

ÇOK ÖZEL BİR ORTAMDA, TOZ GİBİ TOHUMLARA
ÇİMLENEBİLME DESTEĞİ VE SONUÇ

“YAŞAMA MERHABA” SALEP ORKİDELERİ



Uzun yıllardan beri salep orkidele-ri sanki soyları tüketilmek istenircesine doğadan sökülüyorlar. Zaten gelişimleri uzun bir süreç alan bu bitkiler, bir de bu bilinçsiz sökümler karşısında artık yok olma noktasına geldiler. Bazı insanlarca, “yapmayın, toplamayın, sökmeyin, tükeniyorlar” gibi uyarıların pek de ciddiye alınmayacağından endişe duyan Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Şebnem Ellialtıoğlu, bu soruna köklü bir çözüm sunmanın yollarını araştırdı, bu konuda yapılmış araştırmaları inceledi ve bu bitkinin doku kültürü yoluyla çoğaltılabileceğine kanaat getirdi. Onun önderliğinde 2006 yılında başlatılan, Gazi Üniversitesi'nden Prof. Dr. Ekrem Sezik ve Zonguldak Karaelmas Üniversitesi'nden Öğretim Görevlisi Cevdet Gümüş tarafından yürütölmekte olan bu projeye doku kültürü yöntemi kullanılarak salep elde edilen yabancı orkidelerin hızlı bir şekilde üretilmesi artık sağlanabilecek. Çalışmada daha şimdiden çok ilginç ve değerlen-

dirilebilir sonuçlar elde edildi. Bazı türler, başarıyla yapay besi ortamlarında çoğaltılıyorlar. Bu yöntem, adeta doğadan söküme bir alternatif oluşturabilecek. Projede bu yıl son aşama olan, elde edilen bitkilerin dış koşullara, yani araziye aktarılması çalışmalarına geçildi. Bu aşamanın da tamamlanmasıyla birlikte yöntem, üreticilerin hizmetine girebilecek duruma ulaşacak. Yani, dileyen her üretici bu üniversite projesine başvuruda bulunup sonuçlardan yararlanabilecek. Proje yürütücüsü Ellialtıoğlu, 2008 sonunda

tamamlanacak olan bu çalışmanın sonuçlarının paylaşılmaya açık olduğunu söylüyor. Ama bızce bu projenin en önemli özelliği yabancı orkidelerin doğal ortamlarında özgürce, sökülme korkusu yaşamadan çoğalabilmeleri olacak, yani onlar yabancıliğin olmazsa olmazı olan özgürlükleriyle yaşamlarını sürdürecekle. Elbette bizler de sıcak saleplerimizi yudumlarırken, ya da kıvam artırıcı olarak kullanılan saleple o nefes tada ulaşan Maraş dondurumuzla serinlerken daha bir huzur içinde olacağız! Şimdi gelin hep birlikte bilimin gücü ve bilim insanların çabalarıyla başarıya ulaşacak farklı bir sorunun çözümünü, bu önemli projeyi, Ellialtıoğlu ile yaptığımız sohbetle daha yakından inceleyelim. Dolayısıyla bu orkidelerin yaşamlarını, doğal ortamlarındaki ilginç birlikteliklerini, yabancı orkidelerinin çoğaltılmasında kullanılan doku kültürünü ve kullanılmasını, kısaca yabancı orkidelere ait pek çok bilgiyi, dağarcığımızı ilave edelim.

BTD: Bir bitkiye ait doku parçacığını alıp ondan yeni bitkilerin çoğaltılmasını laboratuvarında gerçekleştiriyorsunuz. Çimlenmesi, büyüyüp gelişmesi için yıllara gereksinimi olan yabancı orkide türlerinin 16'sında çalıştığınızı belirtiyor, bunlardan bazılarında orta-



lama olarak %70'lere varan başarıyla çalışmalarınızı sürdürüyorsunuz. Önce sizi ve ekipteki arkadaşlarınızı gönülden tebrik ediyoruz. Bize önce bu bitki neden bu kadar zor geliyor bunu anlatır mısınız?

Şebnem Ellialtıoğlu: Yabani orkidelerin tohumları çok ufak, neredeyse toz gibi ve içlerinde endosperm, yani çimlenme sırasında gerekli enerjiyi verecek besidoku yok. Bitki doğada bu eksikliğini toprakta yaşayan bazı funguslarla (*Rhizoctania sp.* gibi) işbirliği yaparak telafi ediyor. Ama bu hem süreç olarak uzun hem de sınırlı bir çoğalma oluyor. Dolayısıyla, bitkinin yeni yılda oluşmuş yumrularının toplanmasıyla birlikte, elde edilme süreci başlayan 'salep' yüzünden yabani orkideler doğal ortamlarından vaz geçer oldular. Bakın konuyu biraz daha açmak istiyorum. Salep elde edilen orkide bitkilerine ait yumrular her yıl tek bir yavru yumru meydana getirirler. Yani onlar doğaları gereği çoğalmaları güç ve yavaş olan bitkiler. Az önce de söylediğim gibi toz gibi ve endosperm taşımayan orkide tohumlarının çimlenebilmesi için düştüğü yerin uygun ısı, ışık, oksijen, nem ve toprak koşullarına sahip olması gerekiyor. Ayrıca, düştüğü yerde bazı fungusların bulunması ve tohumun bunlarla enfekte olması da gerekli. Bu funguslarla değişik orkide türleri enfekte olabilir. Elbette funguslar da doğal koşullarda gelişmekten hoşlanıyorlar. Önce orkide tohumuna parazit yaşamak üzere enfekte oluyorlar. Kısa bir süre sonra funguslar, tohum hücreleri tarafından durduruluyor, asimile ediliyor ve bir denge kuruluyor. Bu ortak yaşamda, bahar ve yaz mevsiminde orkide tohumuna ait hücreler; sonbahar ve kış aylarında ise fungus hücreleri baskın oluyor. Tohum çimlendiğinde meydana gelen, önceleri küçük bir çivi şeklindeki yapıya mikorizom ya da protokorm adı veriliyor. Fungus, bulunduğu ortamdaki organik humusun parçalanmasıyla oluşan nişasta ve benzeri bileşikler, suda çözünen şekerler haline çevirerek, genç orkide bitkisine gönderiyor. Genç bitki, henüz çimlenmeyi sağlayacak yedek besin taşımadığı için, mikorizomun büyümesi çok yavaş oluyor. Mikorizom fungusları, daha çok humuslu topraklarda bulunurlar. Kayın, meşe, huş, çam gibi pek çok ağacın ve



Çimlenme ve protokorm oluşumu.

fundalıkların köklerinde yaşarlar. Orkidelerin daha çok bu tip arazilerde bulunması da işte bu yüzden. Tohumun çimlenmesinde ikinci aşama, yumru ya da köklerin oluşumu, yaparak taşıyan bir sapın toprak yüzeyine doğru meydana gelmeye başlamasıdır. Bu aşamada mikorizom yerini bitkinin ergin formuna terkeder. Orkidenin mikorizom fungusuna bağılılığıysa, cinslere göre farklılık gösterir. Yumrulu cinsler, fungustan ayrılıp bağımsız yaşamayı ve hayatlarının ileri devrelerinde fungusu yaşamlarından çıkarmayı yeğlerken, *Cephalanthera* türleri ve *Goodyera repens* gibi, humuslu topraklarda yaşayan, şişkin kök sistemine sahip orkideler köklerinde mikorizom fungusunu yaşamları boyunca taşırlar. Yumru ve yaprakların oluşumunuysa sakın ola bugünden yarına gibi kısa bir süreç olarak düşünmeyin. Uzun yıllar sonra meydana gelirler. En kısa ortalama süre 2-4 yıldır. *Orchis*, *Ophrys* ve *Dactylorhiza* türlerinde bitkinin yapraklarının tam gelişimi ve yumru oluşumu ortalama 4 yıl sonra meydana gelir. Salep elde edilmesinde kullanılan bazı başka orkide türlerinde bu süreler daha da uzun olabilir. Örneğin *Listera* türlerinde bitki ancak tohumun toprağa düşmesinden itibaren geçen 15. yılda çiçek açar.

BTK: Orkideler bu generatif üreme dışında başka yollarla da ürerler mi?

ŞE: Evet, bitki bazı dış koşulların stresine gelişimini tamamlayıp tohum bağlayamaz bazen. İşte bu gibi durumlarda, vejetatif olarak da üreyebilir. Örneğin çok yüksek yerlerde yaşamayı seçen türler düşük sıcaklık nedeniyle tohum bağlayamazlar. Yine sık ormanlık alanlardakiler de ışık eksikliğinden dolayı zorluk yaşarlar. Bu durumlar karşısında orkideler, örneğin *Orchis*, *Dactylorhiza* ve *Ophrys* türlerindeki 2

yumru, zamanla birbirinden ayrılıp 2 ayrı bitki verecek şekilde gelişir. Böylece orkide kümeleri meydana gelir. *Dactylorhiza* cinsi bu bakımdan çok başarılıdır. Doğada büyük *Dactylorhiza* kümelerine rastlanması da bu nedendir. Böyle bir gruptaki bitkilerin özellikle labellumlarının (dudakçıklarının) şekilleri aynı olur. *Dactylorhiza* kümelerindeki bireylerin labellumları incelendiğinde aynı lekeler ve aynı yapı görülürse bu kümenin vejetatif üreme sonucu meydana gelmiş olabileceğini düşünür araştırmacılar.

BTK: Bu durumda bu "akıllı" bitkinin doku kültürüyle çoğaltımı konusunda size ipucunu yine o vermiş olmalı.

ŞE: Elbette. Bu konuda size bir örnek vermek isterim. Arkadaşım Cevdet Gümüş'ün verdiği bir seminerde Ekrem Sezik Hocamızın bir çalışmasından alıntısı çok ilginçti. *Goodyera repens* ve *Epipogium aphyllum* gibi orkide türlerinde çiçekli bir bitki, tohumdan 15 yılda meydana gelirken, vejetatif üremeye 3 yıl içinde ergin bir birey meydana gelebilmekte. Yani orkideler gerçekten çevre koşulları gerektirdiğinde ve zaman zaman vejetatif yoldan çoğalarak nesillerinin devamını sağlıyorlar. Zaten bu kadar yıldır acımasızca yapılan kıyıma, tüm zor ve uzun yıllar alan yetişme koşullarına karşın, karşı durabilmelerinin bir diğer nedeni de bu özellikleri olsa gerek.

BTK: Siz projenizde salep orkidesine ait toz gibi tohumları aldınız, besleyici ve hızla gelişmeyi sağlayıcı maddelerin bulunduğu özel bir kültür ortamına aktardınız, uygun koşullarda beklettiniz ve fotoğraflarda da gördüğümüz gibi bu olağanüstü güzellikleri elde ettiniz. Bu noktada peşi sıra iki soru sormak istiyorum. İlki bu çoğaltımı sizden başka gerçekleştirenler oldu



mu ve ikinci sorum sizin çalışmanızın diğerlerinden farkı ne oldu?

ŞE: Evet, kullandığımız başlangıç materyali olan tohumlar kendi hallerine bırakılınca çimlenme meydana gelmiyor, mutlaka destek gerekli. Doku kültürüyle üretim konusunda önceden yapılmış çalışmalar konusuna gelince; elbette bu konuda hem ülkemizde, hem dünyada yapılmış çalışmalar var. Örnekleme yapalım. Bir araştırmada *Orchis*, *Ophrys*, *Dactylorhiza*, *Serapias*, *Aceras*, *Anacamptis* cinsine ait toplam 21 tür Ege Bölgesi'nden toplanmış. *Orchis laxiflora*, *Orchis sancta* ve *Serapias vomeracea* embriyo kültürüyle başarılı bir şekilde üretilmiş, fakat diğer türler üretilmemiş. Bir diğer araştırmada nesli tehlikede olan salep orkidelerinin in vitro (cam içinde, kültür ortamında) çoğaltımı araştırılmış. *Orchis anatolica*, *Orchis coriophora*, *Ophrys bornmuelleri*, *Ophrys phrygira*, *Serapias vomeracea* ve *Himantoglossum affine* embriyoları in vitro'da 14 farklı besin ortamında kültüre alınmış. En yüksek çimlenme oranı ve protokormlardan bitki oluşum oranı % 2,39 ve % 1,86 ile Van Waes Debergh denen özel bir ortam, domates ekstaktı ve aktif karbon karışımı ortamdan elde edilmiş. En yüksek yumru oluşum oranı % 2,45 ile aynı ortamda bulunmuş. Ülkemizde yapılan bir başka çalışma, *Orchis laxiflora* tohumlarının asimbiyotik kültür koşullarında çimlenmesi üzerine. Bu çalışmada bu türe ait tohumlar seyreltik ve konsantre kültür ortamlarına steril koşullarda ekilerek çimlenme durumları belirlenmiş. Bu türe ait tohumlar hem seyreltik hem de konsantre kültür ortamlarında genellikle çimlenmiş, fakat gelişme yalnızca konsantre ortamlarda devam etmiş. Bu çalışmada en yüksek çimlenme oranı % 25,1 ile inorganik

azot ihtiva etmeyen ortamdan elde edilmiş. Dünyada yapılan çalışmalar da var. Ama özetle şu sonuca varabiliriz: Bazı yabancı orkide türleri doku kültürüyle çoğaltmaya olumlu yanıt veriyor ve başarı oranını yükseltmek için en uygun besin ortamı kombinasyonunu belirlemek gerekiyor.

BTD: Sizin araştırmanızın diğer çalışmalarından farkına gelelim.

ŞE: Biz Orta Karadeniz Bölgesi'nde doğal ortamda yetişen 16 yabancı orkide türünde deneyler yaptık. Bunların tohumlarını çimlendirmeye ve bitki elde etmeye çalıştık. Sayısız bileşimlere sahip besin ortamlarında onlarca denemeler kurduk. Bu türlerin bazılarında %70 başarı elde ettik, yani çimlenme ve protokorm oluşumuna, en sonunda da bitkilere ulaştık; bazılarında bu oran %20-40 arasında kaldı, birkaç tür ise hiç mi hiç çimlenmedi. Fakat başarılı olduğumuz türler, gerçekten de salep elde edilmesinde en fazla kullanılan türler arasında yer alıyor. Bu nedenle çok heyecan duyuyoruz.

BTD: Biraz daha açıklama lütfen?

ŞE: Önceden yapılmış tüm çalışmalar dikkatlice inceledikten sonra kendimize bir yol çizdik ve çok çeşitli ortamlar üzerinde bu 16 türün tohumlarını steril, yani mikropsuz koşullarda ettik. Endospermi olmayan bu tohumlardaki embriyo, gerekli besini ve enerjiyi hazır bulunca önce şişerek gelişti, sonra büyüyüp meristematik bir uç verdi, ardından buradan sürgün ve yapraklar gelişti. Ama bunu sağlamak öyle hızlı ve kolay olmadı. Tohumlardan çimlenme ölçümlerinin yapılması aşamasına kadar tam üç ay beklendi. Karanlıkta tutulan bu kültürler, protokormların oluşmasını takiben 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık koşullara alındı. Tabii taze ve yenilenmiş besin ortamlarına aktarıldıktan sonra. Burada

yeşillenen ve büyümeleri hızlanan bitkicikler her ay taze ortamlara aktarılarak büyütüldü ve 10. ayın sonunda köklerin bazılarında kalınlaşma ya da ayrı bir doku olarak yumru oluşumları meydana geldi. Tohum ekiminden tam bir yıl sonra, dış koşullara aktarılacak aşamada sağlıklı ve gürbüz bitkicikler elde edildi. Bu aşamaya gelmesi için doğada bitkinin 4-6 yıl beklemesi gerektiği düşünülünce yöntemin süre kazancı bakımından önemi de ortaya çıkıyor. Şu sıralar, kavanozların içinde hayatlarını sürdüren bitkilerin normal yetiştirme şartlarına geçirilmesi ve araziye uyum sağlayabilmesi için gerekli çalışmaları yapıyoruz. Bu aşamada denememiz gereken pek çok konu var, çünkü bitkiler dış koşullara aktarılınca önemli bir duraklama geçiriyorlar. Bu aşamayı kesintisiz olarak üretim döngüsünü sağlayacak bir yapıya kavuşturmamız lazım.

BTD: Tohum ekiminden sonra 12 ayda yumrular araziye dikilebileceğine göre yılda bir kere mi üretim yapılabilecek?

ŞE: Doku kültürünün en önemli avantajı, mevsimlere bağlı kalmadan kontrollü koşullarda sürekli üretim yapabilmek. Periyodik olarak tohum ekimi yaptığımızı düşünürsek, teorik olarak bir fabrika gibi hergün binlerce yeni yumruyu araziye aktarabilecek üretim yapabileceğimizi söylemek mümkün. Çalışmamızın başlangıcında bitkinin yavaş gelişmesi ve doğadaki çoğalma frekansının düşük olması nedeniyle kuşularımız vardı, ama uygun şartları sağlayınca bitkilerin nasıl çoştüğünü ve hızla geliştiklerini görünce artık rahatça bunları söyleyebiliyoruz. Bu yılın sonlarında sizlere 'Son aşamayı da tamamladık!' diyebilmenin ümidi içindeyiz. Üretim yönteminin geliştirilmesi, bu bitkilerin neslinin kaybolmasını engelleyecek tek çare. İnanın geçen iki yıl boyunca çalıştığımız bölgede çok aramamıza rağmen örneğin *Orchis purpurea* türüne ait yalnızca iki adet bitki bulabildik. Bunların tohumlarını aldık, 2009'da aynı yere gittiğimizde belki de o iki bitkiyi de bulamayacağız.. Üretmeden tüketmeye ne kadar çabuk son verirsek kaynaklarımız o kadar çok sonraki nesillere aktarılabilir. Her alanda bu böyle değil mi?

Gülgün Akbaba