptırma yeteneği 184.0° olarak kabul edilmiştir. Hesaplanan sonuçların aritmetik ortalaması alınarak çalışmada kullanılan her bir türün salep oranları belirlenmiştir (Şekil 3.20.).

$$\text{Nişasta \%} = \frac{2000 \times P}{\text{Saf nişastanın özel saptırma yeteneği}} \quad (3.1)$$



Şekil 3.20. Nişasta analizinin aşamaları A- Salep tozunun HCl ile muamelesi, B- Su banyosunda kaynatma, C-Carez çözeltileri ile muamele D- Süzme, E-Polorimetrede ölçme

3.2.3.2. Müsilaj analizi

Salebin kalite kriterlerinin belirlenmesinde glikomannan özelliğindeki müsilaj oranları Selçuk Üniversitesi Tıbbi Bitkiler Ana Bilim Dalı Laboratuvarında yürütülmüştür. Hazırlanan toz salep numunelerinden 1 mg hassasiyetli terazide 1'er g tartılıp 25 ml'lik mezura konmuştur. Mezür içindeki örnekler 1ml % 96'lık etanol ile muamele edilmiş son olarak 25 ml'ye kadar saf su ilave edilmiş ve mezür ağzları parafilm ile sıkıca kapatılmıştır (Şekil 3.21). Her bir tür için 3 örnek hazırlanmış olup mezürler çalkalayıcıya konmuştur.



Şekil 3.21. Müsilaj tayini için numune hazırlığı

10 dakikalık çalkalama işleminden sonra 1 saat bekletilmiştir ve 3 saat boyunca aynı işlem yapılmıştır. Örnekler 1 saat aralıkla ve 10 dakika süre ile çalkalanmış ve bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır. Son çalkalamadan 6 saat sonra çöken örneğin hacmi mezürden okunarak ortalama değer kaydedilmiştir

3.2.3.3. Nem tayini

Salep yumrularından öğütülen salep tozlarının nem oranı Selçuk Üniversitesi Tıbbi Bitkiler Ana Bilim Dalı Laboratuvarında nem tayini belirleme cihazı ile belirlenmiştir. Her bir türden 3 tekrarlamalı olarak 2'şer g hassas terazide tartılan numune (Şekil 3.22.) cihaza konmuş, 15 dakikanın sonunda okunan değerler kaydedilmiş, son olarak her bir türe ait okunan değerlerin aritmetik ortalaması hesaplanmıştır.

3.2.3.4. Mineral madde analizi

Farklı türlere ait salep yumruları öğütülerek hazırlanan salep tozlarından hazırlanan numuneler öncelikle 65 °C de iki gün süreyle etüvde bekletilmiş ve kurutulmuştur. Kurutulan numuneler 5 ml HNO₃, 2 ml H₂O₂ ile yaş yakılmış ve daha sonra ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometer) cihazında toplam K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu ve B tayinleri ölçülerek % oranları hesaplanmıştır

(Soltanpour ve Workman, 1981). Makro ve mikro besin elementi konsantrasyon değerleri için Amerikan Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü (NIST, Gaithersberg, MD, USA)’den temin edilen referans bitki materyalindeki besin elementi içeriği ile sonuçlar kontrol edilmiştir.

3.2.3.5. Ham protein analizi

Protein oranı, Kjeldahl metoduyla belirlenen hazırlanan numunelerin toplam azot miktarının 5.70 faktörüyle çarpılmasıyla (Official Method 920.87) hesaplanmış olup Selçuk Üniversitesi Toprak Bölümü Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır (AOAC, 2000).



şekil 3.22. Hassas terazide numunelerin tartımı

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Orkide tohumlarının en önemli özellikleri oldukça küçük olmaları, tohumda endospermin bulunmaması ve embriyonun gelişmemiş durumda olmasıdır. Bu tohumlar 0.25-1.2 mm uzunluğunda ve 0.09-0.27 mm genişliğinde olup 0.3-1.4 µg ağırlığındadır (Arditti, 1967). Son derece küçük olan ve endosperm taşımayan orkide tohumlarının çimlenebilmesi için düştüğü yerin mikroklimasının uygun ısı, ışık, oksijen, nem ve toprak şartlarına sahip olması gerekmektedir. Çoğalma kapasiteleri son derece sınırlı olan ve endosperm taşımayan salep orkide tohumlarının çimlenebilmesi için uygun sıcaklık, ışık, nem ve oksijenin yanı sıra, ortamda uygun bir mikorizal fungus ile mikorizal bir ilişki oluşturabilme gereği bulunmaktadır (Sezik, 1984). Çünkü orkide tohumlarının besin rezervleri içermemelerinden dolayı, glikoz gibi dışarıdan bir karbonhidrat kaynağı sağlanmadıkça başarılı bir çimlenme gerçekleşmediği belirtilmektedir (Ingold ve Hudson, 1993). Bu bağlamda simbiyotik bir çimlenme ve yaşam söz konusu olmaktadır. Orkidelerin doğada olduğu gibi çimlenmelerini beklemek oldukça yanlış olacaktır. Bu nedenle, laboratuvar koşullarında sentetik olarak hazırlanmış besi ortamlarına ekilmiş orkide tohumlarının çimlenmesi, bitkicik haline dönüşmesi ve buradan arazi koşullarına adapte olarak varlıklarını sürdürmesi, özellikle bitki gen kaynağının devamını sağlamak için atılacak en önemli adımdır. Bu nedenle laboratuvar çalışmaları simbiyotik ve asimbiyotik olarak iki yönde olmaktadır. Hem maliyeti yüksek hem de zahmetli olan bu türlü çimlendirme çalışmalarının sonuçları başarı oranında farklılık gösterdiği için atılacak adımlara yön vermesi açısından oldukça önemlidir. Bu çalışmada bilim adamlarının önceki yıllarda yaptıkları bazı çalışmalarının sonuçları bir araya getirilmiş ve değerlendirmeye sunulmuştur.

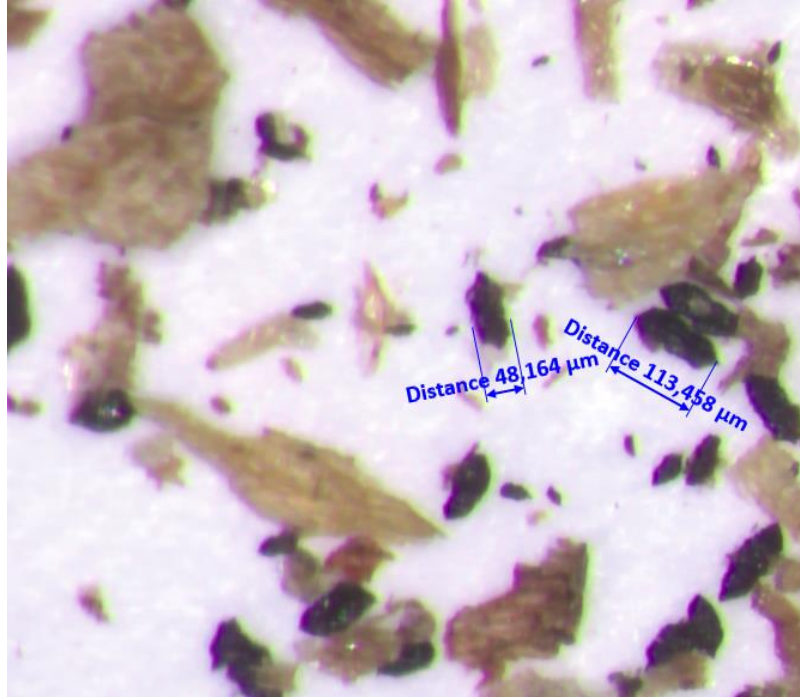
4.1. Farklı Salep Orkidelerinin Doku Kültürü Yöntemi ile Çoğaltım Çalışmasına Ait Elde Edilen Sonuçlar

4.1.1. Doku kültürü yönteminde eksplant olarak kullanılan farklı salep orkidesi tohumlarına ait bilgiler

Bu çalışmada ekonomik değeri yüksek olan salep orkidelerinin tarla koşullarında generatif üretiminde tohumlarının çimlenmeye karşı dirençli olması, vejetatif üretiminde yumru veriminin çok düşük olmasından dolayı doku kültürü koşullarında üretilmesi ve dış koşullara alıştırılması incelenmiştir. Bilindiği üzere doku kültürü

yöntemi bir başka deyişle *in vitro* kültürü; eksplant denilen bitkinin küçük bir hücre, doku veya organ (örneğin tohum) gibi kısımlarının sterilize edilerek hazırlanan besi ortamına (*in vitro*) ve uygun çevre koşullarında (ışık, nem ve sıcaklık) kültüre alınması işlemlerini kapsamaktadır (Srivastava ve Steinhauer, 1981; Gönülşen, 1987; Babaoğlu ve ark., 2001). Bu bağlamda, çalışmada kullanılan salep orkidesi türlerine ait eksplantların çimleneceği besi yerlerine kültürü yapılmış ve gelişen bitkiciklerin çevre koşullarına aktarımına ait incelemeler yapılmıştır. Eksplant olarak türlerin tohumları kullanılmıştır. Doğada uygun koşullarda bile tohumlar çimlenmeye karşı direnç göstermektedir. Bir tohum kapsülünde milyonlarca tohum olmasına rağmen bunların çok az bir kısmı yaşama imkânı bulmaktadır (Parlak ve Tutar, 2011).

Yumruları kullanılan orkideler çok fazla sayıda fusiform yani su ve hava direncine karşı gelişmiş bir vücut yapısına sahip tohumlar bırakırlar. Ancak bu tohumlar sadece testa ve embriyodan oluşmakta olup besi dokusu gelişmemiş yani endosperm bulundurmamaktadırlar (Sezik ve ark., 2007). Endospermden yoksun olmaları Orkidegiller familyasını diğer familyalardan ayıran en önemli husustur (Kurt ve Çalışkan, 2020). Bütün çiçekli bitkiler arasında en küçük tohuma sahip bitkilerdir. Ancak bu bitki türlerinin tohumlarından çimlenmeleri çok güçtür ve uzun zaman almaktadır (Mitchell, 1989; Bektaş, 2016).

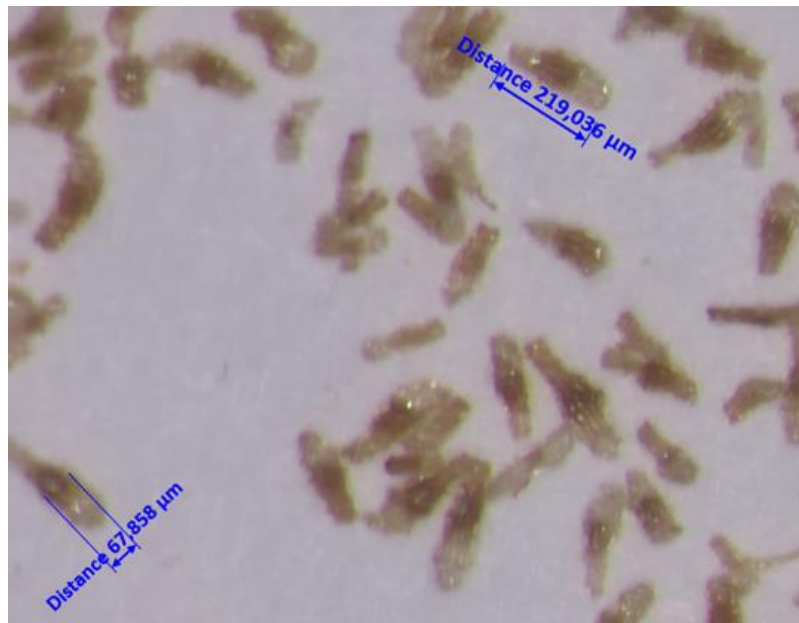


Şekil 4. 1. *Anacamptis pyramidalis* tohumlarının stereo mikroskopta görüntüsü

Kameralı stereo mikroskop altında çekilen Şekil 4.1., Şekil 4.2. ve Şekil 4.3.'de türlerin tohum boyutlarına ait fotoğrafları görülmektedir. Birçok araştırmada salep orkidelerinin tohumlarının oldukça küçük olduğu vurgulanmakta ancak boyutlarına ait sayısal değerler çok az kaynakta verilmektedir. Fotoğraflarda görüldüğü üzere 3 farklı salep orkidesinin tohum boyları 113,45 μm - 219,03 μm arasında, tohum eni ise 48,16 μm - 69,91 μm arasında değişmektedir.



Şekil 4. 2. *Serapias vomeracea* tohumlarının stereo mikroskopta görüntüsü



Şekil 4. 3. *Ophrys apifera* tohumlarının stereo mikroskopta görüntüsü

Arditti (1967) tarafından, tohum boyutlarının 0,25-1,2 mm uzunluğunda ve 0,09-0,27 mm genişliğinde, tohum ağırlığının 0,3-1,4 µg ait olduğu bildirmiştir (Arditti, 1967). Arditti ve Ghani başka bir çalışmada salep orkidelerinin bu tohum ağırlıklarının 24 µg kadar çıktığını ifade etmişlerdir (Arditti ve Ghani, 2000). Akçin ve arkadaşlarının 2009 yılında Samsun'da yaptığı çalışmada kullanılan türlerin en-boy uzunluklarına ait bulgular vermişlerdir; *A.pyramidalis*'in 0,188-0,553 mm, *O. apifera*'nın 0,173-0,656 mm ve *Serapias vomeracea* subsp. *laxiflora*'nın 0,129-0,478 mm olarak raporlamışlardır (Akçin ve ark., 2009). Çalışma kapsamında aynı lokasyonda bu türlerin tohum boyutlarına ait değerler, bu çalışmada ortaya konan değerlerden yüksek çıkmıştır.. Bununla birlikte salep orkidelerinin tohum boyutunun 150 ila 6000 µm arasında değişebildiği ancak çalışan taksonların çoğunun 300-800 µm arasında değiştiği ifade edilmektedir (Molvray ve Kores, 1995).

4.1.2. Farklı salep orkidelerinin çimlenmesi için uygun besi yerinin belirlenmesi

Ülkemizde ve dünyada kültürü yapılabilen bitki türleri dışında özellikle verimi düşük, ekonomik değeri yüksek bitki türlerinin doku kültürü yöntemi ile üretimine ait bir protokolün olması gerekmektedir. Bu çalışmada hem yumru verimi çok düşük olan hem de doğaya dökülen tohumlarının çimlenmesi uzun yıllar alan salep orkideleri için geliştirilmiş besi ortamlarında bu bitki türlerinin çoğaltım olanakları araştırılmıştır. Bu bağlamda, araştırmada türlerin olgun tohumlarının çimlendirilmesi için, farklı içeriklere sahip 2 farklı besi ortamı kullanılmıştır. İlk olarak salep orkidelerinin *in vitro* çalışmaları üzerine yapılan birçok araştırmada en yüksek çimlenme oranının sağlandığı ortamlardan olan Orchimax besi yeri kullanılmıştır. Kontamine olmayan besi yerlerinde eksplant olarak kullanılan türlerin sürgün uçları ve tohumları kültüre alınmış ancak çimlenme gözlemlenememiştir (Şekil 4.4.). Bu nedenle farklı besi ortamlarının denenmesi yoluna gidilmiştir. Bu ortamda başarı sağlanamaması durumunda ikinci bir besi ortamı olarak Kahramanmaraş Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından patentine başvuru ve yeni geliştirilen EBP besi ortamları kullanılmıştır.

Öncelikle Orchimax besi ortamında farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin ortama ilave edilmesi, her ortamdan 3 numune 3 tekrarlamalı olacak şekilde 150 ml'lik sterilize cam kavanozlara doldurulmuştur. Bütün ortamlarda pH'sı 5.5-5.8 arasında

(5.77) ayarlandıktan sonra 5 g agar ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcı ile agarın eritilmesi işlemi yapılmıştır. Hazırlanan besin ortamlarının sterilizasyonu 121°C sıcaklıkta 15 dk süre ile 1.2 atmosfer basınçta otoklavda yapılmıştır. *S. vomeracea*, *O. apifera* ve *A.pyramidalis* bitki türlerinin yüzey sterilizasyonu yapılan tohumları hazırlanan 9 cm'lik petri kaplarına dağıtılmıştır. 8 haftalık süre sonunda tohumlarda herhangi bir çimlenme ve embriyo büyümesi gözlemlenememiştir. Daha sonra aynı şekilde hazırlanan besi yerlerine eksplant kaynağı olarak türlerin sürgün uçları kullanılmış ve steril edilen sürgünler aynı şekilde hazırlanan ve otoklavlanan besi yerlerine dikilmiştir.

Farklı bitki büyüme düzenleyicileri ve farklı konsantrasyonlarının, türden türe farklılık gösterdiği de bilinmektedir. Bu çalışmada kullanılan türlerin Orchimax besi yeri ile modifiye edilen ortamlarda çimlenme olmamasının sebebi tohumlardaki embriyonun olmamasına veya tohumların dormansı ihtiyacının olmasına, çimlenmesi için gerekli olan su ve besin maddelerine karşı geçirgen olmayan sert bir tohum kabuğuna sahip olmalarından ve/veya uygulanan yüzey sterilizasyon tekniğinden kaynaklandığı söylenebilir. Farklı bir kültür ortamı olan Knudson C kültür ortamında 21 orkide türü kültüre alınmış ancak bu çalışmada da tohumlar çimlenememiştir. Daha fazla türün incelendiği bu çalışmada araştırmacı çimlenme oluşmamasının, tohumların muhafazasının çimlenme kapasitesini düşürmesinden, embriyonun duyarlılığından, çimlenme için bitki büyüme düzenleyicilerin eksik veya yetersiz olmasından ve inokülasyondan önce soğuk uygulamasının gerekliliğinden kaynaklılığından bahsetmiştir (Stoutamire, 1974).

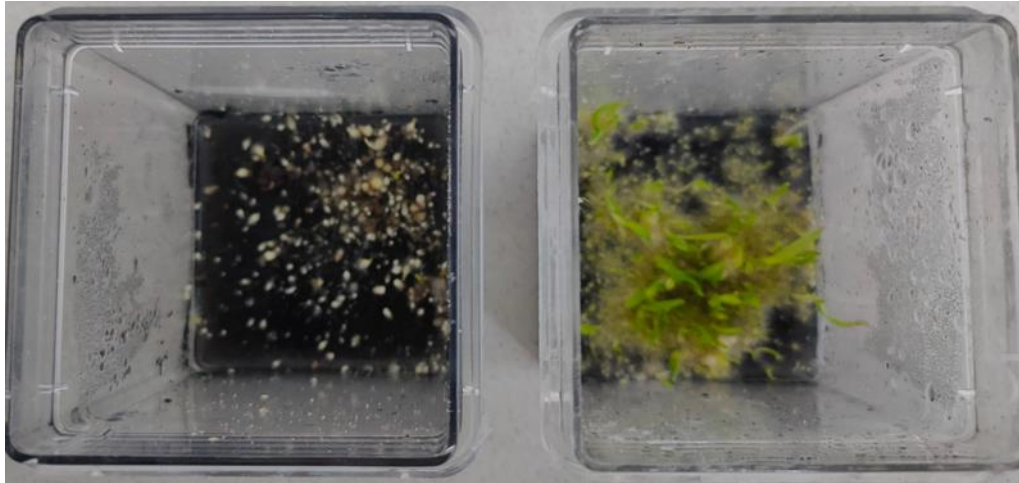


Şekil 4. 4. Konya Gıda Tarım Üniversitesi Orchimax besi yerine sürgün uçlarının dikimi

Bununla birlikte epifitik ve karasal orkide türlerinin tohumlarının çimlenmesi için farklı aydınlık ve karanlık ışık rejimlerine ihtiyaç duyduğu için her bir orkide türünün çimlenme için ışığa verdiği tepki farklıdır (Kauth ve ark., 2008). Orchimax kültürünün

kullanıldığı ortamlar 8 saat aydınlık 16 saat karanlık ışık rejimi uygulanmıştır. *In vitro* kültüründe bazı araştırmacılar karasal orkidelerin çimlenmesinin ışıktaki oluşabileceğini bildirirken bazıları ise çimlenmenin karanlıkta olabileceğini (Stewart ve Kane, 2006; Dutra ve ark., 2008), çimlenmeyi ışığın engellediğini bildirmişlerdir (Yamazaki ve Miyoshi, 2006; Quiroz ve ark., 2017).

Bu çalışmada salep orkidesi tohumlarının *in vitro* kültürle çoğaltımı için diğer bir besin ortamı olan EBP kullanılmıştır. Türlerin tohum tasnifi, yüzey sterilizasyonu yöntem bölümünde anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Hazırlanan EBP ler cam kavanozlara doldurulup otoklavlama işleminden sonra yüzey sterilizasyonu yapılan tohumların ekimi yapılmıştır. Ekim işlemi tamamlanan cam kavanozlar 2 ay çimlenme veya 3 ay boyunca protokorm oluşturma 22 ± 1 °C sıcaklıkta 16/8 saat: K/A fotoperiyotda ve $32\ \mu\text{mol s}^{-1}\text{ m}^{-2}$ ışık rejimine ayarlanan iklimlendirme dolabında inkübe edilmiştir. Kültür kaplarının, her bir türün denenen besin ortamlarındaki çimlenme sürelerinin belirlenebilmesi için günlük periyotlarda kontrollü olarak takibi yapılmıştır. Ekim işleminden 60 gün sonra kültür kaplarındaki çimlenen tohum sayısı tespit edilerek, canlı tohum sayısına göre çimlenme yüzdeleri belirlenmiştir. EBP besin ortamında çimlenen orkide tohumları Şekil 4.5.'de gösterilmektedir.



Şekil 4. 5. Çimlenen kültür kaplarından görüntü

Çalışmada kullanılan 3 salep orkidesinin hem tohum hem sürgün ucunun eksplant kaynağı olarak kullanılması ile modifiye edilmiş Orchimax besin ortamında çimlenmesi sağlanamamışken, EBP besin yerinde üç türden ikisinin çimlendiği ve protokorm oluşturduğu gözlemlenmiştir. Bu besin yerinde başarılı sonuç alınan *S.*

vomeracea ve *A. pyramidalis* türlerinin doku kültürü ile üretiminde EBP besi yerinin uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

4.1.3. Farklı salep orkidelerinin çimlenme ve protokorm oluşturmaya ait elde edilen sonuçlar

Üç farklı salep orkidesinin EBP besin ortamında kültüre alınmasından ilk çimlenen tür 44 gün sonra ve en yüksek % 85’lik oranla *Serapias vomeracea*, 58 gün sonra *Anacamptis pyramidalis* % 70 oranında çimlenirken *O. apifera* bu besi yerinde de çimlenememiştir. Bunun nedeni, her türün farklı bir ortama ihtiyaç duymasından, hatta üç türün aynı ortamda aynı ışık rejiminde olmasından dolayı çimlenme sağlanamayan türün farklı bir ışık rejimine ihtiyacı sonucuna varılmakta ya da tohum canlılık oranının düşük olma ihtimalinden kaynaklandığı söylenebilir. Kullanılan besi ortamının protokorm oluşturma yüzdesine olan etkisi bakımından değerlerin *S. vomeracea* % 76, *A. pyramidalis* % 52 olduğu her iki türün de kültür kaplarında ortalama yaklaşık % 10-15’lik kısmın protokorm oluşma evresine geçemediği gözlemlenmiştir.

4.1.4. Doku kültürü ile çimlenen tohumlardan elde edilen bitkiciklerin aklimitizasyonu

Salep orkidelerinin doku kültürü ile üretiminin uygulanabilir olması *in vitro* kültürü ile çimlenen ve büyümeye devam eden bitkiciklerin dış ortam koşullarına alıştırlarak ihtiyaç duyulan yumruları oluşturmak üzere maksimum sayıda bitkinin yetiştirilmesi gerekmektedir. Bitkilerin *in vitro* çoğaltımında dünyada ve ülkemizde yapılan başarılı sonuçlar olmakla birlikte, günümüzde salep orkidelerinin bu yöntemle kültürünün yapılmasına ait pratikte kullanılabilecek düzeye gelmemiştir. Bu nedenle, yüksek oranda EBP besi ortamında çimlenme ve protokorm oluşturan *A. pyramidalis* ve *S. vomeracea* türlerinin aklimitizasyonu denenmiştir. *In vitro* koşullarda bu türlere ait 4-6 cm ve 8-10 cm boyuna ulaşan fideler aklimitizasyon aşamasına alınmıştır.

Tam kontrollü, ortam sıcaklığı 24 ± 2 °C olan serada, *in vitro* koşullarda *S. vomeracea* ve *A. pyramidalis* türlerine ait gelişim gösteren bitkicikler, köklerindeki agarlı besin ortamından su dolu kavanozun içinde nazikçe arındırıldıktan sonra humuslu torf ile doldurulan viyollere dikilmiştir (Şekil 4.6.). Humuslu torf kullanılmasının sebebi, orkide tohumlarının çimlenme ve gelişiminde bulundukları ortamda ‘mikorizal

fungus' ile bir ortaklık kurma ihtiyacının olması (Kurt ve Çalışkan, 2020) ve mikorizal fungusların genellikle humuslu topraklarda bulunmasından (Arı, 2000) tercih edilmiştir. Salep orkidelerinin mikorizalar bitkinin besin elementi ve su alımını kolaylaştırarak türlerin sürdürülebilirliğine yardımcı olmaktadır (Sandal, 2009). Ancak burada her bitki türünün ortaklık kuracağı fungus tipi farklı olabilmektedir.

Dış koşullara dikilen bitkiciklerin gelişimlerini takiben her iki türünde örneklerinde 15 gün sonra fizyolojik solgunluk belirtileri gözlemlenmiştir. Aklimatizasyon aşamasında tüm bitkicikler maksimum 45 gün içinde tamamen solarak canlılıklarını yitirmişlerdir. Benzer çalışmalardan; *O. apiifera*'nın *in vitro* koşullarda bitkicik oluşturmadığı, ancak başka salep orkidelerinin *in vitro* koşullarda bitki çoğaltımında bir sıkıntı olmadığı ancak bu bitkilerinde toprağa aktarılmasında sıkıntılar olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Bulunuz Palaz ve ark., 2012).



Şekil 4. 6. Aklimatizasyon aşamasında yapılan işlemler

Ticarete konu ekonomik bitki türlerinin doku kültürü ile çoğaltımı aşamalarında bazı sorunlarla karşılaşilmektedir. Bu sorunlardan biri de aklimatizasyon aşaması yani *in vitro* kültürde gelişen bitkiciklerin veya fidelerin dış ortam koşullarındaki toprağa aktarılmasıdır. Aylarca *in vitro* koşullarda çimlenen ve hayatını sürdüren bir bitki için farklı bir ortamın nem, ışık, ortamdaki mikroorganizmaların varlığındaki değişkenlerin her biri stres oluşturmaktadır.

4.2. Tarla ve Sera Koşullarında Salep Orkidelerinin Üretimi

Bu tez çalışmasında, ülkemizde henüz kültürü yapılamayan ve doğada tahribatı söz konusu olan salep orkidelerinin farklı üretim yöntemleri denenmiştir. Yumru verimi düşük olan salep orkidelerinden bir vejetasyon döneminde daha fazla yumru elde etmek amacıyla hem tarla hem de tül sera koşullarında gelenekselleşmiş sök-dik yöntemi uygulanarak verim kriterleri gözlemlenmiştir. *Ophrys apifera*, *Serapias vomeracea* ve *Anacamptis pyramidalis* türlerinden alınan gözlemler fenolojik ve morfolojik gözlemler olarak değerlendirilmiştir. Tarla denemesi türlerin doğal yayılış gösterdiği Samsun'un Terme ilçesinde, sera denemesi Ankara koşullarında % 95 elek sıklığına sahip tül serada yürütülmüştür. Denemelerden alınan gözlemler ve analiz sonuçları fenolojik ve morfolojik gözlemler olarak iki başlık altında değerlendirilmiştir.

4.2.1. Farklı salep yumrularının üretiminde alınan fenolojik gözlemler

Araştırma, tarla şartlarında Terme-Samsun'da ve % 95 elek sıklığına sahip tül sera şartlarında Ankara'da olmak üzere farklı iki ortamda salep yumrularının yetiştirilmesi üzerine sök-dik işleminin faydasını belirlemek amacıyla Eylül-2021/Temmuz-2022 vejetasyon döneminde Tesadüf Bloklarında Bölünmüş Parseller Deneme Desenine göre 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. İlk yıl tarla denemesinden türlerin fenolojik ve morfolojik gözlemleri alınmış olup çiçeklenme başlangıcında, çiçeklenme ortasında (% 50 çiçeklenme) ve çiçeklenme sonunda olmak üzere 3 farklı salep türünün dikili olduğu parsellere sök-dik işlemi uygulanmıştır. İlk yıl Ankara lokasyonunda bulunan tül sera deneme alanında dikili olan türlerde çıkış sağlanmış olup, Şubat ve Mart aylarından yaşanan olumsuz hava koşullarından dolayı bitkilerde donma yaşanmıştır (Şekil 4.7.). Tıbbi, Aromatik ve Boyacı Bitkiler Yetiştiriciliğinin İyileştirilmesi Projesi kapsamında Kayseri İl Tarım ve Orman Müdürlüğü tarafından

2015-2017 yıllarında tarla koşullarında gerçekleştirilen bazı tıbbi ve aromatik bitkiler üzerinde yapılan demonstrasyon çalışmalarının sonuçlarını elde etmek için yapılan çalışmada da, salep bitkilerinde farklı ekim zamanları ve malçlama yöntemleri uygulanmasına rağmen kış şartlarının sert olması ve don zararı nedeniyle istenilen sonuçlar alınamamıştır (Yenikalaycı ve ark., 2019). Dolayısıyla salep orkide yumruları da Ankara şartlarında tül serada üzerlerine naylon çatılar yapılmasına rağmen Şubat-Mart aylarında hava derecesinin -4°C nin altına düşmesi durumunda dondan etkilenmiştir. Aynı zamanda yapılan çalışmalara göre bu bitki türlerinin epifit olmasının da bu don zararından etkilenmemesi için farklı bitkilerin içinde kendini koruması ve gelişimini sürdürmesinden kaynaklanabilir.



Şekil 4. 7. 2021-2022 Vejetasyon döneminde tül serada salep orkidelerinin çıkıştan sonra donması

Tarla koşullarında çalışmada kullanılan üç farklı salep türünün 1 Eylül 2021 tarihinde dikim işlemi gerçekleştirilmiştir. Dikim zamanından sonra türlerin Eylül sonu-Ekim ayı dönemlerinde çıkış tarihlerini belirlemek için araziye çıkılmış, çıkış süresi (gün) belirlenmiştir. Şubat-Mayıs aylarında yabancı ot kontrolleri yapılmış aynı zamanda çiçeklenmeye başlayan parsellerden çiçeklenme tarihi, çiçeklenme süresi (gün), çiçeklenme periyodu (gün) kayıt altına alınmıştır. Hasat olgunluğuna gelen bitkilerin toprak üstü kısımlarının kuruduğu, tohumların toprağa döküldüğü parsellerden vejetasyon süresi (gün) olarak belirlenmiş ve Çizelge 4.1’de sunulmuştur.

Çizelge 4.1.’de, türlere ait tespit edilen çıkış tarihi değerleri incelendiğinde tarla koşullarında en erken çıkış tarihine sahip olan *S.vomeracea*’nın en kısa çıkış süresine, en geç çıkış sağlayan *O. apifera* türünün en uzun çıkış süresine sahip olduğu anlaşılmaktadır. Sera şartlarında ise üç türünde çıkış tarihi aynı grupta olup (a), türler arasındaki çıkış süresine ait farklılıkların önemsiz olduğu görülmüştür. Salep orkide

türlerinin dikimden sonra ekolojik faktörlere bağlı olarak yaklaşık 35-50 gün içinde çıkış yaptıkları gözlemlenmiştir. Şekil 4.9.'da tarla denemesinde salep yumrularının çimlenip çıkış yaptığı döneme ait resim yer almaktadır.

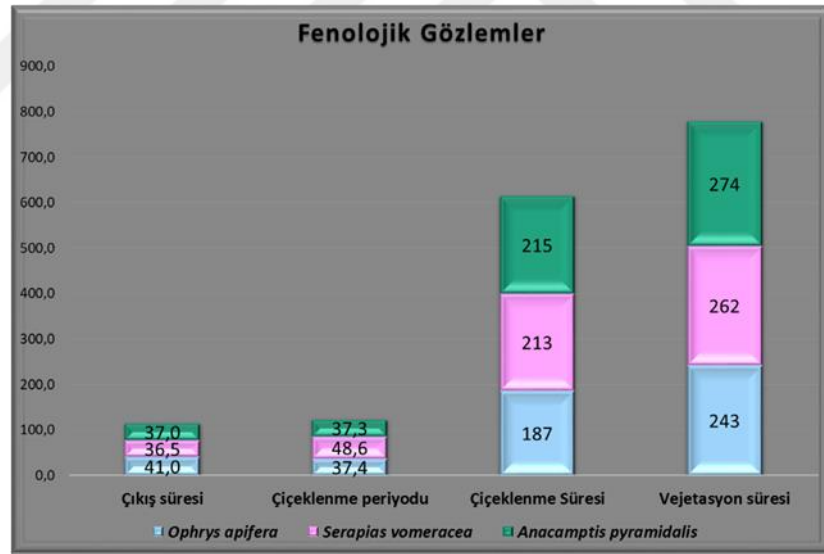
Çizelge 4. 1. Tarla koşullarından alınan fenolojik gözlemlere ilişkin veriler

Fenolojik Gözlem	<i>Ophrys apifera</i>	<i>Serapias vomeracea</i>	<i>Anacamptis pyramidalis</i>
Dikim Zamanı (tarla)	1 Eylül 2021	1 Eylül 2021	1 Eylül 2021
Dikim Zamanı (sera)	5 Eylül 2021	5 Eylül 2021	5 Eylül 2021
Çıkış Tarihi (tarla)	11 Ekim 2021	6 Ekim 2021	7 Ekim 2021
Çıkış Tarihi (sera)	1 Kasım 2021	31 Ekim 2021	2 Kasım 2021
Çıkış Süresi (gün)(tarla)	41a	36,5b	37b
Çıkış Süresi (gün)(sera)	57,3a	56,5a	57,5b
Çiçeklenme Tarihi	16 Nisan 2022	7 Mayıs 2022	19 Mayıs 2022
Çiçeklenme Süresi (gün)	187	213	215
Çiçeklenme Periyodu (gün)	37,4	48,6	37,3
Vejetasyon Süresi (gün)	243	262	274

Araştırmada kullanılan salep orkide türlerinin çiçeklenme zamanı ortalama 15 Nisan- 15 Mayıs ayları arasında gerçekleşmekte olup, bitkilerin canlı çiçekte kalma süresi 37-49 gün arasında değişmektedir. Türlerin dikimden hasada kadar geçen süre içerisinde yani bitkinin toprak üstü aksamının tamamen kurduğu tohumların olgunlaştığı döneme gelmesi için 240-280 gün geçmesi gerekmekte yani 8-9 ayda olgun salep yumruları oluşmaktadır. Ekolojik faktörlerden özellikle sıcaklık ve nem değerlerinin bu sonuçları etkilediği söylenebilir.

Yapılan araştırmalar içerisinde salep orkide türlerine ilişkin tespit edilen fenolojik gözlemler incelenecek olursa, 5 farklı salep orkidesi türünde çıkış süresinin 48-51 gün arasında değiştiği, bu çalışmada kullanılan türlerden *S.vomeracea* türünün Şanlıurfa koşullarında dikimden ortalama 49 gün sonra çıkış sağladığı belirlenmiştir (Ertaş, 2018). Bu değer Çizelge 4.1'de gösterilen türe ait elde edilen değerden yüksek olmasının nedeni ekolojik ve iklimsel faktörlerden kaynaklanmaktadır. Tarla deneme alanında yer alan parsellerde, taksonların çiçeklenme süresini belirlemek amacıyla bitkilerin çıkıştan itibaren çiçeklenme başlangıcına kadar geçen süre, gün olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.1.'de görüldüğü üzere çiçeklenme süresi en kısa olan *O. apifera* (187 gün) Nisan ortasında (16 Nisan) ilk çiçeklenen takson olup, *S. vomeracea* Mayısın ilk haftası (7 Mayıs), *A.pyramidalis* ise Mayıs sonunda (19 Mayıs) çiçeklenmiştir. Mayıs ayında çiçeklenen bu iki türün bu dönemlere paralel olarak çıkıştan 213-215 gün sonra çiçeklenmeleri gözlemlenmiştir. Şanlıurfa koşullarında *S.*

vomeracea'nın çiçeklenme süresi 183 gün olarak bildirilmiş olup aynı familyaya ait *Ophrys lutea*, *Ophrys mammosa*, *O. umbilicata* ve *O. sancta* taksonlarının çiçeklenme süreleri 197-233 gün arasında olduğu beyan edilmiştir (Ertaş, 2018). *O.apifera* ve *A.pyramidalis*'in Türkiye Bitkileri Veri Servisinde çiçeklenme zamanlarının Nisan-Haziran aylarında (Anonim, 2023b) olduğu belirtilmiş olup çalışmadaki tespit edilen çiçeklenme zamanları kayıt altına alınan dönemle (16 Nisan-19 Mayıs) uyuşmaktadır. Bazı kaynaklarda ise çiçeklenme zamanının *A.pyramidalis*'in Mart-Haziran, *O.apifera*'nın Mayıs-Haziran sonu, *S. vomeracea*'nın Mart sonu-Mayıs dönemlerinde olduğu bildirilmektedir (Sezik, 1984; Gümüş, 2009). Bu çalışmada yer alan türlerden hariç Bucak yöresinde doğal yayılış gösteren *Orchidaceae* (Orkidegiller) familyasında yer alan 13 salep orkidesi taksonlarından bazıları Mart başında çiçeklenirken, bazı taksonların Temmuz ortasına kadar çiçekte kalabildikleri belirtilmektedir (Tıgılı ve Fakir, 2017). İsviçre'deki birçok bölgede (Cenevre dâhil), *A. pyramidalis* türlerinin çiçeklenme dönemleri benzer olup Mayıs ortasından Ağustos ortasına kadar devam etmektedir (Kowalkowska ve ark., 2012).



Şekil 4. 8. Bazı salep orkide türlerinin fenolojik gözlemlerine ilişkin değerler

Çalışmada yer alan taksonların çiçeklenme periyodunu belirlemek amacıyla deneme alanındaki parsellerdeki bitkilerin çiçeklenme başlangıcından çiçeklenme sonuna kadar geçen süre, gün olarak belirlenmiştir. Bu fenolojik gözlemde, Şekil 4.8.'de görüldüğü üzere *O.apifera* ve *A.pyramidalis*'in çiçeklenme periyodu yaklaşık 37 gün sürmüştür, bu türlere nazaran daha büyük ve sağlam çiçeklere sahip *S. vomeracea*'nın

çiçeklenme periyodu 48,6 gün sürmüştür. Bu değer, Ertaş (2018)'in *S. vomeracea* türü için bildirdiği 30 gün periyodundan (Ertaş, 2018) daha uzun olmakla birlikte bu sonuçlar arasındaki farkın lokasyonlar arasındaki iklim faktörlerinden kaynaklandığı söylenebilir. Dolayısıyla daha sıcak ve daha az yağış olan bir bölgede (Güneydoğu Anadolu Bölgesi) salep orkidelerinin çiçeklenme periyodları daha fazla yağış alan daha serin ve gölgelik alanlarda (Karadeniz Bölgesi) daha uzun sürdüğü sonucunu göstermektedir.



Şekil 4. 9. Samsun-Terme lokasyonunda salep orkide türlerinin çıkış zamanı (Kasım-2022)

Genellikle salep yumrusu hasadı çiçeklenme döneminde yapılmaktadır, ancak bu durum çiçeklerin meyve bağlamadan, meyveler olgunlaşmadan ve tohum bağlamadan önce olması sebebiyle bitkinin neslini tehlikeye sokmaktadır. Dolayısıyla bitkinin toprak üstü kısımları ile fotosentez yaparak toprak altındaki yumruları besleyebildiği kadar beslemesi özellikle olgunlaşan meyvelerindeki tohumların popülasyona dökülmesi için çiçeklenme döneminden sonra toprak üstü bitki aksamının tamamen kurduğu tarihe kadar geçen süre vejetasyon süresi olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.4.'de vejetasyon süresi en kısa *O.apifera* (243 gün), en uzun *A.pyramidalis* (274 gün) olarak kaydedilmiştir. Yine (Ertaş, 2018) yaptığı çalışmada *S. vomeracea* türünün vejetasyon

süresinin 218 gün olarak bildirmiş olup bu çalışmada aynı türün daha uzun sürmesi bölgeler arasındaki sıcaklık farklılıklarından kaynaklanmaktadır.

4.2.2. Farklı salep orkidelerinden alınan morfolojik gözlemler

1.Bitki boyu (cm)

Samsun-Terme ekolojik koşullarında farklı salep türlerine farklı zamanlarda sök-dik işlemi yapılarak bitki boyuna etkileri gözlemlenmiştir. Salep türlerinin bitki boylarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.2.'de, farklı salep orkidesi türlerinde saptanan farklı zamanlarda uygulanan sök-dik işlemine göre taksonlara ait ortalama bitki boyları Çizelge 4.3.'de ve türlerin ortalama bitki boyları ve grupları Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

Çizelge 4. 2. Bazı salep orkidesi türlerinde saptanan bitki boylarına ilişkin varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	SD	KT	KO	F değeri
Tekerrür	2	0.666667	0.333333	0.022727
Tür	2	588.6667	294.3333	20.068**
Tekerrür*Tür	4	58.66667	14.66667	4
Uygulama	3	451.6389	150.5463	25.890**
Tür*Uygulama	6	572.4444	95.40741	16.407**
Hata	18	104.6667	5.814815	
Genel	35	1776.75		
CV(%):5.82;**P< 0.01				

Çizelge 4.2.'de görüldüğü üzere bitki boyları arasındaki fark, türler arasında, uygulamalar arasında ve farklı çiçeklenme dönemlerinde yapılan uygulamanın türlerin bitki boyu istatistiki olarak % 1 ihtimal sınırına göre önemli bulunmuştur. Çizelge 4.3.'de görüldüğü gibi tarla koşullarında üç salep orkidesi türüne uygulanan sök-dik işlemine göre deneme parsellerinden alınan ortalama bitki boyu değerleri 33.67-59.00 cm arasında değişmektedir. Yapılan LSD testi sonuçlarına göre ortalama bitki boyu % 1 düzeyinde 7 farklı grup oluşturmuştur. En düşük bitki boyu ortalamalarının genellikle çiçeklenme başlangıcında, en yüksek bitki boyu ortalamalarının ise çiçeklenme sonunda sök-dik işleminin uygulandığı parsellerden elde edildiği görülmektedir. Çiçeklenme dönemi sonundan sök-dik işleminin uygulandığı *Serapias vomeracea* türü 59 cm boyuna ulaşarak LSD testinde birinci grubu oluşturmuştur.

Ophrys apifera türünün bitki boyu gözlemine ilişkin elde edilen 37.33-40.67 cm değerleri; daha önce yapılan çalışmalarda bildirilen 20-50 cm (Davis ve ark., 1984), 13-47 cm (Güler, 2005), 15-60 cm (Gümüş, 2009), 15-50 cm (Paul-Marian, 2016), 20-40 cm (Nigar, 2021), değerleri ile uyushmaktadır. Ancak bu türün ayrıca 70 cm ye kadar ulaştığına ilişkin yapılan gözlemden (Paul-Marian, 2016; Kocabaş ve ark., 2022) daha düşük olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4. 3. Bazı salep orkidesi türlerinde saptanan farklı zamanlarda uygulanan sök-dik işlemine göre taksonlara ait ortalama bitki boyları

Tür/Sök-Dik Zamanı	Bitki boyu (cm)	
<i>Serapias vomeracea</i> /ÇS	59.00	A
<i>Serapias vomeracea</i> /K	51.33	B
<i>Serapias vomeracea</i> /ÇO	42.00	C
<i>Anacamptis pyramidalis</i> /ÇS	40.67	CD
<i>Ophrys apifera</i> /K	40.67	CD
<i>Ophrys apifera</i> /ÇO	39.67	CD
<i>Ophrys apifera</i> /ÇB	39.33	CD
<i>Anacamptis pyramidalis</i> /ÇO	38.67	CD
<i>Anacamptis pyramidalis</i> /K	38.67	CD
<i>Ophrys apifera</i> /ÇS	37.33	CDE
<i>Serapias vomeracea</i> /ÇB	36.00	DE
<i>Anacamptis pyramidalis</i> /ÇB	33.67	E
Ortalama:	41.42	
LSD (% 1):	4.13	

S. vomeracea türünün bitki boyu gözlemine ilişkin elde edilen 36.00-59.00 cm değerleri; 9.71-24.33 cm (Ertaş, 2018), 10-30 cm (Sezik, 1984; Gümüş, 2009; Sandal, 2009) değerlerinden yüksek çıkmıştır. Yine aynı şekilde, *Serapias vomeracea* türünün farklı dikim zamanlarında 23.88-31.17 cm, farklı hasat zamanlarında bitki boyu uzunluğu 15.62-31.33 cm (Arabacı ve ark., 2014) olduğuna ait elde edilen değerlerinden de yüksek olmakla birlikte bu türe ait ortalama bitki boyu ‘Flora of Turkey’ de 10-40 cm arasında olduğu hatta 50 cm ye kadar ulaşabildiği yine 10-40 cm (Renz ve Taubenheim, 1984) değerleri ve Bucak yöresinde çalışılan 13 farklı salep orkidesine ait bitki boylarının 8.5-61 cm arasında değişim gösterdiği (Tıgılı ve Fakir, 2017) bildirilmekte olup bu değerlerin bu çalışma ile elde edilen bulgular ile benzerlik gösterdiği anlaşılmaktadır.

Anacamptis pyramidalis türünün bitki boyu gözlemine ilişkin elde edilen 33.67-40.67 cm değerleri, 20-65 cm (Güler, 2005), 24.8-65.5 cm (Sevgi ve ark., 2012a) ve 20-

50 cm (Sezik, 1984; Gümüş, 2009) değerleri ile benzerlik göstermektedir. Flora of Turkey’de ise bitkinin ortalama bitki boyunun 20-50 cm olduğu 80 cm ye kadarda ulaşabildiği bildirilerek bu çalışmada bu türün bu değere (80 cm) kadar ulaşıldığı gözlemlenememiştir.

Çizelge 4. 4. Bazı salep orkidesi türlerine ait ortalama bitki boyları

Tür adı	Bitki boyu (cm)	
<i>Serapias vomeracea</i>	47.08	A
<i>Ophrys apifera</i>	39.25	B
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	37.91	B
Ortalama: 41.41		
LSD (% 1): 4.34		

Çizelge 4.4.’de türlerin ortalama bitki boyları iki grup oluşturduğu, *Ophrys apifera* ve *Anacamptis pyramidalis* aynı grupta yer alarak yakın değerler gösterdiği görülmektedir. Farklı zamanlarda hasat edilen *Serapias vomeracea*’nın bitki boyuna ilişkin tespit edilen 15.62-31.33 cm olarak bildirilen (Arabacı ve ark., 2017b) değer aralığı, bu çalışmada gözlemlenen ortalama değerden (47.08 cm) daha düşüktür. Başka bir orkide türünün (*O. lutea*) 30 farklı lokasyondan örnekleri toplanmış ve bitki boylarının 6.9-32.3 cm arasında değiştiği bildirilmiştir (Durmuşkahya ve ark., 2014). Dolayısıyla salep orkidelerinin bitki boyuna ilişkin gözlemlenen değerler arasındaki fark, lokasyon değişikliğine, bitkinin doğada bulunma yaşına, çimlendiği yumru büyüklüğüne, farklı dikim veya hasat zamanlarına bağlıdır denebilir.

Bitki boyuna ilişkin elde edilen bulguları genellikle literatürlerde bildirilen değerler ile benzerlik gösterse de türler arasındaki farklılıkların genetik özelliklerinden, aynı türden elde edilen değerler arasındaki farklılıkların ekolojik koşullardan ve yetiştirme tekniğinden de kaynaklandığı düşünülebilir. Örneğin; Ertaş (2019) salep orkidelerinin doğal ortamlarının daha çok orman altı, kaya gölgesi olduğu, doğal ortamda daha az ışıklı alanlarda yetiştiklerinde bitki boyunun daha uzun olacağı bildirilmiştir (Ertaş ve ark., 2019). Bu nedenle çalışmanın yürütüldüğü Şanlıurfa koşullarına nazaran Samsun’un daha serin ve fındık ağaçlarının gölgesinde olmasından dolayı bitki boyu değerlerinde farklılık olması mümkündür.

2.Bitkide yaprak sayısı (adet/bitki)

Samsun-Terme ekolojik koşullarında farklı salep türlerine farklı zamanlarda sök-dik işlemi yapılarak bitkide yaprak sayısına etkileri gözlemlenmiştir. Salep türlerinin bitkide yaprak sayısına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5.'de, salep türlerinin ortalama yaprak sayıları ise Çizelge 4.6.'da verilmektedir.

Çizelge 4. 5. Bazı salep orkidesi türlerinde saptanan bitkide yaprak sayısına ilişkin varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	SD	KT	KO	F değeri
Tekerrür	2	4.666667	2.333333	1.647058824
Tür	2	21.16667	10.58333	7.470*
Tekerrür*Tür	4	5.666667	1.416667	4
Uygulama	3	6.972222	2.324074	3.06097561
Tür*Uygulama	6	2.611111	0.435185	0.573170732
Hata	18	13.66667	0.759259	
Genel	35	54.75		
CV(%):13.57;*0.01<P<0.05				

Çizelge 4.6.'da görüldüğü üzere bu araştırmada deneme parsellerine farklı zamanlarda uygulanan sök-dik işleminin salep türlerinin yaprak sayılarına ait etkisi bulunmamaktadır. Farklı salep orkidelerinin kullanılması sebebiyle türlere ait değerler istatistiki olarak % 5 ihtimal sınırına göre önemli bulunmuştur.

Çizelge 4. 6. Bazı salep orkidesi türlerine ait ortalama bitki başına yaprak sayısı

Tür adı	Bitkide yaprak sayısı (adet/bitki)	
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	7.50	A
<i>Ophrys apifera</i>	5.92	B
<i>Serapias vomeracea</i>	5.83	B
Ortalama: 6.42		
LSD (% 5): 1.34		

Tarla koşullarında 3 farklı salep orkidelerine ait ortalama bitki başına yaprak sayısı 5.83-7.50 arasında değişmektedir. Yapılan LSD testi sonuçlarına göre ortalama bitki başına yaprak sayısı % 5 düzeyinde 2 farklı grup oluşturmuştur (Çizelge 4.6.). *O.apifera* ve *S.vomeracea* türlerinin bitki başına yaprak sayıları yaklaşık 6 adet olup

aynı grupta yer alırken *A.pyramidalis* türünün bitki başına yaprak sayısı 7.5 adet olup LSD testinde birinci grubu oluşturmuştur.



Şekil 4. 10. Salep orkidesi yaprakları

Bitki başına yaprak sayısına ilişkin bulgular ile aynı türlere ait literatürler de bildirilen değerlerin karşılaştırılması yapıldığında; bitki başına *O.apifera* türünün 5-9 adet (Gümüş, 2009), 6-8 adet (Güler, 2005), ortalama 6 adet (Aybeke, 1997); *S. vomeracea* türünün 4-6 adet (Gümüş, 2009; Sandal, 2009); *A. pyramidalis* türünün 5-9 adet (Gümüş, 2009), 2-14 adet (Sevgi ve ark., 2012b), 7-15 adet (Güler, 2005) olarak bildirilen bulgular bu çalışmanın bulguları ile örtüşmektedir. *S. vomeracea* 'nın 3.50 adet yaprak sayısına sahip olduğu (Ertaş, 2018) verisi bu çalışmada elde edilen veriden (5.83 adet) daha düşük olmasının sebebi ekolojik şartlardan kaynaklanmaktadır.

3. Bitki Başına Çiçek Sayısı (adet/bitki)

Samsun-Terne ekolojik koşullarında farklı salep türlerine farklı zamanlarda sökdik işlemi yapılarak bitki başına çiçek sayısına etkileri gözlemlenmiştir. Bazı salep orkide türlerinde tespit edilen bitki başına çiçek sayısı değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.7.'de, türlerin ortalama çiçek sayılarına ilişkin değerler Çizelge 4.8.'de gösterilmektedir. Öncelikle çalışmada kullanılan türlerin çiçek yapıları birbirinden oldukça farklı olması sebebiyle bitki başına çiçek sayılarını etkileyen en önemli faktör türler arasında genetik farklılıklardan kaynaklanmaktadır.

Çizelge 4. 7. Bazı salep orkidesi türlerinde saptanan bitki başına çiçek sayısına ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	SD	KT	KO	F değeri
Tekerrür	2	1,055555556	0,527778	0,345454545
Tür	2	38064,05556	19032,03	12457,327**
Tekerrür*Tür	4	6,111111111	1,527778	4
Uygulama	3	274,7777778	91,59259	21,273**
Tür*Uygulama	6	247,7222222	41,28704	9,589**
Hata	18	77,5	4,305556	
Genel	35	38671,22222		
CV(%):6,63; **P< 0.01				

Çizelge 4.7.'de görüldüğü üzere bu araştırmada deneme parsellerine farklı çiçeklenme dönemlerinde yapılan uygulamanın (sök-dik) salep türlerinin bitki başına çiçek sayılarına ait etkisi bulunmaktadır. Bununla birlikte, genetik yapıları ve morfolojileri birbirinden tamamen farklı salep orkidelerinin kullanılması sebebiyle türlere ait değerler ve uygulamanın türlerin çiçek sayılarına etkisi istatistiki olarak % 1 ihtimal sınırına göre önemli bulunmuştur. *S.vomeracea* ve *O. apifera* türlerinin bitki başına çiçek sayısı gövde üzerinde dizili olarak 6-10 arasında değişim göstermekle birlikte *A. pyramidalis* türü, gövdenin tepe noktasında çok sık, soluk pembe-koyu mor renklerinde, 65-75 adet küçük çiçeklerin meydana getirdiği konik şeklini oluşturan bitki başağa sahiptir.

Çizelge 4.8.'de görüldüğü üzere bitki başına çiçek sayılarına ilişkin 3 grup oluşmuştur. *S.vomerecea* (9.25 adet) ve *O. apifera* (7.33 adet) türlerinin çiçek sayıları birbirlerine yakinken yukarıda bahsedilen özelliğinden dolayı *A. pyramidalis* türünün çiçek sayısı (77.25 adet) en fazla çiçek sayısına sahip olarak birinci grubu oluşturmuştur.

Çizelge 4. 8. Bazı salep orkidesi türlerine ait ortalama bitki başına çiçek sayısı

Tür adı	Bitkide çiçek sayısı (adet/bitki)	
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	77.25	A
<i>Serapias vomerecea</i>	9.25	B
<i>Ophrys apifera</i>	7.33	C
Ortalama: 31.27		
LSD (% 1): 1.40		

Daha önce yapılan çalışmalarda; *A.pyramidalis* türünün çiçek sayısının bitki başına 20-75 arasında değiştiği (Güler, 2005) bildirilmekte ve bu çalışmada bulunan ortalama değere (77.25) yakındır diğer yandan 36.04-54.56 adet/bitki (Nicoleta-Daniela ve Madoşa, 2011) değerinden yüksektir. Bunun sebebinin yumru olgunluğundan veya yaşından, bölgenin ekolojik koşullardan kaynaklandığı söylenebilir. *Serapias vomeracea* türünün bitki başına çiçek sayısının ortalama 9.25 adet olduğu sonucu; 2-10 adet/bitki(Güler, 2005) bildirdiği değer aralığında olup, 3-6 adet/bitki (Sandal, 2009) değerinden yüksek çıkmıştır. *O. apifera* türünün bitki başına çiçek sayısı üzerine tespit edilen 7.33 adet olduğu sonucu, birçok çalışmadan elde edilen sonuçla uygun veya yakındır. Örneğin; *O.apifera*'nın bitki başına çiçek sayısı; 5-7 adet (Aybeke, 1997; Paul-Marian, 2016), 6-8 adet/bitki (Güler, 2005), 2-10 adet/bitki (Sandal, 2009), 5-6 adet/ bitki (Nigar, 2021), 2-18 adet/bitki (Duman, 2010) ve 3-14 adet/bitki (Kocabaş ve ark., 2022) sonuçları literatürde yer almaktadır. Kuzey Afrika'da da arı orkidesi olarak adlandırılan *O. apifera* türünün tohum verme olgunluğuna 5 yılda geldiği, nadiren 2-3 adet çiçekli olan bitkinin 10 adet çiçek oluşturabildiği belirtilmiştir (El Mokni ve ark., 2013). Çiçek sayılarının bu kadar geniş aralıklarda olmasının sebebi popülasyon farklılığından kaynaklanmaktadır. Nitekim bir salep orkidesi türünün 30 farklı popülasyondan toplandığı bireylerde *O. lutea* 'nın çiçek sayısının bitki başına 1-10 adet arasında (Durmuşkahya ve ark., 2014) olduğu raporlanmıştır.

4.Yavru yumru sayısı (adet/bitki)

Bu çalışmada salep tarımının yapılması için bir vejetasyon dönemi içerisinde bitkinin ortalama yumru sayısını artırmak için sök-dik diye adlandırılan bir uygulama denenmiştir. Bu uygulamada amaç yumru verimi çok düşük genellikle bir yavru yumru veren salep orkidelerinden bir vejetasyon döneminde bitki başına birden fazla yumru hasat etmektir. Bu uygulama 3 farklı zamanda (çiçeklenme başlangıcı, % 50 çiçeklenme ve çiçeklenme sonu) yapılmıştır. Bitkiler dikkatlice tüm toprak altı organları ile birlikte sökülmüş, anaç yumrunun oluşturduğu yeni yumru kopartılarak alınmış ve tekrar yerine dikilmiştir. Böylelikle çalışmada kullanılan *O. apifera*, *S. vomeracea* ve *A. pyrimidalis* türlerinin tarla koşullarında farklı çiçeklenme dönemlerinde uygulanan sök-dik işleminin bitki başına yumru sayısına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.9.'de, farklı zamanlarda yapılan sök-dik uygulamasından elde edilen bitki başına ortalama yumru

sayıları Çizelge 4.10.'da, farklı zamanlarda yapılan sök-dik uygulamasının türlere ait bitki başına ortalama yumru sayısı Çizelge 4.11.'de verilmektedir.

Çizelge 4. 9. Tarla koşullarında, bazı salep orkidesi türlerine uygulanan sök-dik uygulamasının bitki başına yavru yumru sayısına ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	SD	KT	KO	F değeri
Tekerrür	2	0,000139	6,94E-05	0,008
Tür	2	0,100139	0,050069	6,269
Tekerrür*Tür	4	0,031944	0,007986	4
Uygulama	3	2,446319	0,81544	138,145**
Tür*Uygulama	6	0,159306	0,026551	4,498**
Hata	18	0,10625	0,005903	
Genel	35	2,844097		
CV(%):5,98 **P< 0.01				

Sonbaharda filizlenen salep orkideleri kışı fide olarak geçirmiş, kış mevsiminde büyüyen bitkiler bir sonraki yıl üreyecekleri yeni yumruları Mart-Nisan ayında üretmeye başlamış ve çalışmada kullanılan türler Nisan sonu-Mayıs ortası arasında çiçek açmışlardır. Her türün çiçeklenme periyotları farklılık göstermiştir. Çiçeklerin solduğu ve olgun meyvelerin oluşması, toprak üstünde bulunan bitkilerin kuruması ile vejetasyon süresinin sonuna gelinmiştir. Dikimde kullanılan ve anaç olarak tabir edilen yumrular çiçeklenmeden önce yeni yumru üretmeye başlamış ve yeni yumruyu üretirken anaç yumru da büzüşmeye, canlılığını yitirmeye başlamıştır. Toprak altında bir bitki kökünde 2 veya daha fazla yumrulardan bir tanesi anaç diğerleri ise yeni oluşan yavru yumrulardır. Her bir parselin 3 çiçeklenme döneminde oluşan anaç yumru haricinde oluşan yeni yavrular hasat edilmiş ve bitki tekrar dikilmiştir. Kontrol parsellerindeki bitkilere bu işlem uygulanmamış olup bitkiler büyümelerine devam etmiştir. Anaç yumru vejetasyon dönemi sonunda tamamen çürümüştür. Tüm parseller vejetasyon dönemi sonunda tekrar hasat edilmiştir. İki hasat yapılan parsellerde tesadüfi olarak seçilen 10'ar bitkinin yumru sayısı toplanmış ve yapılan uygulamanın bitki başına yumru sayısına etkisi belirlenmiştir. Çiçeklenme başlangıcında hiç yumru oluşturmayan bitkiler geri yerine aynen dikilmiş, sök-dik işleminden sonra bazı parsellerdeki bitkiler tekrar yumru oluşturmamakla birlikte bazı parsellerin bir kısmı bazılarında bitkilerin büyümeye devam ettiği gözlemlenmiştir. Çizelge 4.10.'da görüldüğü üzere, kaydedilen verilerden elde edilen varyans analiz sonucunda yapılan uygulamanın uygulandığı zamanlar arasındaki fark ve türlere etkisi % 1 düzeyinde

önemli çıkmıştır. 3 farklı dönem ve hiç sök-dik uygulamasının yapılmadığı parsellerden alınan bitki başına ortalama yumru sayılarına (Çizelge 4.11.) bakılacak olursa bu uygulamanın yumru sayısını artırdığı hiç uygulama yapılmayan kontrol parsellerinden daha fazla olduğu ve bu uygulamanın yumru sayısını artırdığı görülmüştür.

Çizelge 4. 10. Farklı zamanlarda yapılan sök-dik uygulamasından elde edilen bitki başına ortalama yumru sayıları (adet/bitki)

Sök-Dik Uygulama Zamanı	Yumru sayısı (adet/bitki)
Çiçeklenme başlangıcı	1.73 A
% 50 çiçeklenme dönemi	1.17 B
Konrol (sök-dik uygulanmayan)	1.13 BC
Çiçeklenme sonu	1.09 C
Ortalama: 1.28	
LSD (% 1): 0.07	

Çizelge 4.10. uygulamanın çiçeklenme başlangıcında yapılması durumunda bitki başına hasat edilen yavru yumru sayısı en fazladır (1.73 adet/bitki). Uygulamanın çiçeklenme sonunda ve % 50 çiçeklenme döneminde yapılması durumunda yumru sayıları hiç uygulama yapılmayan kontrollerden daha düşük çıkmakla birlikte birbirlerine yakın gruplarda yer almıştır.

Çizelge 4.11.'da araştırmada kullanılan *S.vomeracea*, *A. pyramidalis* ve *O. apifera* türlerinin bitki başına ait yumru sayıları en fazla çiçeklenme başlangıcında yapılan sök-dik uygulamasından elde edilerek birinci ve ikinci grubu oluşturmuşlardır. Bu uygulama ile salep orkidelerinin tarla koşullarında vejetatif olarak üretimin de bir vejetasyon döneminde kullanılan salep türleri yaklaşık bir yumru üretirken (kontroller 1-1.23), aynı vejetasyon döneminde bitki başına yaklaşık iki adet (çiçeklenme başlangıçları = 1.6-1.9) yumru alınabilmektedir. Farklı bir salep orkidesi olan *S. orientalis*'in sadece çiçeklenme başlangıcında sökölüp yeniden bitkilerin dikilerek ikinci kez yumru üretmeye zorlandığı benzer bir çalışma sonucunda kültür koşullarında bu yöntem ile salep yumrularının çoğaltılabileceği bildirilmektedir. “Sök ve yeniden dik” adını verdikleri yöntemle 100 ana yumruyu dikerek iki hasattan toplam 210 yumru elde etmiş olup, bitki başına bir büyüme mevsiminde bitki başına yaklaşık iki yumru elde etmişlerdir (Çalışkan ve ark., 2021).

Çizelge 4. 11. Farklı zamanlarda yapılan sök-dik uygulamasının türlere ait bitki başına ortalama yumru sayısı (adet/bitki)

Tür/Sök-Dik Uyg. zamanı	Yumru sayısı (adet/bitki)	
<i>Anacamptis pyramidalis</i> /ÇB	1.9	A
<i>Ophrys apifera</i> /ÇB	1.7	B
<i>Serapias vomeracea</i> /ÇB	1.6	B
<i>Anacamptis pyramidalis</i> /Kt	1.23	C
<i>Serapias vomeracea</i> /ÇO	1.2	C
<i>Ophrys apifera</i> /ÇO	1.2	C
<i>Anacamptis pyramidalis</i> /ÇS	1.16	CD
<i>Serapias vomeracea</i> /Kt	1.16	CD
<i>Anacamptis pyramidalis</i> /ÇO	1.13	CD
<i>Serapias vomeracea</i> /ÇS	1.06	DE
<i>Ophrys apifera</i> /ÇS	1.05	DE
<i>Ophrys apifera</i> /Kt	1	E
Ortalama:	1.28	
LSD (% 1):	0.13	

Salep orkidelerinin bitki başına yumru sayılarına ilişkin verilen değerler; *O. apifera* ve *A. pyramidalis* türlerinin 2 adet, *S. vomeracea*’nın 2-3 adet (Güler, 2005), diğer salep orkidelerinden *Orchis santa*’nın 1.33 adet (Arabacı ve ark., 2014), *O. mammosa*’nın 2 adet (Tıgılı ve Fakir, 2017) yumruya sahip oldukları bildirilmiştir. Bu çalışmadaki uygulama yapılmayan parsellerden elde edilen değerlere göre çalışmada kullanılan üç türün de bitki başına ortalama yumru sayılarının 2 olmadığı, nadiren *A. pyramidalis* türünde sökülen on bitkiden ikisinin 2 yeni yumru oluşturduğu, nadiren *S. vomeracea* türünde sökülen 10 bitkiden birinde 2 yumru oluşturduğu gözlemlenmiştir. Esasen yumrulu orkideler genel olarak iki yumruya sahiptirler ancak bunlardan birinin pörsümüş, küçülmüş, kahve renkli eski yumru, diğeri ise oval veya küre şeklinde, açık renkli yumru olarak tanımlanmaktadır (Sezik, 2002a). Dolayısıyla ana yumrudan çoğunlukla bir adet taze üretmek ve üretilen yeni yumruda da bir adet büyüme noktası (göz) bulunması salebin vejetatif yöntemle kültürünün yapılmasını engellemektedir. Bu yeni uygulamanın çalışmada kullanılan türlerin kültüre alınmasında kullanılması ile ilgili değerlendirme türlerin bitki başına yumru ağırlığı da göz önünde bulundurularak sonuçlar ve öneriler kısmında anlatılmıştır.



Şekil 4. 11. Hasat edilen taze salep yumruları

5. Bitki Başına Yumru Ağırlığı (g/bitki)

Tarla koşullarında *O. apifera*, *S. vomeracea* ve *A. pyramidalis* türlerine uygulanan sök-dik uygulamasının bitki başına yavru yumru ağırlıklarına ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.12’de verilmektedir. Burada türlere ait bitki başına yumru sayısı önemsiz çıkarken türlere ait bitki başına yumru ağırlığı % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4. 12. Tarla koşullarında, bazı salep orkidesi türlerine uygulanan sök-dik uygulamasının bitki başına yavru yumru ağırlıklarına ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynağı	SD	KT	KO	F değeri
Tekerrür	2	0,320556	0,160278	4,242647
Tür	2	4,028889	2,014444	53,323**
Tekerrür*Tür	4	0,151111	0,037778	4
Uygulama	3	11,59639	3,865463	179,171**
Tür*Uygulama	6	6,717778	1,11963	51,896**
Hata	18	0,388333	0,021574	
Genel	35	23,20306		
CV(%):2,68 **P< 0.01				

Genellikle tek yeni yumru oluşturan salep orkidelerinde, oluşan bu tek yumru ağırlığı elde edilecek 1 kg toz salep için sökölmesi gereken yumru yani bitki sayısını değiştirmektedir. Nitekim tür bazında olmaksızın yetiştiği bölgeye göre de değiştiği için 1 kilogramdaki yumru sayısı kuru yumru ağırlığı 0.21 g olan Antalya salebinden 4.762 adet olurken, 1 adet kuru yumru ağırlığı 1.60 g olan Maraş salebinden 625 adet

gerekmektedir (Sezik ve ark., 2007). Nitekim bu sonuç yaş yumru hesabında yaklaşık 5-7 katı kadar yumru kullanılması gerektiğini göstermektedir. Yapılan çalışmalar, salep yumrularının kurutulduktan sonra yaklaşık 2 g ağırlığında kaldığını ve ağırlığının yaklaşık % 90'nını kaybettiği ortaya çıkarmıştır (Tekinşen, 2006; Tekinşen ve Güner, 2010; Erzurumlu ve Doran, 2011; Arslan, 2023).

Çizelge 4.12'de bu çalışmada yapılan sök-dik işleminin uygulama zamanının bitki başına yumru ağırlığı ve sök-dik işleminin uygulandığı zamana göre türlere ait bitki başına yumru ağırlıkları arasındaki farklar da % 1 önemli çıkmıştır. Bu değerlere ilişkin elde edilen ortalama yumru ağırlıkları ayrı ayrı Çizelge 4.12, Çizelge 4.13. ve Çizelge 4.14 de verilmiştir.

Çizelge 4.13' de görüldüğü üzere bitki başına ortalama yumru ağırlığı *A. pyramidalis* türünde en fazla olup birinci grubu oluştururken diğer iki tür yumru ağırlıkları birbirine yakın olmaları sebebiyle ikinci grubu oluşturmuştur. Çiçeklenme ortasında sök-dik uygulamasıyla en düşük yumru ağırlığı 4.0 g ölçülmüş olup *S. vomeracea* türüne ait yumrulardan elde edilirken, en yüksek yumru ağırlığı 7.4 g *A. pyramidalis* vejetasyon dönemi sonunda bir kez hasat edilen kontrol parsellerinden elde edilmiştir. Farklı salep orkidelerinin yumru ağırlıklarının incelendiği çalışmada en düşük *Ophrys mammosa* yumrusunun 0.21-3.30 g/bitki, en fazla *Himantoglossum comperianum* türünün 8.82-18.93 g/bitki olduğu bildirilmiştir (Tıgılı ve Fakir, 2017). 18 salep orkidesine ait verim kriterlerinin incelendiği çalışmada bu çalışmada kullanılan *Anacamptis pyramidalis* türünün yaş yumru ağırlığı 5.88 g, *Ophrys apifera* 3.20 g, *Serapias vomeracea* 2.40 g, çalışılan diğer türlerden en yüksek *Orchis purpurea* 9.50 g olarak tespit edilmiştir (Çalışkan, 2019).

Çizelge 4. 13. Türler ait bitki başına ortalama yumru ağırlığı (g/bitki)

Tür adı	Yumru ağırlığı (g/bitki)
<i>Anacamptis pyrimidalis</i>	5.925 A
<i>Serapias vomeracea</i>	5.325 B
<i>Ophrys apifera</i>	5.141 B
Ortalama: 5.46	
LSD (% 1): 0.22	

Bitkilerden elde edilen taze yumru ağırlıklarına göre Çizelge 4.14.'de görüldüğü üzere yapılan sök-dik uygulaması için en uygun dönemin çiçeklenme başlangıcında

olduğu ancak ikinci kez işçilik gerektiren bu uygulamanın hiç yapılmaması durumunda yumru veriminin kontrol parselleri ile aynı grupta olması söz konusudur.

Çizelge 4. 14. Farklı zamanlarda yapılan sök-dik uygulamasından elde edilen bitki başına ortalama yumru ağırlıkları (g/bitki)

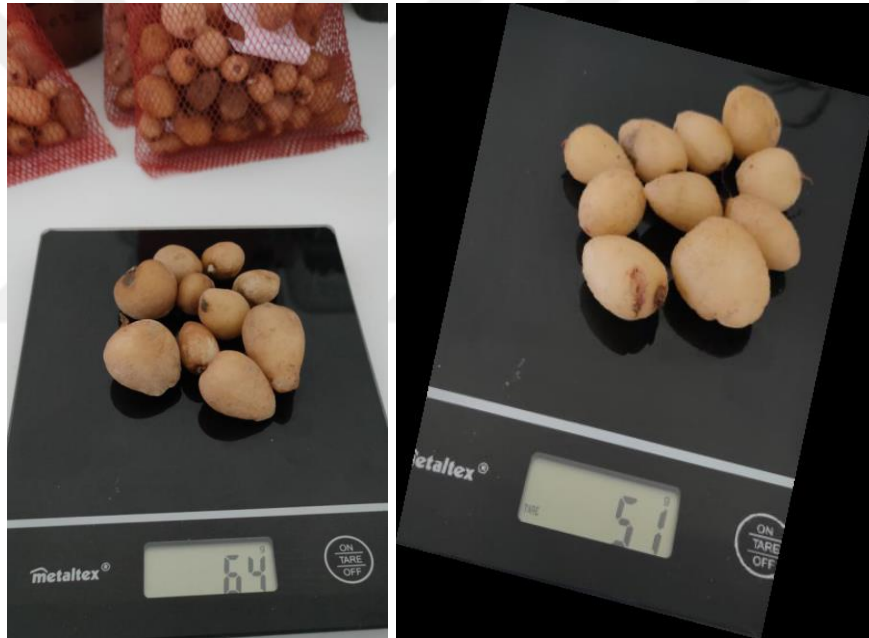
Sök-Dik Uygulama Zamanı	Yumru ağırlığı (g/bitki)
Çiçeklenme başlangıcı	6.011 A
Kontrol (sök-dik uygulanmayan)	5.866 A
Çiçeklenme sonu	5.422 B
% 50 çiçeklenme dönemi	4.555 C
Ortalama: 5.463	
LSD (% 1): 0.145	

Farklı hasat zamanlarının yaş yumru ağırlığına etkisine bakıldığı çalışmada en yüksek çiçeklenme sonunda *Orchis sancta* L. türüne ait yaş yumru ağırlığı 2.8 g/bitki olduğu bildirilmiştir (Arabacı ve ark., 2014). Türler arasındaki bu fark bitkinin geliştikçe yumrusunun gelişmesinden (Arı, 2000) kaynaklanmaktadır. Zira doğal florada çimlenen *O.apifera* türünün 1. yılında ölçülen 0.19 g taze yumru ağırlığının, 4. yılın sonunda 4.01 g değerine ulaştığına ait elde edilen sonuçta bunu göstermektedir (Kurt, 2020). Dolayısıyla her türün genetik yapısı, toprak kalitesi, bitkinin yaşı bitki başına yumru ağırlığını etkilemektedir.

Çizelge 4. 15. . Farklı zamanlarda yapılan sök-dik uygulamasının türlere ait ortalama yumru ağırlıkları (adet/bitki)

Tür/Sök-Dik Uygulaması	Yumru ağırlığı (g/bitki)
<i>Anacamptis pyramidalis</i> /Kt	7.1 A
<i>Serapias vomeracea</i> /Kt	6.53 B
<i>Anacamptis pyramidalis</i> /ÇS	6.1 C
<i>Anacamptis pyramidalis</i> /ÇB	5.9 C
<i>Ophrys apifera</i> /ÇB	5.6 D
<i>Serapias vomeracea</i> /ÇB	5.4 D
<i>Ophrys apifera</i> /Kt	5.1 E
<i>Ophrys apifera</i> /ÇS	5.1 E
<i>Serapias vomeracea</i> /ÇS	5.06 E
<i>Ophrys apifera</i> /ÇO	4.76 F
<i>Anacamptis pyramidalis</i> /ÇO	4.6 F
<i>Serapias vomeracea</i> /ÇO	4.3 G
Ortalama: 5.46	
LSD (% 1): 0.25	

Çizelge 4.15. de dikkati çeken, sök-dik uygulaması için en uygun zaman çiçeklenme başlangıcı iken *A. pyramidalis* türünün bitki başına taze yumru ağırlığı kontrol ve çiçeklenme sonunda elde edilen yumru ağırlıklarının daha fazla olduğu ve en fazla yumru ağırlığına sahip olduğu anlaşılmaktadır. Nitekim salep orkidelerinin kültürünün yapılabilmesi için yaş yumru ağırlığı en fazla türün tercih edilmesi, 1 kg salep tozu eldesi için kullanılacak yumru sayısını düşürecektir. Bununla birlikte üretim amacı tohumluk üretmek yani yumru sayısını artırmak ise sök-dik uygulamasının çiçeklenme başlangıcında yapılabileceği, ancak salep tozu üretimi için bitkinin vejetasyon süresinin sonunda bir kez hasat edilmesi, toprak altında yumrusunu büyümeye bırakılması daha uygun olacaktır. Şekil 4.12. de birinci ve ikinci hasatlardan rastgele seçilen 10 adet yumru ağırlıklarına ait resim gösterilmektedir.



Şekil 4. 12. Salep orkide yumrularının dijital terazideki ağırlığı (10 adet)

6. Yumru Büyüklüğü (En-Boy-Yükseklik) (mm)

Salep orkidelerinin üretiminde dikkat edilmesi gereken diğer bir verim kriteri yumru büyüklüğüdür. Yapılan birçok çalışmada salep yumrularının oval, küresel, küresel-ovoid, küresel-oblong gibi şekillere sahip olduğu ve yumruların boylarının ve enlerinin ölçüldüğü görülmektedir. Bu çalışmada tür bazında hasat edilen yumruların standart bir şekle sahip olmadığı aynı türün bazı yumrularının uzun oval iken bazı yumrularının küresel, bazılarının basık küre, bazılarının basık oval olduğu görülmüştür. Yumru büyüklüğünü ifade etmek için yumru uzunluğu sürgün noktasından aşağıya

kadar, yumru eni iki yönlü ölçülmüş olup en ve yükseklik değerleri kaydedilmiştir. Türlerle ait yumrular temizlendikten sonra üç yönlü uzunlukları kumpas ile ölçülmüş (Şekil 4.13.) en boy ve yükseklik değerlerinin aritmetik ortalaması Çizelge 4.16.'da verilmiştir.

Yaş yumru ağırlığı en fazla çıkan *Anacamptis pyramidalis* türünün yumruların hacimce daha iri olduğu anlaşılmaktadır. Salep orkidelerine ait yumruların şekilleri koni olarak kabul edilmiş olup yumru hacmi $\frac{1}{3}\pi r^2 h$ formülünden elde edilen sonucu 2 ile çarparak hesaplamışlardır (Sevgi ve ark., 2012c). Araştırmacılar 170 bireyden elde ettikleri taze yumru hacminin 0,08-2,46 cm³ arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Bu şekilde düşünecek olursak ($\pi=3,14$) çalışmada kullanılan salep orkidelerinin yumru hacimleri 1,8-2,4 cm³ arasında değişmekte olup sonuçlar benzerlik göstermektedir.

$$V_{Anacamptis\ pyramidalis} = \frac{1}{3} \cdot 3,14 \cdot r^2 h = \frac{1}{3} \cdot 3,14 \cdot 8^2 \cdot 18 \cong 1,2 \text{ cm}^3 \times 2 \cong 2,4 \text{ cm}^3 \quad (4.1)$$

$$V_{Serapias\ vomeracea} = \frac{1}{3} \cdot 3,14 \cdot r^2 h = \frac{1}{3} \cdot 3,14 \cdot 7^2 \cdot 17 \cong 0,9 \text{ cm}^3 \times 2 \cong 1,8 \text{ cm}^3 \quad (4.2)$$

$$V_{Ophrys\ apifera} = \frac{1}{3} \cdot 3,14 \cdot r^2 h = \frac{1}{3} \cdot 3,14 \cdot 7,5^2 \cdot 16 \cong 0,9 \text{ cm}^3 \times 2 \cong 1,8 \text{ cm}^3 \quad (4.3)$$

Salep orkidelerinin iriliklerine ait değerlerin verildiği çalışmalarda, *O. apifera* türünün yumru eninin 14 mm, yumru boyunun 24 mm olduğu (Aybeke, 1997), *Serapias vomeracea* bitkisine ait küresel-ovoid şeklindeki yumruların 7-20 mm x 9-31 mm, *Anacamptis pyramidalis* bitkisine ait küresel-oblong şeklindeki yumruların 10-18 mm x 15-25 mm, *Ophrys apifera* bitkisine ait küresel yumruların ise 13-18 mm x 1,5-2,1 cm aralıklarında olduğu bildirilmektedir (Güler, 2005). Araştırmacılar tarafından tespit edilen değerlerin bu çalışmada tespit edilen değerler ile benzer olmakla birlikte başka bir çalışmada *Anacamptis pyramidalis*' in toprak altı yumrularının 20-40 mm büyüklüğünde olduğu değeri (Duman, 2010) aynı türe ait gözlemlenen değerden (16 mm- 28 mm) yüksektir.

Çizelge 4. 16. Bazı salep orkidelerinin en, boy ve yüksekliklerine ait ortalama değerler (mm)

Tür adı	Bitkide yumru iriliği (En-Boy-Yükseklik) (mm)
<i>Ophrys apifera</i>	15-24-16 mm
<i>Serapias vomeracea</i>	14-26-17 mm
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	16-28-18 mm
Türler Ortalaması:	15-26-17 mm



Şekil 4. 13. Mekanik kumpas ile yumru boyu ölçümü

4.3. Farklı salep orkidesi yumrularının bazı kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi

Salep, Orkidegiller familyasının bazı yabancı türlerinin kurutulmuş yumrularının öğütülmesinden elde edilen bir un olarak tanımlanmaktadır (Sezik, 1984; Farhoosh ve Riazi, 2007; Citil ve Tekinsen, 2011). Salep unu, salep tozu veya sadece salep olarak adlandırılan tür bazında öğütülen numunelerden nişasta, müsilaaj, nem ve mineral madde içeriklerine ait analizler yapılmıştır. Salebin kullanılmasını sağlayan ve değerli kılan madde içeriğindeki glikomannan miktarıdır (Sezik ve Özer, 1983). Glikomannan % 16 - 55 oranında içermekte haricinde % 12 nem, % 2,7 nişasta ve % 2,4 mineral madde bulunmaktadır (Tekinşen ve Karacabey, 1984; Kaya ve Tekin, 2001; Keçeli ve Konar, 2003; Tamer ve ark., 2012). Bu bileşenlerden glikomannan ve nişasta bileşenlerinin miktarları ürünün reolojik ve yapısal özellikleri (tekstür) (Kurt ve Kahyaoğlu, 2012) ile fizikokimyasal fonksiyonlarını etkilemektedir (Tekinşen ve Güner, 2010). Yüksek stabilizasyon kapasitesine sahip olan glikomannan hidrokolloid bir maddedir (Ayar ve ark., 2009). Bu nedenle, istenilen fiziksel yapı ve kalitede dondurma, içecek ve ilaç sektöründe kullanılarak arzu edilen stabilitesini sağlamak için stabilizatör olarak

kullanılmaktadır (Wildmoser ve ark., 2004; Guti  rrez, 2010; Georgiadis ve ark., 2012; Arslan, 2023). Yüksek glikomannan içeriğine sahip saleplerden istenilen yapı ve karakterizasyona sahip dondurma yapılabilceği raporlanmıştır (Türkmen ve ark., 2021).

Bu   alı  mada Türkiye'nin Karadeniz Bölgesi'nin Samsun-Terme yöresinde yetiştirilen 3 salep orkidesi bitkisinin yumruları ayrı ayrı yöntemde anlatıldığı gibi bir dizi işlemden geçirilerek elde edilen salep tozu örneklerin bazı kimyasal bileşenleri incelenmiştir.

4.3.1. Nişasta Oranı

Endüstriyel olarak değerli bir madde olan nişasta diğer bitkilerde bulunan nişasta granüllerin yanı sıra orkidelerde yapı ve morfoloji bakımından farklılık göstermektedirler (Süngü   eker, 2022).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, nişasta oranının düşük olduğu durumlarda glikomannan oranının yüksek olduğu salep numunelerinde nişasta oranının daha düşük olduğu anlaşılmaktadır. Bununla birlikte salep tozu bileşimi, sökülen yumruların botanik, toprak tekstürü ve kimyasal yapısı, s  k  lme zamanına göre farklılıklar göstermektedir.

Araştırmada kullanılan 3 farklı salep numunesine ait ortalama nişasta oranları   izelge 4.17.'de verilmekte olup saleplerin nişasta oranlarının yaklaşık olarak % 11 ila % 39 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Çalışmada nişasta oranı en düşük çıkan *Serapias vomeracea* türünde incelendiği bir çalışmada 14 salep taksonu içerisinde en fazla glikomannan oranına sahip olduğu (% 29,15) bildirilmiştir (Acemi ve ark., 2019). En yüksek nişasta oranı ise *Ophrys apifera* türünde bulunmuştur. Türkiye'de yetişen 10 farklı salep taksonundan hazırlanan salep örneklerinden *Ophrys apifera* türünün glikomannan oranının 9,24 g /100 g çıkması sebebiyle, Maraş tipi dondurma yapımına uygun olmadığı sonucu tespit edilmiş olup glikomannan içeriği düşük olan türlerin doğadan toplanmaması ve yabani orkide bitki biyoçeşitliliğinin korunması önerilmiştir (Türkmen ve ark., 2021). Bu zamana kadar türlere ait salep örneklerinden elde edilen değerlerden, nişasta oranı düşük olan taksonların glikomannan oranının yüksek olduğu, nişasta oranının yüksek olduğu taksonların ise glikomannan oranının düşük olduğu sonucu çıkartılmaktadır. Dolayısıyla bu çalışmada da *O. apifera*'nın stabilizatör amaçlı salep tozu üretiminde kullanılmaması gerektiği, *S. vomeracea*'nın kaliteli bir salep

orkidesi olduğu aynı şekilde yaş yumru ağırlığı yüksek çıkan *A. pyramidalis*'in de salep tozu üretiminde kullanılabileceği ortaya çıkmıştır. Yumruları glikozit olan *Orchis mascula* türünün kimyasal bileşiminde % 43,67 glikomannan, % 21,92 nişasta içerdiği bildirilmiştir (Allimuthu ve Walter, 2008; Khare, 2008; Aziz ve ark., 2009; Al-Snafi, 2020). Bu çalışmada da iki kimyasal bileşenler arasındaki ters orantı görülmektedir.

Sezik (1967), orkide yumruları yüksek miktarda nişasta içeriyorsa ikinci kalite salep olarak kullanılabileceğini ifade etmekte, *Ophrys* türlerinde nişasta miktarının glikomannan miktarından fazla olduğunu söylemekte, *Orchis* türlerini ise glikomannan miktarının nişasta miktarından fazla olması sebebiyle birinci kalite salep olarak tanımlamaktadır. Araştırmacı ticari saleplerin nişasta oranının % 8,40 - % 19,13 arasında olduğunu bildirmektedir (Sezik, 1967).

Çizelge 4. 17. Bazı salep orkidelerinin ortalama nişasta oranları (%)

Tür adı	Nişasta oranı (%) $\pm$ Ö.B.
<i>Ophrys apifera</i>	% 38,91 $\pm$ 2,49
<i>Serapias vomeracea</i>	% 11,41 $\pm$ 0,73
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	% 23,91 $\pm$ 1,53
Türler Ortalaması:	%24,74$\pm$1,58

Salep bileşiminin nişasta oranının % 0.45-36.04 (Sezik, 1967), % 7.31-15.17 (Sezik ve Özer, 1983) % 5.44-38.72 (Tekinşen ve Güner, 2010), % 5.44-54.79 (Tekinşen ve Güner, 2009; Arabacı ve ark., 2017b), % 8.40-19.13 (Özkan, 1991; Tamer ve ark., 2006) aralıklarında olduğu bildirilmiştir. Tarla koşullarında yetiştirilen salep orkidelerinden *Serapias vomeracea* (Burm.Fill.) Brig. Türünde farklı dikim zamanlarının bazı kalite özelliklerine ait bulunan değerlerden nişasta oranının % 13,83-17,49 olduğu tespit edilmiştir (Arabacı ve ark., 2017b). Salep tozundan hazırlanan drog üzerinde ilk kez 1965 yılında Dragendorf tarafından kimyasal bileşenleri rapor edilmiş ve tubera salebin nişasta oranı % 24 olarak belirtilmiştir (Dragendorf, 1965; Sezik ve ark., 2007). Tüm bu çalışmalardan verilen sonuçlar çalışmada bulunan sonuçlar ile benzerlik göstermektedir.



Şekil 4. 14. Polorimetre tüpüne salep numunesinden hazırlanan solüsyonun doldurulması

Saleplerin bileşimindeki nişasta oranına ait yapılan çalışmalardan; *A. pyramidalis*'in yaklaşık nişasta oranı % 44, *O. apifera*'nın yaklaşık % 40 değerleri tespit edilmiştir (Şen, 2016). Salep orkide türlerinden biri olan *Orchis anatolica*'ya ait fiziksel, kimyasal ve yoğunlaştırıcı özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada; % 41,6 oranında nişasta belirlenmiştir (Bulut-Solak ve ark., 2017). Bu değerler çalışmada ortaya konulan değerlerden yüksektir. Salep orkidelerinin içerdiği nişasta oranlarının bu kadar geniş aralıklarda olması taksonların genotipik özelliklerin farklılığından, yetiştiği lokasyonun farklı iklim ve toprak yapılarına sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Bu değişiklik hususunda, literatürlerde orkidelerin yumrularından elde edilen salep içeriğinin yetiştiği yöreye göre farklılık gösterdiği (Sezik, 1967; Baytop ve Sezik, 1968; Sezik ve Özer, 1983; Sezik, 1984) ifade edilmiştir. Salep türlerinin çiçek, yaprak ve yumru morfolojilerindeki farklılıklar gibi bunların kimyasal içerikleri bakımından da farklı oldukları belirlenmiş ve nişasta, şeker (glikoz ve fruktoz), azotlu maddeler, glikomannan özelliğinde müsilaaj taşıdıkları tespit edilmiştir (Baytop ve Sezik, 1968). İran'a özgü iki salep türünün reolojik özellikleri üzerine yapılan bir çalışmada salep içeren formülasyonların kalitesi, kullanılan salep tozunun glikomannan ve nişasta miktarına göre farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Farhoosh ve Riazi, 2007). Türkiye'de tarla koşullarında yetiştirilen salep orkidesinin (*Orchis sancta* L.) bazı kalite

özelliklerine azotlu gübrelemenin etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan araştırmanın sonucunda; azotlu gübre uygulamalarının *Orchis sancta* L.'nin nişasta ve protein oranlarına olumlu, müsilaaj oranına olumsuz etki ettiğini ve kullanılan salebin nişasta oranını % 17.134-25.099 olduğu bildirilmiştir (Arabacı ve ark., 2017a). Bu çalışmada kullanılan *A. pyramidalis* türünün nişasta oranı ise bu değer aralıklarında çıkmıştır.

Salep yumrularında bulunan nişasta, karışımın viskozitesinin düşmesine ve bulanıklığın artmasına neden olmaktadır (Yoshimura ve ark., 1998). Salebin kalitesini içerdiği glikomannan miktarı belirlemektedir. Bu değer in yükseltilmesi için yapılan bir doktora çalışmasının sonucunda salep tozuna uygulanacak basit etanol işlemi ile safsızlık bileşenlerinin yani glikomannan dışında nişasta, protein ve kül gibi bileşenler (Xu ve ark., 2014) azaltılmasını sağlayarak salebin kalitesi artırılabilirliği önerilmiştir. Benzer bir çalışmada % 40 lık etanol uygulaması ile nişasta oranının % 36'dan % 21'e düşürülmesi sağlanmıştır (Kurt, 2017).

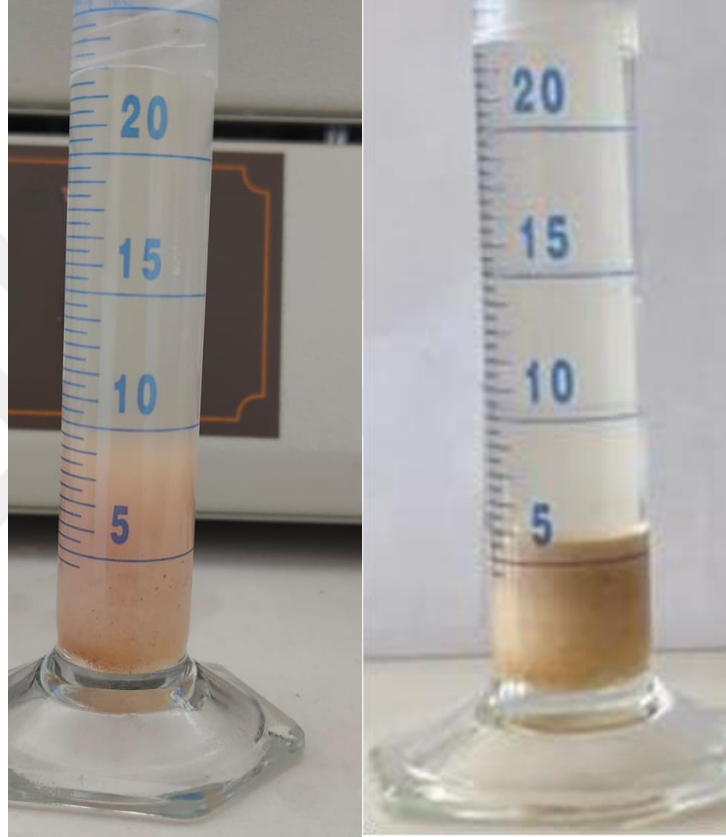
4.3.2. Müsilaaj Oranı

Çok eski zamanlardan bu yana bilinen salep; bronşit ve öksürük, mide ve bağırsak rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Kimyasal bileşiminde bulunan müsilaaj oranının yüksek olması sebebiyle dokular üzerinde yumuşatıcı etki yaparak rahatlık verdiği, özellikle kış aylarında sıcak bir içecek olarak kullanıldığında mide fonksiyonlarını düzenlediği ve tokluk hissi verdiği söylenmektedir. Çalışmada kullanılan farklı türlere ait salep tozlarının müsilaaj oranları Çizelge 4.18. de verilmektedir. Yöntem kısmında belirtildiği şekilde ölçülen değerlerin yüzde değeri hesaplanmış olup en 3 farklı salep taksonunun müsilaaj oranları birbirine yakın olmakla birlikte yaklaşık % 24-% 26 arasında ölçülmüştür.

Çizelge 4. 18. Bazı salep orkidelerinin ortalama müsilaaj oranları (%)

Tür adı	Müsilaaj oranı (%)
<i>Ophrys apifera</i>	% 26,0
<i>Serapias vomeracea</i>	% 24,0
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	% 23,9
Türler Ortalaması:	% 26,26

Çizelge 4.18’de verilen değerler; tarla koşullarında yetiştirilen salep orkidelerinden *Serapias vomeracea* türünde farklı dikim zamanlarının bazı kalite özelliklerinin incelendiği çalışmada % 18.2-20 müsilaaj oranı (Arabacı ve ark., 2017b). başka bir salep orkide türü olan *Orchis sancta* L.’nin % 16-24 (Arabacı ve ark., 2017a), % 11,62-44,04 müsilaaj oranı (Özkan, 1991; Tamer ve ark., 2006) değerleri bildirilmiş olup çalışmada bulunan değerler bu sonuçlara benzer ve çok yakın çıkmıştır.



Şekil 4. 15. Müsilaaj numunelerinin 3 saat (sol) ve 6 saat (sağ) sonraki görüntüleri

4.3.3. Nem Oranı

Çalışmada kullanılan salep tozlarının kullanıldığı türlere ait ortalama nem oranları Çizelge 4.19.’da verilmektedir. Yöntem kısmında belirtildiği şekilde ölçülen değerlerin yüzde değeri hesaplanmış olup en 3 farklı salep taksonun nem oranları birbirine yakın olmakla % 7,06 - % 8,22 arasında ölçülmüştür.

Çizelge 4.19.’da görüldüğü üzere en fazla nem *A. pyramidalis* türünde çıkmış olup genel olarak türler ortalaması % 7,52 çıkmıştır. Sezik, glikomannan miktarı nişasta miktarından yüksek, % 6-12 nem içeriğine sahip olan *Orchis* spp. ve *Anacamptis* spp.

cinsine ait salep taksonlarının salep üretimine uygun olduğunu bildirmiştir. Ayrıca salebin nem oranının önemli bir kalite parametresi olduğunu ve daha uzun süre ürünün muhafazası için bu değerin en az % 10'dan az olması gerektiğini raporlamıştır (Sezik, 1967). Nem oranı bakımından çalışmada kullanılan üç türünde salep üretimine uygun olduğu söylenebilir. Nem oranına ait bulduğumuz sonuca yakın saleplerin % 7,15 nem oranı bildirilmiştir (Kaya ve Tekin, 2001). Kaliteli bir salepte nem oranının düşük olmasının istenmesine rağmen başka bir araştırmada özellikle ticari saleplerin nem içeriklerinin daha yüksek olduğu ve İran saleplerinin nem oranlarının % 12,85-13,56 arasında olduğu raporlanmıştır (Farhoosh ve Riazi, 2007). *Orchidaceae* familyasındaki yumrulu salep orkidesi türlerinden üretilen salep tozunun nem oranlarının % 9,35-12,40 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Tekinşen ve Güner, 2010). Türlerin nem oranlarına ilişkin değişikliğin ekolojik faktörlerden özellikle topraktaki su miktarı ve bölgenin nem oranından ve genetik faktörlerden kaynaklandığı söylenebilir.

Çizelge 4. 19. Bazı salep orkidelerinin ortalama nem oranları (%)

Tür adı	Nem oranı (%)
<i>Ophrys apifera</i>	% 7,06
<i>Serapias vomeracea</i>	% 7,30
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	% 8,22
Türler Ortalaması:	% 7,52

4.3.4. Mineral Madde Oranları

Endosperm içermeyen salep orkidelerinin yaşam döngülerinde toprak şartlarının birçok önemi olduğu bunlardan ilkinin çimlenme döneminde besin ihtiyacının topraktan sağlandığı, çimlenmeden sonra yine topraktaki mikorizal mantarların besin sağladığı, akabinde yumru oluşturma döneminde toprağın fiziki ve kimyasal içeriğinin doğrudan ve dolaylı olarak etkili olduğu bildirilmiştir (Parlak ve Tutar, 2011). Dolayısıyla salep orkidelerinin yetiştiği doğadaki mikorizal mantarlarının miktarı elde edilen ürünün besin elementleri miktarını etkilemektedir.

Çalışmada kullanılan farklı türlerin salep tozlarına ait ortalama mikro besin elementlerinin (B, Cu, Fe, Mn, Zn) oranları (Ppb) ve makro besin elementleri (Ca, K, Mg, Na, P) oranları (%) Çizelge 4.20.'de verilmektedir. Yöntem kısmında belirtildiği şekilde ölçülen değerlerin yüzde değeri hesaplanmıştır. Çizelge 4.20.'de bitkiler

tarafından makro besin elementleri mikro besin elementlerine nazaran daha fazla tercih edildiği için hesaplanan elde edilen milyonda bir değer %'ye dönüştürülmüştür, ancak mikro besin elementleri miktarı çok az olması sebebiyle Ppm oranı ile verilmiştir. Çalışmada kullanılan salep orkidelerinden aynı şartlar altında yetişen diğer iki bitki türüne kıyasla *Serapias vomeracea* türü hem makro hem de mikro besin elementlerince en zengin çıkmıştır. *Ophrys apifera* ise *Anacamptis pyramidalis* türüne yakın değerlerde çıkmış olup besin elementlerince en düşük miktara sahiptir.

Çizelge 4. 20. Türler ait mikro (Ppb) ve makro besin elementleri (%)

Tür Adı	Mikro Besin Elementleri (Ppb)					Toplam Mikro Besin (Ppb)
	B	Cu	Fe	Mn	Zn	
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	6,32	5,83	155,19	11,18	13,62	192,14
<i>Ophrys apifera</i>	4,41	3,92	135,91	9,8	12,26	166,30
<i>Serapias vomeracea</i>	14,16	5,85	123,1	43,01	17,07	203,19
Tür Adı	Makro Besin Elementleri (%)					Toplam Makro Besin (%)
	Ca	K	Mg	Na	P	
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	0,41	0,65	0,06	0,07	0,25	0,28
<i>Ophrys apifera</i>	0,34	0,6	0,06	0,07	0,29	0,27
<i>Serapias vomeracea</i>	0,63	1,41	0,37	0,05	0,21	0,53

Salep orkidelerinin bileşiminde bulunan makro ve mikro besin elementlerinin analiz edildiği çalışma sayısı nişasta, protein, glikomannan gibi bileşenlerine ait yapılan analizlere nispeten çok azdır. Tanzania'da iki yabancı orkide türünün besin bileşenlerine ait yapılan çalışmada; taze salep orkide yumrularında C vitamini, kalsiyum, beta karoten, demir ve çinko bulunduğu bildirilmiştir (Lalika ve ark., 2013). Başka bir salep orkidesi olan *Dactylorhiza romana* türüne ait hazırlanan salep numunelerinin bazı makro ve mikro besin elementi içerikleri analiz edilmiş olup, elde edilen değerler : % 0,17 P, % 0,15 Ca, % 0,73 K, % 0,06 Mg, 117,62 mg.kg⁻¹ Fe, 12,91 mg.kg⁻¹ Mn, 4,05, mg.kg⁻¹ Cu ve 13,85 mg.kg⁻¹ Zn olarak tespit edilmiştir (Bulunoz Palaz ve ark., 2018). Tespit edilen bu değerler çalışmada bulunan değerlere yakın çıkmıştır.

4.3.5. Ham Protein Oranları

Tüm bitkisel gıdalarda olduğu gibi salep tozları da protein içermektedir. Bitkisel gıdalarda azot içeren bileşikler genellikle protein olarak bilinmekte ve protein miktarı

gıda içindeki mevcut azot miktarının analizine bağlıdır yani azot miktarı ile belirlenen protein oranı ham protein olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2023c).

Çalışmada kullanılan salep tozlarının bileşiminde bulunan azot miktarı 5.70 faktörü ile çarpılmış olup hesaplanan ham protein oranlarına ait değerler Çizelge 4.21.'de verilmektedir. Doğal salep türlerinin yumrularından hazırlanan örneklerdeki mevcut ham protein oranları % 5,45 - % 6,45 arasında değişim göstermektedir.

Çizelge 4. 21. Türler ait ham protein oranları (%)

Tür adı	Ham Protein Oranı (%)
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	% 5,80
<i>Ophrys apifera</i>	% 6,45
<i>Serapias vomeracea</i>	% 5,45
Türler Ortalaması:	% 5,9

Salep bileşimindeki ham protein oranına ait elde bu çalışmada edilen bulguların uyuştugu veya yakın olduğu benzer çalışmalardaki saleplerin ham proteinine ilişkin;

- Salep orkide türlerinden biri olan *Orchis anatolica*'ya ait fiziksel, kimyasal ve yoğunlaştırıcı özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada % 6.73 protein içerdiği (Bulut-Solak ve ark., 2017),
- Salep tozundan hazırlanan drog üzerinde Dragendorf tarafından hazırlanan raporda, tubera salebin bileşenlerinin % 5 protein içerdiği (Dragendorf, 1965; Sezik ve ark., 2007),
- Farklı yörelerden toplanan orkide çeşitlerinden elde edilen salep örneklerinin kimyasal analizinde % 2,70-11,83 protein içerdiği (Şen, 2016),
- Kahramanmaraş yöresinde yetişen 10 farklı salep türüne ait salebin % 3.11- 4.95 arasında protein içerdiği (Tekinşen ve Güner, 2010),
- Tarla koşullarında yetiştirilen salep orkidelerinden *Serapias vomeracea* (Burm.Fill.) Brig. türünün % 12.012-13.072 arasında protein içerdiği (Arabacı ve ark., 2017b) sonuçları bildirilmiştir.
- Azotlu gübre uygulamalarının *Orchis sancta* L.'nin protein oranının % 25.09 olduğu (Arabacı ve ark., 2017a),

Bu sonuçların çoğu, bu çalışmadan elde edilen bulgularla uyuşmakta iken son iki çalışmanın birinde farklı dikim zamanları denenmiş olup, dikim zamanı geciktikçe

protein oranının arttığı belirtilmiştir. Diğer çalışmada ise, tarla koşullarında yetiştirilen salep orkidesinin (*Orchis sancta* L.) bazı kalite özelliklerine azotlu gübrelemenin etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan araştırmanın sonucunda; azotlu gübrelemenin *Orchis sancta* L.'nin protein oranlarına olumlu etki ettiği tespit edilmiş ve protein bakımından 10 kg/da dozda gübre uygulaması önerilmiştir (Arabacı ve ark., 2017a).

Türlere ait protein miktarına ait elde edilen bulguların farklı çıkmasının nedenlerinin başında denemenin yürütüldüğü bölgenin toprak özellikleri gelmektedir. Özellikle topraktaki azot miktarından kaynaklanan farklılıklar görülmektedir. Topraktaki azot miktarı ve alımı da bölgenin iklimsel faktörlere göre değişkenlik gösterebilir. Bitkilerin büyüme mevsimi boyunca topraktaki yetersiz su ve yağış miktarı, düşük sıcaklık, sisli hava şartları gibi bitkilerin fotosentez yapmasını engelleyen durumlar da nitrat birikmesi başlamaktadır, dolayısıyla tüm bu nedenler salep orkidelerinin protein miktarlarını etkilemektedir. Ekolojik faktörlerden uygulanan gübreleme miktarı ve cinsi de azot miktarını dolayısıyla bitkilerdeki protein miktarını etkilemektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Bu çalışmada, ülkemizde yumruları salep olarak kullanılan *Serapias vomeracea* (Burm.f.) Briq., *Ophrys apifera* Huds. ve *Anacamptis pyramidalis* (L.) Rich. türlerinin doku kültürü, tarla ve sera koşullarında 2021-2022 yıllarında üretim çalışmaları denenmiştir. Araştırmada kullanılan salep türlerinin tarla ve sera şartlarında yumru dikimi ile üretiminden fenolojik, tarla şartlarında morfolojik ve kimyasal bileşenlerine ait istatistiki analizler yapılmıştır. Tarla şartlarında yürütülen denemede farklı çiçeklenme dönemlerinde bitkiler yumruları ile birlikte sökülüp olup yavru yumrusu kopartılmış, anaç yumrusuyla birlikte bitki yeniden dikilmiştir. Türlerin doku kültürü yöntemiyle üretimi, *in vitro* koşullar altında tohumları eksplant kullanılarak, çimlenme oranları, protokorm ve bitki oluşturmaları ile aklimatizasyon çalışmaları denenmiş, araştırma dönemi süresince türlerin bitkisel ve kimyasal özelliklerine ait değerler tespit edilmiş olup, üreme biyolojisi ve tarımı konusunda bilgi ve deneyim sağlanmıştır.

Bu zamana kadar yapılan çalışmalar sonucunda salep orkidelerinin generatif, vejetatif ve *in vitro* üretimini yapmak mümkündür ancak bunun için izlenebilecek bütün yöntemlerin bazı handikapları bulunmaktadır. Generatif üretiminde, çimlenmenin gerçekleşmesi için yetiştirilmesi istenen taksonun endosperm içermeyen tohumlarının çimlenmesi için besin alımını sağlayacak mikorizal mantarların bulunduğu toprak tekstürünün sağlanması gerekmektedir. Ancak bütün salep orkideleri bütün mikorizal mantarlarla uyum sağlayamamakta kendisine uygun mikorizal mantarın mevcudiyeti durumunda tohumlarının çok az bir kısmının çimlenebileceği bilgisi uzun yıllardan beri yapılan birçok çalışmanın sonucunda belirtilmektedir. Uygun koşullarda dahi bitkinin ortalama büyüklükteki yumruyu vermesi yıllar almaktadır. En kısa ortalama süre 2-4 yıl, çiçeklenmesi ve tekrar tohum oluşturmaları için en kısa ortalama süre ise 9-12 yıldır. Dolayısıyla bir tohumdan bir salep orkidesinin oluşması için uzun zaman zarfı gerekmektedir (Arditti, 1967; Sezik, 1967; Arditti, 1980; Sezik, 1984; Sezik ve ark., 2007). Bir tohum kapsülünde milyonlarca tohum olmasına rağmen bunların çok az bir kısmı yaşama imkânı bulmaktadır (Parlak ve Tutar, 2011). Bu kadar zor ve uzun zamanda oluşan yumruların toplanması, doğadaki salep popülasyonlarının azalmasına neden olmaktadır.

Vejetatif yöntemle salep orkidelerinin üretiminde çok daha hızlı yumru hasat edilebilmekte, hasat edilen taze yavru yumrular, dikilen yumrulardan nispeten biraz

daha irice olmaktadır, yani bitki doğasında her yıl bir önceki yıldan daha iri yumru oluşturmaktadır. Ancak ekonomik olarak bir bitkinin kültüre alınma sürecindeki en önemli husus kullanılan tohumluk miktarından daha fazla sayıda ürün alınmasıdır. Bu yöntemle çoğaltım çalışmalarında salep yumrularının sökümünde yaklaşık % 90'ının iki yumrulu olduğu ancak bunlardan birinin canlılığını kaybetmiş anaç yumru olması ile ele geçen taze yumru sayısı bir, geri kalan % 10'luk bitkinin de çoğunluğunun çift yumrulu birkaç tanesinin üç yumrulu olduğu gözlemlenmiştir. Verdiğiniz kadar ürün almakta olduğunuz salep orkidelerinin ilgili Devlet kurumlarından izin alınarak tarımının yapılmasında üreticiler tohumluklarını doğadan toplayarak temin etmiş olmakta, dolaylı yollardan üretildiğini göstermektedir. Salep yetiştiriciliğinde birim alandan daha fazla yumru elde etmeye yönelik farklı uygulamalar denenmektedir. Üretimin yapıldığı yörelerde bitkiler çiçeklenme döneminde sökölüp, çiçek kısımları kopartılıp yeniden yerine dikilmekte veya çiçek kısmı kopartılmadan oluşan taze yumrunun alınıp yeniden yerine dikilerek ikinci yumrunun oluşması sağlanmaktadır. Bu çalışmada da, bu uygulamanın çiçeklenmenin hangi aşamada yapılması ve faydasını belirlemek üzere türlerin verim kriterlerine ait değerleri analiz edilerek salep yetiştiriciliğinde uygulanabilirliği araştırılmıştır. Elde edilen bulgulara göre kısaca sök-dik olarak ifade edilen yöntem için en uygun zaman anaç yumrunun canlılığını koruduğu ve ikinci yumru vermeye zorlandığı dönem çiçeklenme başlangıcıdır. % 50 çiçeklenme dönemi veya % 100 çiçeklenme döneminde bitkiler söküldüğünde anaç yumrunun ikinci yumruyu üretecek güçte olmadığı, bitkilerin yapraklarının hızla kararıp öldüğü gözlemlenmiştir. Salep yetiştirme konusunda üretim amacınız eğer tohumluk üretmek ise ilk hasatta henüz tam beslenmesini tamamlamamış da olsa taze yavru yumru alınıp, ikinci hasatta tekrar yerine dikilen bitkinin anaç yumrusunun çiçeklenme başlangıcından vejetasyon dönemine kadar geçen süre zarfında oluşturduğu yumrular alınmalıdır. Dolayısıyla bir büyüme mevsiminde daha küçük ama sayıca daha fazla yumru hasadı alınabilir sonucu gözlemlenmiştir. Diğer yandan üretim amacınız eğer salep, salep tozu, glikomannan vb. elde etmek ise yumru sayısından ziyade yumru ağırlığı dikkate alınmalıdır. Çiçeklenme başlangıcında iki kez işçilik gerektiren ve iki hasatta elde edilen yumru ağırlıklarının toplamının bu uygulamanın hiç yapılmadığı kontrol parsellerine yakın olması sonucu tespit edilmiştir.

In vitro koşullarda salep orkidelerinin kültüre alınması kısaca iki aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşama, laboratuvar da steril olarak uygun besi yerine aktarılan eksplantların çimlendirilmesi ve bitkicik veya fide denilen boyutlara kadar iklim

odalarında büyütülmesidir. İkinci aşama ise üretilen fidelerin dış koşullara aktarılmasıdır. Bu çalışmada kullanılan salep türlerinin tohumları explant olarak kullanılmış, iki türde çimlenme sağlanmış, protokorm oluşumu gözlemlenmiş ve fideler elde edilmiştir. Ancak aklimatizasyonu aşamasında fidelerin tamamı fizyolojik solgunluk belirtileri ile kaybedilmiştir.

Sonuç olarak, şimdiye kadar bahsedilen salep orkidelerinin farklı üretim yöntemlerinde karşılaşılan engellere karşı dikkat edilmesi gereken hususlar öneriler kısmında verilmiştir. Ülkemizin doğal florasında yayılış gösteren ve biyolojik çeşitliliğimizin bir kısmını oluşturan salep orkidelerinin vejetatif üretiminde tohumluk ihtiyacının nasıl karşılandığı, tohumluk bir firma ya da dernekten temin ediliyorsa bu oluşumların nasıl ürettiği ve CITES'e taraf olduğumuzdan günümüze kadar geçen süreçte kontrollü olarak toplanması konusunda gerekli mevzuatlar geliştirilmiş, kanun ve yönetmelikler çıkarılmış olmasına rağmen bu bitkilerin korunmasına ve nesillerine zarar verilmeden yararlanılmalarına yönelik bazı çelişkilerin ve eksikliklerin olduğu görülmektedir.

5.2 Öneriler

Ülkemizde üretilen salebin kaynağı doğal florasında kendiliğinden yetişen salep olduğu sürece bu bitkilerin neslinin azalması hatta zamanla tükenmesi kaçınılmazdır. Bu durumda Türkiye'nin sahip olduğu mevcut biyoçeşitlilik tür sayısı azalacaktır. Dolayısıyla toplayıcılığının yasaklandığı ama yetiştiriciliğine izin verildiği bir ülkede kullanılan tohumluğun kaynağı ilgili Devlet kurum ve kuruluşları tarafından sorgulanmalı, verilen üretim izninin alanının takibi ve izlenme çalışmaları yapılmalı ve ağırlık verilmelidir.

Salep tozu üretiminde sürdürülebilirliğin sağlanması bakımından, salep orkidelerinin imha edilmeden toplanması, çiçeklenme başlangıcında bitkiye zarar verilmeden sökülüp yeniden yerine dikilmesi ve tohumunun tekrar bulunduğu doğaya aktarması ve genetik kaynaklarımızın muhafazası konusunda yöre halkına farkındalık eğitimlerinin verilmesi gereklidir.

Bitkilerin tarla koşullarında vejetatif çoğaltımında kaliteli ve verimi yüksek türün seçilmesi, gerekli kültürel işlemlerin özenle yapılması ve bu bitkilerin tarımı konusunda pratikte üreticiler tarafından kullanılabilecek bir yöntemin ortaya konması gerekmektedir.

Doğaya milyonlarca tohum bırakan salep orkidelerinin sayılarındaki azalma, çimlenmesi için gerek duyulan mikorizal mantarların topraktaki miktarı ve türleri incelenmeli, uygun toprak ıslahına yönelik çalışmalar ile salep orkideleri plantasyonları oluşturulmasına yönelik uygulamalar yapılmalıdır.

Salep orkidelerinin in vitro koşullarda üretilmesi konusundaki TÜBİTAK, Kamu Araştırma Enstitüleri, üniversiteler ve özel firmalar arasında iş birliği yapılarak kısa vadede salep üretimi için büyük ölçekli iklim odalarında salep üretimi desteklenmelidir. Uzun vadede salep yumrusu temini için in vitro koşullarda kültüre alınan ve dış koşullarda fidelerin yumru oluşturmaları için uygulamada kullanılabilecek bir aklimatizasyon protokolü oluşturulmalıdır.

Salep orkidelerinde kaliteyi belirleyen en önemli husus glikomannan/nişasta oranıdır. Bu çalışmada kullanılan türlerden *Serapias vomeracea*'nın en kaliteli olduğu, *Anacamptis pyramidalis*'in orta kalitede olduğu ancak tek yumru ağırlığının fazla olması ile kültüre alınabileceği diğer yandan bu özellikler bakımından *Ophrys apifera*'nın kültür koşullarında salep üretimine uygun bir tür olmadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle ticarete konu olan bütün tür ve alt türlerin kimyasal bileşenleri ortaya konmalıdır.

Her salep orkidesinin istenilen kalitede olmadığı göz önünde bulundurulmalıdır. Salep üretiminde kullanılan taksonların mevcut popülasyondaki varlıklarının belirlenmesine yönelik çalışmalar yürütülmeli, koruma öncelikli nadir endemik ve endemik türler belirlenmelidir. Kalitesi ortaya konan türlerin yayılış alanlarının artırılması konusunda çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Acemi, A., Çobanoğlu, Ö. ve Türker-Kaya, S., 2019, FTIR-based comparative analysis of glucomannan contents in some tuberous orchids, and effects of pre-processing on glucomannan measurement, *Journal of the Science Food Agriculture*, 99 (7), 3681-3686.
- Ağar, D., 2018, '*Barlia robertiana* (Loisel.) Greuter Salep orkide tohumlarının *in vitro* çimlenmesi', Yüksek Lisans, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 1-60.
- Akçin, T. A., Ozdener, Y. ve Akçin, A., 2009, Taxonomic value of seed characters in orchids from Turkey, *Belgian Journal of Botany*, 142 (2), 124-139.
- Al-Snafi, A. E., 2020, Pharmacological potential of *Orchis mascula*-A review, *IOSR Journal of Pharmacy*, 10 (3), 1-6.
- Allimuthu, M. ve Walter, T. M., 2008, The role of salamisri (*Orchis mascula*) in geriatric care, *Openmed [Internet]*, 1 (9), LR1-LR9.
- Anonim, 2023a, *Serapias vomeracea* (Burm.f.) Briq. [online], Bizim Bitkiler, <https://bizimbitkiler.org.tr/yeni/demos/technical/>: [Ziyaret Tarihi: 2 Şubat 2003].
- Anonim, 2023b, Türkiye Bitkileri Veri Servisi [online], TÜBİVES, http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=hizli_ara: [Ziyaret Tarihi: 13 Nisan 2003].
- Anonim, 2023c, KGP 104 Gıda Analizleri [online], https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/129178/mod_resource/content/1/7.%20hafta%20protein%20miktar%C4%B1%20tayini.pdf#:~:text=G%C4%B1da%20i%C3%A7erisinde%20azot%20ihtiva%20eden,oran%C4%B1%20ham%20protein%20olarak%20adland%C4%B1r%C4%B1l%C4%B1r.: [Ziyaret Tarihi: 15 Temmuz 2003].
- Anonim, 2023d, *Ophrys apifera* Huds. [online], Bizim Bitkiler, <https://bizimbitkiler.org.tr/yeni/demos/technical/>: [Ziyaret Tarihi: 1 Şubat 2003].
- Anonim, 2023e, *Anacamptis pyramidalis* (L.) Rich. [online], Bizim Bitkiler, <https://bizimbitkiler.org.tr/yeni/demos/technical/>: [Ziyaret Tarihi: 3 Şubat 2003].
- Anonim, 2023f, Terme Kaymakamlığı [online], <http://terme.gov.tr/iklimi-bitki-ortusu>: [Ziyaret Tarihi: 12 Nisan 2003].
- Anonim, 2023g, Meteoroloji Genel Müdürlüğü Kurumsal Web Adresinden Temin Edilen Resmi İstatistikler [online], <https://mgm.gov.tr/>: [Ziyaret Tarihi: 12 Nisan 2003].
- Anonim, 2023h, "CITES (The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) [online]." Web adresi: <http://www.cites.org/eng/resources/species.html> [Ziyaret Tarihi: 4 Nisan 2003].
- AOAC, 2000, International official methods of analysis, Gaithersburg, MD.
- Arabacı, O., Tutar, M., Özcan, İ., Öğretmen, N. ve Yıldız, Ö., 2014, Salep Orkidelerinden *Orchis sancta* L. Türünün Tarla Koşullarında Hasat Zamanının Belirlenmesi, *II. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu Bildiriler Kitabı*, Atatürk Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü-Yalova, 473-478.
- Arabacı, O., Tan, U., Yıldız, Ö. ve Tutar, M., 2017a, Determination of Effect of Nitrogen Fertilization on Some Quality Properties of Salep Orchid (*Orchis sancta* L.) Cultivated in Field Conditions in Turkey, *International Journal of Secondary Metabolite*, 4 (3, Special Issue 1), 149-154.
- Arabacı, O., Tutar, M., Yıldız, Ö. ve Tan, U., 2017b, Tarla Koşullarında Yetiştirilen Salep Orkidelerinden *Serapias vomeracea* (Burm.Fill.) Brig. üründe Farklı

- Dikim Zamanlarının Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi, *III. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu*, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü-Antalya, 97-102.
- Arditti, J., 1967, Factors affecting the germination of orchid seeds, *The Botanical Review*, 33 (1), 1-97.
- Arditti, J., 1980, Aspects of the physiology of orchids, In: *Advances in botanical research*, Eds: Elsevier, p. 421-655.
- Arditti, J. ve 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.
- Arı, E., 2000, Orkideler ve Türkiye'deki Mevcut Durum, *Derim*, 17 (3), 136-152.
- Arslan, A., 2023, Farklı yabancı orkide türlerine ait saleplerin fizikokimyasal, biyoaktif ve reolojik özelliklerinin belirlenmesi, dondurma üretiminde stabilizatör olarak kullanımı,, Doktora tezi, *Yıldız Teknik Üniversitesi*.
- Arslan, N., 2012, Salep orkidelerinin yetiştirilmesinde yeni bir ümit: salebin yumrudan üretimi, *Sağlık Çevre Kültürü Dergisi*, 6, 20-22.
- Avcı, M., 1993, Türkiye'nin flora bölgeleri ve" Anadolu Diagonali" ne coğrafi bir yaklaşım, *Türk Coğrafya Dergisi* (28), 225-248.
- Ayar, A., Sert, D. ve Akbulut, M., 2009, Effect of salep as a hydrocolloid on storage stability of 'İncir Uyutması' dessert, *Food Hydrocolloids*, 23 (1), 62-71.
- Aybeke, M., 1997, Edirne çevresindeki *Ophrys* L.(*Orchidaceae*) türleri üzerinde morfolojik, karyolojik ve palinalojik araştırmalar, Yüksek Lisans, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Trakya Üniversitesi, Edirne, 1-122.
- Aytaş, T., 1994, Bazı *Ophrys* L.(*Orchidaceae*) türlerinden simbiyotik fungusların izolasyonu ve *Ophrys apifera* Hudson tohumlarının asimbiyotik ve simbiyotik ortamlarda çimlendirilmesi üzerine bir araştırma, Yüksek Lisans, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi-Samsun, 1-52.
- Aziz, N., Mehmood, M. H., Siddiqi, H. S., Mandukhail, S.-u.-R., Sadiq, F., Maan, W. ve Gilani, A. H., 2009, Antihypertensive, antidyslipidemic and endothelial modulating activities of *Orchis mascula*, *Hypertension Research*, 32 (11), 997-1003.
- Babaoğlu, M., Yorgancılar, M. ve Akbudak, M., 2001, Bitki Biyoteknolojisi,1, Doku kültürü: temel laboratuvar teknikleri, Editörler: M. Babaoğlu, E. Gürel, S. Özcan, p. 1-35.
- Barroso, J., Fevreiro, P., Oliveira, M. ve Pais, M., 1990, In vitro seed germination, differentiation and production of minitubers from *Ophrys lutea* Cav., *Ophrys fusca* Link and *Ophrys speculum* Link, *Scientia horticultrurae*, 42 (4), 329-337.
- Baytop, T. ve Sezik, E., 1968, Türk salep çeşitleri üzerinde araştırmalar, *Journal of the Faculty of Pharmacology*, 4, 61-68.
- Baytop, T., 1999, Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, *Nobel Yayınları*, İstanbul, Türkiye.
- Bektaş, E., Cüce, M. ve Sökmen, A., 2013, In vitro germination, protocorm formation, and plantlet development of *Orchis coriophora* (*Orchidaceae*), a naturally growing orchid species in Turkey, *Turkish Journal of Botany*, 37 (2), 336-342.
- Bektaş, E., 2014, *Orchis sancta* L. ve *Serapias vomeracea* (Burm. f.) Briq. türlerinin bitki doku kültürü yöntemiyle üretimi, Yüksek Lisans, *Fen Bilimleri Üniversitesi*, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, 100.
- Bektaş, E., 2016, *Dactylorhiza urvileana*'nın in vitro asimbiyotik çimlendirilmesi ve fidelerinin oluşturulması, *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 17 (1), 89-95.

- Bernard, N., 1899, Sur la germination du *Neottia nidus-avis*, *Comptes-Rendus Hebdomadaire Scientifique de l'Académie des Sciences*, 128, 1253.
- Boissier, E., 1884, *Flora Orientalis*, 5 (*Orchidaceae*), Genevae.
- Bozdemir, H., Çığ, A. ve Türkoğlu, N., 2018, Effects of different concentrations of carbohydrate forms on *Orchis sancta* L. propagation in vitro, *Applied Ecology and Environmental Research* 16 (4), 4849-4864.
- Bozyel, M. ve Gönüz, A., 2017, Vegetative Anatomy and Morphology of *Ophrys lutea* ssp. minör in Çanakkale, *Interactive conservation platform for orchids native to Greece and Turkey (ICON) International Final Conference*, 21-34.
- Bulpitt, C., 2005, The uses and misuses of orchids in medicine, *Qjm*, 98 (9), 625-631.
- Bulunuz Palaz, E., Özdemir, A. ve Kaya, Y., 2012, Bazı salep orkide türlerine ait tohumların asimbiyotik çimlendirilmesi üzerine yapılan araştırmalar, *Türkiye*, 2, 25-26.
- Bulunuz Palaz, E., 2013, Kahramanmaraş Florasında Bulunan Bazı Salep Orkidelerinin Kültüre Alınabilme Olanakları. Sonuç raporu, T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı.
- Bulunuz Palaz, E., 2018, In vitro kültür koşullarında poliploid salep orkide bitkilerinin elde edilmesi / Obtaining polyploid orchid plants by in vitro culture conditons, Doktora, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, 169s.
- Bulunuz Palaz, E., Yılmaz, C. H., Aytıp, H. ve Büyükçingil, Y., 2018, Kahramanmaraş Doğal Florasında Yetişen Salep Orkide Bitkisinin Mineral Beslenme Özellikleri ile Yetiştigi Toprakların Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin İncelenmesi, *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 5 (4), 537-544.
- Bulut-Solak, B., Alonso-Miravalles, L. ve O'Mahony, J. A., 2017, Composition, morphology and pasting properties of *Orchis anatolica* tuber gum, *Food Hydrocolloids*, 69, 483-490.
- Citil, O. ve Tekinsen, K., 2011, A comparative study on fatty-acid composition of salep obtained from some *Orchidaceae* species, *Chemistry of Natural Compounds*, 46 (6), 943-945.
- Coşkun, A. ve Dengiz, O., 2016, Samsun terme havzası bazı temel fizyografik karakteristikleri belirlenmesi ve tarımsal taşkın alanlarının toprak haritalanması, *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 3 (1), 1-13.
- Çaglayan, K., Ozavci, A. ve Eskalen, A., 1998, Dogu akdeniz bölgesinde yaygin olarak yetisen bazi salep orkidelerinin embriyo kültürü kullanilarak in vitro kosullarda çogaltilmalari, *Tr. Journal of Agriculture and Forestry*, 22, 187-191.
- Çalışkan, Ö., 2019, Orta Karadeniz Bölgesi salep orkidesi türleri ve bazı yumru özellikleri, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 34 (1), 78-83.
- Çalışkan, Ö. ve Kurt, D., 2019, Tarihi kayıtlar ile geçmişten günümüze salep orkideleri, *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 6 (3), 349-355.
- Çalışkan, Ö., Kurt, D. ve Çırak, C., 2021, A New Sustainable Production Method For The Sahlep Orchid *Serapias orientalis* (Greuter) H. Baumann & Kunkele, *Pak. J. Bot.*, 53 (3), 1051-1056.
- Davis, P., Mill, R. ve Tan, K., 1984, *Flora of Turkey and the East Island*, University Press, Edinburgh, UK.
- Dragendorff, G., 1965, *Pharm. Zeitschr. f. Russland.*, p. 165.
- Duman, U., 2010, Öksin ve Kolşik Zonda Bulunan Geofitlerin Tespiti ve Bitkisel Tespiti ve Bitkisel Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ordu Üniversitesi, 1-65.

- Durmuşkahya, C., Özdemir, C., Bozdağ, B. ve Öztürk, M., 2014, Studies on the morphology, anatomy and ecology of *Ophrys lutea* cav. subsp. minor (guss.) o. danesch & e. danesch ex gölz & hr reinhard (orchidaceae) in Turkey, *Pak. J. Bot*, 46 (2), 565-571.
- Dutra, D., Johnson, T. R., Kauth, P. J., Stewart, S. L., Kane, M. E. ve 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, 11-21.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Erik, S. ve İlarslan, R., 1989, Türkiye'nin tehlike altındaki nadir ve endemik bitki türleri, *Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Yayınları*, 18.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z. ve Adıgüzel, N., 2000, Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı, Ankara, *Türkiye Tabiatını Koruma Derneği*, p. 246.
- El Mokni, R., Amari, D. ve El Aouni, M. H., 2013, Two varieties of *Ophrys apifera* (Orchidaceae) new to North Africa, *Journal Europäischer Orchideen*, 45 (1), 77.
- Erdem, H., E. , 2004, Biyolojik çeşitliliğin Ekonomik Değerinin Belirlenmesi: Yabani Orkide Örneği, Yüksek Lisans, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ege Üniversitesi, Bornova-İzmir, 115.
- Ertaş, S., 2018, Şanlıurfa Koşullarında Bazı Salep Türlerinin Bitkisel Özellikleri ve Glukomannan İçeriklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa, 61.
- Ertaş, S., Özel, A. ve Erdem, K., 2019, Şanlıurfa koşullarında yetiştirilen bazı salep türlerinin bitkisel özellikleri ve glukomannan içeriklerinin belirlenmesi, *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 23 (1), 39-46.
- Erzurumlu, G. ve Doran, İ., 2011, Türkiye’de salep orkideleri ve salep kültürü, *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 15 (1), 29-34.
- Farhoosh, R. ve Riazi, A., 2007, A compositional study on two current types of salep in Iran and their rheological properties as a function of concentration and temperature, *Food Hydrocolloids*, 21 (4), 660-666.
- Georgiadis, N., Ritzoulis, C., Charchari, E., Koukiotis, C., Tsiopstias, C. ve Vasiliadou, C., 2012, Isolation, characterization and emulsion stabilizing properties of polysaccharides from orchid roots (salep), *Food Hydrocolloids*, 28 (1), 68-74.
- Ghorbani, A., Zarre, S., Gravendeel, B. ve 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.
- Govaerts, R., Bernet, P., Kratochvil, K., Gerlach, G., Carr, G., Alrich, P., Pridgeon, A., Pfahl, J., Campacci, M. ve Holland Baptista, D., 2017, World checklist of *Orchidaceae*, Kew: Facilitated by the Royal Botanic Gardens. Kew, London, UK.
- Gönülşen, N., 1983, Salep Bitkilerinden *Orchis anatolica* Boiss.’in Doku Kültürü ile Üretimi. , *Ege Bölgesi Araştırma Enstitüsü Yayınları*, İzmir.
- Gönülşen, N., 1987, Bitki doku kültürleri yöntemleri ve uygulama alanları, *Ege Tar. Arş. Ens. Md. Yayınları* (78).
- Gönülşen, N., Önal, M. K., Ercan, N., Yıldızördü, K., Şekeroğlu, E., Biçici, M. ve Eskalen, A., 1995, Ege ve Doğu Akdeniz Bölgesi'nde doğal yayılış gösteren *Orchidaceae* familyasına ait bazı türlerin in vitro ve in vivo koşullarda üretimleri üzerinde araştırmalar, *TÜBİTAK Proje No: TBGAG52* 33.
- Gutiérrez, R. M. P., 2010, Orchids: A review of uses in traditional medicine, its phytochemistry and pharmacology, *J. Med. Plants Res*, 4 (8), 592-638.

- Güler, N., 2005, Kazdağları'nda yetişen *Orchidaceae* familyası bitkileri üzerinde morfolojik ve korolojik araştırmalar, *Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Tekirdağ*, 265s.
- Gülşen, O. ve Atilabey, M. F., 2017, Akdağmadeni Salebin Kültüre Alınması Projesi Sonuç Raporu, *Orta Anadolu Kalkınma Ajansı*, 1-27.
- Gümüş, C., 2009, Batı Karadeniz Bölgesi'nde salep elde edilmesinde kullanılan bazı orkide türlerinin (*Orchidaceae*) çoğaltım yöntemleri üzerinde araştırmalar, Doktora tezi, *Ankara Üniversitesi*, 221.
- Gürsel, A. ve Karacabey, A., 1998, Dondurma teknolojisine ilişkin hesaplamalar, reçeteler ve kalite kontrol testleri, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara, Türkiye*.
- Ingold, C. T. ve Hudson, H. J., 1993, *The Biology*, Sixth Edition (Chapman Hall). London, 224.
- İşler, S., 2005, Van Salebinin Menşei ve Van Civarının Orkideleri, Yüzüncü yıl Üniversitesi, Doktora, *Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüzüncü Yıl Üniversitesi-Van*, 136.
- Jäger, E. J., 2017, Tabellen zum Bestimmen, *Rothmaler-Exkursionsflora von Deutschland. Gefäßpflanzen: Grundband*, 56-868.
- Jalal, J. S. ve Jayanthi, J., 2012, Endemic orchids of peninsular India: a review, *Journal of Threatened Taxa*, 4 (15), 3415-3425.
- Kabakcı, M., 2022, Salep orkidelerinin In vitro çoğaltımında bazı bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisi, Yüksek Lisans, *Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi*, 156.
- Kasperek, M. ve Grimm, U., 1999, European trade in Turkish salep with special reference to Germany, *Economic Botany*, 396-406.
- Kauth, P. J., Dutra, D., Johnson, T. R., Stewart, S. L., Kane, M. E. ve Vendrame, W., 2008, Techniques and applications of in vitro orchid seed germination, *Floriculture, ornamental and plant biotechnology: advances and topical issues*, 5, 375-391.
- Kaya, E., Karabekmez Erdem, T. ve Tekin, F. B., 2017, Maraş dondurması üretimi ve üretilen dondurmanın fizikokimyasal niteliklerinin belirlenmesi, *Caucasian Journal of Science*, 4 (1), 45-56.
- Kaya, S. ve Tekin, A. R., 2001, The effect of salep content on the rheological characteristics of a typical ice-cream mix, *Journal of Food Engineering*, 47 (1), 59-62.
- Kayıkçı, S. ve Oğur, E., 2012, Hatay ilinde yayılış gösteren bazı orkide türleri üzerine bir inceleme, *ANADOLU Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 22 (2), 1-12.
- Keçeli, T. ve Konar, A., 2003, Salep ve alternatif bazı stabilizatör maddelerin inek sütünden yapılan dondurmaların özelliklerine olan etkileri, *Gıda*, 28 (4).
- Kemeç Hürkan, Y., Hürkan, K. ve Akı, C., 2018, Comparative growth media performances on in vitro propagation of some salep orchids, *Anadolu University Journal of Science and Technology C-Life Sciences and Biotechnology*, 7 (1), 52-62.
- Khare, C. P., 2008, *Indian medicinal plants: an illustrated dictionary*, Springer Science & Business Media, p. 768.
- Khasim, S. M., Hegde, S. N., González-Arno, M. T. ve Thammasiri, K., 2020, Orchid biology: recent trends & challenges, Springer, p. 547.
- Kısakürek, Ş. ve Arpacı, B. B., 2010, Kahramanmaraş Doğal Florasında Bulunan Bazı Salep Orkidelerinin Kültüre Alınabilme Olanakları, *Bahçe*, 39 (1), 9-16.

- Knudson, L., 1921, La germinación no simbiótica de las semillas de orquídeas, *Bol Real Soc Espanola Hist Nat*, 21, 250-260.
- Knudson, L., 1922, Nonsymbiotic germination of orchid seeds, *Botanical Gazette*, 73 (1), 1-25.
- Knudson, L., 1924, Further observations on nonsymbiotic germination of orchid seeds, *Botanical Gazette*, 77 (2), 212-219.
- Knudson, L., 1925, Physiological study of the symbiotic germination of orchid seeds, *Botanical Gazette*, 79 (4), 345-379.
- Kocabaş, Y. Z., Güler, D. ve Yüksek, F., 2022, Kahramanmaraş ili *Orchidaceae* familyası türleri hakkında bir ön çalışma, *Doğanın Sesi* (9), 34-49.
- Kowalkowska, A. K., Margońska, H. B., Kozieradzka-Kiszkurno, M. ve Bohdanowicz, J., 2012, Studies on the ultrastructure of a three-spurred fumeauxiana form of *Anacamptis pyramidalis*, *Plant Systematics and Evolution*, 298, 1025-1035.
- Koyuncu, O., Yaylacı, Ö. K., Öztürk, D., Potoğlu Erkara, İ., Savaroğlu, F., Osoydan, K. ve Ardiç, M., 2011, Distribution, elements of destruction and evaluation of risk categories of Orchids in Osmaneli (Bilecik/Turkey) and its environs, *Biological Diversity and Conservation*, 4 (1), 122-133.
- Kreutz, C., 2002, Türkiye'nin orkideleri, salep, dondurma ve katliam, *Yeşil Atlas*, 5, 98-109.
- Kurt, A. ve Kahyaoğlu, T., 2012, Salep Glukomannanının κ -Karagenan Çözeltilisinin Jel Kuvveti ve Akış Özelliklerine Etkisi, *Türkiye 2. Orkide ve Salep Çalıştayı Bildiri Kitabı*, 33-36.
- Kurt, A., 2017, Salep glukomannanının klarifikasyon ve deasetilasyonu: yapı-proses-özellik ilişkilerinin belirlenmesi, Doktora, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi-Samsun, 129.
- Kurt, D., 2020, Describe the Long-Term Development of *Ophrys apifera* Huds. Salep Orchids in Natural Flora, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 35 (2), 238-244.
- Kurt, D. ve Çalışkan, Ö., 2020, Doğal Florada Çimlenmiş Sekiz Farklı Salep Orkidesi Türünün İlk Yıl Gelişimlerinin Tanımlanması, *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 6 (2), 302-309.
- Lalika, M., Dorah, H. M., Urrio, P., Gimbi, D. M., Mwanyika, S. J. ve Donati, G., 2013, Domestication potential and nutrient composition of wild orchids from two southern regions in Tanzania, *Time Journals of Biological Sciences and Technology*, 1 (1), 1-11.
- MGM, 2023. Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği Bakanlığı, Meteoroloji Genel Müdürlüğü, 10.Bölge Müdürlüğü Otomatik Meteoroloji Gözlem İstasyonlarından e-belge ile temin edilen Terme İlçesi'nin İklim Verilerine Ait Kayıtlar, E-Belge tarihi: 10 Nisan 2023 p. 4.
- Mitchell, R., 1989, Growing hardy orchids from seeds at Kew, *The Plantsman*, 11, 152-169.
- Molvray, M. ve Kores, P. J., 1995, Character analysis of the seed coat in *Spiranthoideae* and *Orchidoideae*, with special reference to the *Diurideae* (*Orchidaceae*), *American journal of botany*, 82 (11), 1443-1454.
- Nicoleta-Daniela, B. ve Madoşa, E., 2011, Studies regarding the intraspecific phenotypic variability of *Anacamptis pyramidalis* (L.) Rich.(*Orchidaceae*) from Anina Mountains, *JOURNAL of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, 15 (3), 89-93.
- Nigar, M., 2021, Maxent modeling for predicting the potential habitat and future distribution of a rare species *Ophrys apifera* Huds. in the Greater Caucasus

- (Azerbaijan), 'Труды Мордовского государственного природного заповедника им. П.Г. Смирнова' (27), 3-14.
- Oğuz, B., Sarı, A. ve Bilgiç, A., 2005, Ege Bölgesinde Yayılış Gösteren Bazı Salep Orkidelerinin Üretim Olanaklarının Araştırılması, *Tagem Proje Sonuç Raporu*.
- Or, F., 2009, Kahramanmaraş'ta Üretilen Maraş Usulü Dondurmaların Mikrobiyolojik Kalitelerinin Değerlendirilmesi Üzerine Bir Araştırma, Yüksek Lisans, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, 56.
- Önal, K., 1999, Ege bölgesi'nde doğal yayılış gösteren orchidaceae familyasına ait bazı türlerin in vitro koşullarda üretimleri üzerine araştırmalar, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23 (supp5), 1057-1064.
- Özkan, H., 1991, Orkideler ve salep, Lisans Tezi, *Fen-Edebiyat Fakültesi*, Bursa.
- Özkoç, İ., 1991, *Serapias vomeracea* (Burm. fil.) Briq. subsp. *laxiflora* (Soo) gölz. et. Reinhard ve *Orchis laxiflora* Lam.(*Orchidaceae*) tohumlarının simbiyotik ve asimbiyotik kültürlerde çimlenme ve gelişmesi üzerinde araştırmalar, Doktora, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 77.
- Özsavcı, A., 1995, Kahramanmaraş bölgesinde doğal yayılış gösteren bazı salep orkidelerinin in vitro da yumru oluşturma yeteneklerinin araştırılması, Yüksek Lisans, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, 45.
- Parlak, S. ve Tutar, M., 2011, Karaburun Yarımadası'nda yayılış gösteren salep orkideleri ve bazı toprak özellikleri, *Ziraat Mühendisliği* (357), 24-29.
- Paul-Marian, S., 2016, *Ophrys apifera* (*Orchidaceae*) in Transylvanian flora, Romania, *Acta Horti Bot. Bucurest*, 43, 31-40.
- Pereira, G., Albornoz, V., Romero, C., Lara, S., Sánchez-Olate, M., Ríos, D. ve Atala, C., 2017, Asymbiotic germination in three *Chloraea* species (*Orchidaceae*) from Chile, *Gayana Botánica*, 74 (1), 131-139.
- Petrou, N., Petrou, M., Deniz, İ. G., Sezik, E., Georgiadis, C. ve Gletsos, M., 2016, Current Status and Best Practice Analysis for Greek and Turkish Native Orchid Flora Conservation, *HSPN/Athens & CAOB*, 55.
- Pradhan, S., Regmi, T., Parmar, G. ve Pant, B., 2013, Effect of Different Media on in vitro Seed Germination and Seedling Development of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw, *Nepal Journal of Science and Technology*, 14 (1), 51-56.
- Quiroz, K., Saavedra, J., Vogel, H., Verdugo, G., Caligari, P. D. ve García-González, R., 2017, In vitro asymbiotic germination for micropropagation of the recalcitrant terrestrial orchid *Chloraea crispa* (*Orchidaceae*), *Applications in plant sciences*, 5 (8), 1600142.
- Renz, J. ve Taubenheim, G., 1984, *Orchis* L.(*Orchidaceae*), *Flora of Turkey and the East Aegean islands* (Eds.: PH Davis). Edinburgh, University Press, Edinburgh, 8, 451-600.
- Sandal, G., 2009, Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Yetişen Orkideler Ve Yetiştirme Ortamı Nitelikleri İle Tehdit Faktörlerinin Araştırılması, Doktora, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Çukurova Üniversitesi, Adana, 210.
- Sevgi, E., Altundag, E., Kara, O., Sevgi, O., Tecimen, H. B. ve Bolat, I., 2012a, Morphological, anatomical and ecological studies on some *Orchis* (*Orchidaceae*) taxa of Mediterranean region, Turkey, *Journal of environmental biology*, 33 (2), 343.
- Sevgi, E., Altundag, E., Kara, O., Sevgi, O., Tecimen, H. B. ve Bolat, I., 2012b, Studies on the morphology, anatomy and ecology of *Anacamptis pyramidalis* (L.) LCM Richard (*Orcidaveae*) in Turkey, *Pak. J. Bot*, 44, 135-141.
- Sevgi, E., Altundag, E., Kara, O., Sevgi, O., Tecimen, H. B. ve Bolat, I., 2012c, Çanakkale-Biga'da *Serapias bergonii* E.G. Camus' nin toplum yapısı ve

- bireylerinin morfolojik özellikleri arasındaki ilişkiler (tam metin). *Türkiye 2. Orkide ve Salep Çalıştayı*. İzmir: 157-171.
- Sezik, E., 1967, Türkiye'nin Salepgilleri Ticari Salep Cesitleri ve Özellikle Mugla Salebi Uzerinde Arastirmalar, Doktora tezi, *Eczacılık Fakültesi*, 76.
- Sezik, E. ve Özer, B., 1983, Kastamonu salebinin menşei ve Kastamonu civarının orkideleri, *TÜBİTAK Proje No: TBAG-424*, Ankara.
- Sezik, E., 1984, Orkidelerimiz: Türkiye'nin orkideleri, *Sandoz kültür yayınları*, No:6.
- Sezik, E. ve Baykal, T., 1988, Maraş salebinin menşei ve Maraş civarının orkideleri, *Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Temel Bilimler Araştırma Grubu*, Proje No: TBAG-664.
- Sezik, E., 1990, Türkiye'nin orkideleri, *Bilim Teknik*, 269, 5-8.
- Sezik, E., 1991, An Unknown Side of Turkey-An Orchid Paradise, *Image*, 12, 11-15.
- Sezik, E., 2002a, Turkish orchids and salep, *Acta Pharmaceutica Turcica*, 44 (3), 151-157.
- Sezik, E., 2002b, Destruction and conservation of Turkish orchids, In: Biodiversity: Biomolecular Aspects of Biodiversity and Innovative Utilization, Eds: Springer, p. 391-400.
- Sezik, E., İşler, S., Güler, N., Orhan, Ç., Aybeke, M., Deniz, İ. G. ve Üstün, O., 2007, Salep ve orkidelerin tahribi, *TÜBİTAK Proje No: TBA-Ç.SEK/23(103T008)*, Ankara.
- Soltanpour, P. ve Workman, S., 1981, Use of inductively-coupled plasma spectroscopy for the simultaneous determination of macro and micro nutrients in NH₄HCO₃-DTPA extracts of soils, *Developments in atomic plasma analysis*, 673-680.
- Srivastava, P. ve Steinhauer, A., 1981, Regeneration of birch plants from catkin tissue cultures, *Plant Science Letters*, 22 (4), 379-386.
- Stewart, S. L. ve Kane, M. E., 2006, Asymbiotic seed germination and in vitro seedling development of *Habenaria macroceratitis* (Orchidaceae), a rare Florida terrestrial orchid, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 86, 147-158.
- Stoutamire, W., 1974, Terrestrial orchid seedling, *The Orchids: scientific studies*, New York, NY, John Wiley and Sons., 101-128.
- Süngü Şeker, Ş., 2022, What does the quantitative morphological diversity of starch grains in terrestrial orchids indicate?, *Microscopy Research and Technique*, 85 (8), 2931-2942.
- Şen, M. A., 2016, Türkiye'nin değişik yörelerinden toplanan orkidelerden elden edilen saleplerin özelliklerinin belirlenmesi ve geleneksel yöntemle Maraş usulü dondurma yapımında ürün kalitesine etkilerinin araştırılması, Doktora, Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ, 146.
- Şen, M. A., 2017, Osmanlı Mutfağından Günümüze Gastronomik Değerimiz "Salep", *Eurasian Academy of Sciences Social Science Journal*, 260-270.
- Şen, M. A., Palabiyik, I. ve Kurultay, Ş., 2018, Composition, viscosity and solubility of saleps from twenty different orchid (Orchidaceae) species, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12 (2), 1334-1339.
- Tamer, C. E., Karaman, B. ve Copur, O. U., 2006, A traditional Turkish beverage: salep, *Food Reviews International*, 22 (1), 43-50.
- Tamer, C. E., İncedayı, B. ve Çopur, Ö. U., 2012, Salep ve Bileşiminde Yer Alan Hidrokolloidlerden Glukomannan' In Özellikleri, *Türkiye 2. Orkide ve Salep Çalıştayı Bildiri Kitabı*, 25-32.
- Tekinşen, K. ve Güner, A., 2009, Kahramanmaraş yöresinde yetişen saleplerin kimyasal bileşiminin ve bazı fizikokimyasal niteliklerinin araştırılması, *SÜ BAP Proje* (06401061).

- Tekinşen, K. K., 2006, Maraş Salebi, *Akademik Gıda*, 4 (5), 28-30.
- Tekinşen, K. K. ve Güner, A., 2010, Chemical composition and physicochemical properties of tubera salep produced from some Orchidaceae species, *Food Chemistry*, 121 (2), 468-471.
- Tekinşen, O. ve Karacabey, A., 1984, Bazı stabilizatör karışımlarının Kahramanmaraş tipi dondurmanın fiziksel ve organoleptik nitelikleri üzerine etkisi, *Tübitak Proje No: VHAG*, 594.
- Thokchom, R., Maitra, S. ve Sharma, S., 2017, In vitro Mass Propagation of Endangered Terrestrial Orchid *Phaius tankervilliae* (L'Her.) Blume through Green Seed Pod Culture, *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 6 (5), 722-728.
- Tıǧlı, E. ve Fakir, H., 2017, Bucak (Burdur) yöresindeki bazı doğal orkide türlerinin yayılış alanları, morfolojik ve fenolojik özellikleri, *Türkiye Ormancılık Dergisi*, 18 (4), 289-294.
- Topçuoğlu, B., Kasap, Y., Alpaslan, M. ve Yalçın, R., 1996, Kahramanmaraş yöresinde doğal florada yetişen salep bitkisinin bazı bitki besin maddesi içerikleri ile salep bitkisinin yetiştirildiği toprakların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri, *Journal of Agricultural Sciences*, 2 (03), 7-10.
- Turgay, Ö. ve Çınar, İ., 2017, Salep: The Common Name of The Plant, Powder, Hot Beverage, Food Ingredient Bitki, Toz, Sıcak İçecek ve Gıda Katkısı Olarak Salep, *Journal of Engineering Sciences*, 20 (3).
- Türkmen, N., Gürsoy, A., Akal, C., Ünal, E. M. ve Keskin, E., 2021, Evaluation of salep obtained from different wild orchid species of Turkey and their use in Maras type ice cream, *Journal of Food Processing and Preservation*, 45 (12), e16063.
- Watkinson, J. I., 2002, Characterization of two genes, trehalose-6-phosphate synthase/phosphatase and nucleotide binding protein, shown to be differentially regulated in roots of *Cypripedium parviflorum* var. *pubescens* grown with a mycorrhizal fungus *Thanatephorus pennatus*, PhD Thesis, *Virginia Polytechnic Institute and State University*.
- Whigham, D. F. ve Willems, J. H., 2003, Demographic studies and life-history strategies of temperate terrestrial orchids as a basis for conservation, *Orchid conservation*.
- Wildmoser, H., Scheiwiller, J. ve Windhab, E. J., 2004, Impact of disperse microstructure on rheology and quality aspects of ice cream, *LWT-Food Science and Technology*, 37 (8), 881-891.
- Xu, W., Wang, S., Ye, T., Jin, W., Liu, J., Lei, J., Li, B. ve Wang, C., 2014, A simple and feasible approach to purify konjac glucomannan from konjac flour—Temperature effect, *Food Chemistry*, 158, 171-176.
- Yamazaki, J. ve 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.
- Yararbaş, R., 2008, Bazı Orkide Türlerinin In Vitro Koşullarda Çoğaltılması, Çiçeklenmesi, Doktora, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Yenikalaycı, A., Kemal, G. ve Güneş, M., 2019, Researches on Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants in Kayseri, *Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants (CUPMAP)*, 2 (2), 76-82.
- Yılmaz, A., DAYIOĞLU, H. ve BAŞARAN, G., 2019, TÜRKİYE'DE BİYOKAÇAKÇILIK, *Journal of Science and Technology of Dumlupınar University* (043), 74-90.

Yoshimura, M., Takaya, T. ve Nishinari, K., 1998, Rheological studies on mixtures of corn starch and konjac-glucomannan, *Carbohydrate Polymers*, 35 (1-2), 71-79.



EKLER

Ek Şekil 1. Ankara-Türkiye Milli Botanik Bahçesi gölgelendirme serasında deneme düzeni



Ek Şekil 2. Salep orkideleri üretiminde sök-dik yönteminin uygulanmasına ait görüntüler



Ek Şekil 3. Konya Gıda, Tarım Üniversitesi'nde uygulanan in vitro çalışmaları



Ek Şekil 4. Çiçeklenme başlangıcı ve kontrol parsellerinden rasgele seçilen yumruların ağırlıkları



Ek Şekil 5. Tarla koşullarında yapılan çalışmalara ait görüntüler

ÖZGEÇMİŞ

