



Bazı Orkide Türlerinde Farklı Yöntemlerle İzole Edilen Funguslar

Arzu ÇİĞ^{1*}, Hüdaî YILMAZ²

¹Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Siirt, TÜRKİYE

²Pamukkale Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Denizli, TÜRKİYE

Geliş Tarihi/Received: 23.01.2014

Kabul Tarihi/Accepted: 18.02.2014

*Sorumlu Yazar/Correspondence: arzucig@yahoo.com

Özet: Birçok karasal orkide türü, tohumlarının çok küçük olması ve endosperm içermemesi sebebiyle, tohumların çimlenmesi ve bitkilerin yaşamlarına devam etmesi için mikorizal funguslara ihtiyaç duymaktadır. Çeşitli izolasyon yöntemlerinin yapılması ile elde edilen fungusların orkide türleri üzerindeki etkisini belirlemek; tohumların çimlenme ve bitkilerin çoğalmalarına olanak sağlamak amacıyla simbiyotik kültür çalışmaları yapılmaktadır. Bu çalışmada *Anacamptis*, *Cephalanthera*, *Dactylorhiza* ve *Orchis* cinslerine ait on bir orkide türünün yumru ve rizomlarından bir; yetiştikleri topraklardan üç olmak üzere toplam dört izolasyon yöntemi denenmiş olup, yöntemlerde üç farklı kültür ortamı kullanılmıştır. Çalışmanın sonunda *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia*, *Trichoderma* ve *Verticillium* fungusları izole edilmiştir. Özellikle *Rhizoctonia* spp. fungusunun izole edilmesinin hedeflendiği çalışmada, *Rhizoctonia* spp., *Dactylorhiza umbrosa* ve *Orchis palustris* türlerinin yumrularından; *Orchis simia* türünün ise toprağından izole edilmiştir. *Fusarium* ve *Aspergillus* türleri tüm türlerde ve izlenen yöntemlerde en çok izole edilen funguslar olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Fungus, izolasyon yöntemi, mikoriza, orkide, toprak, yumru

Some Orchid Species Fungi Isolated by Different Methods

Abstract: Due to their very small seeds that do not contain endosperm, many terrestrial orchid species require the presence of fungi in order to germinate and maintain their lives; and symbiotic culture studies are being carried out on this topic. For the purpose of determining the orchid species on which the fungus to be used as inoculants in the symbiotic culture will be effective, fungi isolated through several isolation methods are cultured with orchid species. In this study a total of four different isolation methods were applied as one on the tubers and rhizomes and three on the soil of eleven orchid species from the *Anacamptis*, *Cephalanthera*, *Dactylorhiza* and *Orchis* genera. Three different culture media were used in the methods. At the end of the study *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia*, *Trichoderma* and *Verticillium* fungi were isolated. In the study that was conducted with the aimed to isolate particularly *Rhizoctonia* spp. fungi, the fungi was isolated from the tubers of *Dactylorhiza umbrosa* and *Orchis palustris* species and the soil of the *Orchis simia* species. *Fusarium* and *Aspergillus* species were isolated the most in all implemented methods and from all species.

Keywords: Fungi, isolation method, mycorrhiza, orchid, soil, tuber

1. Giriş

Endosperme sahip olmayan orkide tohumları, dışarıdan bir karbonhidrat kaynağı olmadan çimlenememekte; çimlenme için uygun çevre şartlarının yanı sıra ortamda uygun bir fungusun tohuma bulaşması gerekmektedir (Sezik, 1984).

Bernard 1899 yılında, *Neottia nidus-avis* (L.) L.C.M. Richard fidelerinin köklerinde mikro fungusları tespit etmiş olup, orkide tohumlarının bu fungusların yardımıyla çimlendiğini bildirmiştir (Curtis, 1939). Orkide habitatları ile fungus türleri arasında ekolojik özgüllüğün olabileceği, orkide ve fungus arasındaki simbiyotik ilişkinin türlere göre

özel olduğu belirtilirken (Bernard, 1909), mikorizal bir fungus ve bir orkide türü arasında böyle bir özel konumun bulunmadığı görüşü de ortaya koyulmuştur (Burgeff, 1936; Curtis, 1939). Orkide köklerinden izole edilen fungusların *Rhizoctonia*, *Corticium*, *Armillaria*, *Fomes* ve *Hymenochaeta* olduğu tespit edilmiş; *Aspergillus*, *Penicillium*, *Phytophthora* ve *Trichoderma* cinslerinin çimlenmeyi başlatıcı ve teşvik edici oldukları bildirilmiştir (Arditti, 1967).

Bu çalışmada Van ili dağlık ve çayırılık alanlardan toplanan *Anacamptis*, *Cephalanthera*, *Dactylorhiza* ve *Orchis* cinslerine ait olmak üzere toplam 11 tür orkide bitkisinin toprak, yumru ve rizomlarından farklı yöntemlerle fungus izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen fungusların, özellikle Van ilinde salep elde etmede kullanıldığı ve bu yüzden aşırı sökümlü yapıldığı için nesli tehdit altında olan türlerin simbiyotik kültür çalışmalarında kültür ortamlarına inoküle edilerek çoğaltılmasında etkili olup olmayacağı konusunda ışık tutabileceği ümit edilmektedir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

Bu çalışmada materyal olarak 2010 yılında (Temmuz-Ağustos aylarında) Van ilinin Altınsaç, İnköy, Tasmalı Geçit ve Edremit bölgelerinde 1682-1945 metre yükseklikten toplanan (Çığ, 2012) ve Davis (1984)'e göre teşhis edilen *Anacamptis pyramidalis* (L.) L.C.M. Richard, *Cephalanthera kotschyana* Renz&Taub., *Dactylorhiza iberica* (Bieb. ex Willd.) Soó, *Dactylorhiza romana* (Seb.) Soó subsp. *georgica* (Klinge) Soó ex Renz&Taub., *Dactylorhiza umbrosa* (Kar.&Kir.) Nevski, *Orchis collina* Banks&Sol., *Orchis coriophora* L., *Orchis palustris* Jacquin, *Orchis pinetorum* Boiss.&Kotschy, *Orchis pseudolaxiflora* Czernjak ve *Orchis simia* Lam. türlerine ait yumru ve rizomlar ile yetiştikleri topraklar kullanılmıştır. Bu türler arasında *C. kotschyana* az tehdit altında (Ekim ve ark., 2000); *O. collina*, *O. pinetorum* ve *O. simia* zarar görebilir tehlike sınıflarında gösterilmektedir (Koyuncu ve Demirkuş, 2000). Ayrıca *C. kotschyana* dışındaki türlerin yumrularından salep elde edilmekte ve "Van salebi" olarak adlandırılmaktadır (İşler, 2005).

2.2. Yöntem

Toprakтан fungus izolasyonunda şekerpancarı ile tuzaklama yöntemi (Papavizas ve ark., 1975), toprak kalıntı yöntemi (Roberts ve Herr, 1979) ve dökme plaka yöntemi (Madigan ve ark., 2003) ile yumru-rizomlardan fungus izolasyonu yöntemi kullanılmıştır. Besi ortamı olarak yöntemlere göre

uygunluk gösteren su agar, Potato Dextrose Agar (PDA) (Hasenekoğlu, 1991) ve Yeast Extract Agar (YEA) (Clements ve ark., 1986) ortamları kullanılmıştır. Ortamların içine, bakteri oluşumunu engellemek için 50 mg lt⁻¹ dozunda streptomycin sülfat ilave edilmiştir. Hazırlanan ortamlar 121°C'de 20 dakika otoklav edildikten sonra petri kaplarına dökülmüş olup aşağıda belirtilen yöntemler uygulanmıştır. Tüm ortamlar 24°C'de 3-4 gün inkube edilmiştir. Oluşan fungus kolonileri Bitki Koruma Bölümü'ne ait Mikoloji Laboratuvarında ışık mikroskopunda tanımlanmıştır.

2.2.1. Şekerpancarı ile tuzaklama yöntemi

Bu yöntemde her orkidenin rizosfer toprağından 0.5 kg alınıp, petrolere 100'er gr koyulmuştur. İçinde toprak bulunan her petri kabına önceden otoklav edilmiş 1 gr şekerpancarı tohumu karıştırılmıştır. Petriiler 24°C'de 2 gün inkube edilmiş; iki gün sonra tohumlar topraktan çıkarılıp 20 dakika çeşme suyu ile yıkanmıştır. Tohumlar steril kabin içinde 3 kez steril saf su ile durularak bir kurutma kağıdına alınmış, su agarına 7-8 adet olacak şekilde ekilmiştir.

2.2.2. Toprak kalıntılama yöntemi

Bu yöntemde göre her orkide türüne ait rizosfer toprağından 50 gr alınıp 300 ml % 2'lik H₂O₂ (hidrojen peroksit) ile çalkalanmıştır. Bu karışımın üzerinde yüzen artıklar 60 mesh'lik (0.5 mm) elekten süzülerek alınmıştır. Daha sonra aynı toprak örneği çeşme suyu ile süspanse edilerek her süspansiyondan sonra üstte yüzen artıklar süzülerek alınmıştır. Aynı toprak örneğine ait tüm artıklar birleştirilmiş ve otoklav edildikten sonra 45°C'ye soğutulan 250 ml su agar ve PDA içersine karıştırılmıştır.

2.2.3. Dökme plaka yöntemi

Bu yöntemde 10 gr tartılan orkide rizosfer toprağı 90 ml steril saf su ile 20 dakika karıştırılarak homojen bir süspanسیون elde edilmiştir (seyreltme-10¹). Bu süspanسیون içinden ayrı ayrı 5 kez çekilen 1 ml'lik örnekler 45 ml steril saf su içeren başka bir kavanoza aktarılarak 10²'lik seyreltme, 10²'lik seyreltmenin de içinden ayrı ayrı 5 kez 1 ml çekilerek 10³'lük seyreltme hazırlanmış olup, 10⁴ ve 10⁵'lik seyreltmeler bahsedilen şekilde yapılmıştır. Bu beş seyreltme içinden her biri ayrı steril pipet ucuyla 1 ml çözelti çekilerek petrolere dağıtılmış ve üzerine PDA dökülmüştür.

2.2.4. Yumrudan izolasyon yöntemi

Yöntemde rizom ve yumrular önce musluk suyu ile yıkandıktan sonra, 3 dakika % 3'lük sodyum hipoklorit çözeltisi ile steril edilmiştir.

Yumru ve rizomlar steril saf su ile durulanıp kurutma kağıdına alınarak kurutulmuştur. 0.5-1 cm büyüklüğünde ayrılan parçalar su agar, PDA ve YEA petrilerine ekilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

Petrilerin neredeyse tamamında bakteriyel bulaşıklar, *Penicillium* ve *Rhizopus* fungusları gözlenmiştir. Toprak ve yumrularından izole edilen funguslar, uygulanan yöntemler bazında birbirini teyit etmekle birlikte; bir yöntemle izole edilemeyen fungus, diğer bir yöntemle elde edilmiştir (Tablo 1 ve Tablo 2). Orkidelerin zorunlu mikorizal bağımlılık gösterdiği ve simbiyotik olarak sürdürdükleri birliktelikte genellikle *Rhizoctonia* fungusu etkilidir (Sezik, 1984; Ortaş, 2011). Ancak çalışmamızda *Rhizoctonia* fungusu, *D. umbrosa* ve *O. palustris* türlerinin yumrularından; dökme plaka yöntemi ile *O. simia* türünün toprağından izole edilmiştir.

3.1. Şekerpancarı ile tuzaklama yöntemi

Orkide topraklarında fungus izolasyonunun yapıldığı bu yöntemle *Aspergillus*, *Fusarium*, *Macrophomina* ve *Verticillium* fungusları elde edilmiştir (Tablo 1). *Rhizoctonia* fungusunu elde edemediğimiz bu yöntemde Papavizas ve ark. (1975), *Rhizoctonia solani*'nin en yüksek bulaşma yoğunluğunun şekerpancarı tohumlarının ekildiği alanda olduğunu bulmuşlardır. Vakkasoğlu (1995), Doğu Akdeniz Bölgesi'nden toplanan *Anacamptis*, *Epipactis*, *Himantoglossum*, *Ophrys*, *Orchis* ve *Serapias* cinslerine ait 14 farklı orkide türünde yaptığı izolasyonlarda bu yöntem ile sadece *Ophrys* ve *Orchis* cinslerinden *Fusarium* ve *Pythiaceae* funguslarını izole etmiştir.

3.2. Toprak kalıntı yöntemi

Toprak kalıntı yönteminde orkide topraklarından *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Trichoderma* fungusları izole edilmiştir (Tablo 1). Vakkasoğlu (1995) çalışmasında bu yöntemle 8 adet *Fusarium* sp., 2 adet *R. solani*, 2 adet *Macrophomina* sp., 2 adet *Trichoderma* sp., 2 adet *Pythiaceae* sp. ve 2 adet *Absidia* sp. izolatu elde etmiştir. Çalışmadan izole edilen *Fusarium* izolatlarının çokluğu göz önüne alındığında çalışmamızla benzerlik gösterdiği görülmektedir.

3.3. Dökme plaka yöntemi

Orkide topraklarında kullanılan dökme plaka yönteminde *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Trichoderma* ve *Verticillium* fungusları izole edilmiştir (Tablo 1). Seyreltme oranlarının her birinde farklı olduğu kadar, benzer funguslar da izole edilmiştir. *Fusarium* ve

Aspergillus fungusları daha yoğun olarak izole edilirken; *Rhizoctonia*, *Verticillium* ve *Trichoderma* fungusları daha az oranda elde edilmişlerdir. Orkide türleri bakımından incelendiğinde, seyreltme oranlarının izole edilen funguslar üzerinde çok farklılık göstermediği tespit edilmiştir. Chesters (1949), dökme plaka yönteminin *Rhizoctonia*'nın topraktan izolasyonu için uygun olmadığına dikkat çekmiştir. Çalışmamızda yapılan dökme plaka yöntemiyle elde edilen sonuçlar ile araştırmacının söylemleri birbirini desteklemektedir. *Rhizoctonia* fungusu, sadece *O. simia* toprağıının 10¹ seyreltme oranından izole edilmiştir.

3.4. Yumrudan izolasyon yöntemi

Bu yöntemle *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia*, *Trichoderma* ve *Verticillium* fungusları izole edilmiştir (Tablo 2). Bu yöntemde de neredeyse tüm orkide türlerinden yoğun olarak *Fusarium* ve *Aspergillus* türlerinin izole edildiği görülmektedir. *Rhizoctonia solani*, *D. umbrosa* yumrularından su agar ve YEA'da; binükleik *Rhizoctonia* ise *O. palustris* yumrularından PDA ortamlarında izole edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda çeşitli orkide türlerinin rizom ve yumrularından genellikle *Rhizoctonia* türleri izole edilmiştir (Harvais ve Hadley, 1967; Hadley, 1983; Masuhara ve ark., 1988). *Dactylorhiza aristata* bitkisinin köklerinden ve protokormlarından binükleik *Rhizoctonia* türleri ve *Tulasnella deliques* izole edilmiştir (Hayakawa ve ark., 1999). Ege ve Akdeniz Bölgesi'nden toplanan salep türlerinin kök ve yumrularından, mikoriza oluşturan fungusların izole edilip tanımlandığı bir çalışmada 47 fungal izolatuın 44 adetinin *Fusarium*, 2 adetinin *Rhizoctonia* ve 1 adetinin *Papulaspora* cinsine ait olduğu belirlenmiştir (Gezgin, 2004). Samsun ilindeki fındıklık yamaçlardan toplanan *Serapias vomeracea* subsp. *laxiflora* bitkisinin köklerinden yoğun olarak *Fusarium* cinsine ait funguslar izole edilmiştir (Özkoç, 1991). Çalışmamızda uygulanan izolasyon yöntemleri ve kullanılan besi ortamlarının tümünde ortaya çıkan *Fusarium* fungusu, miktar olarak diğerlerinden oldukça fazla izole edilmiştir.

4. Sonuçlar

Çalışmamızdaki orkide türlerinin yumru-rizom ve topraklarından binükleik *Rhizoctonia* ve *Rhizoctonia solani* funguslarının bulunması oldukça güç olmuştur. Temmuz-Ağustos döneminde materyallerin toplandığı bölgede *Rhizoctonia* fungusu yapılan dört yöntemle de seyrek olarak izole edilmiştir. Ancak *Fusarium*

Tablo 1. Orkide toprağından farklı yöntemlerle izole edilen funguslar

Orkide türleri	*ŞTY	*TKY	*DKY
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	B, C, D	B, C	B, C
<i>Cephalanthera kotschyana</i>	B, C	B, C, F	B, C
<i>Dactylorhiza iberica</i>	C, D	C	B, C, G
<i>Dactylorhiza romana</i> subsp. <i>georgica</i>	B, C	C	A, B, C, F
<i>Dactylorhiza umbrosa</i>	B, C, G	C	A, B, C, F, G
<i>Orchis collina</i>	B, C	C	C
<i>Orchis coriophora</i>	B, C	C	C
<i>Orchis palustris</i>	B, C, D	A, B, C	A, B, C
<i>Orchis pinetorum</i>	B, C	B, C	A, B, C
<i>Orchis pseudolaxiflora</i>	B, C	A, B, C	A, B, C
<i>Orchis simia</i>	C	B, C	A, B, C, E

*ŞTY: Şekerpancarı ile Tuzaklama yöntemi, *TKY: Toprak Kalıntı Yöntemi, *DKY: Dökme Plaka Yöntemi, A: *Alternaria* spp., B: *Aspergillus* spp., C: *Fusarium* spp., D: *Macrophomina* spp., E: *Rhizoctonia* spp., F: *Trichoderma* spp., G: *Verticillium* spp.

türlerinin, orkide türü ve izolasyon yöntemi fark etmeksizin çokça izole edilmesi diğer çalışmalarla örtüşmektedir. Daha önceki araştırmalarda izole edilen funguslar ile bu çalışmadan elde edilenler benzerlik göstermektedir.

Tablo 2. Orkide yumrularından izole edilen funguslar

Orkide türleri	*YİY
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	C
<i>Cephalanthera kotschyana</i>	C, F
<i>Dactylorhiza iberica</i>	A, B, C
<i>Dactylorhiza romana</i> subsp. <i>georgica</i>	A, B, C
<i>Dactylorhiza umbrosa</i>	A, B, C, E
<i>Orchis collina</i>	C
<i>Orchis coriophora</i>	C
<i>Orchis palustris</i>	B, C, D, E, F, G
<i>Orchis pinetorum</i>	C
<i>Orchis pseudolaxiflora</i>	B, C, D
<i>Orchis simia</i>	C

*YİY: Yumrudan İzolasyon Yöntemi A: *Alternaria* spp., B: *Aspergillus* spp., C: *Fusarium* spp., D: *Macrophomina* spp., E: *Rhizoctonia* spp., F: *Trichoderma* spp., G: *Verticillium* spp.

Özellikle salep elde etmek için Van ili ve çevresinde aşırı ve bilinçsizce sökülmesi yapılan orkideler; çiçeklendikleri zaman yumrularıyla birlikte toplandığından hem tohuma geçmeden alındığı için tohumlarından, hem de vejetatif olarak çoğalacak olan yumrularından mahrum kalmaktadır. Bu şekilde çoğalamayan orkidelerin çeşitli laboratuvar teknikleri geliştirilerek aseptik koşullarda asimbiyotik ve simbiyotik çimlendirilip çoğaltma çalışmaları yaygınlaşmaktadır. Bu çalışmada Van ilinde doğal olarak yetişen bazı orkide türlerinin farklı yöntemlerle izole edilen funguslar cins bazında tanımlanmıştır. Simbiyotik kültür için bitkilerin kök, yumru ya da topraklarından izole edilen fungusların simbiyont olarak kullanılabileceği gibi, farklı türlerden izole edilecek fungusların da diğer türlerin tohumlarının çimlenme ve çoğalmaları üzerindeki etkisi araştırılmalıdır. Bu bilgiler ışığında izole edilen fungusların, çalışılan orkide türlerinin her biri ile

ayrı ayrı simbiyotik kültür çalışmaları yaparak, orkide tohumlarının çimlenme ve bitkilerin çoğalmalarına katkıda bulunabileceği düşüncesi ortaya çıkmaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'nca (2009, FBE-D036) desteklenen doktora tez çalışmasından bir kısım alınarak hazırlanmıştır. Çalışmada izole edilen fungusların tanımlanmasında emeği geçen Prof. Dr. Semra DEMİR ile Yrd. Doç. Dr. Emre Demire DURAK'a teşekkürlerimizi sunarız.

Kaynaklar

- Arditti, J., 1967. Factor affecting the germination of orchid seeds. *Bot. Rev.*, 33:1-97.
- Bernard, N., 1909. L'evolution dans la symbiote. Les orchidees et leurs champignons commensaux. *Ann. Sci. Nat. (Bot.)*, 9(9): 1-196.
- Burgeff, H., 1936. Die samenkeimung der orchideen. G. Fischer, Jea. 312.
- Chesters, C.G.C., 1949. Concerning fungi inhabiting soil. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 32:197-216.
- Clements, M.A., Muir, H., Cribb, P.J., 1986. A preliminary report on the symbiotic germination of Europe an terrestrial orchids. *Kew. Bull.*, 41(2): 437-445.
- Curtis, J.T., 1939. The relation of specificity of orchid mycorrhizal fungi to the problem of symbiosis. *Amer. J. Bot.*, 26: 390-399.
- Çiğ, A., 2012. Van'da doğal olarak yetişen salep orkidelerinin simbiyotik ve asimbiyotik olarak in vitro ve in vivo ortamlarda çoğaltılması. Doktora tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Davis, P.H., 1984. Flora of Turkey and the East Aegan Islands. Volume: 8, Edinburg University Press, Great Britain.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Ayaç, Z., Adıgüzel, N., 2000. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı, Yayın No: 18, Ankara.

- Gezgin, Y., 2004. Çeşitli salep (orkide) türlerinde mikoriza oluşturan fungusların izolasyonu ve tanımlanması ile inokulant olarak kullanım olanaklarının incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Hadley, G., 1983. Symbiotic germination of orchid seed. *The Orchid Review*, February, 44-47.
- Harvais, G., Hadley, G., 1967. The relation between host and endophyte in orchid mycorrhiza. *New Phytol.*, 66:205-215.
- Hasenekoğlu, İ., 1991. Toprak Mikro Fungusları. Atatürk Üniversitesi Yayınları, No: 689, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Yayınları No: 11, Cilt: IV-VI. Erzurum.
- Hayakawa, S., Uetake, Y., Ogoshi, A., 1999. Identification of symbiotic *Rhizoctonias* from naturally occurring protocorms and roots of *Dactylorhiza aristata* (Orchidaceae). *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.*, 69(2): 129-141.
- İşler, S., 2005. Van salebinin menşei ve Van civarının orkideleri. Doktora tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Koyuncu, M., Demirkuş, N., 2000. Van çevresi geofitleri. *XV. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı)*, 05-09 Eylül 1999, Ankara.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J., 2003. *Brock-Biology of Microorganisms*. 10th ed., Prentice Hall Inc., ISBN 0-13-085264-3.
- Masuhara, G., Kimura, S., Katsuya, K., 1988. Seasonal changes in the mycorrhizae of *Bletilla striata* (Orchidaceae). *Trans. Mycol. Soc. Japan.*, 29:25-31.
- Ortaş, İ., 2011. Orkide mikorizasının bitki çimlenmesi ve gelişimi üzerine etkisi. I. Salep Orkidesi Çalıştayı, 24-25 Mayıs, Kahramanmaraş, s. 39-64.
- Özkoç, İ., 1991. *Serapias vomeracea* (Burm fil.) Briq. subsp. *laxiflora* (Soo) Gözl et. Reinhard ve *Orchis laxiflora* Lam. (Orchidaceae) tohumlarının simbiyotik ve asimbiyotik kültürlerde çimlenme ve gelişmesi üzerinde araştırılması. Doktora tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Papavizas, G.C., Adams, P.B., Lumsden, R.D., Lewis, J.A., Dow, R.L., Ayers, W.A., Kantzes, J.G., 1975. Ecology and epidermiology of *Rhizoctonia solani* in field soil. *Phytopathology*, 65: 871-877.
- Roberts, D.L., Herr, L.S., 1979. Superiority of a soil debris isolation method over a beet seed colonization method for assay of *Rhizoctonia solani* at high soil inoculum densities. *Can. J. Microbiol.*, 25: 1110-1113.
- Sezik, E., 1984. Orkidelerimiz, Türkiye'nin Orkideleri. Sandoz Kültür Yayınları, No: 6, 166.
- Vakkasoğlu, F., 1995. Orkidelerde mikorizal fungusların orkide tohumlarının çimlenmesi ve büyümeleri üzerine etkisi. Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.