

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

**BAZI ORKİDE TÜRLERİNİN *IN VITRO*
KOŞULLARDA ÜRETİMLERİ VE
ÇİÇEKLENMELERİNİN TİCARİ
ÇAPTA GERÇEKLEŞTİRİLMESİ**

Münire EKMEKÇİGİL

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Aynur GÜREL

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 01.07.2016

Bornova-İZMİR

2016



Münire EKMEKÇİGİL tarafından DOKTORA tezi olarak sunulan “Bazı Orkide Türlerinin *In Vitro* Koşullarda Üretimleri ve Çiçeklenmelerinin Ticari Çapta Gerçekleştirilmesi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 2.7.16... tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği / oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Aynur Gürel

.....

Raportör Üye: Doç. Dr. Lale AKTAŞ

.....

Üye : Prof. Dr. Betül Zürein

.....

Üye : Prof. Dr. Bahattin Zengin

.....

Üye : Yrd. Doç. Dr. Meltem BAYRAKTAR

.....



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI**

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi / Doktora Tezi olarak sunduğum “Bazı Orkide Türlerinin *In Vitro* Koşullarda Üretimleri ve Çiçeklenmelerinin Ticari Çapta Gerçekleştirilmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

.... / / 20..

İmzası

Münire
EKMEKÇİGİL



ÖZET**BAZI ORKİDE TÜRLERİNİN *IN VITRO* KOŞULLARDA
ÜRETİMLERİ VE ÇİÇEKLENMELERİNİN TİCARİ ÇAPTA
GERÇEKLEŞTİRİLMESİ**

EKMEKÇİGİL, Münire

Doktora Tezi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Aynur GÜREL

Temmuz 2016, 153 sayfa

Tez kapsamında *Cattleya* sp.de *in vitro* koşullarda ticari çapta PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonu, köklü sürgün ve *ex vitro* aklimatizasyon protokolleri ile *Vanda* sp.de *in vivo* bitkilerin yüzeysel sterilizasyonu ve *in vitro* PLB rejenerasyonuna ait protokoller başarıyla oluşturulmuştur. *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin *in vitro* çiçeklenme teşvikinde ise önemli bulgular elde edilmiştir.

Cattleya sp.ye ait *in vivo* genç sürgünlere uygulanan yüzeysel sterilizasyon sonucu köklerde %100, gövdede %83,33 başarı sağlanmıştır. Sürgün nodlarından TCL tekniği ile alınan ince kesitlerde elde edilen PLB (Protokorm benzeri yapı) rejenerasyon katsayısı 10,05'tir. PLB'den PLB çoğaltımı çalışmasında, yarı katı kültür sistemlerinde PLB çoğaltım katsayısı 7,50; erlende sıvı kültürlerde PLB çoğaltım katsayısı 1,56; RITA® biyoreaktörlerinde PLB çoğaltım katsayısı 111,85 olarak elde edilmiştir. PLB'den sürgün rejenerasyonu çalışmasında, yarı katı kültür sistemlerinde sürgün rejenerasyon katsayısı 13,00; erlende sıvı kültürlerde rejenerasyon katsayısı 0,67; RITA® biyoreaktörlerinde rejenerasyon katsayısı 199,90 olarak belirlenmiştir. Yarı katı besin ortamında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde elde edilen sürgün çoğaltım katsayısı 3,50; sürgün başına meydana gelen kök sayısı 7,34'tür. *In vitro* köklü sürgünlerin, *ex vitro* koşullara adaptasyonunda %92,89 aklimatizasyon başarısı sağlanmıştır. *Cattleya* sp.de *in vitro* çiçeklenme teşviki için çok çeşitli içeriklere sahip besin ortamı kombinasyonu ve farklı fotoperiyot ile gün/gece sıcaklıklarında kültüre alınan sürgünlerde %6,67 oranda pseudobulb gelişimi sağlanmıştır.

Vanda sp.ye ait *in vivo* çiçekli bitkilerin köklerinde %95,83, yapraklarında %80, gövdede %71,67 ve çiçekli kısımlarında %70 yüzeysel sterilizasyon başarısının sağlanmasının yanı sıra, bitkinin çiçekli kısımlarından alınan anterlerde %61,90 kallus oluşumu, gövdeden alınan eksplantlarda ise PLB rejenerasyon katsayısı 1,11 olarak elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler : Orkide, mikroçoğaltım, ticari çapta üretim, geçici daldırma sistemi, ince hücre tabaka



ABSTRACT**IN VITRO PRODUCTION AND FLOWERING OF SOME ORCHID SPECIES FOR COMMERCIAL-SCALE REALIZATION**

EKMEKÇİGİL, Münire

PhD In Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Aynur GÜREL

July 2016, 153 pages

In this study, commercial production protocols were established for *Cattleya* sp. moreover, *in vivo* plantlet surface sterilization and *in vitro* regeneration protocols were also established for *Vanda* sp. Valuable data about *in vitro* flower-triggering of *Cattleya* sp. shoots were obtained.

Surface sterilization rate of *in vivo* shoots of *Cattleya* sp. were found 100% and 83,33% in root and stem explants, respectively. Regeneration rate was 10,05 in thin layers excised from the *Cattleya* sp. shoots by the technique of TCL. In the study of multiplication of PLB from PLB, the highest proliferation rate were found as 7,50, 1,56 and 111,85 in semi-solid cultures, flask liquid cultures and RITA® bioreactors, respectively. In the study of shoot regeneration from PLB, shoot regeneration rate was determined as 13,00 in semi-solid cultures, regeneration formation rate were found 0,67 and 199,90 in flask liquid cultures and RITA® bioreactors, respectively. In *Cattleya* sp., shoot proliferation rate was 3,5 and root formation number per shoot was 7,34. In adaptation of *in vitro* rooted *Cattleya* shoots to *ex vitro* conditions, acclimatization was succeeded at 92,89%. In order to trigger *in vitro* flowering of *Cattleya* sp., shoots were cultivated in different media compositions, photoperiods, day/night temperatures and pseudobulb arose at 6,67% ratio.

Surface sterilization rate of roots, leaves, stems and flower parts in *Vanda* orchids were succeeded at 95.83%, 80%, 71,67% and 70%, respectively. Moreover, 61,90% callus formation has been observed on anthers taken from the flowery parts of the plant and 1,11 regeneration ratio has been obtained on stem explants.

Keywords: Orchids, micropropagation, commercial-scale production, temporary immersion system, thin cell layer





TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarında bilgisini esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Aynur GÜREL'e, desteklerini her zaman hissettiğim ve yanımda olan çok sevgili ailem ve arkadaşlarıma, tezin araştırma projesi olarak desteklenmesini sağlayan SANTEZ AR-GE programı kapsamında Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı Bilim ve Teknoloji Genel Müdürlüğü'ne (Proje No: 1217.STZ.2012-1), EBİLTEM'e, Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü'ne (Proje No: 13-BIL-022), Biyomühendislik Bölümü ve Ön Danışmanlık Şirketi'ne teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xli
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ	5
2.1. Orchidaceae	5
2.2. Orkidelerin <i>In Vitro</i> Koşullarda Yarı Katı Kültür Sistemlerinde	
Üretimi ve Çoğaltımı	8
2.2.1. Orkidelerin <i>in vitro</i> koşullarda ince hücre tabaka tekniği ile üretimi	
ve çoğaltımı.....	11
2.3. Orkidelerin Sıvı Kültür Sistemlerde Üretimi ve Çoğaltımı	12
2.4. Çift Tabakalı Kültür Sistemleri	15
2.5. <i>In Vitro</i> Çiçeklenme.....	17

İÇİNDEKİLER (devam)

	Sayfa
2.5.1. <i>In vitro</i> çiçeklenmeyi teşvik eden faktörler.....	20
3. MATERYAL ve METOT.....	27
3.1. Materyal	27
3.1.1. <i>Cattleya</i> sp.....	27
3.1.2. <i>Vanda</i> sp.....	29
3.2. Metot	30
3.2.1. <i>Cattleya</i> sp.....	30
3.2.2. <i>Vanda</i> sp.....	53
3.3. Tez Çalışması ve Uygulanan Tekniklere ait Akış Şeması	56
4. BULGULAR.....	57
4.1. <i>Cattleya</i> sp.....	57
4.1.1. Yüzeysel Sterilizasyon	57
4.1.2. PLB rejenerasyonu	59
4.1.3. PLB'den PLB çoğaltımı.....	61
4.1.4. PLB'den sürgün rejenerasyonu	71

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

4.1.5. <i>Cattleya</i> sp.ye ait <i>in vitro</i> sürgünlerin çoğaltımı ve köklendirilmesi.....	81
4.1.6. <i>Cattleya</i> sp.ye ait <i>in vitro</i> köklü sürgünlerin <i>ex vitro</i> koşullarda aklimatizasyonu	84
4.1.7. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki.....	87
4.2. <i>Vanda</i> sp.	114
4.2.1. Yüzeysel sterilizasyon	114
4.2.2. PLB rejenerasyonu.....	121
5. TARTIŞMA ve ÖNERİLER	132
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	140
ÖZGEÇMİŞ	153



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Genel yapısı itibariyle orkide çiçeğinin (a) Ön kesiti (A- Dudak ya da labellum, B- Lateral sepal, C- Dorsal sepal, D- Petal, E- Kolon) ve (b) Yan kesiti (A- Pedisel, B- Ovaryum, C- Anter, D- Staminod, E- Dudak).....	6
3.1. <i>Cattleya</i> sp.ye ait olgun, çiçekli bitki.....	27
3.2. <i>Cattleya</i> sp.ye ait <i>in vivo</i> genç, köklü sürgünler (bar: 1 cm).....	27
3.3. PLB'den PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonu için eksplant kaynağı olarak kullanılan PLB kümesi (bar: 1 cm).....	28
3.4. <i>Cattleya</i> sp.ye ait çalışmalarda başlangıç eksplantı olarak kullanılan (a) köksüz ve (b) köklü <i>in vitro</i> sürgünler ile (c) bütün halindeki tekli PLB (bar: 1 cm).....	28
3.5. Tez çalışması için kullanılan <i>Vanda</i> sp.	29
3.6. Tez çalışmasında <i>Cattleya</i> sp.ye ait sürgünlerin kültüre alındığı çift tabakalı kültür sistemi uygulamasına ait bir örnek (bar: 1 cm)	42
3.7. Tez çalışmasında uygulanan tekniklere ait akış şeması.	56
4.1. <i>In vivo Cattleya</i> sp.de yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren gövde eksplant yüzdesi (%).....	57
4.2. <i>In vivo Cattleya</i> sp.de yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren kök eksplant yüzdesi (%)	59

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sekil

Sayfa

- 4.3. *Cattleya* sp.ye ait ince kesit eksplantlarda kültür süresine bağlı olarak elde edilen rejenerasyon katsayısı 60
- 4.4. (a) *Cattleya* sp.ye ait sürgün nodlarından TCL ile alınan ince kesit eksplantta meydana gelen rejenerasyon başlangıcı, (b) kültür süresi sonunda ince kesitlerden meydana gelen çoklu PLB rejenerasyonları, (c) tekli sürgün, (d) çoklu sürgünler (bar: 1 cm)..... 61
- 4.5. Yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait bütün halinde ve ince kesit PLB'lerden elde edilen PLB çoğaltım katsayısı 62
- 4.6. Yarı katı besin ortamında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB'den PLB çoğaltımı (bar: 1 cm)..... 63
- 4.7. *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için erlende sıvı kültür denemesinde farklı çalışma kodu ve eksplant tipinin kullanılması ile elde edilen PLB çoğaltım katsayısı..... 64
- 4.8. Erlende sıvı kültürlerde PLB'den PLB çoğaltımında elde edilen rejenerasyonlar (bar: 1 cm)..... 65
- 4.9. RITA® biyoreaktörlerinde PLB'den PLB çoğaltımı çalışmasında elde edilen PLB çoğaltım katsayısı 68
- 4.10. (a) RITA® biyoreaktör sistemlerinin çalışma düzeneği, (b) RITA® biyoreaktörlerinde kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerin ilk aktarımı, (c) kültür süresi sonunda elde edilen rejenerasyonlar (bar: 1 cm). 70

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sekil

Sayfa

- 4.11. Yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait bütün halinde ve ince kesit PLB'lerden elde edilen sürgün rejenerasyon katsayısı 72
- 4.12. Yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan PLB'lerden elde edilen sürgün rejenerasyonları (bar: 1 cm) 73
- 4.13. *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden sürgün rejenerasyonu için erlende sıvı kültür çalışmasında elde edilen rejenerasyon katsayısı 74
- 4.14. Erlende sıvı kültürlerde rejenerasyon gösteren PLB kümeleri (bar:1 cm) 75
- 4.15. RITA® biyoreaktörlerinde PLB'den sürgün teşviki için gruplandırılan çalışma kodlarında elde edilen rejenerasyon katsayısı..... 78
- 4.16. RITA® biyoreaktörlerinde elde edilen rejenerantlar (bar: 1 cm)..... 80
- 4.17. *In vitro* koşullarda sürgün çoğaltımı ve köklendirme çalışmasında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerden elde edilen sürgün çoğaltım katsayısı ile sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) 82
- 4.18. *Cattleya* sp.ye ait sürgün çoğaltımı ve köklendirilmesi çalışmasında elde edilen köklü sürgünler (bar: 1 cm)..... 83

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sekil

Sayfa

- 4.19. Aklimatizasyon sonunda hayatta kalan bitki yüzdesi (%)..... 85
- 4.20. *Cattleya* sp. sürgünlerinin aklimatizasyonu için hazırlanan (a, b) *in vitro* köklü sürgünler, (c) sera koşullarına aktarılan saksılar, (d) ST4 kodlu toprak karışımı, (e, f) aklimatizasyon başarısı gösteren bitkiler (bar: 1 cm)..... 86
- 4.21. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de kültüre alınan *Cattleya* sp. sürgünlerinde meydana gelen sürgün çoğaltım katsayısı ile sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)..... 87
- 4.22. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de (a) pseudobulb gelişimi öncesinde meydana gelen tomurcuk ve (b) pseudobulb (bar: 1 cm) 89
- 4.23. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de kültüre alınan *Cattleya* sp. sürgünlerinde meydana gelen sürgün çoğaltım katsayısı ile sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)..... 90
- 4.24. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerde meydana gelen sürgün çoğaltım katsayısı ile sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)..... 94
- 4.25. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de kültüre alınan (a) sürgün ve (b) PLB’lerde meydana gelen rejenerasyonlar (bar: 1 cm) 95

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sekil

Sayfa

- 4.26. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) 98
- 4.27. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde elde edilen rejenerasyonlar (bar: 1 cm) 102
- 4.28. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 5'te 1. aşama besin ortamlarının ardından standart içerikteki besin ortamında (KÇ35) kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerden 2. aşama sonunda elde edilen sürgün çoğaltım katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) 104
- 4.29. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 5'te kültüre alınan sürgünlerde meydana gelen rejenerasyonlar (bar: 1 cm) 105
- 4.30. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 6'da kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerden elde edilen sürgün çoğaltım katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet). 107
- 4.31. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 6'da kültüre alınan sürgünlerde meydana gelen rejenerasyonlar (bar: 1 cm) 108
- 4.32. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 7'de kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden elde edilen sürgün rejenerasyon katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) 109

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sekil

Sayfa

- 4.33. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 7’de kültüre alınan PLB’lerde meydana gelen rejenerasyonlar (bar: 1 cm) 110
- 4.34. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 8’de kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden elde edilen sürgün rejenerasyon katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet). 112
- 4.35. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 8’de kültüre alınan PLB’lerde meydana gelen rejenerasyonlar (bar: 1 cm) 113
- 4.36. *In vivo* koşullardan temin edilen *Vanda* sp.ye ait (a) çiçek, (b) gövde ve yaprak, (c) kök kısımları (bar: 1 cm). 114
- 4.37. *In vivo Vanda* sp.nin çiçekli kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant yüzdesi (%). 115
- 4.38. *In vivo Vanda* sp.nin yaprak kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant yüzdesi (%). 117
- 4.39. *In vivo Vanda* sp.nin gövde kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%). 118
- 4.40. *In vivo Vanda* sp.nin kök kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%). 120
- 4.41. *Vanda* sp.ye ait çiçek kısımlarında kararırma gösteren eksplant yüzdesi (%) 122

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.42. <i>Vanda</i> sp.de çiçek kısımlarına ait (a) petal, (b) dudak ve (c) ovaryumdan kesit alınan eksplantlarda meydana gelen değişiklikler.....	123
4.43. <i>Vanda</i> sp.ye ait anterlerde kallus oluşumu meydana gelen eksplant yüzdesi (%).	124
4.44. <i>Vanda</i> sp.ye ait anter eksplantlarında meydana gelen kallus oluşumu (bar: 1 cm)	125
4.45. <i>Vanda</i> sp.ye ait yapraklarda kararma gösteren eksplant yüzdesi (%) 125	
4.46. <i>Vanda</i> sp.ye ait yaprak eksplantlarında meydana gelen değişiklikler (bar: 1 cm).	126
4.47. <i>Vanda</i> sp.ye ait gövde kısımlarında kararma gösteren eksplant yüzdesi (%).	128
4.48. <i>Vanda</i> sp.ye ait gövde eksplantlarında meydana gelen değişiklikler (bar: 1 cm).	128
4.49. <i>Vanda</i> sp.ye ait gövde kısımlarından kültüre alınan eksplantlarda kültür süresine (hafta) göre meydana gelen PLB sayısı (adet) ve rejenerasyon katsayısı	129
4.50. <i>Vanda</i> sp.ye ait gövde kısımlarından alınan eksplantlarda (a) 10, (b) 19 ve (c) 25. haftalarda meydana gelen rejenerasyonlar (bar: 1 cm)	130

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**Şekil****Sayfa**

- 4.51.** *Vanda* sp.ye ait kök kısımlarında kararına gösteren eksplant yüzdesi (%) 131
- 4.52.** *Vanda* sp.ye ait kök eksplantlarında meydana gelen değişiklikler (bar: 1 cm) 131



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Önemli bazı orkide türlerinin ve cinslerinin kullanım alanları (Sandal, 2009)..	6
3.1. Temel besin ortamı bileşikleri ve konsantrasyonları (mg/l).....	32
3.2. <i>In vivo Cattleya</i> sp.ye ait gövde ve kök eksplantları ile gerçekleştirilen yüzeysel sterilizasyon uygulama süresi (%0,1 HgCl ₂ - dk) ve çalışma kodu.	33
3.3. <i>In vivo Cattleya</i> sp.ye ait gövde ve kök eksplantlarının yüzeysel sterilizasyon uygulamalarının muhafaza edildiği kontrollü kültür koşulları ve kültür koşullarına ait kod.....	34
3.4. <i>Cattleya</i> sp.ye ait sürgün nodlarından TCL tekniği ile alınan ait ince kesit eksplantlarda PLB rejenerasyonunu teşvik etmek üzere kullanılan besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu	34
3.5. <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonunu teşvik etmek üzere kullanılan yarı katı besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu.....	35
3.6. Erlenlerde sıvı kültür sistemlerinin kullanıldığı <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonu çalışmasında kullanılan erlen ve sıvı besin ortamı hacimleri (ml) ile besin ortamı hacmine paralel olarak her tekerrürde kullanılan inokülüm yoğunluğu (adet) ve çalışma kodu	36

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Çizelge

Sayfa

- 3.7. *RITA*® biyoreaktörlerinde PLB'den PLB çoğaltımı ve PLB'den sürgün rejenerasyonu çalışmalarında kullanılan daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluğu (adet) ile çalışma kodu..... 38
- 3.8. *Cattleya* sp.ye ait *in vitro* sürgünlerin çoğaltımı ve köklendirme çalışmasında kullanılan besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu 39
- 3.9. *In vitro* köklü *Cattleya* sürgünlerinin *ex vitro* aklimatizasyonunda kullanılan toprak karışımı bileşenleri ve bileşenlerin saksı toprağı karışımındaki yüzdeleri (%)..... 40
- 3.10. *Cattleya* sp.ye ait köklü sürgünlerin muhafaza edildiği sera koşullarının ortalama sıcaklık (gündüz/gece- °C), nem miktarı (%) ve gölgelendirme yüzdesi (%) 41
- 3.11. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1'de çift tabakalı sistemde kültüre alınan *Cattleya* sp. sürgünlerinin aktarıldığı besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu 43
- 3.12. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1'de *in vitro* *Cattleya* sürgünlerinin yarısının aktarıldığı kültür koşullarına ait kod, fotoperiyot süresi (gündüz/gece- sa), ışık şiddeti (lüks) ve sıcaklık (gündüz/gece- $\pm 2^{\circ}\text{C}$)..... 43

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.13. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de <i>Cattleya</i> sp.ye ait sürgünlerin ve PLB’lerin aktarıldığı besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu	44
3.14. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de <i>in vitro</i> <i>Cattleya</i> sürgünlerinin ve PLB’lerin aktarıldığı kültür koşullarına ait kod, fotoperiyot süresi (gündüz/gece- sa), ışık şiddeti (lüks) ve sıcaklık (gündüz/gece- $\pm 2^{\circ}\text{C}$)	45
3.15. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 3’te <i>Cattleya</i> sp.ye ait sürgünlerin kültüre alındığı kültür koşulu, besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu	46
3.16. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 4’te <i>Cattleya</i> sp.ye ait <i>in vitro</i> sürgünlerin aktarıldığı kültür sistemi, besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu	47
3.17. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 4’te <i>in vitro</i> <i>Cattleya</i> sürgünlerinin muhafaza edildiği kültür koşullarına ait kod, fotoperiyot süresi (gündüz/gece- sa), ışık şiddeti (lüks) ve sıcaklık (gündüz/gece- $\pm 2^{\circ}\text{C}$)	48
3.18. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 5’te <i>Cattleya</i> sp. sürgünlerinin kültüre alındığı 1. ve 2. aşama uygulama süresi, besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu	49
3.19. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 6’da kültüre alınan <i>Cattleya</i> sp. sürgünlerinin aktarıldığı besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu	50

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Çizelge

Sayfa

3.20.	<i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 7’de <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB’lerin kültüre alındığı uygulama aşamasına göre aktarıldıkları besin ortamı içeriği, pH, kültür süresi (ay) ve çalışma kodu.....	51
3.21.	<i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 8’de <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB’lerin kültüre alındığı uygulama aşamasına göre aktarıldıkları besin ortamı içeriği, pH, kültür süresi (ay) ve çalışma kodu.....	52
3.22.	<i>In vivo Vanda</i> sp.ye ait bitkisel materyallere uygulanan yüzeysel sterilizasyon dozu (% HgCl ₂), uygulama süresi (dk) ve çalışma kodu	54
3.23.	<i>Vanda</i> sp.ye ait eksplantlarda sürgün rejenerasyonu teşvikini sağlamak üzere kullanılan besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu	55
4.1.	<i>In vivo Cattleya</i> sp.de farklı çalışma kodları ile gruplandırılan uygulamalar sonucunda yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren gövde eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).	57
4.2.	<i>In vivo Cattleya</i> sp.ye ait gövde eksplantlarında uygulama sürelerine bağlı olarak gruplandırılan denemelerin yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu	58

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.3. <i>In vivo Cattleya</i> sp.de yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren kök eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%)	58
4.4. <i>Cattleya</i> sp.ye ait sürgün nodlarından TCL tekniği ile alınan ait ince kesit eksplantlarda kültür süresine göre meydana gelen toplam rejenerant sayısı (adet) ve rejenerasyon katsayısı	59
4.5. Yarı katı besin ortamında kültüre alınan <i>Cattleya</i> sp.ye ait bütün halinde ve ince kesit PLB'lerden elde edilen PLB sayısı (adet) ve PLB çoğaltım katsayısı.....	61
4.6. PLB'den PLB çoğaltımı çalışmasında yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan <i>Cattleya</i> sp.ye ait bütün halinde ve ince kesit eksplantlarda elde edilen PLB çoğaltım katsayısına ait Varyans Analiz Tablosu	62
4.7. <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için erlende sıvı kültür denemesinde farklı çalışma kodu (E1, E2, E3) ve eksplant tipinin (PLB) kullanılması ile elde edilen PLB kümesi sayısı (adet) ve PLB çoğaltım katsayısı.....	63
4.8. <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için erlende sıvı kültür denemesinde kullanılan çalışma kodu (E1, E2, E3) ve eksplant tipinin (PLB) PLB çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu	65

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Çizelge

Sayfa

- 4.9.** *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için erlende sıvı kültür denemesinde kullanılan çalışma kodu (E1, E2, E3) ve eksplant tipi (PLB) interaksyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması..... 65
- 4.10.** *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için RITA® biyoreaktörlerinde çeşitli daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluklarında (adet) elde edilen PLB sayısı (adet) ve PLB çoğaltım katsayısı. 67
- 4.11.** *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için RITA® biyoreaktörlerinde çeşitli daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluklarının (adet) PLB çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu 69
- 4.12.** *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için RITA® biyoreaktörlerinde elde edilen rejenerant çoğaltım katsayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluğu (adet) interaksyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması 70
- 4.13.** Yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait bütün halinde ve ince kesit PLB'lerden kültür süresi sonunda elde edilen sürgün sayısı (adet) ve sürgün rejenerasyon katsayısı. 71

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.14. Yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan <i>Cattleya</i> sp.ye ait bütün halinde ve ince kesit eksplantlardan elde edilen sürgün rejenerasyon katsayılarına ait Varyans Analiz Tablosu	72
4.15. <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB'den sürgün rejenerasyonu için erlende sıvı kültür denemesinde farklı çalışma kodu (E1, E2, E3) ve eksplant tipinin (PLB) kullanılması ile elde edilen PLB kümesi sayısı (adet) ve PLB çoğaltım katsayısı.....	74
4.16. <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için erlende sıvı kültür denemesinde kullanılan çalışma kodu (E1, E2, E3) ve eksplant tipinin (PLB) PLB çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu	75
4.17. Erlende sıvı kültürlerde <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB'lerden sürgün rejenerasyonu çalışmasında rejenerasyon katsayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu elde edilen LSD gruplandırması.....	75
4.18. <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB'lerden sürgün rejenerasyonu teşviki için RITA® biyoreaktörlerinde çeşitli daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluklarında (adet) elde edilen rejenerant sayısı (adet) ve rejenerant çoğaltım katsayısı	77
4.19. <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB'lerden sürgün rejenerasyonu çalışmasında RITA® biyoreaktörlerinde kullanılan çeşitli daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluğu (adet)'nun rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu	79

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Cizelge

Sayfa

- 4.20.** *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden sürgün teşviki için RITA® biyoreaktörlerinde elde edilen rejenerasyon katsayılarına uygulanan istatistiki analizde daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluğu (adet) interaksiyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması80
- 4.21.** *In vitro* koşullarda sürgün çoğaltımı ve köklendirme çalışmasında edilen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)81
- 4.22.** *In vitro* koşullarda sürgün çoğaltımı ve köklendirme denemesinde yer alan çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.....83
- 4.23.** *In vitro* koşullarda sürgün çoğaltımı ve köklendirme denemesinde yer alan çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.....83
- 4.24.** Aklimatizasyon sonunda hayatta kalan *Cattleya* sp.ye ait bitkilerin sayısı (adet) ve yüzdesi (%)84
- 4.25.** *Cattleya* sp.ye ait köklü sürgünlerin aklimatizasyonunda kullanılan saksı toprağı karışımlarının (çalışma kodu) hayatta kalan bitki yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.....86

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Cizelge

Sayfa

- 4.26. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de kültüre alınan *Cattleya* sp. sürgünlerinde meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) 87
- 4.27. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu 88
- 4.28. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu 88
- 4.29. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de sürgün başına meydana gelen kök sayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu kültür koşulu ve çalışma kodu interaksiyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması 89
- 4.30. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerinde meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) 90
- 4.31. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu 91

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.32. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de sürgün çoğaltım katsayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu çalışma kodu ve kültür koşulları interaksiyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması.....	92
4.33. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üstündeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.....	92
4.34. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de sürgün başına meydana gelen kök sayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu çalışma kodu ve kültür koşullarının interaksiyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması	93
4.35. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de kültüre alınan <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB’lerde meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün rejenerasyon katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)	93
4.36. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB’lerin sürgün rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.....	94
4.37. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB’lerin sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.....	95

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.38. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te kültüre alınan <i>Cattleya</i> sp.ye ait sürgünlerde meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)	97
4.39. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te yer alan kültür koşulları, kültür sistemleri ve çalışma kodlarının <i>Cattleya</i> sp.ye ait sürgünlerin çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu	99
4.40. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te sürgün çoğaltım katsayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu kültür koşulları, kültür sistemleri ve çalışma kodlarının interaksiyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması	100
4.41. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te yer alan kültür koşulları, kültür sistemleri ve çalışma kodlarının <i>Cattleya</i> sp.ye ait sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu	101
4.42. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te sürgün başına meydana gelen kök sayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu kültür sistemi ve çalışma kodları interaksiyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması	102

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Cizelge

Sayfa

- 4.43. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 5'te 1. aşama besin ortamlarının ardından, standart içerikte besin ortamında (KÇ35) kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde 2. aşama sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet), toplam kök sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) 103
- 4.44. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 5'te yer alan çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu..... 105
- 4.45. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 5'te yer alan çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu 105
- 4.46. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 6'da kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)..... 106
- 4.47. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 6'da yer alan çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu..... 107
- 4.48. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 6'da yer alan çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu 108

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.49. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 7’de yer alan besin ortamlarında kültüre alınan <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB’lerden meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün rejenerasyon katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)	109
4.50. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 7’de yer alan çalışma kodlarının sürgün rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu	110
4.51. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 7’de yer alan çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu	110
4.52. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 8’de kültüre alınan <i>Cattleya</i> sp.ye ait PLB’lerden meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün rejenerasyon katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).....	111
4.53. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 8’de yer alan çalışma kodlarının sürgün rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu	112
4.54. <i>In vitro</i> çiçeklenme teşviki- Uygulama 8’de yer alan çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu	113
4.55. <i>In vivo Vanda</i> sp.ye ait çiçekli kısımlarda yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%)	115

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.56. <i>In vivo Vanda</i> sp.nin çiçekli kısımlarında uygulama dozları ve sürelerine göre gruplandırılan denemelerin yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.....	116
4.57. <i>In vivo Vanda</i> sp.de yaprak kısımlarında yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).....	116
4.58. <i>In vivo Vanda</i> sp.nin yaprak kısımlarında uygulama dozları ve sürelerine göre gruplandırılan denemelerin yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.....	117
4.59. <i>In vivo Vanda</i> sp.de bitkinin gövde kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%)	118
4.60. <i>In vivo Vanda</i> sp.nin gövde kısımlarında uygulama dozları ve sürelerine göre gruplandırılan denemelerin yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.....	119
4.61. <i>In vivo Vanda</i> sp.de bitkinin kök kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%)	120
4.62. <i>In vivo Vanda</i> sp.nin kök kısımlarında uygulama dozları ve sürelerine göre gruplandırılan denemelerin yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.....	121

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.63. <i>Vanda</i> sp.ye ait çiçek kısımlarında kararma gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).....	122
4.64. Besin ortamı içeriklerine göre gruplandırılan çalışma kodlarının <i>Vanda</i> sp.ye ait çiçek kısımlarından alınan eksplantlarda meydana gelen kararma yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu	123
4.65. <i>Vanda</i> sp.ye ait anterlerde kallus oluşumu meydana gelen eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%)	123
4.66. Besin ortamı içeriklerine göre gruplandırılan çalışma kodunun <i>Vanda</i> sp.ye ait çiçek kısımlarından alınan eksplantlarda gözlenen kallus oluşum yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu	124
4.67. <i>Vanda</i> sp.ye ait yapraklarda kararma gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).....	125
4.68. Besin ortamı içeriklerine göre gruplandırılan çalışma kodunun <i>Vanda</i> sp.ye ait yaprak kısımlarından alınan eksplantlarda gözlenen kararma yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.....	126
4.69. <i>Vanda</i> sp.ye ait gövde kısımlarında kararma gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).....	127

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)**Çizelge****Sayfa**

- 4.70.** Besin ortamı içeriklerine göre gruplandırılan çalışma kodunun *Vanda* sp.ye ait gövde kısımlarından alınan eksplantlarda gözlenen kararına yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu..... 128
- 4.71.** *Vanda* sp.ye ait gövde kısımlarından kültüre alınan eksplantlarda kültür süresine (hafta) göre meydana gelen PLB sayısı (adet) ve rejenerant oluşum katsayısı 129
- 4.72.** *Vanda* sp.ye ait kök kısımlarında kararına gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%) 130

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar Açıklama

ABA	Absisik asit
ASEAN	Association of the South East Asian Nations
BA	Benzil adenin
BAP	6-Benzilamino pürin
CCC	Chlorocholine Chloride
CSK	<i>Cattleya</i> Sürgün Köklendirme
CYS	<i>Cattleya</i> Yüzeysel Sterilizasyon
E	Erlen
GA ₃	Giberellik asit
HgCl ₂	Cıva klorür
IAA	İndol asetik asit
IBA	İndol bütirik asit
IPAdos	Izopentenil adenozin
İKPR	İnce Kesit PLB Rejenerasyonu
K	Koşul
KÇ	Katleya Çiçeklenme

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

Kısaltmalar **Açıklama.....**

LSD	Asgari önemli fark
N	Azot
NAA	Naftalen asetik asit
P	Fosfor
PLB	Protocorm like body (Protokorm benzeri yapı)
PPÇ	PLB’den PLB Çoğaltımı
PSR	PLB’den Sürgün Rejenerasyonu
R	RITA®
RITA®	Récipient à Immersion Temporaire Automatique
TCL	İnce Hücre Tabaka (Thin Cell Layer)
TDZ	Thidiazuron
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
USD	Amerikan doları
USDA	The United States Department of Agriculture
VR	<i>Vanda</i> Rejenerasyon
VYS	<i>Vanda</i> Yüzeysel Sterilizasyon

1. GİRİŞ

Orkide yetiştiriciliği, 1950’li yıllarda ekonomistler tarafından hobiden öteye geçemeyen bir sektör olarak tanımlanırken, günümüzde bu alan dünya çiçek ticaretinin yaklaşık %8’ini kapsayan uluslararası bir iş kolu haline gelmiştir ve bunun yanı sıra, orkide yetiştiriciliğinin bir ülkenin ekonomik manzarasını değiştirebilecek potansiyele sahip olduğu belirtilmektedir (Griesbach, 2002; Chugh ve ark., 2009).

Orkideler hem kesme çiçek, hem de saksı bitkileri olarak pazarlanmaktadır. Ülkemizde özellikle 2009 yılından sonra hızlı bir artış gösteren süs bitkisi üretim alanları, 2014 yılında (49.019 da), 2002 yılına (19.170 da) göre 2,5 kat artış göstermiştir (Süs Bitkileri Sektör Raporu, 2015). TÜİK’ten (2015) elde edilen verilere göre ülkemizde toplam 18.750 m² ekili alanda, 272.300 adet kesme orkide üretimi sağlanmıştır.

Türkiye’de 2014 yılı içinde toplam 32 milyon USD olan süs bitkisi ihracatında ilk sırada Hollanda (16.027.404 USD), ardından İngiltere (11.116.551 USD) yer almaktadır. Bunun yanı sıra, 2014 yılı toplam ithalat miktarımız 6 milyon USD’ye ulaşmıştır (Kesme Çiçek Sektör Raporu, 2015).

Günümüzde *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Oncidium* ve *Phalaenopsis* gibi orkide türleri dünya çapında pazarlanmaktadır ve orkide endüstrisi birçok ASEAN ülkesinin ekonomisine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. USDA’nın 2015 yılında Amerika’da yılda 10.000 USD ve üzerinde süs bitkisi satışı gerçekleşen eyaletleri kapsayan araştırmasında, 2015 yılında toplam 810 milyon USD’lik saksıda çiçekli bitki satışı gerçekleştirilmiştir ve bu satış rakamında 288 milyon USD ile ilk sırayı orkidelerin aldığı rapor edilmiştir. Aynı zamanda, Amerika’da 2015 yılı içinde toplam 4.37 milyar USD çiçekli bitki (bahçe ve çok yıllık bitkiler, saksıda çiçekli bitkiler, peyzaj ve iç mekan bitkileri, otsu çok yıllık bitkiler, dikime hazır olmayan anaç bitki) satışı içinde 36.376.000 adet saksılı orkide toplam 288.284.000 USD’ye satılmıştır. Bunun yanı sıra, aynı yıl içinde 4.682.000 dal orkidenin, dal başına 170,5 cent olmak üzere, toplam 7.983.000 USD’lik satışı yapılmıştır (Floriculture Crops, 2015).

Singapur'da 2014 yılında 48 milyon süs bitkisi (saksılı, peyzaj, süs, akvaryum ve doku kültüründen gelen bitkileri) üretimi yapılırken, 10 milyon dal kesme orkide üretimi gerçekleştirildiği belirtilmektedir (Yearbook of Statistic Singapore, 2015). Kesme çiçek ihracatçıları arasında 6. sırada yer alan Tayland orkide ihracatından her yıl 30 milyon USD kazanırken, diğer bir Uzakdoğu ülkesi olan Singapur ise 16 milyon USD kazanmaktadır (Chugh ve ark., 2009).

Dünyada yetiştiriciliği yapılan başlıca türler olan *Cattleya*, *Dendrobium*, *Epidendrum*, *Vanda*, *Brassia*, *Laelia*, *Miltonia*, *Paphiopedilum*, *Oncidium*, *Phalaenopsis* ve *Cymbidium* süs bitkileri olarak değer taşımaları nedeniyle ekonomik olarak oldukça önemlidirler (Choi ve ark., 2006). *In vitro* koşullarda elde edilen aseptik orkide sürgünleri piyasada satışa hazır biçimde 59 USD'ye, hediyelik eşya olarak kültür tüpleri ve renkli besin ortamları içinde yaklaşık 10-12 USD'ye, çiçekli sürgünler ise 25 USD'ye satılmaktadır (Ebay, 2016).

Kesme çiçek ve saksı bitkileri olarak Asya, Avrupa ve Amerika'da orkidelere olan talebin artması ile birlikte, dünya genelinde orkide üretimine ve aynı zamanda yeni ticari çeşitlerin geliştirilmesine olan ihtiyaç sürekli artmaktadır (Hee ve ark., 2007). Türkiye için yeni bir kazanç kaynağı olma potansiyeline sahip orkidelerin, süs bitkileri arasında diğer bitkilere göre taleplerinin giderek artacağı düşünülmektedir. Fakat ülkemizde bu bitkinin üretimi henüz tam anlamıyla gerçekleştirilmemektedir ve yurtdışından yüksek maliyetlerle kesme çiçek ve saksıda bitki olarak ithal edilmektedir. Bu durum ülkemiz çiçek sektörü açısından dışa bağımlılığı yaratan ve döviz kaybına yol açan önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

Mikroçoğaltım, düşük maliyetle büyük çaplı bitki üretimini mümkün kılmaktadır ve ABD'de 2008 yılında yaklaşık 140 milyon USD toplam değere sahip saksı orkideleri pazarına hakim olan *Phalaenopsis* başta olmak üzere birçok orkide çeşitleri ve hibritlerinin endüstriyel çapta ticari üretimde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Liao ve ark., 2011).

Özellikle uzun süren (3-7 yıl) gelişim süreçleri (Kamemoto ve ark., 1999), orkidelerin ticari üretiminde mikroçoğaltım ve doku kültürü tekniklerinin önemi arttırmaktadır (Martin ve Madassery, 2006). Bunun yanı sıra, orkidelerin doku kültürü teknikleri ile üretimleri, klasik yetiştiricilik yöntemlerine göre daha avantajlı olduğu pek çok çalışma mevcuttur.

Bitki doku kültürü teknikleri; çevresel etkenlerden (iklim, mevsimsel kısıtlamalar, toprak vb.) etkilenmeden, daha yüksek kalitede ve verimlilikle standart bitki üretimi açısından uygun bir seçenek olarak kabul edilmektedir. Fakat yarı katı besin ortamlarında gerçekleştirilen klasik bitki doku kültürü proseslerinde, eksplantların çoklu sürgün oluşturma oranlarının genellikle düşük olması ve üretim maliyetlerinin yüksek olması yeni üretim tekniklerinin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Bu amaçla, kitlesel üretim için yarı katı kültürler yerine; ölçek büyütme olanakları, fiziksel ve kimyasal çevrenin kolay kontrolü ve düşük üretim maliyetleri gibi avantajları nedeniyle, mikroçoğaltımların sıvı kültürlerle dayalı çeşitli biyoreaktörlerde gerçekleştirilmesi tercih edilmeye başlanmıştır. Ancak sürekli daldırma sistemine sahip biyoreaktörlerde karşılaşılan vitrifikasyon (hiperhidrifiye, camsılaşma), asfeksi (havasızlık kaynaklı boğulma) gibi çeşitli sorunlardan dolayı, geçici daldırma sistemine sahip biyoreaktörlerin kullanımı ön plana çıkmaktadır.

In vitro çiçeklenme tekniği ile boyut, şekil, renk tonları ve varyasyonları açısından istenen çeşitli çiçek özelliklerinin erken belirlenmesi mümkün olmaktadır. Ticari olarak tercih edilen karakterleri gösteren klon belirlendikten sonra istenilen orkideler doku kültürü ile büyük ölçekte üretilmektedir. Ayrıca, bitkide çiçek oluşumuna kadar geçen gençlik periyodunun önemli ölçüde kısaltılması ile çiçeklenmenin başlatılması ve çiçek gelişimine yönelik çalışmalar, buna bağlı olarak, istenilen özelliklere sahip melez tohum üretiminin kolaylaştırılabilmesi gibi avantajlar da *in vitro* çiçeklenme tekniğini ön plana çıkarmaktadır. Bunların yanı sıra, *ex vitro* koşullarda elde edilen çiçeklere göre daha küçük boyutlu çiçeklere sahip orkideler, piyasada hediye ve dekoratif olarak ticari önem göstermektedir (Sim ve ark., 2007).

Tez kapsamında başlangıç materyali olarak gerek dünya ve gerekse ülkemiz açısından ticari öneme sahip *Cattleya forbesii* ‘Alba’ ve *Vanda coerulea* orkidelerine ait *in vivo* bitkiler kullanılmıştır. Dış koşullardan temin edilen bitkisel materyallerin *in vitro* koşullarda yüzeysel sterilizasyonları tamamlandıktan sonra bu materyallerde protokorm benzeri yapı’ların (PLB) rejenerasyonu teşvik edilmiştir. *In vitro* koşullarda elde edilen PLB’lerden PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyon teşviki için yarı katı ve sıvı (erlen, RITA® biyoreaktör) kültür sistemleri kullanılmıştır. Bu aşamanın ardından sürgünlerin yarı katı kültür sistemlerinde çoğaltımı ve köklendirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu denemelerden elde edilen sağlıklı ve köklü sürgünlerin *ex vitro* koşullarda aklimatizasyonları sağlanmalarının yanı sıra, *in vitro* sürgün ve PLB’lerin başlangıç eksplantı olarak yer aldığı ve çeşitli besin ortamı bileşenleri, kültür sistemleri ile ortam koşulları kombinasyonlarının kullanıldığı *in vitro* çiçeklenme teşviki uygulamaları gerçekleştirilmiştir.

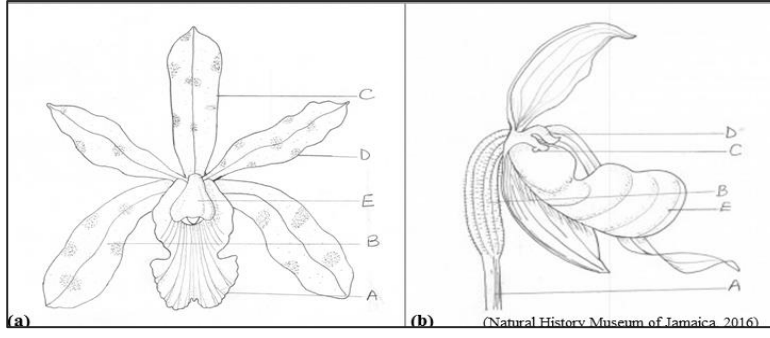
Türkiye’de orkide talebinin ithalata dayalı olarak karşılanmaya çalışılması nedeni ile karşımıza çıkan, dışa bağımlılığa ve ekonomik açıdan önemli döviz kaybına yol açan bu sorunun çözümüne yönelik olarak hücre, doku ve organ kültürü tekniklerinin kullanımı ile tez kapsamında, *in vitro* orkide üretimine yönelik modern biyoteknolojik yöntemlerin ele alınması sonucunda kısa sürede ticari çapta orkide üretim protokollerinin oluşturulması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

2.1. Orchidaceae

Bitkiler aleminin en zengin familyalarından biri olan Orchidaceae (Arditti, 1979), Schultes ve Pease'e (1963) göre 600-800 cins ve 25.000-35.000 tür; Sezik'e (1967) göre yaklaşık 450 cins ve 18.000- 20.000 türe sahiptir. Her yıl yeni türlerin keşfedilmesiyle ve yeni hibritlerin oluşturulmasına bağlı olarak orkidelerin çeşitliliğinin zamana bağlı olarak arttığı belirtilmektedir (Demir, 2014).

Eşsiz çiçek şekilleri ve çekici çiçek renkleri ile tanınan orkidelerin yetiştiriciliği çok eskiye dayanmaktadır (Tee ve ark., 2008). Ülkemiz koşullarında yumrulu, rizomlu ve bazı üyeleri epifit, saprofit ya da klorofilsiz çok yıllık otsu özellikte 23 cinse ait, 49 adeti de hibrit olmak üzere toplam 204 orkide türünün yetiştiği bilinmektedir (Sandal, 2009). Dünya geneline yayılan orkidelerin yaklaşık %70'i epifit, %25'i toprakta ve %5'i ise kayalar veya çürümekte olan bitkiler üzerinde yaşamaktadırlar (Güler ve ark., 2008). Epifitik orkideler sahip oldukları gösterişli çiçekleri ile kültürü en fazla yapılan bitkilerin başında gelmektedir (Arditti, 1979; Sezik, 1984). Karasal orta kuşak orkideleri toprak altı ve toprak üstü organlara sahiptirler. Toprak altı organları, kök ve depo organlarından (yumru veya rizom), toprak üstü organları ise gövde, yaprak ve çiçekten meydana gelmektedir (Demir, 2014). Çiçek örtüsü (periant), iç (petal) ve dış (sepal) olmak üzere iki halkadan oluşmaktadır. Orkidelerde ileri derecede farklılaşan petallerde labellum denilen bir yapı mevcuttur. Orkide türlerinin büyük bir kısmında gelişme dönemine giren çiçek, resupinasyon adı verilen bir olgu ile kendi eksenini etrafında döner ve buna bağlı olarak, çiçeğin üst kısmında yer alan labellum, 180 derece yer değiştirerek, çiçeğin alt kısmına geçmektedir (Mukherjee, 1983; MEB, 2008). Genel yapısı itibarıyla orkide çiçeğinin ön ve yan kesitleri Şekil 2.1'de belirtilmiştir (Natural History Museum of Jamaica, 2016). Süs bitkileri sektöründe oldukça önemli bir yere sahip olan orkideler aynı zamanda, gıda ve kozmetik sektörü ile tıbbi çalışmalarda da kullanılmaktadır (Çizelge 2.1) (Sandal, 2009).



Şekil 2.1. Genel yapısı itibariyle orkide çiçeğinin (a) Ön kesiti (A- Dudak ya da labellum, B- Lateral sepal, C- Dorsal sepal, D- Petal, E-Kolon) ve (b) Yan kesiti (A- Pedisel, B- Ovaryum, C- Anter, D- Staminod, E- Dudak).

Çizelge 2.1. Önemli bazı orkide türlerinin ve cinslerinin kullanım alanları (Sandal, 2009).

Kullanım Alanı	Önemli Bazı Türler ve Cinsler	Açıklama
Gıda	<i>Aceras, Anacamptis, Cephalanthera, Barlia, Dactylorhiza, Comperia, Coeloglossum, Epipactis, Goodyear, Gymnadenia, Himantaglossum, Limodrum, Listera, Neotinea, Neottia, Ophrys, Orchis, Platanthera, Serapias, Spiranthes, Traunsteinera</i>	Vanilya, salep, dondurma, yoğurt, pasta yapımı
Kozmetik	<i>Orchis punctulata</i>	Koku hammadesi
Tıbbi	<i>Vanda parviflora</i>	Antikanserojen ve antiviral
Süs Bitkisi	<i>Dendrobium, Phalaenopsis, Vanda, Cymbidium, Paphiopedilum, Oncidium, Phalaenopsis, Cattleya</i>	Kesme çiçek, saksı bitkisi

Cattleya, Orta ve Güney Amerika orijinli 48 türe sahip bir epifitik bir orkide cinsidir ve diğer tropik orkide türleri gibi yüksek sıcaklıklarda (>25°C) daha hızlı büyümektedir. *Cattleya* türlerinin büyük bir kısmı yalancı soğan adı verilen pseudobulblara sahiptir. İyi gelişmiş ve uzun olan bu yapının işlevi su depo etmektir. Diğer orkidelere göre fark edilir biçimde büyük ve gösterişli çiçeklere sahip olan *Cattleya* orkideleri orta veya yüksek sıcaklığa sahip iç mekanlar ve nemli ortamlarda daha iyi gelişim göstermektedirler (Mukherjee, 1983).

Cattleya'lar ıslah amacıyla hibridizasyonu yapılan ilk orkide cinsleri arasında yer almaktadır (Lopez ve Runkle, 2005). Hibrit çalışmalarında *Cattleya*'nın dünya geneline yayılan kullanım sıklığı, bu orkidelerin bazı türlere kıyasla saksı bitkisi olarak kullanılabilmesi ve rahat yetiştirilebilmesinin yanı sıra, özellikle hibridizasyon başarısının yüksek olmasından kaynaklanmaktadır (Mukherjee, 1983).

Cattleya türleri ve hibritlerinin çiçeklenme teşviki için genellikle kısa gün koşulları ve düşük sıcaklıklara ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir. Örneğin *C. warscewiczii*, *C. gaskelliana* ve *C. mossiae* türlerinde 9 sa aydınlık/15 sa karanlık fotoperiyot ve 13⁰C ortam sıcaklığı çiçeklenmeyi teşvik edebilmektedir. Bunun yanı sıra, aynı sıcaklığa sahip koşullarda, 16 saatlik kültür süresi bitkilerin çiçeklenmesi üzerinde inhibitör etki gösterebilmektedir. Genellikle kısa gün bitkisi olan *Cattleya* orkideleri ilkbahar döneminin yanı sıra, yaz ve sonbahar dönemlerinde de çiçek açabilmektedir (Lopez ve Runkle, 2004).

Orchidaceae familyasına ait *Vanda* orkideleri Güney Avustralya, tüm Hindistan ve Güney Çin'de doğal olarak yetişmektedir. Bu cins 40'tan fazla yabani tür ve çok sayıda hibrit içermektedir. Sahip oldukları görkemli çiçeklerden dolayısıyla *Vanda* orkideleri, Orchidaceae içinde oldukça beğenilmekte ve yüksek talep görmektedir.

Çekici mavi ve mavimsi mor çiçekli hibritleri ile kesme çiçek olarak çiçek marketlerinde fazla talep gören (Phuekvilai ve ark., 2009) *Vanda* orkidelerine ait çiçekler, modern hibritlerinin sahip olduğu geniş yelpazadaki renkleri, yılda 6 ya da daha fazla çiçeklenme sıklığına sahip olmaları ve 4 ile 8 hafta süreyle çiçekli kalabilmeleri nedeniyle diğer orkidelere göre ön plana çıkmaktadır (Motes, 2004; Gnasekaran ve ark., 2012).

Vanda cinsine sahip orkideler gösterişli çiçekleri dışında tıbbi öneme sahip türleri de içermektedir. *V. testacea* (Lindl.) Reichb epifitik *Vanda*-benzeri orkide türleri içinde alkaloid içeriği yüksek olması nedeniyle, tıbbi önemi bulunan bir türdür.

Vanda orkidelerine ait bitkilerin kök, yaprak, çiçekli kısımlarının tamamı toz haline getirilerek ya da ekstraksiyonu yapılarak bitkisel tedavilerde romatizma, bronşit, sinir hastalıkları, hemoroit, enflamasyon ve aynı zamanda potansiyel antikanser ilacı olarak kullanılmaktadır (Chauhan, 1990; Kaur ve Bhutani, 2009). Bunun yanı sıra, *V. spathula* (L.) Sprang. orkidesinin toz haline getirilmiş çiçeklerinin astım ve manik bozukluklarda; *V. tesellata* (Roxb.) Hook. Ex. Don. ekstraktlarının afrodizyak, antienflamatuvar, antiromatizmal, antimikrobiyal ve yara iyileştirici özelliklerinin bulunduğu rapor edilmiştir (Singh ve Duggal, 2009).

2.2. Orkidelerin *In Vitro* Koşullarda Yarı Katı Kültür Sistemlerde Üretimi ve Çoğaltımı

Mikroçoğaltım, çeşitli doku kültürü teknikleri aracılığıyla, bitkinin totipotensi özelliğine bağlı olarak, tam bir bitki oluşturabilme potansiyeli mevcut kısımlarından alınan belirli büyüklüklerdeki eksplantların, aseptik koşulların sağlandığı *in vitro* şartlarda, bitkinin ihtiyaç duyduğu besin elementlerini içeren yarı katı veya sıvı besin ortamlarında kültüre alınarak, mevcut bitkiyle eş özelliklerde yeni bitkilerin üretimi ve çoğaltımının sağlanması olarak tanımlanabilir.

Orkidelerin doku kültürü teknikleri yoluyla çoğaltımları çok uzun süredir yapılmaktadır ve birçok orkide cinsinde de tek tip klon üretimleri gerçekleştirilmiştir (Ng ve Saleh, 2011). Karasal orkidelerin yaşam döngülerini gerçekleştirmeleri için funguslarla ortaklaşa yaşam ihtiyacı içinde olmayabilecekleri durumu, 1922 yılında Knudson adlı araştırmacının çalışmaları sonucunda ortaya çıkmıştır. Knudson, fungus olmadan da orkide tohumlarının mineral ve şeker içeren basit bir besin ortamında çimlenebildiğini gösteren ilk araştırmacıdır (Gümüş ve Ellialtıoğlu, 2010). Bunun yanı sıra, birçok orkide cinsinde Protokorm Benzeri Yapı'lar (PLB), *in vitro* koşullar altında kısa sürede ve çok sayıda üretilbildikleri için ticari üreticiler tarafından tercih edilmektedir.

İyi farklılaşmış dokular olarak tanımlanan PLB'ler, sürgün ve kök meristemi olarak adlandırılan iki farklı polar yapıya sahip olmaları nedeniyle orkidelerin embriyoları olarak kabul edilirler. Bu nedenle bu yapılar, bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen besin ortamlarında kültüre alındıklarında bitkiye dönüşebilmektedirler (Ng ve Saleh, 2011).

1949 yılında *Phalaenopsis* çeşidine ait nod eksplantlarının, aseptik koşullarda tohum çimlendirme ortamında kültüre alınması ile sürgün rejenerasyonunun teşvik edilmesinin yanı sıra, 1960 yılında Georges Morel'in *Cymbidium* orkidesine ait sürgün uçlarından alınan eksplantların kültüre alınması ile çoklu sürgün oluşumlarının gerçekleştirildiği rapor edilmiştir (Griesbach, 2002).

Liao ve ark. (2011), doku kültürüne zor reaksiyon veren *Paphiopedilum* cinsine ait iki çeşit orkidede yaptıkları çalışmada, *in vitro* koşullarda çiçek tomurcuklarından sürgün rejenerasyonu sağlamışlardır.

Roy ve ark.'ı (2011), *Vanda coerulea* Griff. ex Lindl. tohumlarını çimlendirdikleri bir çalışmada, MS (Murashige ve Skoog, 1962) besin ortamına NAA (5,36 μ M), BAP (3,8 μ M) ve Phytamax ilave ederek protokorm rejenerasyonu, aktif kömür (3 g/l) ilave ederek sürgün rejenerasyonunu gerçekleştirdiklerini belirtmektedirler.

Vanda teres orkidesinin tohumları ile yapılan bir çalışmada da 1 mg/l BAP, 0,5 mg/l NAA, %2 sükröz, 2 g/l pepton ilave edilmiş VW (Vacin ve Went, 1949) besin ortamında, 40-45 günlük kültür süresi sonunda çimlenme meydana geldiği gözlenmiştir. Aynı çalışmada %10 hindistan cevizi suyu içeren besin ortamında da sürgün rejenerasyonu ile bu sürgünlerin gelişimi ve çoğaltımı sağlanırken, 2 g/l muz ekstraktı ve 100 mg/l kazein hidrolizat eklenmiş 1/2MS besin ortamında eş boyutlara sahip köklü sürgünler elde edilmiştir (Sinha ve Roy, 2004).

Tee ve ark.'nın (2010), *Vanda Somsri Pink* ve *Dendrobium Bobby Mesina Red* orkidelerinde %3 sükröz, 1 mg/l NAA ya da 1 mg/l picloram içeren MS besin ortamında kültüre aldıkları yaprak eksplantlarından PLB rejenerasyonunu sağlamalarına benzer olarak, Gantait ve Sinniah (2012), PLB rejenerasyonu için *Aranda Won Chark Kuan 'Blue'x Vanda coerulea* Griff. ex. (Lindl.) orkidesine ait yaprak eksplantlarını aktardıkları 1,5 mg/l TDZ içeren MS besin ortamında başarılı sonuçlar almışlardır.

Islam ve ark.'ı (2011) *Vanda roxburgii* tohumları ile yaptığı denemelerde 200 mg/l patates ekstraktı içeren besin ortamında %78,24 oranda tohum çimlenmesi; 100 mg/l patates ekstraktı içeren besin ortamında ise eş boyut ve özelliklere sahip köklü sürgünler elde etmişlerdir.

Malabadi ve ark.'nın (2004), *Vanda coerulea* ile yaptıkları çalışmada, 1,5 µM TDZ içeren VW besin ortamında kültüre alınan sürgün ucu eksplantlarında %95 oranda PLB rejenerasyonu, dört haftalık kültür süresi sonunda sağlıklı sürgünlerin gelişim gösterdiğini bunun yanı sıra, 11,42 µM IAA içeren 1/2VW besin ortamında %98 oranda köklü bitkilerin elde edildiğini rapor etmişlerdir

Vanda spathulata nod eksplantlarında sürgün rejenerasyonu için yapılan bir çalışmada ise BAP ve IAA içeren Mitra (Mitra ve ark., 1976) besin ortamında, altı aylık kültür süresi sonunda nod başına 12,6 ve 12,1 adet sürgün rejenerasyonu; altıkültürlemelerle 6,1 sürgün çoğaltım katsayısı; muz ekstraktı ve IAA içeren besin ortamında ise 3-9 haftada köklü bitkiler elde etmişlerdir (Decruse ve ark., 2003).

Dewir ve ark.'nın (2015), *Cattleya*'ya ait sürgün nodlarını *in vitro* koşullarda köklendirme ve aklimatizasyonu için yaptıkları çalışmada; 2,4 mg/l IBA ve %3 sükröz içeren 1/2MS besin ortamı ile 60 µmol/m²s ışık yoğunluğunun kullanıldığı kültür koşullarının en iyi köklenme yüzdesini sağladığı bildirilmişlerdir. Righeto ve ark.'ı (2012), *C. labiata* Lindley ve *C. eldorado* Linden sürgünlerinin çoğaltımında paklobutrazolun etkilerini incelemişlerdir.

2.2.1. Orkidelerin *In Vitro* Koşullarda İnce Hücre Tabaka Tekniği ile Üretimi ve Çoğaltımı

Bitkilerin gövde, yaprak, çiçek salkımları, çiçek primordiyası ya da çiçek organları, kotiledonlar, hipokotil/epikotil, embriyo, apikal uç gibi farklı kısımlarına ait eksplantlardan enine ya da boyuna olacak şekilde 0,1-10 mm arası kalınlıklarda alınan ince kesitlerin kullanımı İnce Hücre Tabaka (TCL) tekniği olarak adlandırılmaktadır.

Bazı orkideler ve diğer monokotil türlerde bitkicik üretimleri için sürgün ucu, nod, yaprak, çiçek sapı ve PLB gibi aktif büyüyen bitki kısımlarından alınan ince kesitlerin kullanıldığı ve bu tekniğin diğer *in vitro* tekniklere göre daha etkili olduğu çalışmalar bulunmaktadır (Zhao ve ark., 2007; Chugh ve ark., 2009).

Lakshmanan ve ark. (1995), *Arachnis hookeriana* (Rchb.f.) Rchb. f. ve *Vanda lamellata* Lindl. hibriti olan Aranda Deborah'ın *in vitro* koşullarda hızlı çoğaltımı için ince hücre tabaka sistemini kullandıkları çalışmada, 6-7 mm'lik sürgün uçlarından 0,6-0,7 mm arası kalınlıklarda alınan enine kesitlerin %20 (v/v) hindistan cevizi sütü içeren VW besin ortamında kültüre alınması ile 45 gün sonra eksplant başına ortalama 13,6 PLB elde edilirken, aynı koşullarda kültüre alınan 6-7 mm uzunluktaki sürgün ucu eksplantı başına sadece 2,7 PLB oluştuğu belirtilmektedir.

Sinha ve ark.'nın (2007) yaptığı çalışmada ise olgun *Cattleya* hibritinin genç sürgünlerinden alınan ince hücre tabakaları 1,5 mg/l BA, 0,5 mg/l NAA, %2 (w/v) sükröz, %10 (v/v) hindistan cevizi sütü, 2 g/l pepton ve 1 g/l aktif karbon eklenmiş 1/2MS besin ortamında kültüre alındıktan sonra altkültürlemeler için aynı ek maddeleri içeren yarı katı MS ortamı kullanmışlardır. Çalışmada ilk 12 hafta içinde ortalama 8 adet PLB rejenerasyonu sağlanmasının yanı sıra, yapılan altkültürlemelerde 8 haftada 220 adet PLB elde edilmiştir. Aynı zamanda 8. haftada ince kesit eksplantlardan gelişen sürgünlerin tamamında köklenme gözlenmiştir.

Sinha ve ark.'nın (2007) yaptığı çalışma sonunda, ilk kültür başlangıcından itibaren 41 hafta içinde tek bir ince hücre tabaka eksplanttan 1.260 adet bitki elde edilmiştir. Buna bağlı olarak, PLB'lerin çoğaltım ortamında tekrarlı altkültürlemelerinin yapılması ve PLB kümesinin taban kısmındaki yapraklı sürgünlerin alınarak, çoğaltım için kullanılan besin ortamında kültüre alınması ile her 32 haftada 500.000 bitkicik elde edildiği rapor edilmiştir.

2.3. Orkidelerin Sıvı Kültür Sistemlerde Üretimi ve Çoğaltımı

Yarı katı besin ortamı ve küçük kültür kapları kullanılarak yapılan mikroçoğaltım prosesi; bitki dokularının tüm yüzeyinin besin ortamı ile temas etmemesi, katılaştırıcı ajan olarak kullanılan agar ürünlerinin besin ortamı bileşenleri ile tepkimeye girebilmesi ve ticari büyük çaplı üretim için otomasyonu zorlaştırması gibi bazı dezavantajlara sahiptir. Ayrıca, altkültürden 4-6 hafta sonra, besin ortamı içindeki besinlerin tüketiminden ve biyokütlenin artarak kültür kaplarını doldurmasından dolayı, doku ya da bitkilerin, taze besin ortamı içeren yeni kültür kaplarına sürekli olarak transfer edilmeleri gerekmektedir. Bu nedenle, yarı katı kültürler ile gerçekleştirilen mikroçoğaltım, iş gücü fazla olan bir tekniktir ve üretim maliyetinin %40-60'ını, genellikle işçilik maliyeti oluşturmaktadır (Berthouly ve Etienne, 2005; Robert ve ark., 2006).

Sıvı kültür ortamlarının kullanımı; kültür koşullarını oldukça uniform yapmakta, işçiliği azaltarak ve üretim maliyetlerini arttıran jelleştirici maddelerin kullanımını elimine ederek üretim maliyetlerini düşürmektedir. Bunun yanı sıra, sıvı besin ortamlarının katılaştırıcı madde içermemesi nedeniyle, kültüre alınan eksplantın, besin ortamındaki su ve çözünmüş maddeleri alımı kolaylaşmaktadır. Ayrıca sıvı kültürlerde ölçek büyütme ve otomasyon işlemleri de mümkün olmaktadır. Buna bağlı nedenler dolayısıyla, kitlesel çapta üretimde sıvı kültürler tercih edilmeye başlanmıştır.

Sıvı kültür sistemlerinin pek çok avantajı bulunmasına rağmen, bitkisel materyallerde vitrifikasyon riskine sebep olması ve eksplantların sıvı besin ortamı içine batmalarından dolayı asfeksi gibi problemler de bu sistemlerin dezavantajları olarak ortaya çıkmaktadır (Alvard ve ark., 1993; Berthouly ve Etienne, 2005; Robert ve ark., 2006). Buna bağlı olarak, sıvı kültür ortamlarının dezavantajlarını elimine etmek amacıyla, geçici daldırma sistemleri geliştirilmiştir (Afreen, 2006).

Geçici daldırma sisteminde bitki dokuları, belirli aralıklarla ve belirli sürelerde besin ortamı ile temas etmektedir. Bu sistemde, sıvı besin ortamının kullanımıyla eş zamanlı olarak kültür kabı içerisindeki gaz çevresi de kontrol edilebilmekte ve üretim maliyetleri düşürülerek otomasyon sağlanabilmektedir. Bu sistemin esas alındığı biyoreaktörler kullanılarak, büyüme ve çoğaltım oranının artırılması ile büyüme odasında birim alan başına daha fazla bitki üretilmekte ve böylece üretilen her bir bitkinin maliyeti düşürülmektedir. Sürekli daldırma sistemlerinin, büyüme ve morfogenez üzerinde bazı olumsuz etkileri bulunmaktadır. Geçici daldırma sistemlerinde ise, bitkisel materyal her bir daldırma süresince besin ortamı ile direkt temas halinde olduğu ve ara devre süresince ince bir sıvı film tabakası ile kaplandığı için büyüme olumlu yönde etkilenmektedir. Bitkisel materyalin büyüme ve gelişimi, biyoreaktörün daldırma sıklığı ve süresinin düzenlenmesi ile kontrol edilebilmektedir. Bunun yanı sıra bu sistemlerin yer aldığı çalışmalarda elde edilen bitkilerde, diğer sistemlere göre daha az hiperhidrisite gözlenmektedir. Ayrıca, bu tip sistemle çalışan biyoreaktörler kullanıldığında, bitki dokuları üzerindeki havalandırma ve karıştırmadan kaynaklanan mekanik stres azalmaktadır (Berthouly ve Etienne, 2005; Afreen, 2006).

Geçici daldırma sistemine sahip olan RITA® biyoreaktörleri, 2 bölmeden oluşan 1 L'lik tekrarlı kullanılabilir ve otoklavlanabilir polisülfondan yapılmış kültür kaplarıdır. Bu biyoreaktörün üst bölmesine eksplantlar, alt bölmesine ise sıvı besin ortamı konulmaktadır. Bu iki bölme, alt bölmeye basınç uygulandığında besin ortamı yukarı çıkacak şekilde birbirine bağlanmıştır.

RITA® biyoreaktörleride hava ile basınç pompalandığı sürede, üst bölmeye yükselen besin ortamı dolayısıyla, eksplantlar besin ortamı ile temas etmektedir. Daldırma periyodu sırasında verilen hava akımı ile besin ortamının yükselmesi sonucu eksplantlar çalkalanmakta, ayrıca kültür kabının havası da yenilenmektedir. Biyoreaktörün üstündeki çıkış bölgesinden havanın uzaklaştırılması sonucu besin ortamı, yerçekiminin etkisi ile alt bölmeye geri dönmektedir (Teisson ve Alvard, 1999).

RITA® biyoreaktörleri; elma, çilek gibi farklı bitki türlerinin mikroçoğaltımlarında başarılı olarak kullanılmaktadır (Zhu ve ark., 2005; Hanhineva ve ark., 2005; McAlister ve ark., 2005).

Tirado ve ark. (2005), *Phalaenopsis*'te kitlesel üretim amacıyla 3 aylık *in vitro* protokormlarının çoğaltımını sağlamak üzere RITA® biyoreaktörlerinde çeşitli daldırma sıklığı (4 sa/1 dk ve 8 sa/1 dk) ve sükröz konsantrasyonu (0, 15, 30, 45, 60 g/l) ile denemeler gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada protokorm başına elde edilen en yüksek protokorm oluşumu (8,2 adet), 4 saatte 1 dakikalık daldırma periyodu ve 15 g/l sükröz içeren besin ortamı kullanımı ile meydana geldiği rapor edilmiştir.

Young ve ark. (2000), *Phalaenopsis* orkidelerinde hava kaldırmalı balon tip sürekli daldırma sistemine sahip biyoreaktörlerle geçici daldırma sistemine dayalı biyoreaktörleri ilk defa karşılaştırdıkları çalışmalarında bu orkideye ait PLB'lerin rahatlıkla çoğaltılabildiğini ve diğer ticari orkide türlerinin de biyoreaktörlerde gerçekleştirilebilecek küçük modifikasyonlarla kitlesel olarak üretilbileceklerini belirtmişlerdir.

Sıvı kültürler kullanılarak geçici daldırma sistemleri aracılığıyla orkidelerin ticari üretimlerinin yapılabilirdiği az sayıda çalışma (Young ve ark., 2000; Hempfling ve Preil, 2005), genellikle *Phalaenopsis* cinsi ile gerçekleştirilmiştir.

Young ve ark.'ı (2000), aktif karbon filtreli geçici daldırma sistemlerinde, Hyponex (Kano, 1965) kültür ortamı kullanarak sürgün rejenerasyonunun (%83), köklenmenin (%83) ve bitkicik taze ağırlıklarının (207,4 g), sürekli daldırma (5 l) ve çalkalamalı erlenlerde (25, 50, 100 ml) elde edilen sonuçlara göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Hempfling ve Preil (2005) ise *Phalaenopsis* sürgünleri ile 5 l'lik ikili cam kapların kullanıldığı geçici daldırma sistemlerinde 1/2MS besin ortamına 0,5 mg/l TDZ eklenmesi sonucunda adventif sürgün çoğaltımını (%25,4) ve kök oluşumunu başarılı şekilde sağlamışlardır.

2.4. Çift Tabakalı Kültür Sistemleri

Çift tabakalı kültür sistemleri hem yarı katı hem de sıvı kültürlerin avantajlarını bir araya getirmesi nedeniyle *in vitro* mikroçoğaltım teknikleri içinde önemli bir yere sahip olan bu teknik, sıvı besin ortamının, yarı katı besin ortamı üzerine eklenmesiyle oluşturulmaktadır. Sıvı besin ortamının, yarı katı besin ortamı üzerinde yer alan sıvı faz, bitkinin besin elementlerini daha rahat kullanmasını sağlamaktadır (Ishak, 2001).

Çift tabakalı sistemlerin bitki doku kültürü çalışmalarında yüksek büyüme oranı ve biyokütle artışı sağladığı, özellikle de sekonder metabolit üretiminde verimi teşvik ettiği, aynı zamanda sürgün uzaması ve kök oluşumunda da önemli sonuçlar elde edilmesini sağladığı belirlenmiştir. Buna bağlı olarak, bu tekniğin başarılı kültür sistemlerinin dizaynında, ürün veriminin ve büyüme oranının optimizasyonunda avantaj yarattığı öne sürülmektedir.

Çift fazlı kültür sistemlerinde sıvı faz hücrenin büyümesi ve gelişimi için gerekli besin maddelerini içermektedir. Diğer faz katı ya da sıvı olabilmektedir. Bu fazların belirlenmesi bitki türüne göre değişmektedir. İkinci fazın seçiminde birçok faktör önemli yer tutar. Bunlar; ikinci fazın tipi, konsantrasyonu, iki faz arasındaki oran ve pH değişimi gibi faktörlerdir (Malik ve ark., 2013).

Senapati'nin (2015), *Rauwolfia serpentine* L. Bent ile gerçekleştirdiği çalışma ile çift tabakalı ve yarı katı kültür sistemlerinin verimliliklerini karşılaştırmıştır. Buna göre, bu bitki ile yapılan denemelerde sürgün çoğaltım oranı, sürgün uzunluğu ve gövde kalınlığının çift tabakalı kültür sistemlerinde, çoklu sürgün gelişiminin ise yarı katı kültür sistemlerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışma köklenme açısından incelendiği zaman ise çift tabakalı sistemlerde kültüre alınan sürgünlerde 8 haftalık süre sonunda iyi gelişmiş kökler elde edilirken, yarı katı kültür sistemlerinde bu süre 12 haftaya ulaşmaktadır. Bunun yanı sıra, sürgün başına meydana gelen kök sayısı, kök uzunluğu ve kök kalınlığı gibi parametrelerin ve buna bağlı olarak aklimatizasyon yüzdeleri incelendiğinde de çift tabakalı kültür sistemlerinin, yarı katı kültür sistemlerinin önüne geçtiği rapor edilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen bilgiler ışığında, sürgün çoğaltım oranı, sürgün uzunluğu ve sürgün kalınlığının çift tabakalı sistemlerde daha yüksek olmasının, eksplant ile besin ortamının temas yüzeyinin artması ve buna bağlı olarak besin ortamındaki bileşenlerin bitki tarafından difüzyon ve absorpsiyonun artması olarak gösterilmiştir.

Pullman ve Skryabina (2007) ile Scherwinski ve ark.'ı (2011) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda aynı içeriğe sahip besin ortamlarının kullanıldığı çift tabakalı kültür sistemlerinde sürgün sayısı ve büyümede artış ile aynı anda köklenme de meydana geldiği gözlenmiştir. Çift tabakalı sistemlerde sürgün ve kök gelişiminin paralel gerçekleşmesinin, bu sistemin bitkide difüzyon/absorpsiyon oranının arttırmasının yanı sıra, çift tabakalı besin ortamlarında köklerin daha iyi gelişmesine bağlı olarak da aklimatizasyon yüzdelerinin arttığı rapor edilmiştir. Bu sistemin bitkide gerçekleştirdiği fiziksel iyileştirmelerin yanı sıra, çalışma sonunda yapılan maliyet analizi sonucu tekrarlayan altkültürlemelere ihtiyaç duyulamamasına bağlı olarak, hem toplam maliye hem de işçilik açısından daha fazla avantaj elde edilebilmektedir.

2.5. *In Vitro* Çiçeklenme

Çiçeklenme, bitkilerin yaşam döngüsünde en önemli fizyolojik olaylardan biridir. Bu süreç bitkilerin vejetatif aşamadan reprodüktif aşamaya geçişi ile sürgün ucunun floral meristeme dönüşmesi, bunun sonucunda da çiçeğe ait organ oluşumu ve olgunlaşması olarak gerçekleşmektedir (Guangyuan ve ark., 1997; Sim ve ark., 2007; Kanchanapooma ve ark., 2010).

Piyasada orkidelere karşı gösterilen büyük ilgi sayesinde, bu bitkilerin hızlı ve seri üretildiği *in vitro* tekniklerin geliştirilmesine yönelik yapılan çalışmaların sayısı da artmış ve çiçeklerin erken aşamada elde edildiği *in vitro* çiçeklenme tekniği geliştirilmiştir. Çiçeklenme, içsel ve dışsal faktörler tarafından düzenlenmektedir. Buna bağlı olarak, *in vitro* çiçeklenme teşviki için besin ortamı ve hormonal uygulamaların yanı sıra, fotoperiyot ve sıcaklık istekleri de göz önünde bulundurulması gerektiği rapor edilmiştir (Vaz ve ark., 2004; Kanchanapooma ve ark., 2010).

In vitro çiçeklenme, özellikle nadir bulunan bitkilerden alınan polenlerin kullanıldığı seçici hibridizasyon tekniği ve melezlenemeyen hatlarda *in vitro* fertilizasyon ile genetik materyal rekombinasyonun sağlanmasına ilk adımı oluşturma potansiyelinin yanı sıra, mikroçoğaltım ile yeni tür ve çeşitlerin piyasaya daha hızlı çıkarılmasında önemli bir yardımcı teknik olmaya başlaması ile önem kazanmaktadır (Hee ve ark., 2009).

In vitro çiçeklenme aracılığıyla çiçeklenme fizyolojisi ile içsel ve dışsal fitohormonlar, şekerler, mineraller ve fenoliklerin düzeylerinin önemi ve birbirleri ile olan etkileşimlerinin anlaşılması kolaylaşmaktadır ve bunun yanı sıra, spesifik konular ve çiçeklenmenin başlangıcı, çiçek organlarının gelişimi ve senesensi gibi üreme prosesi mekanizmasının tamamını incelemek için de uygun bir araç olarak kabul edilmektedir (Murthy ve ark., 2012).

In vitro koşullarda uygulanan teknikler ile büyüklük, şekil, renk tonu ve çeşit gibi istenilen çiçek özelliklerinin daha kısa sürede gerçekleştirilmesi mümkün olabilmektedir. Buna bağlı olarak da istenilen karakteristik özelliklere sahip olarak seçilen klon, doku kültürü aracılığıyla kitlesel olarak çoğaltılabilmektedir. Aynı zamanda, istenilen bitkinin gençlik döneminin *in vitro* koşullarda önemli ölçüde kısaltılması ile elde edilen çiçeklenme başlangıcı ve çiçek gelişimi protokolleri, fizyoloji çalışmaları için model sistem olarak kullanılabilir. *In vitro* koşullarda tozlaşma ve çiçeklenme tekniklerinin ticari öneme sahip bitkilere adaptasyonun en önemli yönlerinden biri de oldukça fazla zaman, çaba, alan, iş gücü ve maliyetten kazanç sağlanması ile orkide yetiştiriciliğine katkıda bulunulması olduğu düşünülmektedir. Tüm bunların yanı sıra, *in vitro* koşullarda elde edilen minyatür çiçekli orkideler, hediye ya da dekorasyonda ticari değere sahiptir (Sim ve ark., 2007).

In vitro çiçeklenme ile ilgili yapılan yakın zamandaki araştırmalar, bu olgunun doğasını ve çiçeklenmeye etki eden faktörleri daha iyi anlamamıza yardımcı olmasının yanında, doğada hibritlerin başarısızlığa uğramış tohum/bitkilerin daha iyi genetik varyetelerinin oluşturulmasında yardımcı bir teknik olarak önümüze çıkmaktadır (Sridhar ve Naidu, 2011).

In vitro koşullarda kültüre alınan çiçek durumu ve çiçeklenme çalışmalarına ait yayınlar, iki çeneklilere göre tek çeneklilerde oldukça az sayıdadır (Murthy ve ark., 2012). Orkide türleri ve hibritleri arasında; *Oncidium*, *Doriella*, *Phalaenopsis*, *Dendrobium*, *Cymbidium* ve *Psychomorphis pusilla*'da *in vitro* çiçeklenme başarılı bir şekilde gerçekleştirilebilmiştir (Vaz ve ark., 2004). *In vitro* çiçeklenme orkideler dışında; *Gentiana triflora* Pall. var. *Axillariflora* (Zhang ve Leung, 2000), *Pisum sativum* L. (Franklin ve ark., 2000), *Withania somnifera* Dunal. (Saritha ve Naidu, 2007), *Capsicum frutescens* (Sharma ve ark., 2008), *Spathiphyllum* (Dewir ve ark., 2008), gül (Kanchanapooma ve ark., 2010), *Phoenix dactylifera* L. (Masmoudi ve ark., 2010), *Petunia* (Kulpa ve Nowak, 2011), *Centaurea cyanus* ve *Centaurea montana* (Alaiwi ve ark., 2012) bitkilerinde elde edilmiştir.

Vaz ve ark. (2004), sıcaklık ve fotoperiyodun *Psycmorchis pusilla*'nın vejetatif ve reprodüktif gelişimi üzerine yaptıkları çalışmada, 12 ve 16 saatlik fotoperiyotlarda bitkilerin tamamında çiçek oluşumunun teşvik edildiği, 20 saat ve daha uzun süreli fotoperiyot uygulamasında ise çiçek oluşumunun önemli ölçüde inhibe olduğu ve çiçek gelişimi için optimum sıcaklığın 27°C olarak belirlendiğini rapor etmişlerdir.

Sim ve ark. (2007), *Dendrobium* Madame Thong-In'de erken *in vitro* çiçek oluşumunu başarıyla gerçekleştirmişlerdir. Vejetatif sürgün apikal meristeminin çiçek meristemine dönüşümünün 2-3 mm uzunluğunda, 2-3 yapraklı genç protokormların 4,44 μ M BA eklenmiş sıvı Knudson C (KC; Knudson, 1946) besin ortamında elde etmişlerdir. Bunun yanı sıra, sıvı kültür sistemlerinin kullanımı ile çiçek gelişiminin bozulma gösterdiği, çift tabakalı kültür sistemlerinde ise tamamen normal çiçeklerin oluştuğu belirlenmiştir. Bu çalışmada belirlenen optimum koşullarda, *Dendrobium* Madame Thong-In orkidesinde *in vitro* çiçeklenme protokolü, tohumların kültüre alınmasından sonra 5 aylık süreçte tamamlanmıştır.

Hee ve ark. (2007), *in vitro* koşullarda rejenerasyonunu sağladıkları *Dendrobium* Chao Praya Smile bitkiciklerinde *in vitro* çiçeklenme ve bu çiçeklerden tohum üretimini yaklaşık 11 ay içinde başarabilmişlerdir. Çalışmada elde edilen en yüksek çiçek oluşum yüzdesi (%45), çimlenmeden itibaren 6 ay içinde çift tabakalı kültür sisteminde gözlenmiştir.

Wang ve ark. (2009), *Dendrobium nobile* Lindl. orkidesinde yaptıkları çalışmada, bu bitkiye ait tohumların *in vitro* koşullarda çimlendirilmesinden elde edilen sürgünlerden 4 ay içerisinde %33,3-34,8 oranlarında erken çiçeklenmeyi başarmışlardır. Denemelerde kullanılan sürgünler 0,3 mg/l PBZ ve 0,5 mg/l NAA içeren 1/2MS ortamında ön kültüre alınıp, daha sonra PBZ ve TDZ'yi birlikte içeren besin ortamına aktarıldıklarında ise çiçek tomurcuğu oluşum oranı %95,6'ya kadar artmıştır. Buna göre *Dendrobium nobile* Lindl. orkidesi ile yapılan çalışmada belirlenen optimal koşullar altında tohumların kültüre alınmasından yaklaşık 6 ay sonra *in vitro* çiçeklenme gerçekleşmiştir.

Yararbaş tarafından 2008 yılında yapılan çalışmada *Phalaenopsis*'te kurulan 20 kavanozluk denemenin 4 tanesinde tomurcuklanma belirlenmesinin yanı sıra, *Cymbidium* ile yaptıkları çalışmada gece 10°C, gündüz 22°C koşulu sağlanamadığı için *in vitro* çiçeklenmenin gerçekleştirilemediği ifade edilmiştir.

2.5.1. *In vitro* çiçeklenmeyi teşvik eden faktörler

Çiçeklenme, bitkide apikal meristematik tepenin, çiçeğin tüm kısımlarını oluşturacak olan floral meristeme dönüşümü ile başlar. Apikal meristemin sürgün mü yoksa çiçek meristemine dönüşümünü belirleyen sinyaller bitkinin olgunluğu, sıcaklık, fotoperiyod ve gece-gündüzün oransal uzunluğu ile ilişkilidir (Murthy ve ark., 2012).

Tissarat ve Galletta (1995), bitkilerin sadece fotoperiyod, çevresel tepkiler ve genetik faktörler uygun olduğu zaman çiçeklendiğini belirtmektedirler. *In vitro* şartlar altında bu koşulların değiştirilerek, bitkilerin daha erken generatif faza girmeleri teşvik edilebilmektedir (Murthy ve ark., 2012).

Çok yıllık bitkilerin pek çoğu çiçeklenme kapasitesine erişmeden önce vejetatif gelişim sürecinde, uzun bir gençlik periyodunu aşmak zorundadır. Örneğin bambu gibi bazı türler, uzun gençlik fazına sahiptir ve bitki doku kültürü ile bu uzun gençlik fazı azaltılabilmektedir.

Bitkilerde gençlik fazına ait iki karakteristik özellik görülmektedir: (1) Olgun dönemdeki sürgünler olgun dönemdeki dalları meydana getirirken, sürgünün genç kısımlarından meydana gelen dallar genç özelliktedirler. (2) bitkinin tepe kısmındaki koltukaltı tomurcukları olgun dönemde devamlılık gösterirken, köklerin yanındaki koltukaltı tomurcukları daha gençtir. Bitki doku kültürü sistemleri ile vejetatif sürgünlerin mikroçoğaltımı yapılarak, bitkinin gençlik periyodu kısaltılıp, çiçeklenme indüklenebilmektedir (Lin ve ark., 2008).

Reprodüktif dokuların çoğaltımında, vejetatif dokuları çoğaltmak üzere kullanılan mikroçoğaltım, gençlik fazının atlatılması pek çok açıdan yarar sağlayacaktır. Örneğin, sürgün ve yaprak gibi vejetatif dokuların kaldırılması ile bitkinin çiçeklenme dönemine geçişi için normalde ihtiyaç duyulan zaman ve para azalacaktır. Bu durum, araştırmacıların bir yıl civarında bir sürede çiçek üretmesine olanak sağlayacaktır (Lin ve ark., 2008).

Pek çok araştırma sonucu alınan verilere göre *in vitro* çiçeklenme teşviki için bitki büyüme düzenleyicileri, sıcaklık, ışık düzeni ve besinsel faktörlere olan ihtiyaçlar, farklı türlere ait eksplantlarda oldukça önemli oranda çeşitlilik göstermektedir (Bernier ve ark., 1981). Bunun yanı sıra, çiçek gelişimi için farklı dönemlerde kültüre alınan eksplantların ihtiyaç duydukları bitkisel hormonlar ve besin maddeleri de değişkenlik göstermektedir. Bu nedenle, *in vitro* çiçeklenme prosesine ait kapsamlı bir tanımlama oluşturmak oldukça zordur (Murthy ve ark., 2012).

Sitokininler çiçeklenmede oldukça önemli bileşiklerdir ve yaygın olarak *in vitro* çiçeklenmede kültür ortamlarında kullanılırlar. BA, *in vitro* koşullarda etkili çiçeklenme için ihtiyaç duyulan bir büyüme düzenleyicisidir (Sim ve ark., 2007).

In vitro çalışmalarda sıklıkla kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerinden olan IAA ve NAA gibi oksinlerin, sitokininlerle kombinasyonunun çiçek tomurcuğu oluşumu ve çiçeklenme teşvikinde rol oynadığı belirlenmiştir. Örneğin, Sheeja ve Mandal (2003) da domateste *in vitro* çiçeklenme ve meyve oluşumunda yüksek düzeyde içsel oksin seviyesinin önemli bir etken olduğunu rapor etmektedir. Bazı araştırmalarda oksinin esas çiçekli aksamlarında inhibitör görevi gösterdiği bilinse de yakın zamanda yapılan çalışmalar, IAA'nın *in vitro* çiçek oluşumunu engellemediğine dair sonuçlar yayınlamasının yanı sıra, bir sitokinin olan Kn ile birlikte kullanımıyla *in vitro* çiçeklenmenin teşvik edildiği rapor edilmiştir (Sridhar ve Naidu, 2011).

BAP'ın, hindistan cevizi suyu gibi sitokinin içeren diğer kaynaklar ile kullanıldığında çiçek salkımı ve çiçek tomurcuğu oluşumu ile normal çiçek gelişimini arttırdığı bilinmektedir (Sim ve ark., 2007).

Wang ve ark.,'ı (1997), *Dendrobium candidum* ile yaptıkları çalışmada BA'nın tek başına kullanımının bu türde çiçek oluşum oranını arttırdığını ve kök gelişimini inhibe ettiğini bunun yanı sıra, NAA ve BA'nın birlikte kullanımının çiçek oluşumu teşvik ettiğini, buna bağlı olarak oksinlerin tek başına çiçek oluşumunu engellediğini rapor etmişlerdir.

Goh ve Yang'ın (1978), iki tane *Dendrobium* hibritinde yaptıkları çalışmada IAA ve BAP'ın birlikte kullanımı ile IAA'nın, BAP'ın çiçeklenmeyi teşvik edici etkisini baskıladığını; Koh ve Loh'un (2000), *Brassica napus* ile yaptıkları çalışmada da oksin ve sitokinin kombinasyonlarının, bu türün hızlı üreme döngüsünde *in vitro* çiçeklenmeyi baskıladığını belirtmektedirler.

Wang ve ark., (2009) düşük dozlarda (0,05-0,1 mg/l) TDZ kullanımının *D. nobile* orkidesinin çiçeklenmesinde BAP'tan (1 mg/l) daha etkili olduğunu öne sürmüşlerdir. Bunun yanı sıra NAA (1 mg/l) ile yapılan ön uygulama sonucu çiçek teşvikinin ve normal çiçek üretiminin dikkate değer bir biçimde arttığı rapor edilmiştir.

Oksin ve sitokininlerin dozları arasındaki denge, tütün eksplantlarının çiçek oluşumu çalışmalarında ve pek çok büyüme, gelişim prosesinin kontrolünde önemli olduğu öne sürülmektedir (Peeters ve ark., 1991).

Nadgauda ve ark. (1990), hindistan cevizi suyundaki inositol ve sitokinin oksidas inhibitörleri gibi sitokinin yanıtlarını teşvik eden bileşenlerin, çiçeklenmeyle sitokinin arasındaki bağlantıyı açıklamaktadır. Çiçeklenmenin ortaya çıkmasında sitokininlerin rolünün erken mitotik aktivitenin kontrolü, aksiller meristemlerde zamanından önce teşvik ve meristemlerdeki üretim oranının artırılmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Scorza ve Janick, 1980).

Bernier (1981), sitokininlerin, *in vitro* çiçeklenmede, çoklu faktörlere bağlı çiçeklenme teşvinin olası bir bileşeni olduğunu ifade etmektedir.

Kapalı tohumlu bitkilerin reprodüktif aktivitelerinin düzenlenmesi üzerine yapılan moleküler çalışmalar spesifik sitokinin oksidaz/ dehidrogenaz (CKXs) genlerinin, sitokininler tarafından katalizlendiği belirtilmektedir (Bartrina ve ark., 2011).

Hossain ve ark.'nın (2013), *Arabidopsis* bitkisinin çiçeklenmesi ile yaptıkları çalışmada, trans-zeatin ribozid tip sitokininlerin çiçeklenmede baskın tipte hormonlar olduğunu ve bunun yanı sıra sitokinin konsantrasyonu tarafından değiştirilebilen çiçek meristemi aktivitesinin CKX3 ile CLX5 genleri tarafından düzenlediğini rapor etmişlerdir (Hossain ve ark., 2013).

Sim ve ark.'nın (2007), *Dendrobium* Madame Thong-In orkidesi ile yaptıkları çalışmada, Duan ve Yazawa'nın (1994), *Doriella* Tiny orkidesi ile yaptıkları çalışmaya benzer olarak, hindistan cevizi suyunun çiçek tomurcuğu oluşumunda etkili olmadığı belirtilmiştir. Buna bağlı olarak, hindistan cevizi suyunun başarılı bir çiçeklenme prosesinin aşamalarında tek başına yeterli olmadığını ileri sürülmektedir.

Kostenyuk ve ark.'ı (1999), *Cymbidium* niveo-marginatum Mak orkidesinde sitokinin uygulaması ile birlikte, besin ortamındaki azot miktarının azaltılıp, fosfor miktarının artırılmasının ve kültür süresince oluşan köklerin çıkarılmasının, bitkinin vejetatif fazdan generatif faza geçişini indüklediğini ve böylelikle bu orkidede erken *in vitro* çiçeklenmenin sağlandığı rapor etmişlerdir.

In vitro koşullarda kültüre alınan bitki hücre ve dokuları heterotrof oldukları için yeterli miktarda karbonhidrat sentezi yapamazlar ve dışarıdan ek bir enerji kaynağı olarak şekere ihtiyaç duyarlar. Bu nedenle, şekerler besin ortamı bileşenleri içinde çok önemli bir yere sahiptir (George, 1993).

Ohto ve ark.'ı (2001), bazı bitkilerin çiçeklenme zamanının belirlenmesinde şeker seviyelerinin önem taşıdığı öne sürmektedirler. Şöyle ki, çiçeklenme öncesinde bitkilerin metabolik aktiviteleri buna bağlı olarak, yapraklardan gövde apikal meristemine doğru karbonhidrat taşınımının arttığını, buna bağlı olarak, bitkinin çiçeklenme zamanı hakkında bilgi edinilebileceğini belirtmektedirler.

Büyüme geriletilici özeliğe sahip bitki büyüme düzenleyicilerin, *in vitro* koşullarda yüksek bitkilerin internod uzunluğu, yaprak boyutu, yaprakların koyu yeşil renkliliğini ve kök kalınlığını azaltmasının yanı sıra, *in vitro* koşullardan *in vivo* koşullara aktarılan bitkiciklerin aklimatizasyon aşamasında kuraklık toleransını arttırdığı rapor edilmiştir (Te-Chato ve ark., 2009). Bunun yanı sıra, ABA ve prolin benzeri bileşiklerin stresi indükleyen bileşikler olması ile çiçeklenmeyi etkileyebileceğine dair dolaylı da olsa kanıtlar yer almasına rağmen, ABA'nın *in vitro* ve *ex vitro*'da çiçeklenmeyi indükleyici rolü olduğuna dair oldukça az rapor yer almaktadır. Bu durumun bitkilerde su ve ısı stresinin hassas üreme aşamasından, azaltılmış stres periyoduna geçişinin direkt üreme prosesi ile ilişkilendirilebileceği gibi bir stres hormonu olan ABA'nın, prolin gibi osmo-protaktanların birikmesini sağlayan ABA ile regüle olan gen dizisi aracılığıyla fonksiyon gösterdiği de ileri sürülmektedir (Saxena ve ark., 2008).

Sitokininlere ek olarak, iPA dos'un (izopentenil adenozin) *Arabidopsis*'te erken *in vitro* çiçeklenme ve çiçek tomurcuğu oluşumunda etkili olduğunun belirlenmesinin yanı sıra, triacontanol, lanthanum ve cerium gibi sitokinin içermeyen besin ortamlarında erken çiçeklenmenin teşvik edildiği zaman, kök ve yaprak dokularında İP alt ailesinin içsel konsantrasyonunun önemli düzeyde arttığı rapor edilmiştir (He ve Loh, 2002).

Limpanavech ve ark.'nın (2008), moleküler ağırlıkları ve kaynaklarına göre birbirinden ayrılan P-70, O-70, P-80, O-80, P-90 ve O-90 olmak üzere 6 tip kitosan molekülünün *Dendrobium* 'eiskul'un çiçek üretimi üzerindeki etkisini araştırdığı çalışmada, 1, 10, 50 ve 100 ppm dozlarda kullanılan O-80 tip kitosanın tüm konsantrasyonlarında, kitosan kullanılmayan kontrol grubuna göre erken çiçeklenme meydana gelmiştir.

In vitro çiçeklenme ve meyve oluşumunun teşviki besin ortamına eklenen fitohormonların yanı sıra, bitkinin içsel büyüme düzenleyicileri, şeker ve minerallerin seviyesine de bağlıdır (Chang ve Chang, 2003).

Çiçeklenmeye etki eden başka bir faktör ise magnezyum sülfat uygulamasıdır. Magnezyum önemli bir bitki makro besinidir. Magnezyum klorofil molekülünde merkezi bir konuma sahiptir ve bu nedenle fotosentezde temel rol oynayan elementlerin başında gelmektedir. Magnezyum ve kükürt, bitki metabolik fonksiyonları ve bitki besin maddeleri içinde en çok kullanılan mineraller arasında yer almaktadır. Fakat epsom tuzlarının orkide veya başka bitkiler üzerinde bilimsel olarak kanıtlanmış bir etkisi yoktur (Lopez ve Runkle, 2004).

In vitro koşullarda, bitkilerin muhafaza edildikleri ışık yoğunlukları da kültür ortamının en önemli faktörleri arasında bulunmaktadır (Murashige, 1974). Jeong ve Clark'ın (2004), yaptıkları çalışmada, uzun gün koşulları altında *Arabidopsis thaliana* bitkisinde metabolik yolların uyarılarak, genlerin aktifleştiği ve çiçeklenme teşvikinin gözlemlendiği belirlenmiştir.

Zivanovic ve Vucinic (1996), *Chenopodium rubrum* bitkisinde fotoperiyodun, biyoelektrik potansiyel farkı oluşturarak, sinyal yollarını uyardığını, böylece ilgili genlerin eksprese olarak, çiçeklenme ile ilgili sinyallerin meydana geldiğini öne sürmektedir.

Sim ve ark.,'ı (2007), çiçek sapı oluşumu yada vejetatif meristemlerin çiçek meristemlerine geçişinde besin ortamı kompozisyonlarının ve kültür koşullarının yanı sıra, besin ortamının fiziksel durumunun da çok önemli bir rol oynadığını, benzer olarak Tisserat ve Galletta (1995), biberin sürgün uçlarını büyüme düzenleyicisi içeren ve içermeyen MS besin ortamlarında kültüre alarak yaptıkları çalışmada, sadece besin ortamı bileşenlerinin değil, fiziksel kültür ortamının da biberin çiçeklenmesinden sorumlu faktör olduğunu belirtmektedirler.

Kerbaui (1984), *Oncidium varicosum* ile yaptığı çalışmada pseudobulb gelişiminin büyüme hızını, buna bağlı olarak vejetatif periyodun kısaltılmasını, besin ortamı kompozisyonu ve çevresel koşulları kontrol altına alarak gerçekleştirmiştir.

Wang ve ark.'ı (2002), gülde altkültür zamanı ve orijinal kültürün yaşının da *in vitro* çiçeklenme teşvikini etkilediğini belirtmektedir. Bunun yanı sıra, çalışmada gelrite ile katılaştırılmış ve sıvı besin ortamlarının *Dendrobium* hibritlerinde çiçeklenme başlangıcına olan etkisi, yarı katı ve sıvı besin ortamlarındaki bitki besin alımı etkinliğinden kaynaklandığı ve çift tabakalı kültür sisteminin, büyüme ve özellikle çiçek gelişimi için oldukça uygun bir alternatif sistem olduğu öne sürülmektedir.

3. MATERİYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. *Cattleya* sp.

Tez çalışmasında başlangıç materyali olarak ticari sera koşullarında yetiştirilmiş, 7 yaşındaki *Cattleya forbesii* ‘Alba’ orkidesine ait ana bitkiden (Şekil 3.1) gelişen 6 aylık genç, köklü sürgünler kullanılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.1. *Cattleya* sp.ye ait olgun, çiçekli bitki.



Şekil 3.2. *Cattleya* sp.ye ait *in vivo* genç, köklü sürgünler (bar: 1 cm).

In vivo koşullardan temin edilen genç sürgünlerin yüzeysel sterilizasyonu tamamlandıktan sonra TCL tekniği ile nod kısımlarından alınan ince kesitlerden (0,5-1,5 mm), Protokorm Benzeri Yapı'ların (PLB) rejenerasyonu teşvik edilmiştir. Buna göre, PLB'den PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonu için yarı katı ile erlen ve biyoreaktörlerin kullanıldığı sıvı kültürlerde *Cattleya* sp.ye ait hem bütün halinde (2-5 mm), hem de TCL tekniği ile elde edilen ince kesit (1-2,5 mm) PLB'ler eksplant olarak kullanılmıştır.

Şekil 3.3'te (a) PLB'den PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonu için eksplant kaynağı olarak kullanılan PLB kümesi yer almaktadır.



Şekil 3.3. PLB'den PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonu için eksplant kaynağı olarak kullanılan PLB kümesi (bar: 1 cm).

PLB rejenerasyonu ve çoğaltımı ile PLB'den sürgün rejenerasyonu çalışmalarında eksplant kaynağı olarak kullanılan PLB'lerin boyutlarına (2-5 mm) bağlı olarak, rejenerasyon kabiliyetlerinin de farklı olabileceği göz önünde bulundurulmuştur. Bu nedenle denemelerde her boyuttan eşit sayıda PLB kullanımına dikkat edilmiştir.

Cattleya sp.ye ait *in vitro* sürgünlerin çoğaltımı ve köklendirilmesi çalışmalarında 15-25 mm arası uzunluklarda köksüz *in vitro* sürgünler; *ex vitro* aklimatizasyonda 40-60 mm arası uzunluklarda, en az 4 yapraklı, sağlıklı ve köklü *in vitro* sürgünler; *in vitro* çiçeklenme çalışmasında ise kurulan denemeye bağlı olarak ya 20-40 mm arası uzunluklarda seçilen *in vitro* sürgünler ya da 2-5 mm arası uzunluklarda tekli PLB'ler çalışma materyali olarak kullanılmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. *Cattleya* sp.ye ait çalışmalarda başlangıç eksplantı olarak kullanılan (a) köksüz ve (b) köklü *in vitro* sürgünler ile (c) bütün halindeki tekli PLB (bar: 1 cm).

3.1.2. *Vanda* sp.

Tezde mavi orkide olarak bilinen *Vanda coerulea* ile gerçekleştirilen çalışmalarda başlangıç materyali olarak 3-4 yaşında, gelişkin, köklü ve iekli bitkiler kullanılmıştır (şekil 3.5).



şekil 3.5. Tez alışması için kullanılan *Vanda* sp.

3.2. Metot

3.2.1. *Cattleya* sp.

3.2.1.1. Yüzeysel sterilizasyon aşamaları

Cattleya sp.ye ait yaklaşık 6 aylık başlangıç materyaline uygulanan yüzeysel sterilizasyon aşamaları aşağıda belirtilmiştir:

- Yüzeysel sterilizasyon uygulaması için temiz bir bistüri yardımı ile yaprakları çıkarılan genç sürgünün, gövde ve kök kısımları bitkisel materyal olarak kullanılmıştır.
- Bundan sonra her bir bitki kısmı ayrı ayrı 3-4 damla ticari sıvı deterjan ve 150 ml distile su içeren 250 ml'lik beherlere alınarak, manyetik karıştırıcıda 15 dakika süreyle karıştırılmışlardır.
- Ardından kök ve gövde materyalleri akan su altında 15 dakika durulandıktan sonra, yüzeysel sterilizasyon işlemine laminar hava akışlı steril kabinde devam edilmiştir.
- Çalışma öncesi %70'lik etil alkolle silinen ve UV ışıkla sterilizasyonu yapılan kabine alınan bitkisel materyaller öncelikle ayrı ayrı 150 ml %70'lik etil alkol bulunan 250 ml'lik steril erlenlerde birer dakika çalkalanmışlardır.
- Bu uygulamadan sonra gövde eksplantları 3, 5 ve 8 dakika, kök eksplantları ise 5 ve 8 dakika süreyle 250 ml steril erlenlerde, içinde 150 ml birkaç damla Tween-20 eklenmiş %0,1 HgCl₂ ile çalkalandıktan sonra üç defa steril distile su ile durulanmışlardır.
- Yüzeysel sterilizasyon uygulamaları tamamlanmış olan bitkisel materyaller, steril kabin içinde, steril kurutma kağıtları üzerine alınarak, kültüre alma işlemine hazır hale getirilmiştir.

3.2.1.2. Besin ortamı hazırlıkları

Yarı katı besin ortamlarının hazırlığı

Yarı katı besin ortamı hazırlıkları için ilk olarak, kullanılacak temel besin ortamına bağlı olarak önceden hazırlanan stok çözeltilerden gerekli miktarlarda alınmış ve manyetik karıştırıcı üzerinde, içinde bir miktar distile su bulunan beherde karıştırılmıştır. Bunun ardından, stok olarak hazırlanamayan, toz haldeki bileşenler ve karbon kaynağı (sükroz) da tartılarak, behere aktarılmıştır. Beherde hiç çökelti kalmayana kadar karıştırılan ortama, yapılan denemeye bağlı olarak çeşitli bitki büyüme düzenleyicileri de ilave edildikten sonra, besin ortamının istenilen son hacme ulaşması için gerekli miktarda saf su eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Bu aşamanın ardından, seyreltik asit (HCl) ya da bazik (NaOH) çözeltiler ve pH metre yardımı ile besin ortamının pH'ı dengelenmiştir. Son olarak, besin ortamının yarı katı hale gelmesini sağlayacak gelrite ilavesi yapıldıktan sonra, besin ortamının sürekli karışmasını sağlayan manyetik karıştırıcının ısıtıcısı açılarak, gelrite iyice çözünene kadar kaynatılmıştır. Kaynatma işleminin ardından berrak bir görünüm alan besin ortamları sıcak iken uygulanacak denemeye göre belirlenen kültür kaplarına eşit miktarlarda dökülmüş ve kapakları kapatılarak otoklava yerleştirilmişlerdir.

Tez çalışmasına ait denemelerde kullanılan Knudson C (Knudson, 1946), MS (Murashige ve Skoog, 1962), Mitra (Mitra ve ark., 1976) ve Gamborg B5 (Gamborg ve ark., 1968) temel besin ortamı bileşikleri Çizelge 3.1'de yer almaktadır.

Çizelge 3.1. Temel besin ortamı bileşikleri ve konsantrasyonları (mg/l).

Temel besin ortamı bileşikleri	Konsantrasyon (mg/l)			
	Knudson C	MS	Mitra	Gamborg B5
KNO ₃	-	1.900	180	2.500
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	-	-	150	150
(NH ₄) ₂ SO ₄	500	-	100	134
NH ₄ NO ₃	-	1.650	-	-
MgSO ₄	-	-	-	-
MgSO ₄ ·7H ₂ O	250	370	250	250
CaCl ₂ ·2H ₂ O	-	440	-	150
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1.000	-	200	-
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	-	-	0,05	-
KH ₂ PO ₄	250	170	-	-
MnCl ₂ ·4H ₂ O	-	-	0,40	-
MnSO ₄ ·H ₂ O	-	-	-	10
MnSO ₄ ·4H ₂ O	-	22,30	-	-
KI	-	0,83	0,03	0,75
H ₃ BO ₃	-	6,20	0,60	3
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	-	8,60	0,05	2
CuSO ₄ ·5H ₂ O	-	0,03	0,05	0,03
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	-	0,25	0,05	0,25
CoCl ₂ ·6H ₂ O	-	0,03	-	0,03
FeSO ₄ ·7H ₂ O	25	27,80	27,80	27,28
Trisriplex(Na ₂ EDTA)	-	37,30	37,30	37,30
Nikotinik asit	-	0,50	1,25	1
Pridoksin-HCl	-	0,50	0,30	1
Thiamin-HCl	-	0,10	0,30	10
Biotin	-	-	0,05	-
Folik asit	-	-	0,30	-
myo-inositol	-	100	-	100
Glisin	-	2	-	-

Sıvı besin ortamlarının hazırlığı

Erlenlerde ve RITA[®] biyoreaktörlerde kullanılan sıvı besin ortamı hazırlığı başlangıç aşamasında, yarı katı besin ortamı hazırlığı ile aynı aşamalar uygulandıktan sonra gelrite eklenmeyen ve kaynatma işlemi yapılmayan sıvı besin ortamları direkt erlenlere aktarılmıştır. Son olarak, ağız kısmı hava almayacak şekilde hidrofil pamuk yerleştirilen ve üzeri iki kat alüminyum folyo sarıldıktan sonra otoklova alınan erlenlerde sıvı besin ortamlarının sterilizasyonu yapılmıştır.

Biyoreaktör çalışmalarında da aynı şekilde hazırlanan sıvı besin ortamı RITA® biyoreaktörlerine aktarıldıktan sonra tamamen alüminyum folyo ile sarılarak, dik duracak şekilde otoklava yerleştirilmişlerdir. Tüm besin ortamları 121°C, 1,4 atm basınçlı otoklavda, 15 dakika süre ile sterilize edilmişlerdir.

Çalışmalarda yer alan bazı besin ortamlarında sıcaklık ile bozulan hindistan cevizi suyu (C5915- Sigma) kullanılmıştır. Bu bileşeni içeren yarı katı ya da sıvı besin ortamlarının ön hazırlığını tamamlandıktan sonra mavi kapaklı otoklavlanabilir şişelere aktararak, otoklavda sterilize edilmişlerdir. Bu aşamadan sonra 35-40°C'ye kadar soğuması beklenen besin ortamı steril laminar akışlı kabine alınmış ve gerekli miktardaki hindistan cevizi suyu steril iğne uçlu filtreden (0,22 µm) geçirilerek, besin ortamına eklenmiştir.

3.2.1.3. Kültürlerin kurulması ve besin ortamı içerikleri

***In vivo* sürgünlerin yüzeysel sterilizasyon başarısının belirlenmesi için yarı katı kültür sistemlerinin kurulması**

In vivo koşullardan temin edilen *Cattleya* sürgünlerinin yüzeysel sterilizasyonu için gövde eksplantlarına 3, 5 ve 8 dakika, kök eksplantlarına 5 ve 8 dakika sürelerde %0,1 HgCl₂ uygulanmıştır. Çalışmada gövde ve kök eksplantlarına uygulanan yüzeysel sterilizasyon süresi (%0,1 HgCl₂- dk) ve çalışma kodları Çizelge 3.2'de yer almaktadır. Kültür süresinin 1 ay olarak belirlendiği denemelerde tüm besin ortamları K1 kodlu kontrollü kültür koşullarında muhafaza edilmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.2. *In vivo* *Cattleya* sp.ye ait gövde ve kök eksplantları ile gerçekleştirilen yüzeysel sterilizasyon uygulama süresi (%0,1 HgCl₂- dk) ve çalışma kodu.

Çalışma kodu	Yüzeysel sterilizasyon uygulama süresi (%0,1 HgCl ₂ - dk)
CYS1	3
CYS2	5
CYS3	8

Çizelge 3.3. *In vivo* *Cattleya* sp.ye ait gövde ve kök eksplantlarının yüzeysel sterilizasyon uygulamalarının muhafaza edildiği kontrollü kültür koşulları ve kültür koşullarına ait kod.

Kültür koşullarına ait kod	Fotoperiyot süresi (gündüz/gece- sa)	Işık şiddeti (lüks)	Sıcaklık (gündüz/gece- $\pm 2^{\circ}\text{C}$)
K1	16/8	2.500	25

Üç tekerrürlü olarak uygulanan denemelerde her tekerrürde 10 adet olmak üzere, toplam 30 adet gövde ve kök eksplantı kullanılmıştır. Bir aylık kültür süresi sonunda yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%) belirlenmiştir.

Cattleya sp.ye ait *in vivo* koşullardan alınan başlangıç materyaline uygulanan yüzeysel sterilizasyon çalışmasının istatistiki olarak değerlendirilmesi TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, tek faktörlü (sterilizasyon süresi) tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılmıştır.

***In vivo* sürgünlerde PLB rejenerasyonu için yarı katı kültür sistemlerinin kurulması ve kullanılan besin ortamı içerikleri**

Cattleya sp.ye ait sürgünlerin nod kısımlarından İnce Hücre Tabaka (TCL) tekniği ile yaklaşık 0,5 ve 1,5 mm arasındaki kalınlıklarda alınan ince kesit eksplantlarda PLB rejenerasyonunu teşvik etmek için kullanılan yarı katı besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu Çizelge 3.4'te yer almaktadır.

Çizelge 3.4. *Cattleya* sp.ye ait sürgün nodlarından TCL tekniği ile alınan ait ince kesit eksplantlarda PLB rejenerasyonunu teşvik etmek üzere kullanılan besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu.

Çalışma kodu	Besin ortamı içeriği					pH
	Temel besin ortamı	Sükroz (g/l)	BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Gelrite (g/l)	
İKPR	KnudsonC	20	1,2	1,2	3	5,8

Cattleya orkidesine ait PLB rejenerasyonu teşviki için yapılan çalışmada 30 günlük kültür süresinin sonunda yapılan gözlemlerde, ince kesit eksplantlarda PLB ve sürgün rejenerasyonun devam ettiği belirlenmesi nedeniyle bu eksplantlar hiç bir ayırma işlemi yapılmadan aynı içerikteki taze besin ortamında kültüre alınmış ve 60 gün sonra yani 90. günde yeniden gözlem yapılmıştır.

Üç tekerrürlü olarak kurulan PLB rejenerasyonu çalışmasında her tekerrürde 25 adet olmak üzere, toplam 75 adet ince kesit eksplantı kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan tüm besin ortamları Çizelge 3.3'te yer alan kontrollü kültür koşullarında muhafaza edilmiştir. Bu çalışmada tek bir besin ortamı ve çalışma koşulları kullanılması nedeniyle, alınan sonuçlara istatistiki değerlendirilme yapılmamıştır.

PLB'den PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonu için yarı katı kültür sistemlerinin kurulması ve kullanılan besin ortamı içerikleri

Yarı katı kültür sistemlerinde *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı ve PLB'den sürgün rejenerasyonunu teşvik etmek için hem bütün halinde hem de ince kesit eksplantların kültüre alındığı yarı katı besin ortamı içerikleri, pH ve çalışma kodları Çizelge 3.5'te yer almaktadır.

Çizelge 3.5. *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonunu teşvik etmek üzere kullanılan yarı katı besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu.

Çalışma kodu	Besin ortamı içeriği					
	Temel besin ortamı	Sükroz (g/l)	Hindistan cevizi suyu (%- v/v)	BAP (mg/l)	Gelrite (g/l)	pH
PPÇ	KnudsonC	20	15	1	3	5,3
PSR	KnudsonC	20	15	2,5	3	5,3

Yarı katı kültür sistemlerinde PLB'den PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonu için üç tekerrürlü gerçekleştirilen çalışmada her tekerrürde 12 adet olmak üzere, toplam 36 adet eksplant kullanılmıştır.

İki aylık kültür süresi boyunca K1 kodlu kontrollü koşullarda (Çizelge 3.3) muhafaza edilen denemelerde elde edilen rejenerant (tekli PLB, PLB kümesi veya sürgün) sayısı (adet) ve çoğaltım katsayısı belirlenmiştir. Yarı katı kültür sistemlerinde PLB'den PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonu denemeleri istatistiksel olarak TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, tek faktörlü (eksplant tipi) tesadüf parselleri deneme desenine göre değerlendirilmiştir.

PLB'den PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonu için erlenlerde sıvı kültür sistemlerinin kurulması ve kullanılan besin ortamı içerikleri

Erlenlerde sıvı kültür sistemlerinde PLB'den PLB çoğaltımı ile PLB'den sürgün rejenerasyonu çalışmalarında kullanılan besin ortamı içeriği, gelrite ilavesi dışında yarı katı denemelerinde kullanılan besin ortamlarıyla aynı içeriktedir (Çizelge 3.5). Bu kültür sistemlerinde de başlangıç eksplantı olarak yarı katı sistemleri ile eş boyutlarda ve yaşta seçilen bütün halinde ve ince kesit PLB'ler kültüre alınmıştır.

Erlenlerde sıvı kültür çalışmasında kullanılan erlen ve sıvı besin ortamı hacimleri (ml) ile besin ortamı hacmine paralel olarak her bir tekerrürde kullanılan inokülüm yoğunluğu (adet) Çizelge 3.6'da yer almaktadır.

Çizelge 3.6. Erlenlerde sıvı kültür sistemlerinin kullanıldığı *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonu çalışmasında kullanılan erlen ve sıvı besin ortamı hacimleri (ml) ile besin ortamı hacmine paralel olarak her tekerrürde kullanılan inokülüm yoğunluğu (adet) ve çalışma kodu.

Çalışma kodu	Erlen hacmi (ml)	Besin ortamı hacmi (ml)	İnokülüm yoğunluğu (adet)
E1	100	40	7
E2	250	100	18
E3	500	200	36

Erlenlerde kültüre alınan tüm besin ortamları 120 rpm'e ayarlanan çalkalayıcıda ve Çizelge 3.3'de yer alan K1 kodlu koşulların sağlandığı kontrollü kültür odasında muhafaza edilmiştir. Sıvı kültürlerin erlen

denemelerinde yapılan gözlemler sonucu PLB'lerin erken yaşlandığı ve besin ortamında bulanıklık gözlemlendiği için kültür süresi 1 ay olarak belirlenmiştir.

Çalışmada 1 aylık kültür süresi sonunda elde edilen PLB kümesi sayısı (adet) ve PLB çoğaltım katsayısı belirlenmiştir. Erlenlerde sıvı kültür sistemlerinde PLB'den PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonu çalışmalarının istatistiki değerlendirilmesi TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, bütün halinde ve ince kesit eksplantlarda tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre uygulanmıştır.

PLB'den PLB çoğaltımı ve sürgün rejenerasyonu için RITA® biyoreaktörlerinde sıvı kültür sistemlerinin kurulması ve kullanılan besin ortamı içerikleri

RITA® biyoreaktörlerinde *Cattleya* sp.ye ait PLB'den PLB çoğaltımı ve PLB'den sürgün rejenerasyonu denemelerinde kullanılan besin ortamları içerikleri gelrite haricinde, yarı katı kültür sistemleri ile aynıdır (Çizelge 3.5). Bunun yanı sıra, başlangıç eksplantı olarak kullanılan hem bütün halinde hem de ince kesit eksplantlar da yarı katı sistemlerde kullanılan PLB'ler ile benzer özelliklerde seçilmiştir.

RITA® biyoreaktörlerde (1.000 ml) sıvı kültürlerin kullanıldığı çalışmada sıvı besin ortamlarının eksplantlarla muamele ettiği sürenin belirlendiği daldırma periyodu (1 dk/4 sa ve 1 dk/8 sa), biyoreaktörün alt haznesine doldurulan sıvı besin ortamı hacmi (150, 200 ve 250 ml) ve üst haznedeki inokülüm yoğunluğuna (10, 20 ve 30 adet) bağlı olarak bütün halinde ve ince kesit eksplantların ayrı ayrı kültüre alındıkları çalışma Çizelge 3.7'de yer almaktadır.

Çizelge 3.7. RITA® biyoreaktörlerinde PLB'den PLB çoğaltımı ve PLB'den sürgün rejenerasyonu çalışmalarında kullanılan daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluğu (adet) ile çalışma kodu.

Daldırma periyodu (dk/sa)	Besin ortamı hacmi (ml)	Eksplant tipi (PLB)	İnokülüm yoğunluğu (adet)	Çalışma kodu
1/4	150	Bütün halinde	10	R1
			20	R2
			30	R3
		İnce kesit	10	R4
			20	R5
			30	R6
	200	Bütün halinde	10	R7
			20	R8
			30	R9
		İnce kesit	10	R10
			20	R11
			30	R12
	250	Bütün halinde	10	R13
			20	R14
			30	R15
		İnce kesit	10	R16
			20	R17
			30	R18
1/8	150	Bütün halinde	10	R19
			20	R20
			30	R21
		İnce kesit	10	R22
			20	R23
			30	R24
	200	Bütün halinde	10	R25
			20	R26
			30	R27
		İnce kesit	10	R28
			20	R29
			30	R30
	250	Bütün halinde	10	R31
			20	R32
			30	R33
		İnce kesit	10	R34
			20	R35
			30	R36

Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen çalışma, 2 aylık kültür süresi boyunca K1 kodlu kontrollü koşullarda muhafaza edilmiştir (Çizelge 3.3).

RITA® biyoreaktörlerinde sıvı besin ortamlarında gerçekleştirilen PLB'den PLB çoğaltım çalışmasında elde edilen PLB sayısı (adet) ve PLB çoğaltım katsayısı ile PLB'den sürgün rejenerasyonu çalışmasında elde edilen toplam rejenerant (tekli PLB, PLB kümesi, 2-3 yapraklı gelişkin PLB) sayısı (adet) ve rejenerasyon katsayısı belirlenmiştir. Denemelerde elde edilen çoğaltım katsayılarının istatistiki analizi TARİST istatistik programı aracılığıyla, dört faktörlü (daldırma periyodu, besin ortamı hacmi, eksplant tipi, inokülüm yoğunluğu) tesadüf parselleri deneme desenine göre uygulanmıştır.

***In vitro* sürgünlerin çoğaltımı ve köklendirilmesi için yarı katı kültür sistemlerinin kurulması ve kullanılan besin ortamı içerikleri**

Cattleya sp.ye ait *in vitro* sürgünlerin çoğaltımı ve köklendirme çalışması için 1/2MS besin ortamına çeşitli miktarlarda (30, 60, 90, 120 g/l) süktroz eklenen yarı katı besin ortamları kullanılmıştır (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8. *Cattleya* sp.ye ait *in vitro* sürgünlerin çoğaltımı ve köklendirme çalışmasında kullanılan besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu.

Çalışma kodu	Besin ortamı içeriği				pH
	Temel besin Ortamı	Süktroz (g/l)	BAP (mg/l)	Gelrite (g/l)	
CSK1	1/2MS	30	1	3	5,3
CSK2	1/2MS	60	1	3	5,3
CSK3	1/2MS	90	1	3	5,3
CSK4	1/2MS	120	1	3	5,3

K1 kodlu koşullarda (Çizelge 3.3) muhafaza edilen *in vitro* sürgünlerin çoğaltımı ve köklendirilmesinde kültür süresi 2 ay'dır. Üç tekerrürlü olarak, her tekerrürde 10 adet, toplam 30 adet eksplant kullanılan denemelerin kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) belirlenmiştir. İstatistiki değerlendirmeler TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre uygulanmıştır.

***Ex vitro* aklimatizasyon hazırlığı ve ortam koşulları**

In vitro koşullarda köklendirilen *Cattleya* sp.ye ait sürgünler, *ex vitro* aklimatizasyon için farklı saksı toprağı bileşenlerine aktarılmış ve kontrollü koşullara sahip serada muhafaza edilmişlerdir. Köklü sürgünlerin tamamı taban kısmında yükselti bulunan, şeffaf renkli orkide saksılarına aktarılmışlardır. Aklimatizasyonda kullanılan saksı topraklarının bir kısmı (Özel karışım bitki yetiştirme torfu, Torfsuz orkide toprağı, Orkide kültür torfu), piyasada orkideler için özel olarak hazırlanmış paketli topraklardır. Bu bileşenlerin dışında kullanılan saksı toprağı çeşitleri de ayrı ayrı paketler halinde piyasadadan satın alınmıştır. *In vitro* koşullarda köklendirilen *Cattleya* orkidelerinin, *ex vitro* koşullarda aklimatizasyonu için kullanılan farklı toprak karışımı bileşenleri ve bu bileşenlerin saksı toprağı karışımındaki yüzdeleri (%) Çizelge 3.9’da yer almaktadır.

Çizelge 3.9. *In vitro* köklü *Cattleya* sürgünlerinin *ex vitro* aklimatizasyonunda kullanılan toprak karışımı bileşenleri ve bileşenlerin saksı toprağı karışımındaki yüzdeleri (%).

Saksı toprağı karışımı bileşenleri	Bileşenlerin saksı toprağı karışımındaki yüzdesi (%)										
	ST1	ST2	ST3	ST4	ST5	ST6	ST7	ST8	ST9	ST10	ST11
Özel karışım bitki yetiştirme torfu	-	33	20	30	-	-	25	50	-	57	29
Torfsuz orkide toprağı	-	17	40	44	-	-	20	40	-	-	71
Orkide kültür torfu	36	-	20	15	-	-	-	-	-	-	-
Vermikülit	-	-	-	-	-	-	12,50	10	-	28	-
Cocopit (iri taneli)	9	8,50	5	3,75	56	63	12,50	-	45	-	-
Çam kabuğı	-	-	-	-	22	15	5	-	25	-	-
Volkan taşı	-	-	-	-	22	10	5	-	10	-	-
Kalın torf	36	33	-	-	-	6	5	-	-	15	-
Perlit	-	-	-	-	-	3	10	-	-	-	-
Karayosunu	-	-	-	-	-	3	-	-	20	-	-
Pellet gübre	9	8,50	5	7,50	-	-	5	-	-	-	-
Leonardit	9	-	40	-	-	-	-	-	-	-	-

Üç tekerrürlü gerçekleştirilen aklimatizasyon denemelerinde her tekerrürde 75 adet olmak üzere, toplam 225 adet köklü sürgün kullanılmıştır.

Aklimatizasyon için seraya aktarılan köklü *Cattleya* sürgünlerinin muhafaza edildiği sera koşulları Çizelge 3.10'da yer almaktadır.

Çizelge 3.10. *Cattleya* sp.ye ait köklü sürgünlerin muhafaza edildiği sera koşullarının ortalama sıcaklık (gündüz/gece- °C), nem miktarı (%) ve gölgelendirme yüzdesi (%).

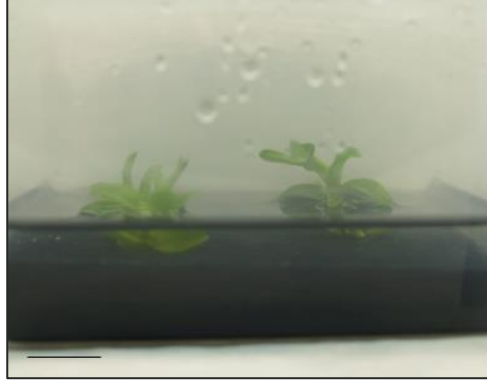
Muhafaza ortamı	Ortalama sıcaklık (gündüz/gece- °C)	Ortalama nem miktarı (%)	Gölgelendirme yüzdesi (%)
Sera	33/18	70	75

Ex vitro aklimatizasyon çalışması için sera koşullarına aktarılan *in vitro* köklü *Cattleya* sürgünlerinin 1 aylık dış koşullara alıştırma süreci sonunda hayatta kalan bitki sayısı (adet) ve yüzdesi (%) belirlenmiştir.

***In vitro* sürgünlerin çiçeklenme teşviki uygulamaları için kurulan kültür sistemleri ve besin ortamı içerikleri**

Cattleya sp.de *in vitro* çiçeklenme teşvikini sağlamak üzere çift tabakalı veya yarı katı kültür sistemleri, çeşitli içeriklere sahip besin ortamları ve farklı kültür koşullarının kullanıldığı uygulamalar gerçekleştirilmiştir.

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 1'de ve Uygulama 2'de taban kısmı yarı katı, üst kısmı ise sıvı besin ortamından meydana gelen çift tabakalı kültür sistemleri kullanılmıştır. Bu sistemlerin hazırlığı için katılaştırıcı ajan içeren yarı katı besin ortamı Steri Vent (Duchefa) veya Magenta™ (Sigma-Aldrich) kültür kaplarına, aynı içerikteki sıvı besin ortamı ise otoklavlanabilir cam şişelere aktarıldıktan sonra alüminyum folyo ile iyice sarılarak otoklavda sterilizasyonları yapılmıştır. Bu aşamadan sonra steril laminar kabine alınan yarı katı besin ortamlarının katılaşması, sıvı besin ortamlarının da oda sıcaklığına ulaşması için bir süre beklenmiştir. Son olarak, ideal sıcaklığa ulaşan sıvı besin ortamının, stabil hale gelmiş yarı katı besin ortamı üzerine eklenmesi ile çift tabakalı kültür sistemi tamamlanmaktadır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Tez çalışmasında *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin kültüre alındığı çift tabakalı kültür sistemi uygulamasına ait bir örnek (bar: 1 cm).

Genotipe de bağlı olarak değişen sürelerde, yeterli olgunluğa sahip ve uygun koşullarda çiçeklenebilen orkidelerde çiçeklenme teşvikine ait ipuçlarında biri de kök oluşumunun yavaşlaması olarak kabul edilmektedir. Çiçeklenme teşviki için yapılan uygulamalarda yüksek sürgün çoğaltım katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısının az olmasının teşvikte başarı potansiyeli oluşturduğu düşünüldükçe, denemelerde elde edilen en yüksek sürgün çoğaltım katsayısı ile sürgün başına meydana gelen en düşük kök sayılarını gösteren sonuçlar ön plana çıkarılmıştır.

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1:**

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de *Cattleya* sp.ye ait *in vitro* sürgünler hindistan cevizi suyu ve BAP içeren Knudson C temel besin ortamında, aktif kömür kullanımına bağlı olarak belirlenen iki farklı içeriğe sahip çift tabakalı sistemde kültüre alınmışlardır (Çizelge 3.11).

Çizelge 3.11. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de çift tabakalı sistemde kültüre alınan *Cattleya* sp. sürgünlerinin aktarıldığı besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu.

Çalışma kodu		Besin ortamı içeriği						pH
		Temel besin Ortamı	Sükroz (g/l)	Aktif kömür (mg/l)	Hindistan cevizi suyu (%-v/v)	BAP (mg/l)	Gelrite (g/l)	
KÇ1	Yarı katı	Knudson C	20	300	1	5	3	5,8
	Sıvı	Knudson C	20	-	1	5	-	5,8
KÇ2	Yarı katı	Knudson C	20	-	1	5	3	5,8
	Sıvı	Knudson C	20	-	1	5	-	5,8

Uygulamada besin ortamı içeriğinin yanı sıra farklı kültür koşulları da denenmiştir. İki aşamalı olarak gerçekleştirilen çalışmada farklı içeriklere sahip besin ortamlarındaki eksplantlar iki gruba ayrılarak, K1 (Çizelge 3.3) ve K2 (Çizelge 3.12) kodlu koşullara sahip kültür odalarına yerleştirilmiştir (11 hafta). Yaklaşık 3 aylık süreçte farklı sıcaklıklarda muhafaza edilen sürgünlerin vejetatif evreden, reproduktif evreye geçişini tetiklemek için önce 1 hafta süreyle karanlık kültür odasında muhafaza edildikten sonra 2 hafta süresince tekrar ilk muhafaza edildikleri sıcaklıktaki kültür odalarına aktarılmışlardır. Sonuç olarak toplam kültür süresi 14 haftaya ulaşmıştır.

Çizelge 3.12. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de *in vitro* *Cattleya* sürgünlerinin yarısının aktarıldığı kültür koşullarına ait kod, fotoperiyot süresi (gündüz/gece- sa), ışık şiddeti (lüks) ve sıcaklık (gündüz/gece- $\pm 2^{\circ}\text{C}$).

Kültür koşullarına ait kod	Fotoperiyot süresi (gündüz/gece- sa)	Işık şiddeti (lüks)	Sıcaklık (gündüz/gece- $\pm 2^{\circ}\text{C}$)
K2	10/14	2.500	20/12

Denemelerde başlangıç eksplantı olarak *Cattleya* orkidesine ait 30 ve 35 mm arası uzunluklarda, besin ortamına aktarılmadan hemen önce kökleri kesilmiş, 4 veya 5 yapraklı *in vitro* sürgünler kullanılmıştır. Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen uygulamada her tekerrürde 10 adet, toplam 30 adet eksplant kullanılmıştır. Çalışmada kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) belirlenmiştir.

Deneme sonunda elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirmesi TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, iki faktörlü (besin ortamı ve kültür koşulu) tesadüf parselleri deneme desenine göre uygulanmıştır.

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2:**

Cattleya sp.ye ait *in vitro* sürgünlerin ve PLB'lerin başlangıç eksplantı olarak kullanıldığı uygulamada, MS temel besin ortamı içeriğindeki azot (N)-fosfor (P) miktarlarının değiştirildiği ve yüksek konsantrasyonda sitokinin içeren yarı katı kültür sistemleri kullanılmıştır (Çizelge 3.13). Denemede yer alan KÇ3 kodlu yarı katı besin ortamı standart konsantrasyonlarda azot (60 mM) ve fosfor (1,25 mM) içeriğine sahiptir. Bunun yanı sıra, başlangıç eksplantı olarak *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin kullanıldığı denemelerde K2 ve K3 kodlu (Çizelge 3.14), PLB'lerin kullanıldığı denemelerde ise sadece K3 kodlu kültür koşulları kullanılmıştır.

Çizelge 3.13. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2'de *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin ve PLB'lerin aktarıldığı besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu.

Çalışma kodu	Besin ortamı içeriği							pH
	Temel besin ortamı	N (mM-kat)	P (mM-kat)	Sükroz (g/l)	BAP (mg/l)	TDZ (mg/l)	Gelrite (g/l)	
KÇ3	MS	60 (1/1)	1,25 (1/1)	40	5	-	3	5,5
KÇ4	MS	8,6 (1/7)	6,25 (x5)	40	5	-	3	5,5
KÇ5	MS	3 (1/20)	6,25 (x5)	40	5	-	3	5,5
KÇ6	MS	2,4 (1/25)	6,25 (x5)	40	-	2,5	3	5,5

Çizelge 3.14. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de *in vitro* *Cattleya* sürgünlerinin ve PLB’lerin aktarıldığı kültür koşullarına ait kod, fotoperiyot süresi (gündüz/gece- sa), ışık şiddeti (lüks) ve sıcaklık (gündüz/gece- $\pm 2^{\circ}\text{C}$).

Kültür koşullarına ait kod	Fotoperiyot süresi (gündüz/gece- sa)	Işık şiddeti (lüks)	Sıcaklık (gündüz/gece- $\pm 2^{\circ}\text{C}$)
K3	8/16	2.500	22

Uygulamada başlangıç eksplantı olarak *Cattleya* orkidesine ait hem 30 ve 40 mm arası uzunluklarda, kültüre alınmadan hemen önce steril koşullarda kökleri kesilen, 6, 7 veya 8 yapraklı *in vitro* sürgünler hem de 3-5 mm arası uzunluklardaki tekli PLB’ler kullanılmıştır. Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen denemelerde her tekerrürde 10 adet, toplam 30 adet eksplant kullanılmıştır. Başlangıç eksplantı olarak sürgünlerin kullanıldığı denemede kültür süresi 14 ay, PLB’lerle yapılan denemelerde 4 ay olarak belirlenmiştir. Buna göre, sürgünlerin başlangıç eksplantı olarak kullanıldığı çalışmada kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet); PLB’lerin başlangıç eksplantı olarak seçildiği çalışma sonunda ise kültür süresi sonunda elde edilen sürgün sayısı (adet), sürgün rejenerasyon katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) belirlenmiştir.

Çalışma sonunda elde edilen sonuçların istatistiki değerlendirmesi TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, sürgün denemeleri için iki faktörlü (kültür koşulu, çalışma kodu), PLB denemeleri için tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre uygulanmıştır.

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 3:**

Çift tabakalı kültür sistemlerinde 1/2MS temel besin ortamında iki farklı miktarda CCC ilave edilen uygulamada kullanılan çalışma kodu ve besin ortamı içeriği Çizelge 3.15’te yer almaktadır.

Çizelge 3.15. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 3'te *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin kültüre alındığı kültür koşulu, besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu.

Çalışma kodu	Kültür koşulu	Besin ortamı içeriği							pH
		Temel besin ortamı	Sükroz (g/l)	Aktif kömür (mg/l)	BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	CCC (mg/l)	Gelrite (g/l)	
KÇ7	Yarı katı	1/2MS	30	300	2,5	0,5	0,025	3	5,8
	Sıvı	1/2MS	30	-	2,5	0,5	0,025	-	5,8
KÇ8	Yarı katı	1/2MS	30	300	2,5	0,5	0,05	3	5,8
	Sıvı	1/2MS	30	-	2,5	0,5	0,05	-	5,8

Denemelerde başlangıç eksplantı olarak *Cattleya* sp.ye ait 20 ve 25 mm arası uzunluklarda seçilen ve kültüre alınmadan hemen önce steril koşullarda kökleri kesilen, 2 veya 3 yapraklı *in vitro* sürgünler kullanılmıştır. Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen denemede her tekerrürde 10 adet, toplam 30 adet eksplant kullanılmıştır. K1 kodlu (Çizelge 3.3) kültür koşullarının kullanıldığı ve toplam 14 aylık kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) belirlenmiştir. Deneme sonunda elde edilen sonuçların istatistiki değerlendirmesi TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, iki faktörlü (besin ortamı ve kültür koşulu) tesadüf parselleri deneme desenine göre uygulanmıştır.

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 4:**

Çeşitli kültür koşulları ile sükroz konsantrasyonları (Kontrol -0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 g/l) ve yüksek miktarda BAP içeren MS temel besin ortamında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait *in vitro* sürgünler, hem yarı katı hem de çift tabakalı kültür sistemlerine aktarılmışlardır (Çizelge 3.16).

Çizelge 3.16. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te *Cattleya* sp.ye ait *in vitro* sürgünlerin aktarıldığı kültür sistemi, besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu.

Çalışma kodu	Kültür sistemi	Besin ortamı içeriği				pH
		Temel besin ortamı	Sükroz (g/l)	BAP (mg/l)	Gelrite (g/l)	
KÇ9	Yarı katı	MS	0	5	3	5,4
	Sıvı	MS	0	5	-	5,4
KÇ10	Yarı katı	MS	15	5	3	5,4
	Sıvı	MS	15	5	-	5,4
KÇ11	Yarı katı	MS	30	5	3	5,4
	Sıvı	MS	30	5	-	5,4
KÇ12	Yarı katı	MS	45	5	3	5,4
	Sıvı	MS	45	5	-	5,4
KÇ13	Yarı katı	MS	60	5	3	5,4
	Sıvı	MS	60	5	-	5,4
KÇ14	Yarı katı	MS	75	5	3	5,4
	Sıvı	MS	75	5	-	5,4
KÇ15	Yarı katı	MS	90	5	3	5,4
	Sıvı	MS	90	5	-	5,4
KÇ16	Yarı katı	MS	105	5	3	5,4
	Sıvı	MS	105	5	-	5,4
KÇ17	Yarı katı	MS	120	5	3	5,4
	Sıvı	MS	120	5	-	5,4
KÇ18	Yarı katı	MS	0	5	3	5,4
KÇ19	Yarı katı	MS	15	5	3	5,4
KÇ20	Yarı katı	MS	30	5	3	5,4
KÇ21	Yarı katı	MS	45	5	3	5,4
KÇ22	Yarı katı	MS	60	5	3	5,4
KÇ23	Yarı katı	MS	75	5	3	5,4
KÇ24	Yarı katı	MS	90	5	3	5,4
KÇ25	Yarı katı	MS	105	5	3	5,4
KÇ26	Yarı katı	MS	120	5	3	5,4

Çalışmada başlangıç eksplantı olarak *Cattleya* orkidesine ait 20 ve 30 mm arası uzunluklarda, besin ortamına aktarılmadan hemen önce kökleri kesilmiş 4 veya 5 yapraklı *in vitro* sürgünler kullanılmıştır. Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen denemelerde her tekerrürde 10 adet olmak üzere, toplam 30 adet eksplant kullanılmıştır.

Uygulamada kültüre alınan *in vitro* *Cattleya* sürgünleri K1 (Çizelge 3.3) ve K4 (Çizelge 3.17) kodlu koşulların sağlandığı iki farklı kültür odasında 2 ay süresince muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.17. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te *in vitro* *Cattleya* sürgünlerinin muhafaza edildiği kültür koşullarına ait kod, fotoperiyot süresi (gündüz/gece- sa), ışık şiddeti (lüks) ve sıcaklık (gündüz/gece- $\pm 2^{\circ}\text{C}$).

Kültür koşullarına ait kod	Fotoperiyot süresi (gündüz/gece- sa)	Işık şiddeti (lüks)	Sıcaklık (gündüz/gece- $\pm 2^{\circ}\text{C}$)
K4	8/16	2.500	25

Denemede kültür süresi sonunda elde edilen sonuçların istatistiki değerlendirmesi TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, üç faktörlü (kültür koşulu, kültür sistemi ve besin ortamı) tesadüf parselleri deneme desenine göre uygulanmıştır.

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 5:**

İki aşamada gerçekleştirilen bu uygulamada *Cattleya* sp.ye ait *in vitro* sürgünler 1. aşamada ABA, PBZ, CCC veya daminozid içeren yarı katı MS temel besin ortamlarında 15 ve 30 gün olmak üzere iki farklı süre ile ön uygulamaya tutulduktan sonra, 2. aşamada aynı kültür koşullarında, çiçeklenme teşvikini sağlamak amacıyla BAP içeren yarı katı MS temel besin ortamında kültüre alınmıştır. Denemelerde kullanılan çalışma kodu, 1. ve 2. aşama uygulama süresi ve besin ortamı içerikleri Çizelge 3.18'de yer almaktadır.

Çizelge 3.18. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 5'te *Cattleya* sp. sürgünlerinin kültüre alındığı 1. ve 2. aşama uygulama süresi, besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu.

Çalışma kodu	Uygulama süresi (gün)	Besin ortamı içeriği								pH
		Temel besin ortamı	Sükroz (g/l)	ABA (mg/l)	PBZ (mg/l)	CCC (mg/l)	Daminozid (mg/l)	BAP (mg/l)	Gelrite (g/l)	
KÇ27	15	MS	30	0,5	-	-	-	-	3	5,3
KÇ28	30	MS	30	0,5	-	-	-	-	3	5,3
KÇ29	15	MS	30	-	0,5	-	-	-	3	5,3
KÇ30	30	MS	30	-	0,5	-	-	-	3	5,3
KÇ31	15	MS	30	-	-	0,5	-	-	3	5,3
KÇ32	30	MS	30	-	-	0,5	-	-	3	5,3
KÇ33	15	MS	30	-	-	-	0,5	-	3	5,3
KÇ34	30	MS	30	-	-	-	0,5	-	3	5,3
2. Aşama- KÇ35	90	MS	30	-	-	-	-	2	3	5,3

Çalışmada başlangıç eksplantı olarak *Cattleya* sp.ye ait 20 ve 25 mm arası uzunluklarda, kültüre alınmadan hemen önce steril koşullarda kökleri kesilmiş 4 veya 5 yapraklı *in vitro* sürgünler kullanılmıştır. Her iki aşamada da üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen uygulamalarda her tekerrürde 10 adet, toplam 30 adet eksplant yer almaktadır. Uygulamada 1. aşama kültür süresi 15 ve 30 gün, ikinci aşama kültür süresi ise 90 gündür. Tüm besin ortamları K1 kodlu (Çizelge 3.3) kültür koşullarında muhafaza edilmiştir. Besin ortamında kullanılan büyüme geriletilici tipi ve ön uygulama süresine göre gruplandırılan çalışmada 2. aşama kültür süreleri sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) kaydedilmiştir. Çalışma sonunda elde edilen sonuçların istatistiki değerlendirmesi TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, iki faktörlü (besin ortamı ve kültür koşulu) tesadüf parselleri deneme desenine göre uygulanmıştır.

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 6:**

Uygulama 6’da *Cattleya* sp.ye ait sürgünler MS temel besin ortamında ABA ve prolinin çeşitli konsantrasyonlarının kullanıldığı yarı katı kültür sistemlerde kültüre alınmışlardır (Çizelge 3.19).

Çizelge 3.19. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 6’da kültüre alınan *Cattleya* sp. sürgünlerinin aktarıldığı besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu.

Çalışma kodu	Besin ortamı içeriği					pH
	Temel besin ortamı	Sükroz (g/l)	ABA (mg/l)	Prolin (mg/l)	Gelrite (g/l)	
KÇ36	MS	30	-	-	3	5,3
KÇ37	MS	30	0,3	46	3	5,3
KÇ38	MS	30	0,3	69	3	5,3
KÇ39	MS	30	0,3	92	3	5,3
KÇ40	MS	30	0,6	69	3	5,3
KÇ41	MS	30	0,6	92	3	5,3
KÇ42	MS	30	0,8	69	3	5,3
KÇ43	MS	30	0,8	92	3	5,3

Çalışmada başlangıç eksplantı olarak, *Cattleya* sp.ye ait 30 ve 35 mm arası uzunluklarda ve kültüre alınmadan hemen önce steril koşullarda kökleri kesilen, 4 veya 5 yapraklı *in vitro* sürgünler kullanılmıştır. Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen denemede her tekerrürde 10 adet, toplam 30 adet eksplant yer almaktadır. Tüm besin ortamları Çizelge 3.17’te yer alan K4 kodlu kültür koşullarında muhafaza edilmişlerdir. Toplam 14 aylık kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) belirlenmiştir. Çalışma sonunda elde edilen sonuçların istatistiki değerlendirmesi TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre uygulanmıştır.

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 7:**

Başlangıç eksplantı olarak *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerin farklı temel besin ortamları ve içeriklerin kullanıldığı uygulama 2 aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre, PLB'lerin kültüre alındığı besin ortamı içerikleri ve pH ile denemenin uygulama aşamaları, kültür süreleri (ay) ve çalışma kodları Çizelge 3.20'de yer almaktadır.

Çizelge 3.20. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 7'de *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerin kültüre alındığı uygulama aşamasına göre aktarıldıkları besin ortamı içeriği, pH, kültür süresi (ay) ve çalışma kodu.

Çalışma kodu	Uygulama aşaması	Kültür süresi (ay)	Besin ortamı içeriği											pH
			Temel besin ortamı	Sükroz (g/l)	Pepton (mg/l)	NaH ₂ PO ₄ (mg/l)	BAP (mg/l)	IBA (mg/l)	NAA (mg/l)	TDZ (mg/l)	GA ₃ (mg/l)	GA ₄ (mg/l)	Gelrite (g/l)	
KÇ44	1	3	1/2MS	20	1	170	-	-	-	-	-	-	3	5,3
	2	2	MS	20	-	-	-	-	0,28	0,7	-	-	3	5,3
KÇ45	1	3	MS	40	-	-	-	-	-	-	-	-	3	5,7
	2	2	MS	20	-	-	5	0,2	-	-	-	-	3	5,7
KÇ46	1	3	1/2MS	20	-	-	1	-	-	-	1	-	3	5,4
	2	2	GamborgB5	20	-	-	1	-	-	-	-	1	3	5,4

Denemelerde başlangıç eksplantı olarak *Cattleya* sp.ye ait 2-5 mm arası uzunluklarda *in vitro* PLB'ler kullanılmıştır. Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen uygulamada her tekerrürde 10 adet, toplam 30 adet eksplant kullanılmıştır. K1 kodlu kültür koşullarının kullanıldığı ve toplam 5 aylık kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün rejenerasyon katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) belirlenmiştir. Çalışma sonunda elde edilen sonuçların istatistiki değerlendirmesi TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre uygulanmıştır.

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 8:**

Başlangıç eksplantı olarak *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerin kullanıldığı uygulama, 2 aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. PLB'lerin farklı aşamalarda kültüre alındığı uygulamada kullanılan besin ortamı içerikleri, pH ve kültür süreleri Çizelge 3.21'de yer almaktadır.

Çizelge 3.21. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 8'de *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerin kültüre alındığı uygulama aşamasına göre aktarıldıkları besin ortamı içeriği, pH, kültür süresi (ay) ve çalışma kodu.

Çalışma kodu	Uygulama Aşaması	Kültür süresi (ay)	Besin ortamı içeriği					pH
			Temel besin ortamı	Sükroz (g/l)	ABA (mg/l)	BAP (mg/l)	Gelrite (g/l)	
KÇ47	1	3	MS	20	0,5	-	3	5,4
	2	2	MS	50	-	2	3	5,4
KÇ48	1	3	MS	20	2	-	3	5,4
	2	2	MS	50	-	2	3	5,4

Denemelerde başlangıç eksplantı olarak *Cattleya* sp.ye ait 3-5 mm arası uzunluklarda, iki yapraklı *in vitro* PLB'ler kullanılmıştır. Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen denemede her tekerrürde 10 adet, toplam 30 adet eksplant kullanılmıştır. K1 kodlu (Çizelge 3.3) kültür koşullarının kullanıldığı ve toplam 5 aylık kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün rejenerasyon katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) belirlenmiştir. Deneme sonunda elde edilen sonuçların istatistiki değerlendirmesi TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre uygulanmıştır.

3.2.2. *Vanda* sp.

3.2.2.1. Yüzeysel sterilizasyon aşamaları

Olgun *Vanda* orkidesine uygulanan yüzeysel sterilizasyon basamakları aşağıda belirtilmektedir:

- Bitkisel materyallerin kökleri ve yaprakları ana gövdeden, çiçek ve çiçek tomurcukları, çiçek saplarından temiz bir bistüri yardımı ile kesilmiş ve ayrı ayrı sterilizasyonları gerçekleştirilmiştir.
- Her bir bitki kısmı ayrı ayrı 6-7 damla ticari sıvı deterjan ve 300 ml distile su içeren 500 ml'lik beherlere alınarak, manyetik karıştırıcıda 15 dakika süreyle karıştırılmışlardır. Ardından, akan su altında da 15 dakika süreyle durulanan materyallerin yüzeysel sterilizasyon işlemlerine laminar hava akışlı kabinde devam edilmiştir.
- Çalışma öncesi %70'lik etil alkolle silinen ve UV ışıkla sterilizasyonu yapılan kabine alınan bitkisel materyaller öncelikle ayrı ayrı içinde 300 ml %70'lik etil alkol bulunan 500 ml'lik steril erlenlerde 1'er dakika çalkalanmışlardır.
- Etil alkol kullanım sonrasında ek olarak bir kısım bitkisel materyale 5 dk %10 NaOCl de uygulanmıştır.
- Son olarak materyaller, kültüre alınan kısımlarına göre çeşitli yoğunluklarda (%0,1 ve %0,2) ve çeşitli sürelerde (1, 3, 5 ve 8 dakika) HgCl₂ ile muamele edilmiş ve 3 defa steril distile su ile durulanmıştır.
- Yüzeysel sterilizasyon uygulamaları tamamlanmış olan bitkisel materyaller, steril kabin içinde, steril kurutma kağıtları üzerine alınarak, kültüre alma işlemine hazır hale getirilmiştir.

In vivo Vanda orkidesinin kültüre alınan bitkisel materyallere uygulanan HgCl_2 'ün yüzeysel sterilizasyon dozu (%), uygulama süresi (dk) ve buna bağlı olarak belirlenen çalışma kodları Çizelge 3.22'de yer almaktadır.

Çizelge 3.22. *In vivo Vanda* sp.ye ait bitkisel materyallere uygulanan yüzeysel sterilizasyon dozu (% HgCl_2), uygulama süresi (dk) ve çalışma kodu.

Yüzeysel sterilizasyon dozu (% HgCl_2)	Uygulama süresi (dk)	Çalışma kodu
0,1	1	VYS1
	3	VYS2
	5	VYS3
	8	VYS4
	10	VYS5
0,2	8	VYS6
	10	VYS7

Vanda sp.ye ait bitkisel materyallerin yüzeysel sterilizasyon başarısının belirlenmesi için *in vivo* koşullardan alınan bitkinin, eksplant olarak belirlenen her kısmı (yaprak, kök, gövde ve çiçekli kısımlar) için ayrı istatistiki değerlendirme yapılmıştır. Buna ek olarak, her bitkisel kısma uygulanan yüzeysel sterilizasyon uygulama doz (% HgCl_2) ve süresine (dk) göre değerlendirilmiştir. Buna bağlı olarak, *in vivo* koşullardan alınan başlangıç materyallerine uygulanan yüzeysel sterilizasyon denemeleri TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, tek faktörlü (uygulama süresi) tesadüf parselleri deneme desenine göre ve üç tekerrürlü olarak uygulanmıştır.

3.2.2.2. Kùltürlerin kurulması ve besin ortamı içerikleri

Vanda sp.ye ait eksplantlarda PLB rejenerasyonunu sağlamak üzere çeşitli temel besin ortamları, büyüme düzenleyicileri ve hindistan cevizi suyu gibi bileşenlerinin kullanıldığı farklı içeriklerdeki yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan çiçekli kısımlar, yaprak, gövde ve köklere ait 1 ve 5 mm arası uzunluklarda eksplantlar kullanılmıştır. *Vanda* sp.ye ait bitki kısımlarından elde edilen eksplantlarda PLB rejenerasyonunu sağlamak için kullanılan besin ortamı içerikleri, pH ve çalışma kodları Çizelge 3.23'te yer almaktadır.

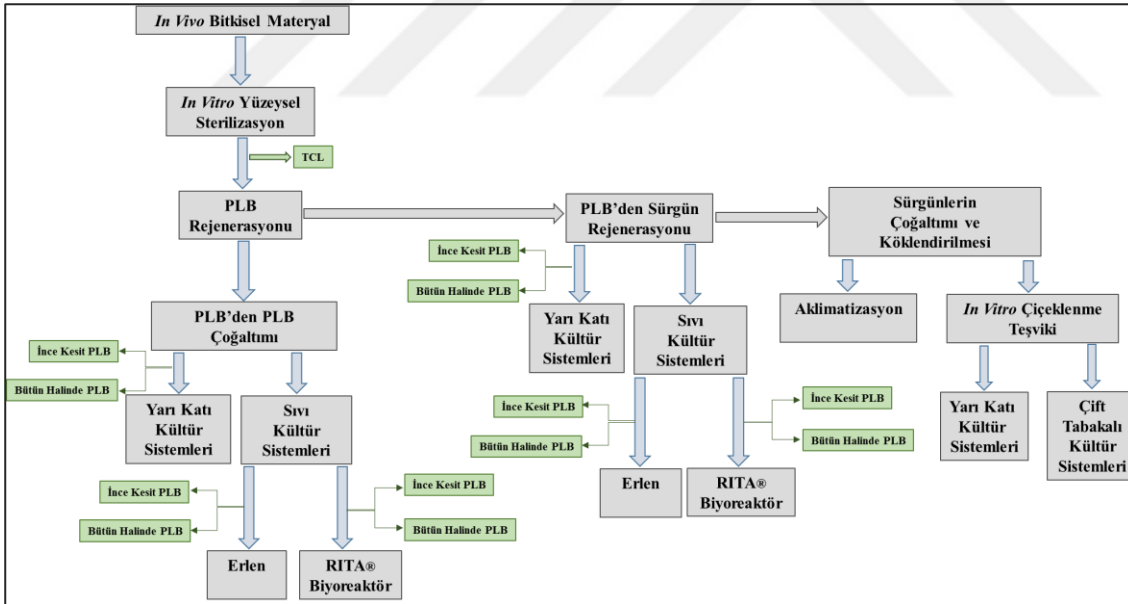
Çizelge 3.23. *Vanda* sp.ye ait eksplantlarda sürgün rejenerasyonu teşvikini sağlamak üzere kullanılan besin ortamı içeriği, pH ve çalışma kodu.

Çalışma kodu	Besin ortamı içeriği															pH
	Temel besin ortamı	Makro elementler (kat)	Mikro elementler (kat)	Sükroz (g/l)	Aktif kömür (mg/l)	Hindistan cevizi suyu (% v/v)	Adenin sülfat (mg/l)	Pepton (mg/l)	Na ₂ HPO ₄ (mg/l)	BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	TDZ (mg/l)	Kin (mg/l)	IAA (mg/l)	Gelrite (g/l)	
VR1	MS	1/1	1/1	60	300	-	30	-	-	-	0,3	-	-	-	3	5,8
VR2	MS	1/2	1/1	20	-	-	-	-	-	1,2	1,2	-	-	-	3	5,8
VR3	MS	1/2	1/1	20	-	-	-	-	-	1,8	1,8	-	-	-	3	5,8
VR4	MS	1/2	1/2	40	-	-	-	1	170	-	-	0,1	-	-	3	5,8
VR5	MS	1/2	1/2	40	-	13	24	1	170	-	-	0,1	-	-	3	5,8
VR6	Mitra	1/1	1/1	30	-	-	-	0,5	-	2	1,2	-	-	-	3	5,3
VR7	MS	1/2	1/2	30	-	10	-	1	170	-	-	-	-	-	3	5,3
VR8	Mitra	1/1	1/1	20	-	10	-	0,5	-	2	1,2	-	-	-	3	5,2
VR9	Mitra	1/1	1/1	20	200	-	-	-	-	1	1	-	-	-	3	5,7
VR10	MS	1/1	1/1	30	-	-	-	-	-	2	1,5	-	-	-	3	5,4
VR11	KnudsonC	1/1	1/1	20	-	15	-	-	-	1	-	-	1	-	3	5,3
VR12	MS	1/1	1/1	30	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	3	5,3
VR13	MS	1/1	1/1	30	-	15	-	-	-	2,5	2,5	-	-	-	3	5,3
VR14	MS	1/1	1/1	30	-	15	-	-	-	1	-	-	-	1	3	5,3
VR15	MS	1/1	1/1	30	-	-	-	-	-	2	1,5	-	-	-	3	5,4

Çalışmada, *Vanda* sp.ye ait çiçekli kısımlar, yaprak ve kök kısımları ile yapılan denemelerde her tekerrürde 40 adet olmak üzere, toplam 120 adet eksplant; gövde kısımları için her tekerrürde 12 adet, toplam 36 adet eksplant; anter kısımları için her tekerrürde 7 adet, toplam 21 adet eksplant kullanılmıştır. 1 aylık kültür süresi sonunda *In vivo Vanda* orkidesinin bitki kısımlarından (çiçek kısımları, anter, yaprak, gövde, kök) alınan eksplantlarda elde edilen PLB sayısı (adet) ve rejenerasyon katsayısı ile kararma gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%) belirlenmiştir. Çalışmada alınan sonuçların istatistiki olarak değerlendirilmesi her bir bitkisel materyal için TARİST (Açıkgöz, 2004) programı yardımıyla, tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre uygulanmıştır.

3.3. Tez Çalışması ve Uygulanan Tekniklere ait Akış Şeması

Tez çalışmasında uygulanan tekniklerin genel akış şeması Şekil 3.7'de belirtilmektedir.



Şekil 3.7. Tez çalışmasında uygulanan tekniklere ait akış şeması.

4. BULGULAR

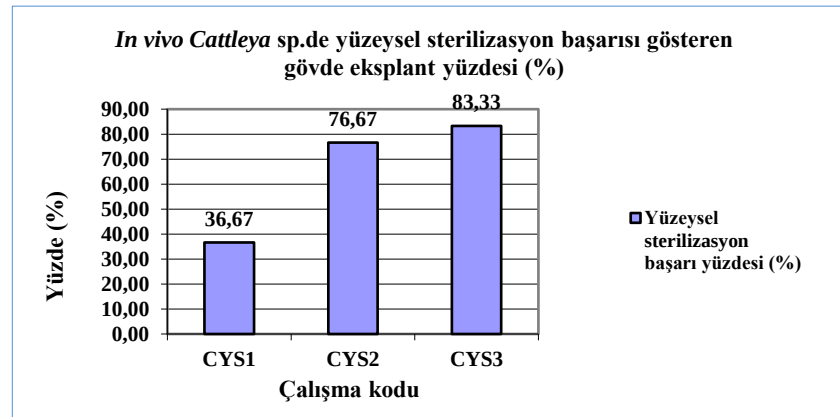
4.1. *Cattleya* sp.

4.1.1. Yüzeysel sterilizasyon

In vivo koşullardan temin edilen *Cattleya* sp.ye ait gövde eksplantları ile gerçekleştirilen yüzeysel sterilizasyon (%0,1 HgCl₂) uygulamaları sonunda sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%) Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1’de, uygulama sürelerine göre gruplandırılan çalışma kodlarının (CYS1, CYS2, CYS3) gövdeden alınan eksplantların yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.2’de yer almaktadır.

Çizelge 4.1. *In vivo* *Cattleya* sp.de farklı çalışma kodları ile gruplandırılan uygulamalar sonucunda yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren gövde eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Çalışma kodu	Yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren gövde eksplant sayısı (adet)				Yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren gövde eksplant yüzdesi (%)			
	T1	T2	T3	Ortalama	T1	T2	T3	Ortalama
CYS1	4	4	3	3,67	40	40	30	36,67 c
CYS2	7	6	10	7,67	70	60	100	76,67 b
CYS3	9	8	8	8,33	90	80	80	83,33 a



Şekil 4.1. *In vivo* *Cattleya* sp.de yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren gövde eksplant yüzdesi (%).

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılan istatistiksel değerlendirmede $HgCl_2$ uygulama sürelerine bağlı olarak belirlenen denemelerin (CYS1, CYS2, CYS3), *in vivo Cattleya* sp.ye ait gövde eksplantlarının yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkisinin %1 düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiştir ($F= 11.467$). Ortalamaların karşılaştırıldığı LSD testinde CYS3 kodlu uygulama sonucu elde edilen yüzeysel sterilizasyon başarısı 1. grupta (83.333), CYS2 kodlu uygulama 2. grupta (76.667), CYS1 kodlu uygulama ise 3. grupta (36.667) yer almaktadır ($HKO= 166.667$; $LSD= 39.094$).

Çizelge 4.2. *In vivo Cattleya* sp.ye ait gövde eksplantlarında uygulama sürelerine bağlı olarak gruplandırılan denemelerin yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	2	322.222	1911.111	11.467**	5.140	10.920
Hata	6	1000.000	166.667			
Genel	8	4822.222	602.778			

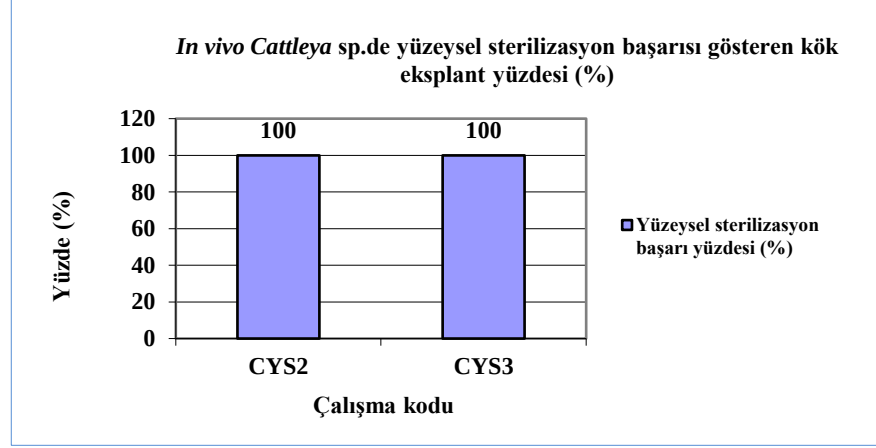
** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Cattleya sp.ye ait kök eksplantlarında elde edilen yüzeysel sterilizasyon başarısı Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2’de yer almaktadır.

Çizelge 4.3. *In vivo Cattleya* sp.de yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren kök eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Çalışma kodu	Yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren kök eksplant sayısı (adet)				Yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren kök eksplant yüzdesi (%)			
	T1	T2	T3	Ortalama	T1	T2	T3	Ortalama
CYS2	10	10	10	10	100	100	100	100
CYS3	10	10	10	10	100	100	100	100

In vivo Cattleya orkidesine ait kök eksplantları ile gerçekleştirilen her iki çalışma grubunda da (CYS2 ve CYS3) %100 başarı sağlanmıştır.



Şekil 4.2. In vivo *Cattleya* sp.de yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren kök eksplant yüzdesi (%).

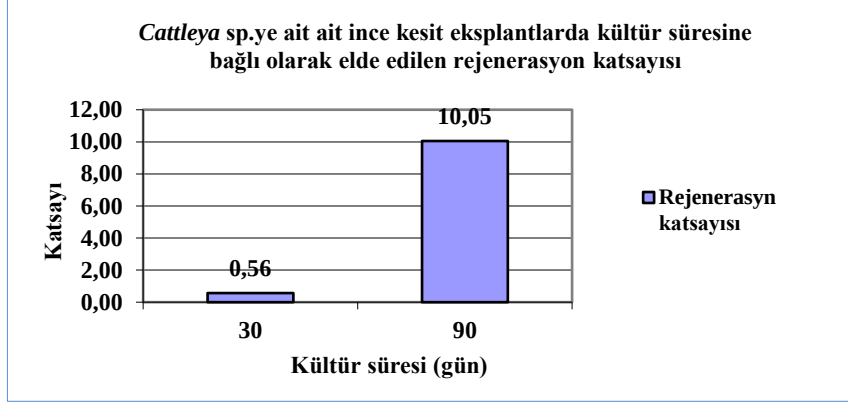
In vivo koşullardan temin edilen *Cattleya* sp.ye ait gövde ve kök eksplantları ile yapılan yüzeysel sterilizasyon uygulamaları sonucunda gövdeye ait eksplantlarda 8 dk %0,1 HgCl₂ uygulaması sonucu %83,33 (CYS3), kök eksplantlarında ise 5 dk ve 8 dk uygulamaların her ikisinde de %100 (CYS2, CYS3) başarı elde edilmiştir.

4.1.2. PLB rejenerasyonu

Cattleya sp.ye ait sürgünlerin nod kısımlarından TCL tekniği ile yaklaşık 0,5 ve 1,5 mm arasındaki kalınlıklarda alınan ince kesit eksplantların İKPR kodlu besin ortamında (Çizelge 3.4) kültüre alınmasıyla meydana gelen toplam rejenerant (tekli PLB, çoklu PLB kümesi ve sürgün) sayısı ve rejenerasyon katsayısı Çizelge 4.4 ve Şekil 4.3'te yer almaktadır.

Çizelge 4.4. *Cattleya* sp.ye ait sürgün nodlarından TCL tekniği ile alınan ait ince kesit eksplantlarda kültür süresine göre meydana gelen toplam sayısı (adet) ve rejenerasyon katsayısı.

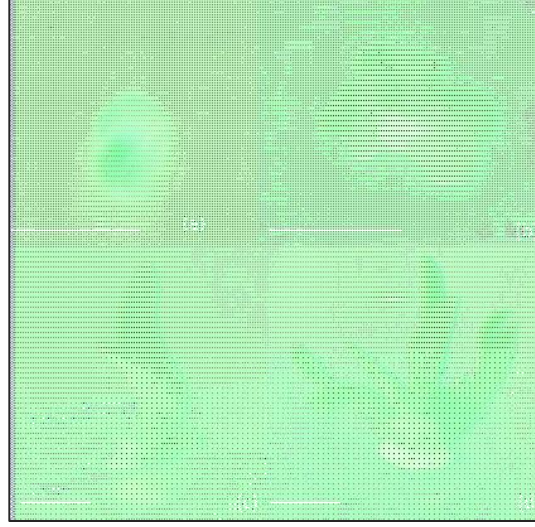
Kültür süresi	İnce kesit eksplantlarda meydana gelen toplam rejenerant sayısı (adet)				Rejenerasyon katsayısı			
	T1	T2	T3	Ortalama	T1	T2	T3	Ortalama
30. Gün	16	13	13	14,00	0,64	0,52	0,52	0,56
90. Gün	297	243	214	251,33	11,88	9,72	8,56	10,05



Şekil 4.3. *Cattleya* sp.ye ait ince kesit eksplantlarda kültür süresine bağlı olarak elde edilen rejenerasyon katsayısı.

Cattleya sp. sürgün nodlarından alınan ince hücre tabaka eksplantların İKPR kodlu besin ortamlarında kültüre alındığı çalışmada ilk 30 günlük kültür süresi sonunda 0,56 rejenerasyon katsayısı elde edilmiştir. İlk kültür süresinin sonunda yapılan gözlemlerde ince kesit eksplantlarda PLB ve sürgün rejenerasyonun devam ettiği belirlenmesi nedeniyle bu eksplantlar, hiç bir ayırma işlemi yapılmadan aynı içerikteki taze besin ortamında kültüre alınmış ve 60 gün sonra yani 90. günde yeniden gözlem yapılmıştır. Buna göre, toplam 90 günlük kültür süresi sonunda elde edilen rejenerasyon katsayısı 10,05 olarak belirlenmiştir.

Buna göre, Şekil 4.4 (a)'da *Cattleya* sp.ye ait sürgün nodlarından TCL ile alınan ince kesit eksplantta meydana gelen rejenerasyon başlangıcı, (b)'de kültür süresi sonunda ince kesitlerden meydana gelen çoklu PLB rejenerasyonları, (c)'de tekli sürgün ve (d)'de çoklu sürgünler yer almaktadır.



Şekil 4.4. (a) *Cattleya* sp.ye ait sürgün nodlarından TCL ile alınan ince kesit eksplantta meydana gelen rejenerasyon başlangıcı, (b) kültür süresi sonunda ince kesitlerden meydana gelen çoklu PLB rejenerasyonları, (c) tekli sürgün, (d) çoklu sürgünler (bar: 1 cm).

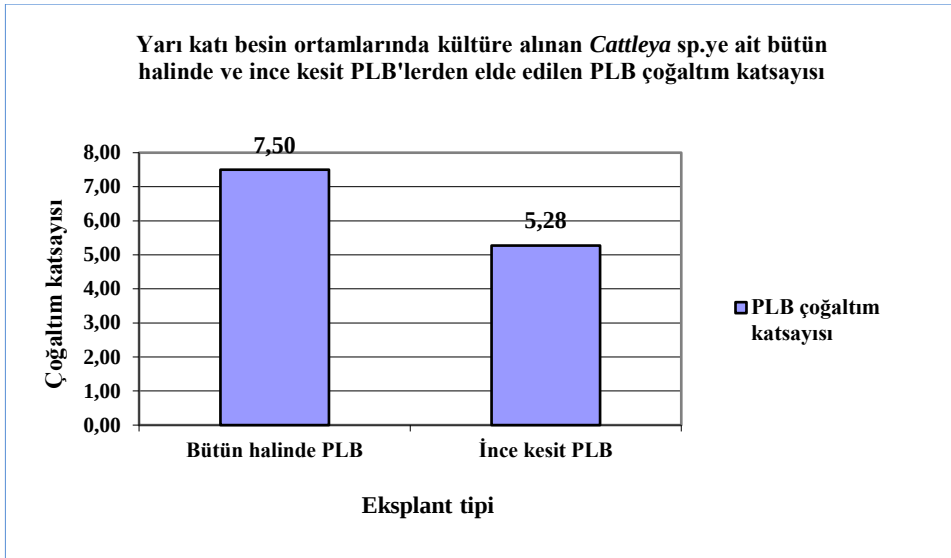
4.1.3. PLB'den PLB çoğaltımı

Yarı katı besin ortamlarında PLB'den PLB çoğaltımı

Cattleya sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımını teşvik etmek üzere PPÇ kodlu (Çizelge 3.5) yarı katı besin ortamında kültüre alınan bütün halinde ve ince kesit eksplantlardan meydana gelen PLB sayısı (adet) ve PLB çoğaltım katsayısı Çizelge 4.5'te ve Şekil 4.5'te; eksplant tiplerinin PLB çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.6'da yer almaktadır.

Çizelge 4.5. Yarı katı besin ortamında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait bütün halinde ve ince kesit PLB'lerden elde edilen PLB sayısı (adet) ve PLB çoğaltım katsayısı.

Eksplant tipi (PLB)	Kültür süresi sonunda elde edilen PLB sayısı (adet)				PLB çoğaltım katsayısı			
	T1	T2	T3	Ortalama	T1	T2	T3	Ortalama
Bütün halinde	90	82	98	90,00	7,50	6,83	8,17	7,50 a
İnce kesit	70	62	58	63,33	5,83	5,17	4,83	5,28 b



Şekil 4.5. Yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait bütün halinde ve ince kesit PLB'lerden elde edilen PLB çoğaltım katsayısı.

Tek faktörlü (eksplant tipi) tesadüf parselleri deneme desenine göre PLB çoğaltım katsayılarına uygulanan istatistiki değerlendirmede; eksplant tipinin (bütün halinde PLB, ince kesit PLB) çoğaltım katsayısı üzerindeki etkisinin %5 düzeyinde önemli olduğu bulunmuştur ($F= 20.963$). Buna bağlı olarak, ortalamaların karşılaştırıldığı LSD testinde bütün halindeki PLB'lerin eksplant olarak kullanıldığı çalışmada elde edilen çoğaltım katsayısı 1. grupta (7.500), ince kesit PLB'lerin eksplant olarak kullanıldığı çalışma sonucu elde edilen çoğaltım katsayısı ise 2. grupta (5.277) yer almaktadır ($HKO= 0.354$; $LSD= 1.348$).

Çizelge 4.6. PLB'den PLB çoğaltımı çalışmasında yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait bütün halinde ve ince kesit eksplantlarda elde edilen PLB çoğaltım katsayısına ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler	Hesaplanan F	Tablo değeri	
			ortalaması		5%	1%
Çalışma kodu	1	7.415	7.415	20.963*	7.710	21.200
Hata	4	1.415	0.354			
Genel	5	8.830	1.766			

* Önemli %5 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

PPÇ kodlu yarı katı besin ortamında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı çalışmasında elde edilen en başarılı çoğaltım katsayısı (7,50) eksplant olarak bütün halinde PLB'lerin kullanıldığı denemede belirlenmiştir. Yarı katı kültür sistemlerinde PLB'den PLB çoğaltımının sağlandığı bir örnek Şekil 4.6'da yer almaktadır.



Şekil 4.6. Yarı katı besin ortamında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB'den PLB çoğaltımı (bar: 1 cm).

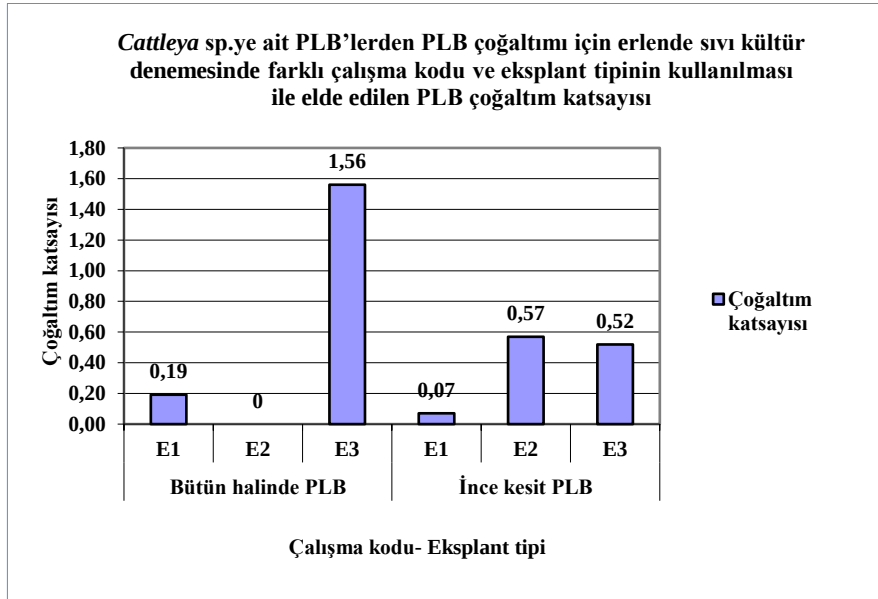
Erlenlerin kullanıldığı sıvı besin ortamında PLB'den PLB çoğaltımı

Cattleya sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımını teşvik etmek üzere erlenlerin kullanıldığı sıvı besin ortamında kültüre alınan bütün halindeki ve ince kesit PLB'lerden meydana gelen PLB kümesi sayısı (adet) ve PLB çoğaltım katsayısı Çizelge 4.7'de ve Şekil 4.7'de yer almaktadır.

Çizelge 4.7. *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için erlende sıvı kültür denemesinde farklı çalışma kodu (E1, E2, E3) ve eksplant tipinin (PLB) kullanılması ile elde edilen PLB kümesi sayısı (adet) ve PLB çoğaltım katsayısı.

Çalışma kodu	Eksplant tipi (PLB)	PLB kümesi sayısı (adet)				PLB çoğaltım katsayısı			
		T1	T2	T3	Ortalama	T1	T2	T3	Ortalama
E1	Bütün halinde	2	1	1	1,33	0,29	0,14	0,14	0,19 b
	İnce kesit	1	1	2	1,33	0,06	0,06	0,11	0,07 b
E2	Bütün halinde	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 b
	İnce kesit	5	3	4	4,00	0,71	0,43	0,57	0,57 a
E3	Bütün halinde	30	26	28	28,00	1,67	1,44	1,56	1,56 a
	İnce kesit	18	19	19	18,67	0,50	0,53	0,53	0,52 a

Erlende sıvı kültürlerin kullanıldığı *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı çalışmasında iki faktörlü (çalışma kodu ve eksplant tipi) tesadüf parselleri deneme desenine göre PLB çoğaltım katsayılarına uygulanan istatistiki değerlendirmede; çalışma kodu (E1, E2, E3) ve eksplant tipi (bütün halinde PLB, ince kesit PLB) interaksyonunun PLB çoğaltım katsayısı üzerindeki etkisinin %1 düzeyinde önemli olduğu bulunmuştur ($F=141.109$).



Şekil 4.7. *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için erlende sıvı kültür denemesinde farklı çalışma kodu ve eksplant tipinin kullanılması ile elde edilen PLB çoğaltım katsayısı.

Denemelerde kullanılan çalışma kodu ve eksplant tipinin PLB çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.8'de; çalışma kodu (E1, E2, E3) ve eksplant tipinin (PLB) interaksyonuna ait LSD gruplandırması Çizelge 4.9'da; Erlende PLB çoğaltımı için kurulan denemede elde edilen PLB'ler Şekil 4.8'de yer almaktadır.

Erlenlerde sıvı kültür çalışmasında kullanılan PPÇ kodlu besin ortamı içeriği Metot başlığı altında Çizelge 3.5'te; erlen ve sıvı besin ortamı hacimleri (ml) ile besin ortamı hacmine paralel olarak her bir tekerrürde kullanılan inokülüm yoğunluğu (adet)'nin gruplandırıldığı E1, E2 ve E3 kodlu çalışma tipleri Çizelge 3.6'da belirtilmiştir.

Çizelge 4.8. *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için erlende sıvı kültür denemesinde kullanılan çalışma kodu (E1, E2, E3) ve eksplant tipinin (PLB) PLB çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					0,05	0,01
Çalışma kodu	2	2.819	1.410	203.953**	3.890	6.930
Eksplant tipi	1	0.168	0.168	24.338**	4.750	9.330
Çalışma kodu* Eksplant tipi	2	1.950	0.975	141.109**	3.890	6.930
Hata	12	0.083	0.007			
Genel	17	5.021	0.295			

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Çizelge 4.9. *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için erlende sıvı kültür denemesinde kullanılan çalışma kodu (E1, E2, E3) ve eksplant tipi (PLB) interaksyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması.

Çalışma kodu	Eksplant tipi (PLB)		Çalışma kodu ortalama
	Bütün Halinde	İnce Kesit	
E1	0,190 a	0,077 b	0,133 c
E2	0,000 b	0,570 a	0,285 b
E3	1,557 a	0,520 b	1,038 a
Eksplant tipi ortalama	0,582 a	0,389 b	
Çalışma kodu*Eksplant tipi interaksyonu için HKO= 0,007; LSD= 0,207			



Şekil 4.8. Erlende sıvı kültürlerde PLB'den PLB çoğaltımında elde edilen rejenerasyonlar (bar: 1 cm).

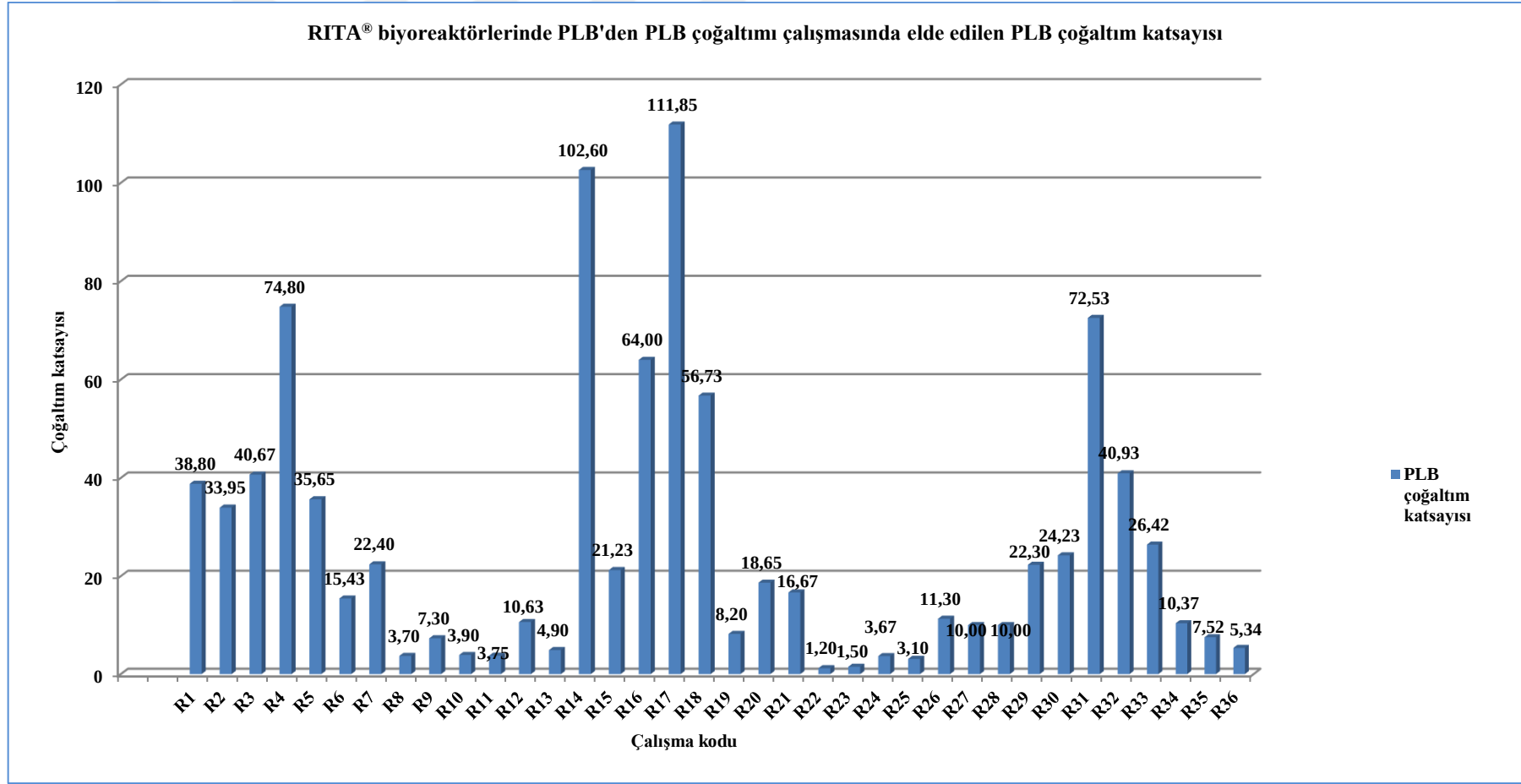
Cattleya sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için PPÇ kodlu besin ortamı içeriğine sahip erlende sıvı kültür çalışmasında belirlenen en başarılı PLB çoğaltım katsayısı (1,56), 500 ml hacimli erlende, 200 ml besin ortamı ve 36 adet bütün halinde eksplantın kullanıldığı E3 kodlu denemede elde edilmiştir.

RITA® Biyoreaktörlerinde PLB'den PLB çoğaltımı

Cattleya sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımını teşvik etmek üzere PPÇ kodlu içeriğe (Çizelge 3.5) sahip sıvı besin ortamının kullanıldığı RITA® biyoreaktörlerinde tekli PLB'lerin yanı sıra, PLB kümeleri ve 2-3 yapraklı gelişkin PLB'lerin de meydana geldiği belirlenmiştir. Buna göre, çeşitli daldırma periyodu (1 dk/4 sa, 1 dk/8 sa), besin ortamı hacmi (150, 200, 250 ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluğuna (10, 20, 30 adet) sahip kombinasyonların gruplandırıldığı denemelerde elde edilen PLB sayısı (adet) ve PLB çoğaltım katsayısı Çizelge 4.10'da ve Şekil 4.9'da; çalışmada yer alan daldırma periyodu (1 dk/4 sa, 1 dk/8 sa), besin ortamı hacmi (150, 200, 250 ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluğunun (10, 20, 30 adet) PLB çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.11'de, denemede yer alan parametrelerin dörtlü interaksiyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırmaları Çizelge 4.12'de; RITA® biyoreaktör sistemlerinin çalışma düzeneği Şekil 4.10. (a)'da, RITA® biyoreaktörlerinde kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerin ilk aktarımı Şekil 4.10. (b)'de, kültür süresi sonunda elde edilen rejenerantlar Şekil 4.10.(c)'de yer almaktadır.

Çizelge 4.10. *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden PLB çoğaltımı için RITA® biyoreaktörlerinde çeşitli daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluklarında (adet) elde edilen PLB sayısı (adet) ve PLB çoğaltım katsayısı.

Daldırma periyodu (dk/sa)	Besin ortamı hacmi (ml)	Eksplant tipi (PLB)	İnokülüm yoğunluğu (adet)	Çalışma kodu	PLB sayısı (adet)				PLB çoğaltım katsayısı			
					T1	T2	T3	Ortalama	T1	T2	T3	Ortalama
1/4	150	Bütün halinde	10	R1	400	340	424	388	40	34	42,4	38,80
			20	R2	611	680	746	679	30,55	34	37,3	33,95
			30	R3	1.533	1.012	1.115	1.220	51,1	33,73	37,17	40,67
		İnce kesit	10	R4	840	736	668	748	84	73,6	66,8	74,80
			20	R5	676	719	744	713	33,8	35,95	37,2	35,65
			30	R6	480	435	474	463	16	14,5	15,8	15,43
	200	Bütün halinde	10	R7	205	229	238	224	20,5	22,9	23,8	22,40
			20	R8	76	84	62	74	3,8	4,2	3,1	3,70
			30	R9	246	260	151	219	8,2	8,67	5,03	7,30
		İnce kesit	10	R10	42	47	28	39	4,2	4,7	2,8	3,90
			20	R11	86	78	61	75	4,3	3,9	3,05	3,75
			30	R12	356	318	283	319	11,87	10,6	9,43	10,63
	250	Bütün halinde	10	R13	50	45	52	49	5	4,5	5,2	4,90
			20	R14	2.207	1.873	2.076	2.052	110,35	93,65	103,8	102,60
			30	R15	589	641	681	637	19,63	21,37	22,7	21,23
		İnce kesit	10	R16	690	590	640	640	69	59	64	64,00
			20	R17	2.106	2.009	2.596	2.237	105,3	100,45	129,8	111,85
			30	R18	1.801	1.645	1.660	1.702	60,03	54,83	55,33	56,73
1/8	150	Bütün halinde	10	R19	75	89	82	82	7,5	8,9	8,2	8,20
			20	R20	390	386	343	373	19,5	19,3	17,15	18,65
			30	R21	540	490	470	500	18	16,33	15,67	16,67
		İnce kesit	10	R22	15	9	12	12	1,5	0,9	1,2	1,20
			20	R23	21	42	27	30	1,05	2,1	1,35	1,50
			30	R24	124	95	111	110	4,13	3,17	3,7	3,67
	200	Bütün halinde	10	R25	27	32	34	31	2,7	3,2	3,4	3,10
			20	R26	240	205	233	226	12	10,25	11,65	11,30
			30	R27	320	280	300	300	10,67	9,33	10	10,00
		İnce kesit	10	R28	95	99	106	100	9,5	9,9	10,6	10,00
			20	R29	455	438	445	446	22,75	21,9	22,25	22,30
			30	R30	705	790	686	727	23,5	26,33	22,87	24,23
	250	Bütün halinde	10	R31	741	729	706	725,33	74,1	72,9	70,6	72,53
			20	R32	840	790	826	818,67	42	39,5	41,3	40,93
			30	R33	755	810	813	792,67	25,17	27	27,1	26,42
		İnce kesit	10	R34	112	95	104	103,67	11,2	9,5	10,4	10,37
			20	R35	176	124	151	150,33	8,8	6,2	7,55	7,52
			30	R36	183	177	121	160,33	6,1	5,9	4,03	5,34



Şekil 4.9. RITA® biyoreaktörlerinde PLB'den PLB çoğaltımı çalışmasında elde edilen PLB çoğaltım katsayısı.

Çizelge 4.11. *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden PLB çoğaltımı için RITA® biyoreaktörlerinde çeşitli daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluklarının (adet) PLB çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

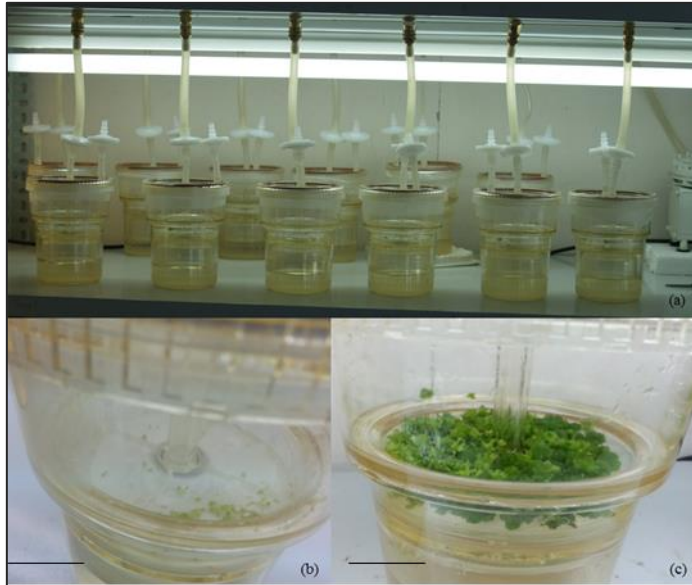
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					0,05	0,01
Daldırma periyodu	1	10345.681	10345.681	1035.691**	3.498	7.034
Besin ortamı hacmi	2	18824.882	9412.441	942.265**	3.134	4.942
Daldırma periyodu* Besin ortamı hacmi	2	8071.166	4035583	403.996**	3.134	4.942
Eksplant tipi	1	54.188	54.188	5.425*	3.984	7.034
Daldırma periyodu* Eksplant tipi	1	3955.248	3955.248	395.954**	3.984	7.034
Besin ortamı hacmi* Eksplant tipi	2	250.028	125.014	12.515**	3.134	4.942
Daldırma periyodu* Besin ortamı hacmi* Eksplant tipi	2	8827.690	4413.845	441.863**	3.134	4.942
İnokülüm yoğunluğu	2	2757.455	1378.728	138.022**	3.134	4.942
Daldırma periyodu* İnokülüm yoğunluğu	2	1779.962	889.981	89.095**	3.134	4.942
Besin ortamı hacmi* İnokülüm yoğunluğu	4	6707.356	1676.839	167.866**	2.514	3.616
Daldırma periyodu* Besin ortamı hacmi* İnokülüm yoğunluğu	4	12472.970	3118.243	312.163**	2.514	3.616
Eksplant tipi* İnokülüm yoğunluğu	2	297.810	148.905	14.907**	3.134	4.942
Daldırma periyodu* Eksplant tipi* İnokülüm yoğunluğu	2	1666.032	833.016	83.392**	3.134	4.942
Besin ortamı hacmi* Eksplant tipi* İnokülüm yoğunluğu	4	2564.563	641.141	64.184**	2.514	3.616
Daldırma periyodu* Besin ortamı hacmi* Eksplant tipi* İnokülüm yoğunluğu	4	2498.654	624.663	62.534**	2.514	3.616
Hata	72	719.220	9.989			
Genel	107	81792.905	764.420			

* Önemli %5 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Çizelge 4.12. *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için RITA® biyoreaktörlerinde elde edilen rejenerant çoğaltım katsayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluğu (adet) interaksyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması.

Daldırma periyodu (dk/sa)	Besin ortamı hacmi (ml)	Eksplant tipi (PLB)	Daldırma periyodu*Besin ortamı hacmi*Eksplant tipi*İnokülüm yoğunluğu interaksyonu için ortalama		
			10 adet	20 adet	30 adet
1/4	150	Bütün halinde	38,80 a	33,95 a	40,67 a
		İnce kesit	74,80 a	35,65 a	15,43 a
	200	Bütün halinde	22,40 a	3,70 b	7,30 b
		İnce kesit	3,90 b	3,75 b	10,63 b
	250	Bütün halinde	4,90 b	102,60 a	21,23 b
		İnce kesit	64,00 a	111,85 a	56,73 a
1/8	150	Bütün halinde	8,20 b	18,65 b	16,67 b
		İnce kesit	1,20 b	1,50 b	3,67 b
	200	Bütün halinde	3,10 b	11,30 a	10,00 a
		İnce kesit	10,00 a	22,30 a	24,23 a
	250	Bütün halinde	72,53 a	40,93 b	26,42 a
		İnce kesit	10,37 b	7,52 b	5,34 a
Daldırma periyodu*Besin ortamı hacmi*Eksplant tipi*İnokülüm yoğunluğu interaksyonu için HKO= 16.021; LSD= 8.647 (Ana Faktör: Daldırma Periyodu)					



Şekil 4.10. (a) RITA® biyoreaktör sistemlerinin çalışma düzeneği, (b) RITA® biyoreaktörlerinde kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerin ilk aktarımı, (c) kültür süresi sonunda elde edilen rejenerasyonlar (bar: 1 cm).

Cattleya sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için RITA® biyoreaktörlerinde PPÇ kodlu içeriğe sahip sıvı besin ortamının kullanıldığı çalışmada belirlenen en başarılı PLB çoğaltım katsayısı (111,85) 1 dk/4 sa daldırma periyodu ve 250 ml besin ortamı hacmi ile 20 adet ince kesit eksplantın yer aldığı R17 kodlu denemede elde edilmiştir.

4.1.4. PLB'den sürgün rejenerasyonu

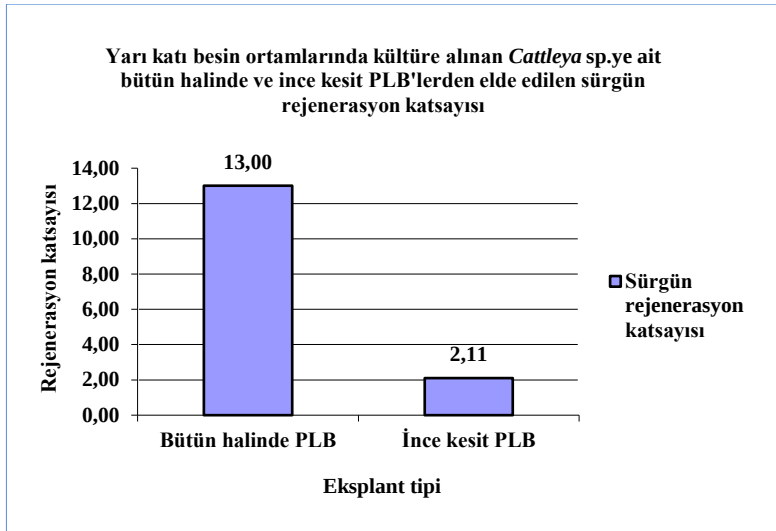
Yarı katı kültürlerde PLB'den sürgün rejenerasyonu

Cattleya sp.ye ait PLB'lerden sürgün rejenerasyonunu teşvik etmek üzere PSR kodlu (Çizelge 3.5) içeriğe sahip yarı katı besin ortamında kültüre alınan bütün halinde ve ince kesit eksplantlarda kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet) ve sürgün rejenerasyon katsayısı Çizelge 4.13'te ve Şekil 4.11'de yer almaktadır.

Çizelge 4.13. Yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait bütün halinde ve ince kesit PLB'lerden kültür süresi sonunda elde edilen sürgün sayısı (adet) ve sürgün rejenerasyon katsayısı.

Eksplant tipi (PLB)	Kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet)				Sürgün rejenerasyon katsayısı			
	T1	T2	T3	Ortalama	T1	T2	T3	Ortalama
Bütün halinde	166	131	171	156,00	13,83	10,92	14,25	13,00 a
İnce kesit	30	22	24	25,33	2,50	1,83	2,00	2,11 b

Tek faktörlü (eksplant tipi) tesadüf parselleri deneme desenine göre sürgün çoğaltım katsayılarına uygulanan istatistiki değerlendirmede; eksplant tipinin (bütün halinde PLB, ince kesit PLB) sürgün rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkisinin %1 düzeyinde önemli olduğu bulunmuştur ($F= 104.327$). Buna bağlı olarak, ortalamaların karşılaştırıldığı LSD testinde bütün halindeki PLB'lerin eksplant olarak kullanıldığı çalışmada elde edilen rejenerasyon katsayısı 1. grupta (13.000), ince kesit PLB'lerin eksplant olarak kullanıldığı çalışma sonucu elde edilen rejenerasyon katsayısı ise 2. grupta (2.110) yer almaktadır ($HKO= 1.705$; $LSD= 4.909$).



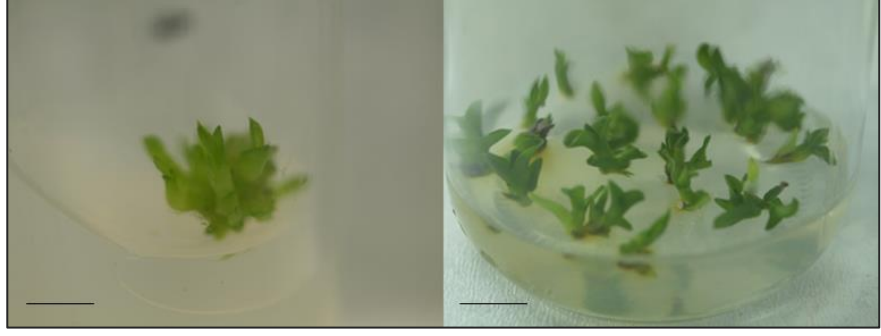
Şekil 4.11. Yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait bütün halinde ve ince kesit PLB'lerden elde edilen sürgün rejenerasyon katsayısı.

Çalışmada yer alan eksplant tiplerinin sürgün rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.14'te; yarı katı besin ortamlarında elde edilen sürgün çoğaltımları Şekil 4.12'de yer almaktadır.

Çizelge 4.14. Yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait bütün halinde ve ince kesit eksplantlardan elde edilen sürgün rejenerasyon katsayılarına ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					0,05	0,01
Çalışma kodu	1	177,888	177,888	104,327**	7,710	21,200
Hata	4	6,820	1,705			
Genel	5	184,709	36,942			

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)



Şekil 4.12. Yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan PLB'lerden elde edilen sürgün rejenerasyonları (bar: 1 cm).

PSR kodlu yarı katı besin ortamında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden sürgün rejenerasyonu çalışmasında belirlenen en başarılı rejenerasyon katsayısı (13,00) bütün halinde PLB'lerin eksplant olarak kullanıldığı denemede edilmiştir.

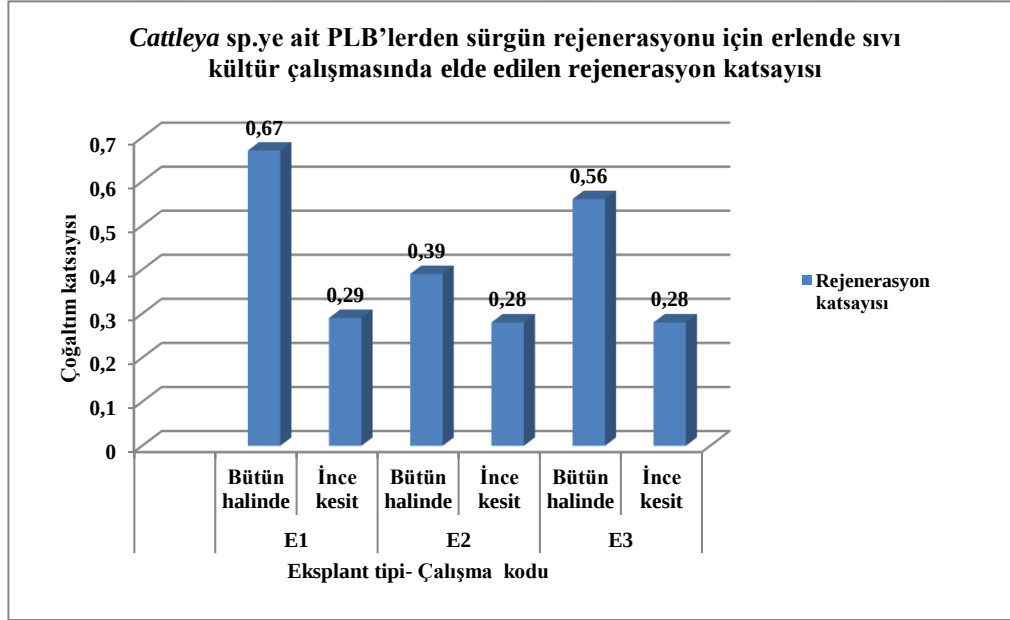
Erlenlerin kullanıldığı sıvı besin ortamında PLB'den sürgün rejenerasyonu

Cattleya sp.ye ait PLB'lerden sürgün rejenerasyonunu teşvik etmek üzere erlende PSR kodlu (Çizelge 3.5) içeriğe sahip sıvı besin ortamında kültüre alınan bütün halindeki ve ince kesit eksplantlarda PLB kümesi oluşumu meydana geldiği gözlenmiştir. Buna göre, kültür süresi sonunda meydana gelen PLB kümesi sayısı (adet) ve rejenerasyon katsayısı Çizelge 4.15'te ve Şekil 4.13'te yer almaktadır.

Erlenlerde sıvı kültür çalışmasında kullanılan erlen ve sıvı besin ortamı hacimleri (ml) ile besin ortamı hacmine paralel olarak her bir tekerrürde kullanılan inokülüm yoğunluğu (adet)'nin gruplandırıldığı E1, E2 ve E3 kodlu çalışmalar Çizelge 3.6'da belirtilmiştir.

Çizelge 4.15. *Cattleya* sp.ye ait PLB'den sürgün rejenerasyonu için erlende sıvı kültür denemesinde farklı çalışma kodu (E1, E2, E3) ve eksplant tipinin (PLB) kullanılması ile elde edilen PLB kümesi sayısı (adet) ve rejenerasyon katsayısı.

Çalışma kodu	Eksplant tipi (PLB)	Kültür süresi sonunda meydana gelen PLB kümesi sayısı (adet)				Rejenerasyon katsayısı			
		T1	T2	T3	Ortalama	T1	T2	T3	Ortalama
E1	Bütün halinde	4	6	4	4,67	0,57	0,86	0,57	0,67
	İnce kesit	3	1	2	2,00	0,43	0,14	0,29	0,29
E2	Bütün halinde	8	8	5	7,00	0,44	0,44	0,28	0,39
	İnce kesit	8	3	4	5,00	0,44	0,17	0,22	0,28
E3	Bütün halinde	24	17	19	20,00	0,67	0,47	0,53	0,56
	İnce kesit	9	13	8	10,00	0,25	0,36	0,22	0,28



Şekil 4.13. *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden sürgün rejenerasyonu için erlende sıvı kültür çalışmasında elde edilen rejenerasyon katsayısı.

Denemede kullanılan çalışma kodu ve eksplant tipinin rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.16'da; ana faktör olarak eksplant tipinin (PLB) alındığı LSD gruplandırması Çizelge 4.17'de; erlende sıvı kültürlerde gözlenen rejenerasyonlar Şekil 4.14'te yer almaktadır.

Çizelge 4.16. *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden PLB çoğaltımı için erlende sıvı kültür denemesinde kullanılan çalışma kodu (E1, E2, E3) ve eksplant tipinin (PLB) rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

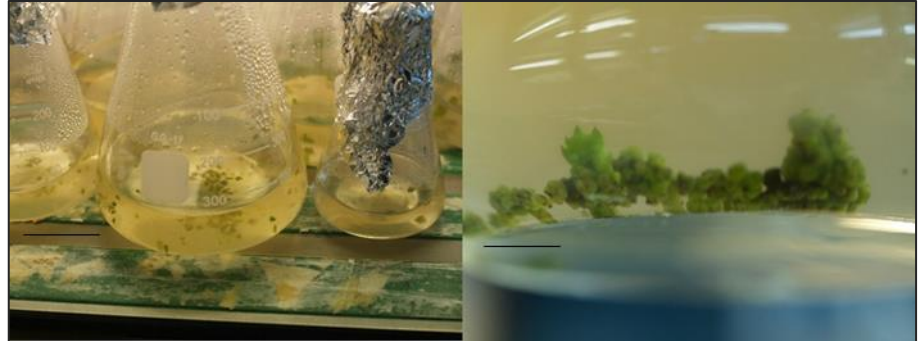
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					0,05	0,01
Çalışma kodu	2	0,064	0,032	2,029ns	3,890	6,930
Eksplant tipi	1	0,296	0,296	18,882**	4,750	9,330
Çalışma kodu* Eksplant tipi	2	0,056	0,028	1,780ns	3,890	6,930
Hata	12	0,188	0,016			
Genel	17	0,604	0,036			

ns: Önemsiz (not significant)

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Çizelge 4.17. Erlende sıvı kültürlerde *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden sürgün rejenerasyonu çalışmasında rejenerasyon katsayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu elde edilen LSD gruplandırması.

Çalışma kodu	Eksplant tipi (PLB)		Eksplant tipi için ortalama
	Bütün halinde	İnce kesit	
E1	0.667	0.287	0.477
E2	0.387	0.277	0.332
E3	0.557	0.277	0.417
Çalışma kodu için ortalama	0.537 a	0.280 b	
Çalışma kodu için HKO= 0.016; LSD= 0.180			



Şekil 4.14. Erlende sıvı kültürlerde rejenerasyon gösteren PLB kümeleri (bar: 1 cm).

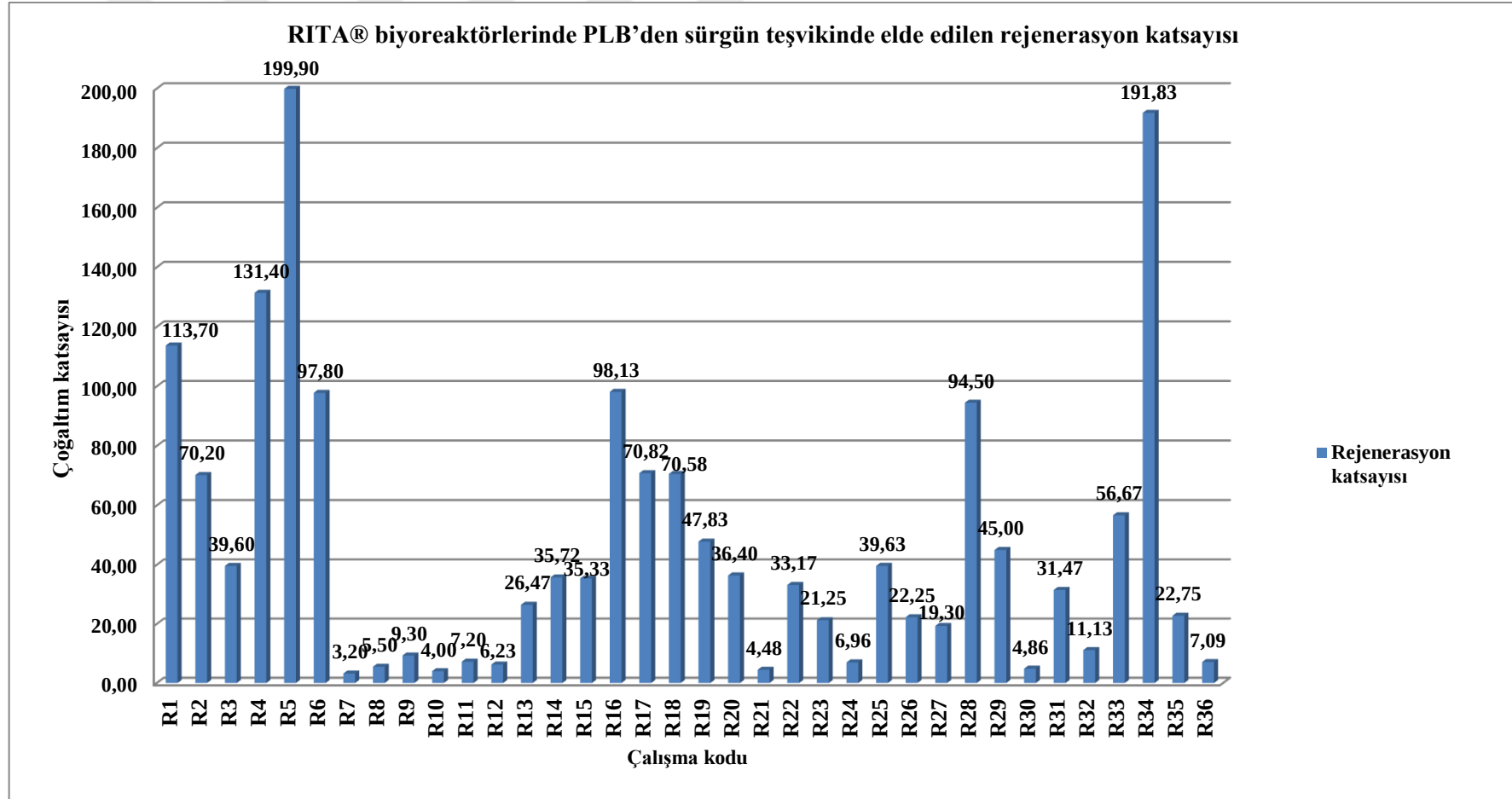
Cattleya sp.ye ait PLB'lerden sürgün rejenerasyonu için PSR kodlu besin ortamı içeriğine sahip erlenlerin kullanıldığı sıvı kültür çalışmasında belirlenen en başarılı rejenerasyon katsayısı (0,67); 100 ml hacimli erlende, 40 ml besin ortamı ve 7 adet bütün halinde PLB'nin kullanıldığı E1 kodlu denemede elde edilmiştir.

RITA® Biyoreaktörlerinde PLB'den sürgün rejenerasyonu

Cattleya sp.ye ait PLB'lerden sürgün rejenerasyonunu teşvik etmek üzere PSR kodlu içeriğe sahip sıvı besin ortamının kullanıldığı biyoreaktör çalışmasında kültüre alınan bütün halinde ve ince kesit eksplantlarda hem tekli PLB'ler hem de 2-3 yapraklı, gelişkin PLB ve PLB kümelerinin meydana geldiği belirlenmiştir. Buna göre, RITA® biyoreaktörlerinde çeşitli daldırma periyodu (1 dk/4 sa, 1 dk/8 sa), besin ortamı hacmi (150, 200, 250 ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluğu (10, 20, 30 adet) kombinasyonlarının gruplandırıldığı (Çizelge 3.7) çalışmada elde edilen toplam rejenerant (tekli PLB, gelişkin PLB, PLB kümesi) sayısı (adet) ve rejenerasyon katsayısı Çizelge 4.18'de ve Şekil 4.15'de; çalışmada yer alan daldırma periyodu (1 dk/4 sa, 1 dk/8 sa), besin ortamı hacmi (150, 200, 250 ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluğunun (10, 20, 30 adet) rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.19'da, bu parametrelerin interaksyonu için yapılan LSD gruplandırması Çizelge 4.20'de, RITA® biyoreaktörlerinde elde edilen rejenerantlar Şekil 4.16'da yer almaktadır.

Çizelge 4.18. *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden sürgün rejenerasyonu teşviki için RITA® biyoreaktörlerinde çeşitli daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluklarında (adet) elde edilen rejenerant sayısı (adet) ve rejenerasyon katsayısı.

Daldırma periyodu (dk/sa)	Besin ortamı hacmi (ml)	Eksplant tipi (PLB)	İnokülüm yoğunluğu (adet)	Çalışma kodu	Rejenerant sayısı (adet)				Rejenerasyon katsayısı			
					T1	T2	T3	Ortalama	T1	T2	T3	Ortalama
1/4	150	Bütün halinde	10	R1	1.216	1.185	1.010	1.137	121,60	118,50	101,00	113,70
			20	R2	1.468	1.380	1.364	1.404	73,40	69,00	68,20	70,20
			30	R3	1.180	1.210	1.174	1.188	39,33	40,33	39,13	39,60
		İnce kesit	10	R4	1.400	1.390	1.152	1.314	140,00	139,00	115,20	131,40
			20	R5	3.639	3.945	4.410	3.998	181,95	197,25	220,50	199,90
			30	R6	1.834	3.005	3.963	2.934	61,13	100,17	132,10	97,80
	200	Bütün halinde	10	R7	35	29	32	32,00	3,50	2,90	3,20	3,20
			20	R8	105	108	117	110,00	5,25	5,40	5,85	5,50
			30	R9	295	266	276	279,00	9,83	8,87	9,20	9,30
		İnce kesit	10	R10	51	38	31	40,00	5,10	3,80	3,10	4,00
			20	R11	120	149	163	144,00	6,00	7,45	8,15	7,20
			30	R12	195	186	180	187,00	6,50	6,20	6,00	6,23
	250	Bütün halinde	10	R13	270	259	265	264,67	27,00	25,90	26,50	26,47
			20	R14	705	714	724	714,33	35,25	35,70	36,20	35,72
			30	R15	1.105	1.095	980	1.060	36,83	36,50	32,67	35,33
		İnce kesit	10	R16	995	1.002	947	981,33	99,50	100,20	94,70	98,13
			20	R17	1.450	1.410	1.389	1.416,33	72,50	70,50	69,45	70,82
			30	R18	2.205	2.117	2.030	2.117,33	73,50	70,57	67,67	70,58
1/8	150	Bütün halinde	10	R19	454	496	485	478,33	45,40	49,60	48,50	47,83
			20	R20	786	845	553	728,00	39,30	42,25	27,65	36,40
			30	R21	126	148	129	134,33	4,20	4,93	4,30	4,48
		İnce kesit	10	R22	342	348	305	331,67	34,20	34,80	30,50	33,17
			20	R23	396	312	567	425,00	19,80	15,60	28,35	21,25
			30	R24	197	216	213	208,67	6,57	7,20	7,10	6,96
	200	Bütün halinde	10	R25	440	396	353	396,33	44,00	39,60	35,30	39,63
			20	R26	409	476	450	445,00	20,45	23,80	22,50	22,25
			30	R27	640	580	517	579,00	21,33	19,33	17,23	19,30
		İnce kesit	10	R28	976	932	927	945,00	97,60	93,20	92,70	94,50
			20	R29	917	864	919	900,00	45,85	43,20	45,95	45,00
			30	R30	132	155	150	145,67	4,40	5,17	5,00	4,86
	250	Bütün halinde	10	R31	305	330	309	314,67	30,50	33,00	30,90	31,47
			20	R32	239	205	224	222,67	11,95	10,25	11,20	11,13
			30	R33	1.630	1.805	1.665	1.700	54,33	60,17	55,50	56,67
		İnce kesit	10	R34	1.980	1.918	1.857	1.918,33	198,00	191,80	185,70	191,83
			20	R35	470	455	440	455,00	23,50	22,75	22,00	22,75
			30	R36	210	216	212	212,67	7,00	7,20	7,07	7,09



Şekil 4.15. RITA® biyoreaktörlerinde PLB'den sürgün teşviki için gruplandırılan çalışma kodlarında elde edilen rejenerasyon katsayısı.

Çizelge 4.19. *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden sürgün rejenerasyonu çalışmasında RITA® biyoreaktörlerinde kullanılan çeşitli daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluğu (adet)’nun rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					0,05	0,01
Daldırma periyodu	1	8993.600	8993.600	147.441**	3.984	7.034
Besin ortamı hacmi	2	39334.010	19667.005	322.421**	3.134	4.942
Daldırma periyodu*Besin ortamı hacmi	2	63235.988	31617.994	518.346**	3.134	4.942
Eksplant tipi	1	21277.060	21277.060	348.816**	3.984	7.034
Daldırma periyodu*Eksplant tipi	1	2970.558	2970.558	48.699**	3.984	7.034
Besin ortamı hacmi*Eksplant tipi	2	5127.178	2563.589	42.028**	3.134	4.942
Daldırma periyodu*Besin ortamı hacmi*Eksplant tipi	2	11706.611	5853.306	95.959**	3.134	4.942
İnokülüm yoğunluğu	2	26371.769	13185.884	216.170**	3.134	4.942
Daldırma periyodu*İnokülüm yoğunluğu	2	11601.376	5800.688	95.097**	3.134	4.942
Besin ortamı hacmi*İnokülüm yoğunluğu	4	12336.196	3084.049	50.560**	2.514	3.616
Daldırma periyodu*Besin ortamı hacmi*İnokülüm yoğunluğu	4	9086.198	2271.549	37.240**	2.514	3.616
Eksplant tipi*İnokülüm yoğunluğu	2	8685.110	4342.555	71.192**	3.134	4.942
Daldırma periyodu*Eksplant tipi*İnokülüm yoğunluğu	2	11269.498	5634.749	92.376**	3.134	4.942
Besin ortamı hacmi*Eksplant tipi*İnokülüm yoğunluğu	4	22693.425	5673.356	93.009**	2.514	3.616
Daldırma periyodu*Besin ortamı hacmi*Eksplant tipi*İnokülüm yoğunluğu	4	7236.353	1809.088	29.658**	2.514	3.616
Hata	72	4391.847	60.998			
Genel	107	266316.778	2488.942			

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Çizelge 4.20. *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden sürgün teşviki için RITA® biyoreaktörlerinde elde edilen rejenerasyon katsayılarına uygulanan istatistiki analizde daldırma periyodu (dk/sa), besin ortamı hacmi (ml), eksplant tipi (PLB) ve inokülüm yoğunluğu (adet) interaksyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması.

Daldırma periyodu (dk/sa)	Besin ortamı hacmi (ml)	Eksplant tipi (PLB)	Daldırma periyodu*Besin ortamı hacmi*Eksplant tipi*İnokülüm yoğunluğu için ortalama		
			10 adet	20 adet	30 adet
1/4	150	Bütün halinde	113,70 a	70,20 a	39,60 a
		İnce kesit	131,40 a	199,90 a	97,80 a
	200	Bütün halinde	3,20 b	5,50 a	9,30 a
		İnce kesit	4,00 b	7,20 b	6,23 a
	250	Bütün halinde	26,47 a	35,72 a	35,33 b
		İnce kesit	98,13 b	70,82 a	70,58 a
1/8	150	Bütün halinde	47,83 b	36,40 b	4,48 b
		İnce kesit	33,17 b	21,25 b	6,96 b
	200	Bütün halinde	39,63 a	22,25 a	19,30 a
		İnce kesit	94,50 a	45,00 a	4,86 a
	250	Bütün halinde	31,47 a	11,13 b	56,67 a
		İnce kesit	191,83 a	22,75 b	7,09 b
Daldırma periyodu*Besin ortamı hacmi*Eksplant tipi*İnokülüm yoğunluğu interaksiyonu için HKO= 60.998; LSD= 16.873 (Ana Faktör: Daldırma Periyodu)					



Şekil 4.16. RITA® biyoreaktörlerinde elde edilen rejenerantlar (bar: 1 cm).

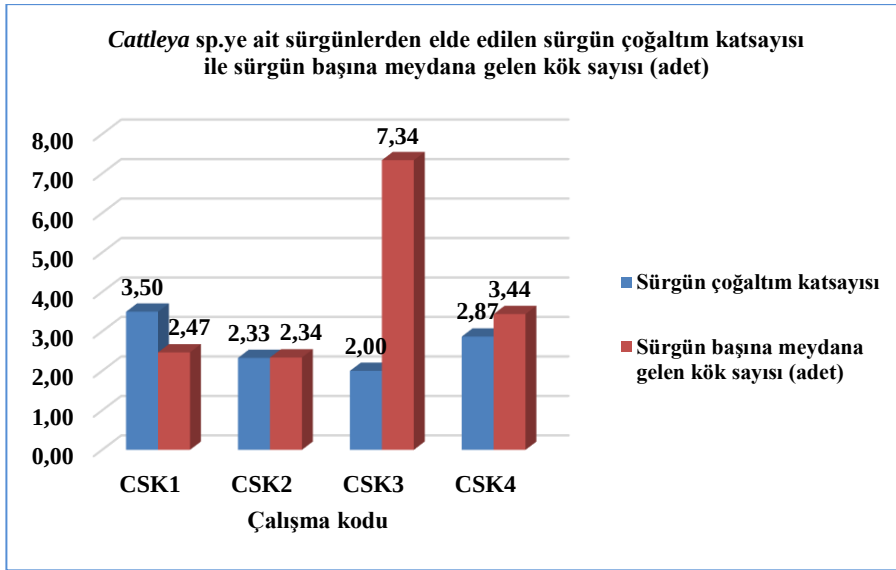
Cattleya sp.ye ait PLB'lerden sürgün rejenerasyonu için RITA® biyoreaktörlerinde PSR kodlu içeriğe sahip sıvı besin ortamının kullanıldığı çalışmada belirlenen en başarılı rejenerasyon katsayısı (199,90) 1 dk/4 sa daldırma periyodu ve 150 ml besin ortamı hacmi ile 20 adet ince kesit eksplantın yer aldığı R5 kodlu denemede elde edilmiştir.

4.1.5. *Cattleya* sp.ye ait *in vitro* sürgünlerin çoğaltımı ve köklendirilmesi

In vitro koşullarda sürgün çoğaltımı ve köklendirme çalışmasında, farklı sükroz dozlarının denendiği besin ortamlarında (Çizelge 3.8) kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde kültür süresi sonunda elde edilen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) Çizelge 4.21'de ve Şekil 4.17'de yer almaktadır.

Çizelge 4.21. *In vitro* koşullarda sürgün çoğaltımı ve köklendirme çalışmasında edilen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Çalışma kodu	Kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet)				Sürgün çoğaltım katsayısı				Kök sayısı (adet)				Sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
CSK1	33	30	42	35,00	3,30	3,00	4,20	3,50	82	79	96	85,67	2,48	2,63	2,29	2,47 b
CSK2	22	21	27	23,33	2,20	2,10	2,70	2,33	61	45	57	54,33	2,77	2,14	2,11	2,34 b
CSK3	27	21	12	20,00	2,70	2,10	1,20	2,00	136	159	113	136,00	5,04	7,57	9,42	7,34 a
CSK4	17	39	30	28,67	1,70	3,90	3,00	2,87	89	96	79	88,00	5,24	2,46	2,63	3,44 b



Şekil 4.17. *In vitro* koşullarda sürgün çoğaltımı ve köklendirme çalışmasında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerden elde edilen sürgün çoğaltım katsayısı ile sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre sürgün çoğaltım katsayılarına uygulanan istatistiki değerlendirmede çalışma kodu etkisinin önemsiz olduğu belirlenmiştir ($F = 2.256$). Bunun yanı sıra *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin köklendirme çalışmasında, tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre sürgün başına meydana gelen kök sayılarına uygulanan istatistiki değerlendirmede; çalışma kodunun (CSK1, CSK2, CSK3, CSK4) sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkisinin %1 düzeyinde önemli olduğu bulunmuştur ($F = 8.911$). Buna bağlı olarak, ortalamaların karşılaştırıldığı LSD testinde CSK3 kodlu besin ortamının *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin köklendirilmesi üzerindeki etkisinin 1. grupta (7.343), sırasıyla CSK4, CSK1 ve CSK2 kodlu besin ortamı içeriğine sahip çalışma tiplerinin ise 2. grupta (CSK4: 3.443; CSK1: 2.467, CSK2: 2.340) yer aldığı belirlenmiştir (HKO= 1.858; LSD= 3.734).

Denemede kullanılan çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.22’de, sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.23’te; *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin çoğaltımı ve köklendirilmesi çalışmasında elde edilen köklü sürgünler Şekil 4.18’de yer almaktadır.

Çizelge 4.22. *In vitro* koşullarda sürgün çoğaltımı ve köklendirme denemesinde yer alan çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					0,05	0,01
Çalışma kodu	3	3.869	1.290	2.256ns	4.070	7.590
Hata	8	4.573	0.572			
Genel	11	8.443	0.768			

ns: Önemsiz (not significant)

Çizelge 4.23. *In vitro* koşullarda sürgün çoğaltımı ve köklendirme denemesinde yer alan çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					0,05	0,01
Çalışma kodu	3	49.659	16.553	8.911**	4.070	7.590
Hata	8	14.862	1.858			
Genel	11	64.521	5.866			

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)



Şekil 4.18. *Cattleya* sp.ye ait sürgün çoğaltımı ve köklendirilmesi çalışmasında elde edilen köklü sürgünler (bar: 1 cm).

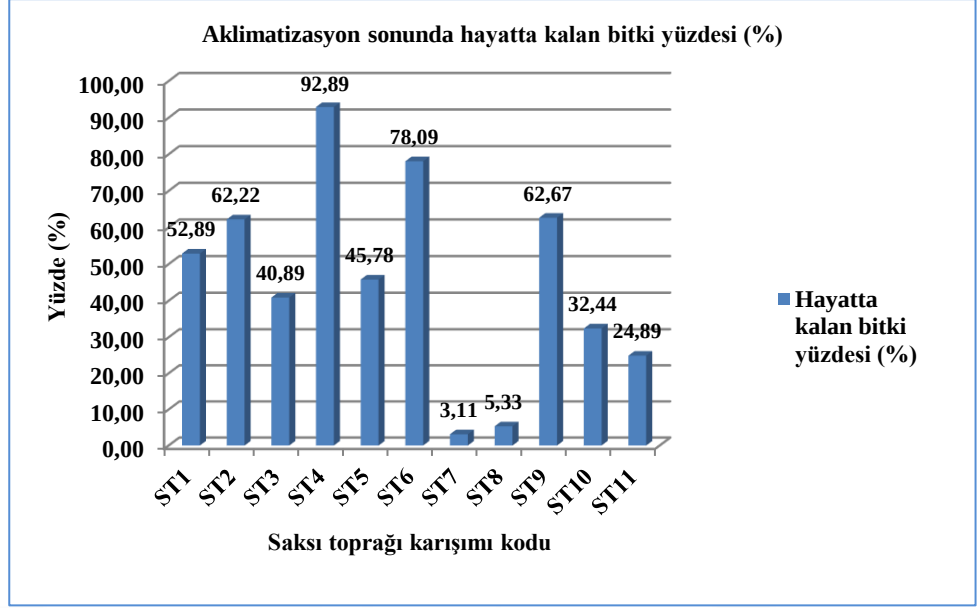
Cattleya sp.ye ait *in vitro* sürgünlerin çoğaltımı ve köklendirilmesi çalışmasında elde edilen en başarılı sürgün çoğaltım katsayısı (3,50), 30 g/l süktroz kullanılan 1/2MS besin ortamı içeriğine sahip CSK1 kodlu çalışmada; sürgün başına meydana gelen en fazla kök sayısı (7,34) ise 60 g/l süktroz içeren 1/2MS besin ortamı içeriğine sahip CSK3 kodlu çalışmada elde edilmiştir.

4.1.6. *Cattleya* sp.ye ait *in vitro* köklü sürgünlerin *ex vitro* koşullarda aklimatizasyonu

Aklimatizasyon sürecinde farklı saksı toprağı bileşenleri, bu bileşenlerin yüzde oranları (%) ve saksı toprağı karışımı kodları Çizelge 3.9’da, bitkilerin muhafaza edildiğı seraya ait ortam koşulları Çizelge 3.10’da belirtilmiştir. *In vitro* koşullarda köklendirilen *Cattleya* sp. sürgünlerinin dış koşullara alıştırıldığı *ex vitro* aklimatizasyon aşaması sonunda hayatta kalan bitki sayısı (adet) ve yüzdesi (%) Çizelge 4.24’te ve Şekil 4.19’da yer almaktadır.

Çizelge 4.24. Aklimatizasyon sonunda hayatta kalan *Cattleya* sp.ye ait bitkilerin sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Çalışma kodu	Aklimatizasyon sonunda hayatta kalan bitki sayısı (adet)				Aklimatizasyon sonunda hayatta kalan bitki yüzdesi (%)			
	T1	T2	T3	Ortalama	T1	T2	T3	Ortalama
ST1	56	34	29	39,67	74,67	45,33	38,67	52,89 bc
ST2	45	50	45	46,67	60,00	66,67	60,00	62,22 bc
ST3	37	24	31	30,67	49,33	32,00	41,33	40,89 cde
ST4	69	75	65	69,67	92,00	100,00	86,66	92,89 a
ST5	33	51	19	34,33	44,00	68,00	25,33	45,78 cde
ST6	55	67	54	58,67	73,15	89,11	72,00	78,09 ab
ST7	2	3	2	2,33	2,67	4,00	2,67	3,11 f
ST8	6	3	3	4,00	8,00	4,00	4,00	5,33 f
ST9	56	38	47	47,00	74,66	50,67	62,67	62,67 bc
ST10	21	31	21	24,33	28,00	41,33	28,00	32,44 de
ST11	21	18	17	18,67	28,00	24,00	22,66	24,89 ef



Şekil 4.19. Aklimatizasyon sonunda hayatta kalan bitki yüzdesi (%).

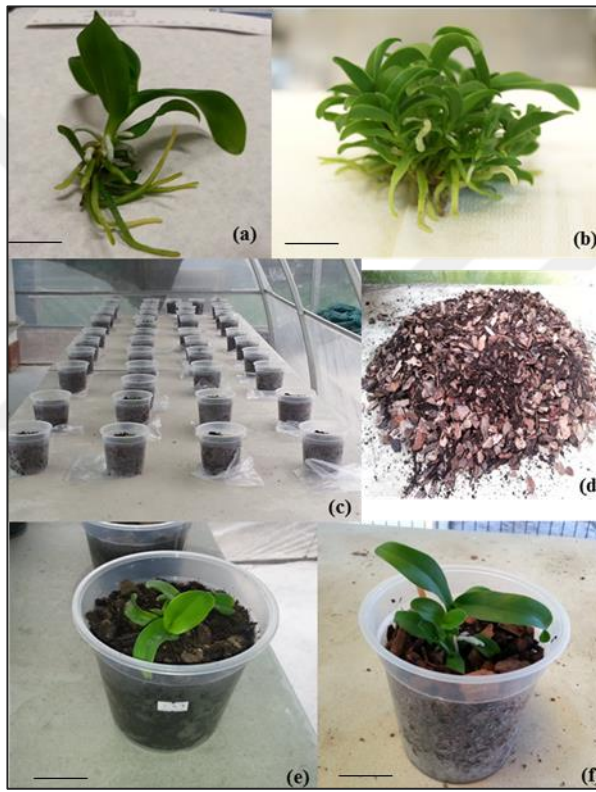
Tek faktörlü (saksı toprağı karışımı) tesadüf parselleri deneme desenine göre hayatta kalan bitki yüzdelere uygulanan istatistiki değerlendirmede; çalışmada kullanılan saksı toprağı karışımlarının (ST1, ST2, ST3, ST4, ST5, ST6, ST7, ST8, ST9, ST10) *Cattleya* sp.ye ait köklü sürgünlerin aklimatizasyonu üzerindeki etkisinin %1 düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiştir ($F= 20.728$). Ortalamaların karşılaştırıldığı LSD testinde ST4 kodlu saksı toprağı karışımı ile elde edilen aklimatizasyon başarısı 1. grupta (92.887), ST6 kodlu karışım 2. grupta (78.087), ST9, ST2 ve ST1 kodlu saksı toprağı karışımları 3. grupta (ST9: 62.667; ST2: 62.223, ST1: 52.890), ST5 ve ST3 kodlu karışımlar 4. grupta (ST5: 45.777; ST3: 40.887), ST10 kodlu uygulama 5. grupta (32.443), ST11 kodlu uygulama 6. grupta (24.887), ST8 ve ST7 kodlu uygulamalar 7. grupta (ST8: 5.333, ST7: 3.113) yer almaktadır (HKO= 115.252; LSD= 24.710).

Çalışmada kullanılan saksı toprağı karışımlarının (çalışma kodu) hayatta kalan bitki yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.25'te; *Cattleya* sp. sürgünlerinin aklimatizasyonu için hazırlanan (a, b) *in vitro* köklü sürgünler, (c) toprak karışımı, (d) sera koşullarına aktarılan saksılar ve (e, f) aklimatizasyon başarısı gösteren bitkiler Şekil 4.20'de yer almaktadır.

Çizelge 4.25. *Cattleya* sp.ye at köklü sürgünlerin aklimatizasyonunda kullanılan saksı toprağı karışımlarının (çalışma kodu) hayatta kalan bitki yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	10	23889.167	2388.917	20.728**	2.315	3.285
Hata	22	2535.540	115.252			
Genel	32	26424.707	825.772			

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)



Şekil 4.20. *Cattleya* sp. sürgünlerinin aklimatizasyonu için hazırlanan (a, b) *in vitro* köklü sürgünler, (c) sera koşullarına aktarılan saksılar, (d) ST4 kodlu toprak karışımı, (e, f) aklimatizasyon başarısı gösteren bitkiler (bar: 1 cm).

In vitro köklü *Cattleya* sürgünlerinin dış koşullara alıştırma denemelerinde elde edilen en başarılı aklimatizasyon yüzdesi (%92,89) özel karışım bitki yetiştirme torfu (%30), torfsuz orkide toprağı (%44), orkide kültür torfu (%15), iri taneli cocopit (%3,75) ve pellet gübre (%7,5) bileşenlerinden oluşan ST4 kodlu saksı toprağı karışımında elde edilmiştir.

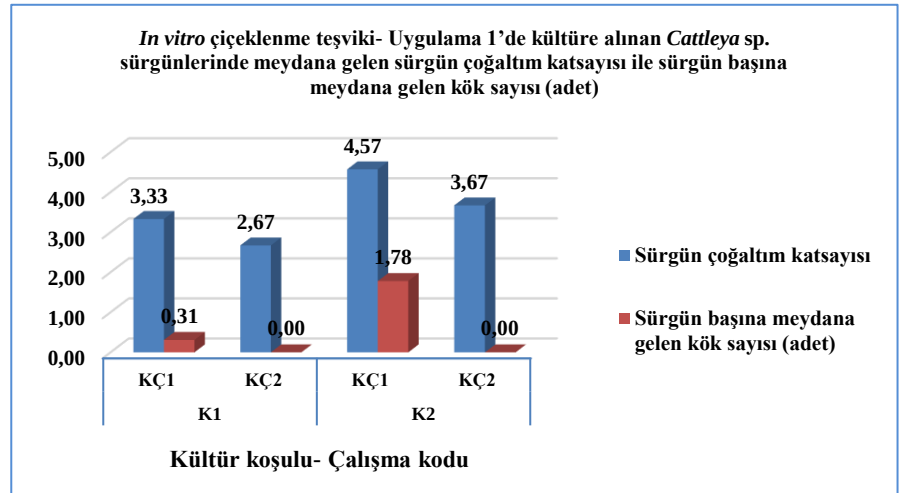
4.1.7. *In vitro* çiçeklenme teşviki

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 1:

In vitro çiçeklenme teşvikini sağlamak üzere Uygulama 1’de belirlenen besin ortamı içerikleri ve koşullarda kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde meydana gelen sürgün sayısı (adet) ve sürgün çoğaltım katsayısı ile toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) Çizelge 4.26’da ve Şekil 4.21’de yer almaktadır.

Çizelge 4.26. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Kültür koşullarına ait kod	Çalışma kodu	Kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet)				Sürgün çoğaltım Katsayısı				Toplam kök sayısı (adet)				Sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)			
		T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
K1	KÇ1	30	40	30	33,33	3	4	3	3,33	10	10	10	10	0,33	0,25	0,33	0,31
	KÇ2	20	20	40	26,67	2	2	4	2,67	0	0	0	0	0	0	0	0
K2	KÇ1	80	30	27	45,67	8	3	2,7	4,57	23	28	34	28,33	3,48	1,07	0,79	1,78
	KÇ2	30	30	50	36,67	3	3	5	3,67	0	0	0	0	0	0	0	0



Şekil 4.21. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de kültüre alınan *Cattleya* sp. sürgünlerinde meydana gelen sürgün çoğaltım katsayısı ile sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

İki faktörlü (kültür koşulları, çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre istatistiki değerlendirmesi yapılan *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de yer alan K1 ve K2 kodlu kültür koşulları ile KÇ1 ve KÇ2 kodlu besin ortamlarında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin çoğaltım katsayıları üzerinde etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir ($F= 0.014$). Uygulamada yer alan KÇ1 ve KÇ2 çalışma kodlarının, sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerinde %5 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir ($F= 5.975$). Uygulamada yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.27’de, sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.28’de; kültür koşulu ve çalışma kodu interaksiyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması Çizelge 4.29’da yer almaktadır.

Çizelge 4.27. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Kültür koşulları	1	3.741	3.741	1.261ns	5.320	11.260
Çalışma kodu	1	1.841	1.841	0.621ns	5.320	11.260
Kültür koşulları* Çalışma kodu	1	0.041	0.041	0.014ns	5.320	11.260
Hata	8	23.727	2.966			
Genel	11	29.349	2.668			

ns: Önemsiz (not significant)

Çizelge 4.28. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Kültür koşulları	1	1.638	1.638	3.003ns	5.320	11.260
Çalışma kodu	1	3.258	3.258	5.975*	5.320	11.260
Kültür koşulları* Çalışma kodu	1	1.638	1.638	3.003ns	5.320	11.260
Hata	8	4.362	0.545			
Genel	11	10.896	0.991			

ns: Önemsiz (not significant)

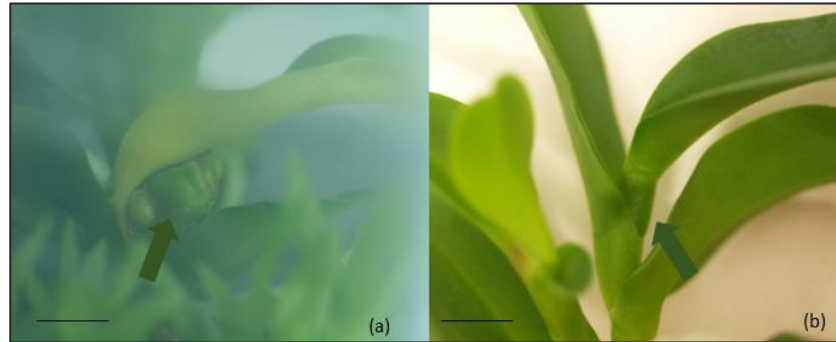
* Önemli %5 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Çizelge 4.29. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de sürgün başına meydana gelen kök sayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu kültür koşulu ve çalışma kodu interaksiyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması.

Kültür koşulu	Çalışma kodu		Kültür koşullarına ait ortalama
	KÇ1	KÇ2	
K1	0.303	0.000	0.152
K2	1.781	0.000	0.891
Çalışma kodlarına ait ortalama	1.042 a	0.000 b	
Çalışma kodu için HKO= 0.545; LSD= 0.984			

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de kültüre alınan *Cattleya sp.*ye ait sürgünlerde elde edilen en yüksek sürgün çoğaltım katsayısı (4,56) K2 (10 sa gündüz/14 sa gece-20/12±2°C) kodlu kültür koşulları ve aktif kömür içermeyen çift tabakalı besin ortamı içeriğine sahip KÇ2 kodlu çalışmada; sürgün başına meydana gelen en az kök sayısı (0) ise K1 (16 sa gündüz/8 sa gece- 25±2°C) ve K2 kodlu kültür koşullarının her ikisinde de KÇ2 kodlu besin ortamında elde edilmiştir.

Uygulamada K2 kodlu kültür koşullarında ve aktif kömür içeren KÇ1 kodlu besin ortamında kültüre alınan sürgünlerde, 14 aylık kültür süresi sonunda %6,67 oranda pseudobulb gelişimi meydana gelmiştir. Şekil 4.22 (a)’da pseudobulb oluşumu öncesinde meydana gelen tomurcuk ve (b)’de pseudobulb yer almaktadır.



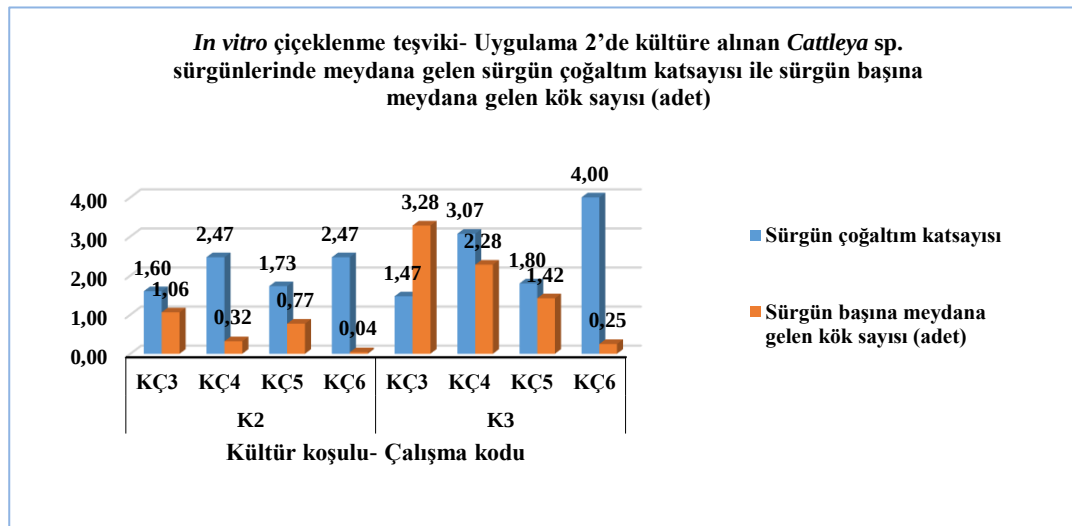
Şekil 4.22. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 1’de (a) pseudobulb gelişimi öncesinde meydana gelen tomurcuk ve (b) pseudobulb (bar: 1 cm).

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2:**

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de yer alan besin ortamı içerikleri ile K2 ve K3 kodlu ortam koşullarında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde meydana gelen sürgün sayısı (adet) ve sürgün çoğaltım katsayısı ile toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) Çizelge 4.30’da ve Şekil 4.23’te yer almaktadır.

Çizelge 4.30. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerinde meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Kültür koşulları	Çalışma kodu	Kültür süresi sonundaki sürgün sayısı (adet)				Sürgün çoğaltım katsayısı				Toplam kök sayısı (adet)				Sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)			
		T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
K2	KÇ3	24	10	14	16,00	2,40	1,00	1,40	1,60	8,00	15,00	19,00	14,00	0,33	1,50	1,36	1,06
	KÇ4	25	28	21	24,67	2,50	2,80	2,10	2,47	8,00	7,00	8,00	7,67	0,32	0,25	0,38	0,32
	KÇ5	22	16	14	17,33	2,20	1,60	1,40	1,73	15,00	8,00	16,00	13,00	0,68	0,50	1,14	0,77
	KÇ6	25	27	22	24,67	2,50	2,70	2,20	2,47	1,00	1,00	1,00	1,00	0,04	0,04	0,05	0,04
K3	KÇ3	21	11	12	14,67	2,10	1,10	1,20	1,47	44,00	31,00	59,00	44,67	2,10	2,82	4,92	3,28
	KÇ4	38	29	25	30,67	3,80	2,90	2,50	3,07	74,00	64,00	67,00	68,33	1,95	2,21	2,68	2,28
	KÇ5	19	18	17	18,00	1,90	1,80	1,70	1,80	21,00	27,00	28,00	25,33	1,11	1,50	1,65	1,42
	KÇ6	52	37	31	40,00	5,20	3,70	3,10	4,00	5,00	21,00	3,00	9,67	0,10	0,57	0,10	0,25



Şekil 4.23. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de kültüre alınan *Cattleya* sp. sürgünlerinde meydana gelen sürgün çoğaltım katsayısı ile sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

İki faktörlü (kültür koşulları, çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre istatistiki değerlendirmesi yapılan *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de yer alan K2 ve K3 kodlu kültür koşulları ile KÇ3, KÇ4, KÇ5 ve KÇ6 kodlu besin ortamlarının gruplandırıldığı çalışma kodları ve kültür koşulları interaksiyonunun *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin çoğaltım katsayıları üzerinde etkisinin önemli olmadığını fakat bu faktörlerin ayrı ayrı sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkileri değerlendirdiğinde, kültür koşullarının %5, çalışma kodlarının %1 düzeyinde önemli oldukları belirlenmiştir.

Denemede yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.31’de, LSD gruplandırması Çizelge 4.32’de; çalışma gruplarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.33’te yer almaktadır.

Çizelge 4.31. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5 %	1 %
Kültür koşulları	1	1.602	1.602	4.565*	4.490	8.530
Çalışma kodu	1	11.752	3.917	11.165**	3.240	5.290
Çalışma kodu* Kültür koşulları	3	2.498	0.833	2.374ns	3.240	5.290
Hata	16	5.613	0.351			
Genel	23	21.465	0.933			

ns: Önemsiz (not significant)

* Önemli %5 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Çizelge 4.32. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de sürgün çoğaltım katsayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu çalışma kodu ve kültür koşulları interaksyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması.

Kültür koşulu	Çalışma kodu				Kültür koşullarına ait ortalama
	KÇ3	KÇ4	KÇ5	KÇ6	
K2	1,60	2,47	1,73	2,47	2.067 b
K3	1,47	3,07	1,80	4,00	2.583 a
Çalışma kodlarına ait ortalama	1.533b	2.767a	1.767b	3.233a	
Çalışma kodlarına göre hesaplanan HKO= 0.351, LSD= 0.999; Kültür koşullarına göre hesaplanan HKO= 0.370, LSD= 0.725					

Uygulamada yer alan kültür koşulları (K2, K3) ve besin ortamları ile ilişkilendirilen çalışma kodlarının (KÇ3, KÇ4, KÇ5, KÇ6) interaksyonun, sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerinde %1 düzeyinde, önemli olduğu belirlenmiştir (F= 3.899). Sürgün başına meydana gelen kök sayısına ait LSD gruplandırması Çizelge 4.34’te yer almaktadır

Çizelge 4.33. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üstündeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Kültür koşulları	1	9.526	9.526	25.776**	4.490	8.530
Çalışma kodu	3	12.391	4.130	11.177**	3.240	5.290
Çalışma kodu* Kültür koşulları	3	4.322	1.441	3.899*	3.240	5.290
Hata	16	5.913	0.370			
Genel	23	32.152	1.398			

* Önemli %5 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

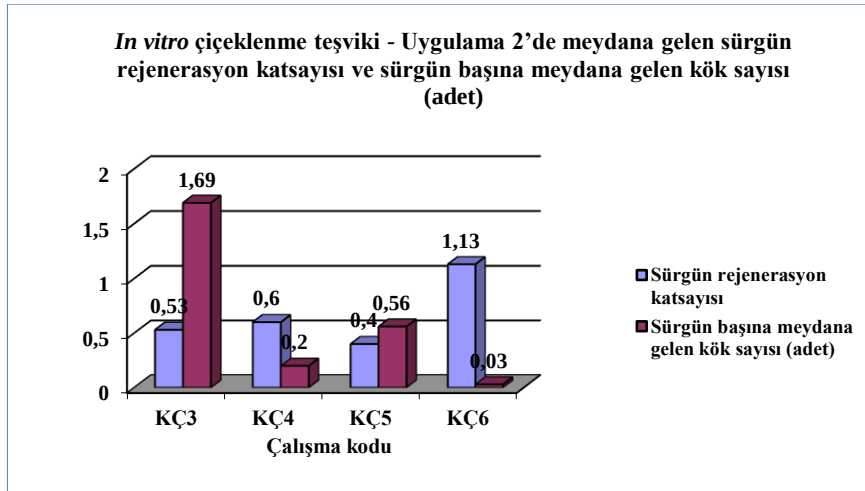
Çizelge 4.34. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de sürgün başına meydana gelen kök sayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu çalışma kodu ve kültür koşullarının interaksiyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması.

Kültür koşulu	Çalışma kodu				Kültür koşullarına ait ortalama
	KÇ3	KÇ4	KÇ5	KÇ6	
K2	1,06	0,32	0,77	0,04	0.549 b
K3	3,28	2,28	1,42	0,25	1.809 a
Çalışma kodlarına ait ortalama	2.172 a	1.298 b	1.097 bc	0.150 c	
Çalışma kodlarına göre hesaplanan HKO= 0.370, LSD= 1.025; Kültür koşullarına göre hesaplanan HKO= 0.370, LSD= 0.725					

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerde elde edilen sürgün sayısı (adet) ve sürgün rejenerasyon katsayısı ile toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) Çizelge 4.35’te ve Şekil 4.24’te yer almaktadır.

Çizelge 4.35. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerde meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün rejenerasyon katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Çalışma kodu	Kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı				Sürgün rejenerasyon katsayısı				Toplam kök sayısı (adet)				Sürgün başına meydana gelen kök sayısı			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
KÇ4	9	0	7	5,33	0,9	0,0	0,7	0,53	20	0	20	13,33	2,22	0,00	2,86	1,69
KÇ5	11	6	1	6,00	1,1	0,6	0,1	0,60	1	3	0	1,33	0,09	0,50	0,00	0,20
KÇ6	3	9	0	4,00	0,3	0,9	0,0	0,40	3	6	0	3,00	1,00	0,67	0,00	0,56
KÇ7	4	13	17	11,33	0,4	1,3	1,7	1,13	0	1	0	0,33	0,00	0,08	0,00	0,03



Şekil 4.24. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerde meydana gelen sürgün çoğaltım katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre istatistiki değerlendirmesi yapılan *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de yer alan KÇ3, KÇ4, KÇ5 ve KÇ6 kodlu besin ortamlarının gruplandırıldığı çalışma kodlarının *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerin sürgün rejenerasyon katsayıları üzerinde etkisinin önemli olmadığını belirlenmiştir ($F= 1.105$).

Uygulamada yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.36’da, sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.37’de yer almaktadır.

Çizelge 4.36. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerin sürgün rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	3	0.933	0.311	1.105ns	4.070	7.590
Hata	8	2.253	0.282			
Genel	11	3.187	0.290			

ns: Önemsiz (not significant)

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre istatistiki değerlendirmesi yapılan *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de yer alan KÇ3, KÇ4, KÇ5 ve KÇ6 kodlu besin ortamlarının gruplandırıldığı çalışma kodlarının *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerde sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkisinin önemli olmadığını belirlenmiştir ($F= 2.610$).

Çizelge 4.37. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerin sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	3	5.062	1.687	2.610ns	4.070	7.590
Hata	8	5.171	0.646			
Genel	11	10.233	0.930			

ns: Önemsiz (not significant)

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de kültüre alınan (a) sürgün ve (b) PLB’lerde meydana gelen rejenerasyonlar Şekil 4.25’te yer almaktadır.



Şekil 4.25. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de kültüre alınan (a) sürgün ve (b) PLB’lerde meydana gelen rejenerasyonlar (bar: 1 cm).

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 2’de kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde belirlenen en yüksek sürgün çoğaltım katsayısı (4,00) K3 kodlu kültür koşulları (8 sa gündüz/16 sa gece- 22±2°C) ile 40 g/l süktroz ve 2,5 mg/l TDZ içeren, N-P oranları modifiye edilmiş (N: 2,4 mM, P: 6,25 mM) MS besin ortamına sahip KÇ6 kodlu besin ortamında; sürgün başına meydana gelen en yüksek kök sayısı (0,40) K2 kodlu kültür koşullarında (10 sa gündüz/14 sa gece- 20/12±2°C) ve KÇ6 kodlu besin ortamında elde edilmiştir. Bunun yanı sıra, uygulamada yer alan *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerin kültüre alındığı denemelerde en yüksek sürgün rejenerasyon katsayısı (1,13); sürgün başına meydana gelen en düşük kök sayısı (0,03) K3 kodlu kültür koşulları ve KÇ6 kodlu besin ortamında gözlenmiştir.

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 3:**

KÇ7 ve KÇ8 kodlu çift tabakalı besin ortamları (Çizelge 3.15) ve K1 kodlu kültür koşullarının kullanıldığı *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 3’te kültüre alınan sürgünlerde gelişim ve çiçeklenme gözlenmemiş olup, sürgünlerde kararırma ve çürümeler meydana geldiği için deneme sonlandırılmıştır.

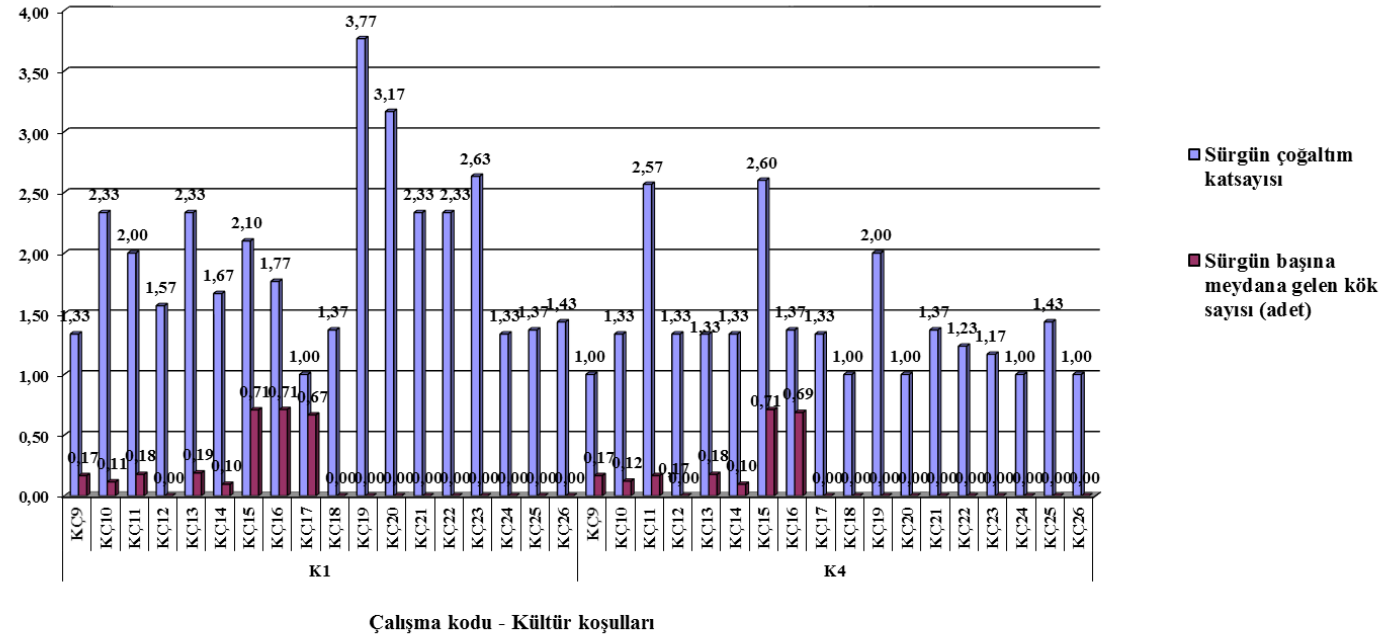
***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 4:**

In vitro çiçeklenme teşvikini sağlamak üzere Uygulama 4’te kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde meydana gelen sürgün sayısı (adet) ve sürgün çoğaltım katsayısı ile toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) Çizelge 4.38’de ve Şekil 4.26’da yer almaktadır.

Çizelge 4.38. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Kültür koşullarına ait kod	Çalışma kodu	Kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet)				Sürgün çoğaltım katsayısı				Toplam kök sayısı (adet)				Sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)			
		T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
K1	KÇ9	10	14	16	13,33	1,00	1,40	1,60	1,33	0	7	0	2,33	0,00	0,50	0,00	0,17
	KÇ10	19	29	22	23,33	1,90	2,90	2,20	2,33	0	10	0	3,33	0,00	0,34	0,00	0,11
	KÇ11	22	17	21	20,00	2,20	1,70	2,10	2,00	0	9	0	3,00	0,00	0,53	0,00	0,18
	KÇ12	14	17	16	15,67	1,40	1,70	1,60	1,57	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ13	23	17	30	23,33	2,30	1,70	3,00	2,33	13	0	0	4,33	0,57	0,00	0,00	0,19
	KÇ14	17	12	21	16,67	1,70	1,20	2,10	1,67	0	0	6	2,00	0,00	0,00	0,29	0,10
	KÇ15	22	19	22	21,00	2,20	1,90	2,20	2,10	19	11	15	15,00	0,86	0,58	0,68	0,71
	KÇ16	18	20	15	17,67	1,80	2,00	1,50	1,77	12	16	10	12,67	0,67	0,80	0,67	0,71
	KÇ17	10	10	10	10,00	1,00	1,00	1,00	1,00	20	0	0	6,67	2,00	0,00	0,00	0,67
	KÇ18	14	14	13	13,67	1,40	1,40	1,30	1,37	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ19	32	44	37	37,67	3,20	4,40	3,70	3,77	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ20	32	38	25	31,67	3,20	3,80	2,50	3,17	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ21	21	17	32	23,33	2,10	1,70	3,20	2,33	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ22	27	24	19	23,33	2,70	2,40	1,90	2,33	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ23	19	34	26	26,33	1,90	3,40	2,60	2,63	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ24	12	12	16	13,33	1,20	1,20	1,60	1,33	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ25	16	13	12	13,67	1,60	1,30	1,20	1,37	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ26	19	14	10	14,33	1,90	1,40	1,00	1,43	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
K4	KÇ9	10	10	10	10,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0	5	0	1,67	0,00	0,50	0,00	0,17
	KÇ10	13	11	16	13,33	1,30	1,10	1,60	1,33	0	4	0	1,33	0,00	0,36	0,00	0,12
	KÇ11	28	24	25	25,67	2,80	2,40	2,50	2,57	0	12	0	4,00	0,00	0,50	0,00	0,17
	KÇ12	11	18	11	13,33	1,10	1,80	1,10	1,33	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ13	17	11	12	13,33	1,70	1,10	1,20	1,33	9	0	0	3,00	0,53	0,00	0,00	0,18
	KÇ14	14	12	14	13,33	1,40	1,20	1,40	1,33	0	0	4	1,33	0,00	0,00	0,29	0,10
	KÇ15	18	34	26	26,00	1,80	3,40	2,60	2,60	16	20	17	17,67	0,89	0,59	0,65	0,71
	KÇ16	12	13	16	13,67	1,20	1,30	1,60	1,37	8	10	10	9,33	0,67	0,77	0,63	0,69
	KÇ17	17	12	11	13,33	1,70	1,20	1,10	1,33	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ18	10	10	10	10,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ19	10	24	26	20,00	1,00	2,40	2,60	2,00	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ20	10	10	10	10,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ21	10	12	19	13,67	1,00	1,20	1,90	1,37	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ22	17	10	10	12,33	1,70	1,00	1,00	1,23	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ23	11	13	11	11,67	1,10	1,30	1,10	1,17	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ24	10	10	10	10,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ25	12	17	14	14,33	1,20	1,70	1,40	1,43	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	KÇ26	10	10	10	10,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'teyar alan çalışma düzeni ve koşullarda kültüre alınan *Cattleya* sp. ye ait sürgünlerde meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı



Şekil 4.26. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te kültüre alınan *Cattleya* sp. ye ait sürgünlerde meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te yer alan kültür koşulları, kültür sistemleri ve çalışma kodlarının gruplandırıldığı denemelerin sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.39'da; kültür koşulları, kültür sistemleri ve çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayıları üzerindeki üçlü interaksyonuna ait LSD gruplandırması Çizelge 4.40'ta yer almaktadır.

Çizelge 4.39. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te yer alan kültür koşulları, kültür sistemleri ve çalışma kodlarının *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Kültür koşulları	1	9.071	9.071	54.548**	3.984	7.034
Kültür sistemi	1	0.033	0.033	0.201ns	3.984	7.034
Kültür koşulları* Kültür sistemi	1	3.667	3.667	22.050**	3.984	7.034
Çalışma kodu	8	15.187	1.898	11.416**	2.084	2.788
Kültür koşulları* Çalışma kodu	8	5.886	0.736	4.425**	2.084	2.788
Kültür sistemi* Çalışma kodu	8	8.654	1.082	6.505**	2.084	2.788
Kültür koşulları* Kültür sistemi* Çalışma kodu	8	4.877	0.610	3.666**	2.084	2.788
Hata	72	11.973	0.166			
Genel	107	59.350	0.555			

ns: Önemsiz (not significant)

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te üç faktörlü (kültür koşulları, kültür sistemleri, besin ortamları) tesadüf parselleri deneme desenine göre istatistiksel değerlendirilmesi yapılan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin çoğaltım katsayılarına uygulanan istatistiki değerlendirmede kullanılan parametrelerin interaksyonunun %1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir (F= 3.666).

In vitro çiçeklenme teşviki için uzun gün (K1- 16 sa aydınlık/8 sa karanlık/25±2C°) ve kısa gün (K4 - 8 sa aydınlık/16 sa karanlık/25±2C°) fotoperiyotları, yarı katı ve çift tabakalı kültür sistemleri ve farklı sükröz dozlarından oluşan (0- kontrol, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 g/l) besin ortamı içeriklerinin kullanıldığı Uygulama 4'te yer alan parametrelerin, sürgün çoğaltım katsayıları üzerindeki etkisini için yapılan LSD değerlendirmesi Çizelge 4.40'ta yer almaktadır.

Çizelge 4.40. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te sürgün çoğaltım katsayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu kültür koşulları, kültür sistemleri ve çalışma kodlarının etkilerine bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması.

Kültür sistemi	Besin ortamı	Kültür koşulu		Kültür sistemi*Besin ortamı için ortalama
		K1	K5	
Yarı katı	KÇ9	1,33 bc	1,00 b	1,17
	KÇ10	2,33 a	1,33 b	1,83
	KÇ11	2,00 ab	2,57 a	2,28
	KÇ12	1,57 abc	1,33 b	1,45
	KÇ13	2,33 a	1,33 b	1,83
	KÇ14	1,67 abc	1,33 b	1,50
	KÇ15	2,10 ab	2,60 a	2,35
	KÇ16	1,77 abc	1,37 b	1,57
	KÇ17	1,00 c	1,33 b	1,17
Çift tabaka	KÇ18	1,37 c	1,00 b	1,18
	KÇ19	3,77 a	2,00 a	2,88
	KÇ20	3,17 ab	1,00 b	2,08
	KÇ21	2,33 b	1,37 ab	1,85
	KÇ22	2,33 b	1,23 ab	1,78
	KÇ23	2,63 b	1,17 ab	1,90
	KÇ24	1,33 c	1,00 b	1,17
	KÇ25	1,37 c	1,43 ab	1,40
	KÇ26	1,43 c	1,00 b	1,22
Kültür koşulları için ortalama		1,99	1,41	
Kültür sistemleri için ortalama		1,68	1,72	
Besin ortamı*Kültür koşulu*Kültür sistemi etkisi için HKO= 0,166; LSD= 0,881				

Uygulamada yer alan kültür koşulları, kültür sistemleri ve çalışma kodlarının gruplandırıldığı denemelerin, sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.41’de; kültür koşulları, kültür sistemleri ve çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki üçlü interaksiyonuna ait LSD gruplandırması Çizelge 4.42’de; uygulamada kültüre alınan sürgünlerde meydana gelen rejenerasyonları Şekil 4.27’de yer almaktadır.

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 4’te üç faktörlü (kültür koşulları, kültür sistemleri, besin ortamları) tesadüf parselleri deneme desenine göre istatistiksel değerlendirilmesi yapılan *Cattleya* sp.ye ait sürgün başına meydana gelen kök sayılarına uygulanan istatistiki değerlendirmede kullanılan parametrelerin interaksiyonunun önemli olmadığı ($F= 0.636$) belirlenmesine rağmen, kültür sistemi ve çalışma kodlarının interaksiyonunun %1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir ($F= 3.489$).

Çizelge 4.41. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 4’te yer alan kültür koşulları, kültür sistemleri ve çalışma kodlarının *Cattleya* sp.ye ait sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Kültür koşulları	1	0.041	0.041	0.718ns	3.984	7.034
Kültür sistemi	1	2.043	2.043	35.502**	3.984	7.034
Kültür koşulları* Kültür sistemi	1	0.041	0.041	0.718ns	3.984	7.034
Çalışma kodu	8	1.607	0.201	3.489**	2.084	2.788
Kültür koşulları* Çalışma kodu	8	0.293	0.037	0.636ns	2.084	2.788
Kültür sistemi* Çalışma kodu	8	1.607	0.201	3.489**	2.084	2.788
Kültür koşulları* Kültür sistemi* Çalışma kodu	8	0.293	0.037	0.636ns	2.084	2.788
Hata	72	4.144	0.058			
Genel	107	10.068	0.094			

ns: Önemsiz (not significant)

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Çizelge 4.42. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 4’te sürgün başına meydana gelen kök sayılarına uygulanan istatistiki analiz sonucu kültür sistemi ve çalışma kodları interaksiyonuna bağlı olarak elde edilen LSD gruplandırması.

Kültür Sistemi	Çalışma kodu	Kültür koşulu		Kültür sistemi* Çalışma kodu için ortalama
		K1	K5	
Yarı katı	KÇ9	0,17	0,17	0,17 a
	KÇ10	0,11	0,12	0,12 a
	KÇ11	0,18	0,17	0,17 a
	KÇ12	0,00	0,00	0,00 a
	KÇ13	0,19	0,18	0,19 a
	KÇ14	0,10	0,10	0,10 a
	KÇ15	0,71	0,71	0,71 a
	KÇ16	0,71	0,69	0,70 a
	KÇ17	0,67	0,00	0,33 b
Çift tabaka	KÇ18	0,00	0,00	0,00 a
	KÇ19	0,00	0,00	0,00 a
	KÇ20	0,00	0,00	0,00 a
	KÇ21	0,00	0,00	0,00 a
	KÇ22	0,00	0,00	0,00 a
	KÇ23	0,00	0,00	0,00 a
	KÇ24	0,00	0,00	0,00 b
	KÇ25	0,00	0,00	0,00 b
	KÇ26	0,00	0,00	0,00 a
Kültür koşulu için ortalama		0,16	0,19	
Kültür sistemi için ortalama		0,28	0,00	
Kültür sistemi* Kültür koşulu interaksiyonu için HKO= 0,058; LSD= 0,366 (Ana faktör: Kültür sistemi)				



Şekil 4.27. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 4’te kültüre alınan *Cattleya sp.*ye ait sürgünlerde elde edilen rejenerasyonlar (bar: 1 cm).

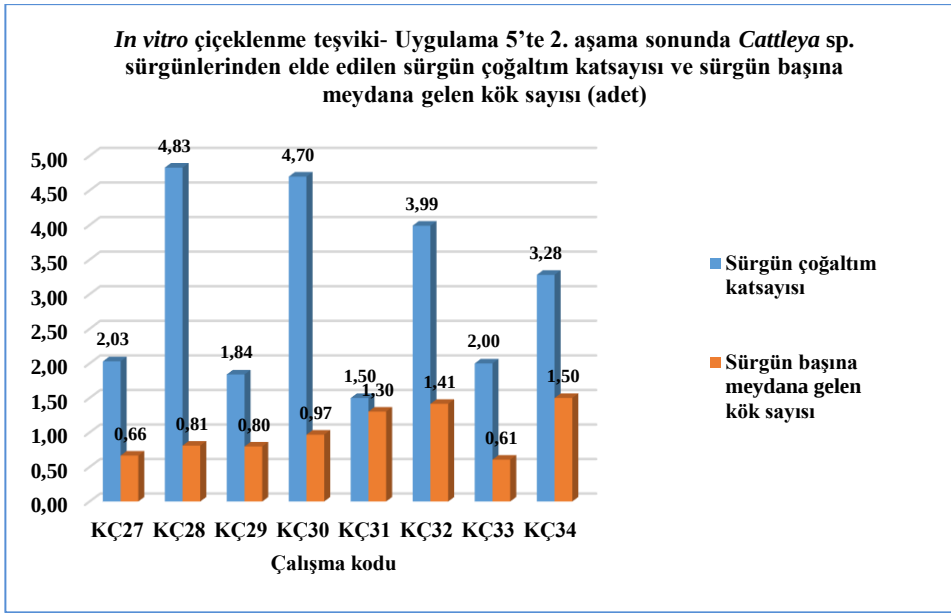
In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 4'te elde edilen en yüksek sürgün çoğaltım katsayısı, K1 (16 sa gündüz/8 sa gece- 25±2°C) kodlu kültür koşulları ve 15 g/l süktroz ve 5 mg/l BAP içeren yarı katı MS besin ortamı içeriğine sahip KÇ19 kodlu çalışmada (3,77) meydana gelmiştir. Bunun yanı sıra, K1 kodlu kültür koşullarında KÇ12, KÇ13, KÇ14, KÇ15, KÇ16, KÇ16, KÇ17, KÇ18 ve KÇ26 kodlu besin ortamlarında; K4 kodlu kültür koşullarında ise KÇ12, KÇ13, KÇ14, KÇ15, KÇ16, KÇ17 ve KÇ26 kodlu besin ortamlarında hiç kök oluşmadığı gözlenmiştir.

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 5:**

İki aşamada gerçekleştirilen Uygulama 5'te belirlenen 1. aşama besin ortamlarında (KÇ27, KÇ28, KÇ29, KÇ30, KÇ31, KÇ32, KÇ33, KÇ34) kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin, 2. aşamada, standart içerikte besin ortamına (KÇ35) aktarılması ile elde edilen sürgün sayısı (adet), toplam kök sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) Çizelge 4.43'te ve Şekil 4.28'de yer almaktadır.

Çizelge 4.43. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 5'te 1. aşama besin ortamlarının ardından, standart içerikte besin ortamında (KÇ35) kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde 2. aşama sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet), toplam kök sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Çalışma kodu	2. Aşama sonundaki sürgün sayısı (adet)				Sürgün çoğaltım katsayısı				2. Aşama sonundaki toplam kök sayısı (adet)				Sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
KÇ27 (KÇ35)	38	13	12	21	3,80	1,30	1,00	2,03	10	16	6	10,67	0,26	1,23	0,50	0,66
KÇ28 (KÇ35)	35	70	56	54	3,50	7,00	4,00	4,83	35	35	52	40,67	1,00	0,50	0,93	0,81
KÇ29 (KÇ35)	21	10	29	20	2,10	1,00	2,42	1,84	21	7	20	16,00	1,00	0,70	0,69	0,80
KÇ30 (KÇ35)	47	34	60	47	4,70	3,40	6,00	4,70	40	50	35	41,67	0,85	1,47	0,58	0,97
KÇ31 (KÇ35)	16	17	16	16	1,60	1,31	1,60	1,50	16	25	23	21,33	1,00	1,47	1,44	1,30
KÇ32 (KÇ35)	22	40	75	46	2,20	4,00	5,77	3,99	38	66	65	56,33	1,73	1,65	0,87	1,41
KÇ33 (KÇ35)	18	25	17	20	1,80	2,50	1,70	2,00	10	11	14	11,67	0,56	0,44	0,82	0,61
KÇ34 (KÇ35)	30	33	44	36	2,14	3,30	4,40	3,28	30	69	62	53,67	1,00	2,09	1,41	1,50



Şekil 4.28. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 5'te 1. aşama besin ortamlarının ardından standart içerikte besin ortamında (KÇ35) kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerden 2. aşama sonunda elde edilen sürgün çoğaltım katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Cattleya sp.ye ait sürgünlerinin 1. Aşamada KÇ27, KÇ28, KÇ29, KÇ30, KÇ31, KÇ32, KÇ33 ve KÇ34 kodlu besin ortamlarının ardından, 2. aşamada standart içerikteki besin ortamının (KÇ35), çoğaltım katsayıları üzerindeki etkisinin %5 düzeyde önemli olduğu belirlenmiştir ($F= 3.416$). Buna göre, KÇ28 ve KÇ30 kodlu besin ortamları 1. grupta (KÇ28: 4.833; KÇ30: 4.700), KÇ32 2. grupta (3.990), KÇ34 3. grupta (3.280), ardından sırası ile KÇ27, KÇ33, KÇ29 3. grupta (KÇ27: 2.033; KÇ33: 2.000; KÇ29: 1.840), KÇ31 4. grupta (1.503) yer almaktadır (HKO= 1.609; LSD= 2.197).

Uygulamada yer alan çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.44'te; sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.45'te; uygulamada elde edilen rejenerasyonlar Şekil 4.29'da yer almaktadır.

Çizelge 4.44. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 5'te yer alan çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	7	38.477	5.497	3.416*	2.660	4.030
Hata	16	25.746	1.609			
Genel	23	64.223	2.792			

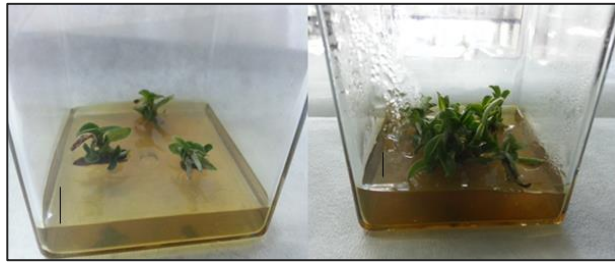
* Önemli %5 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Cattleya sp.ye ait sürgünlerin 1. aşamada KÇ27, KÇ28, KÇ29, KÇ30, KÇ31, KÇ32, KÇ33 ve KÇ34 kodlu çalışma kodlarının ardından, ikinci aşamada standart içerikteki besin ortamının (KÇ35) sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir (F= 2.445).

Çizelge 4.45. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 5'te yer alan çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	7	2.577	0.368	2.445ns	2.660	4.030
Hata	16	2.409	0.151			
Genel	23	4.986	0.217			

ns: Önemsiz (not significant)



Şekil 4.29. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 5'te kültüre alınan sürgünlerde meydana gelen rejenerasyonlar (bar: 1 cm).

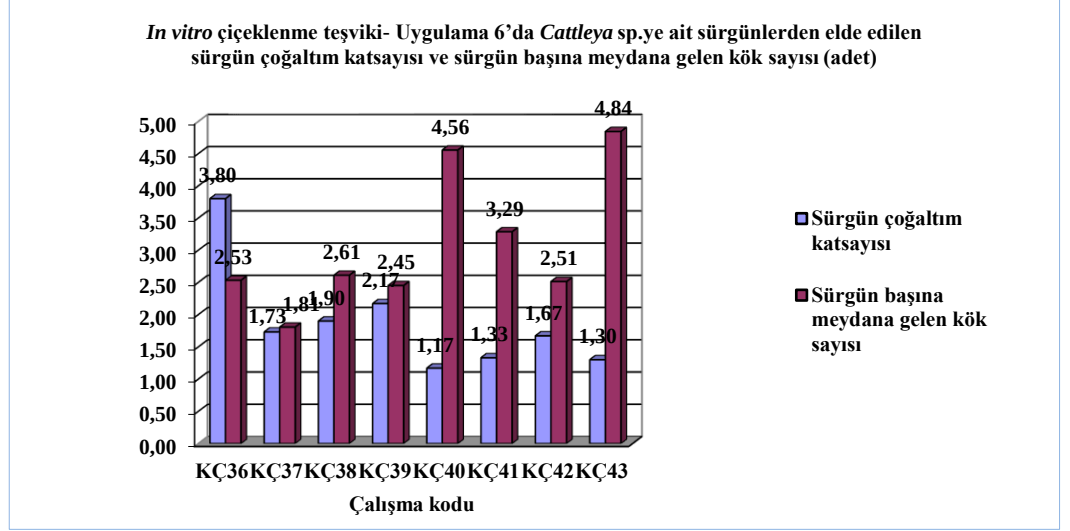
In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 5'te K1 kodlu (16 sa gündüz/8 sa gece- 25±2°C) koşullarda kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde elde edilen en yüksek sürgün çoğaltım katsayısı (4,83) sırasıyla 1. aşamada 0,5 mg/l ABA içeren yarı katı MS, 2. aşamada 2 mg/l BAP içeren MS besin ortamı içeriklerine sahip KÇ28 kodlu denemelerde; sürgün başına meydana gelen en az kök sayısı (0,61) ise sırasıyla 1. aşamada 0,5 mg/l daminozid içeren MS besin ortamı, 2. aşamada 2 mg/l BAP içeren MS besin ortamı içeriklerine sahip KÇ33 kodlu denemelerde elde edilmiştir.

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 6:**

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 6'da yer alan besin ortamlarında (KÇ36, KÇ37, KÇ38, KÇ39, KÇ40, KÇ41, KÇ42, KÇ43, KÇ44- Çizelge 3.19) kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerden elde edilen sürgün sayısı (adet), toplam kök sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) Çizelge 4.46'da ve Şekil 4.30'da yer almaktadır.

Çizelge 4.46. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 6'da kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Çalışma kodu	Kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet)				Sürgün çoğaltım katsayısı				Toplam kök sayısı (adet)				Sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
KÇ36	90	14	10	38,00	9,00	1,40	1,00	3,80	10	46	42	32,67	0,11	3,29	4,20	2,53
KÇ37	18	16	18	17,33	1,80	1,60	1,80	1,73	26	12	58	32,00	1,44	0,75	3,22	1,81
KÇ38	13	28	16	19,00	1,30	2,80	1,60	1,90	83	23	10	38,67	6,38	0,82	0,63	2,61
KÇ39	15	20	30	21,67	1,50	2,00	3,00	2,17	40	37	85	54,00	2,67	1,85	2,83	2,45
KÇ40	10	10	15	11,67	1,00	1,00	1,50	1,17	50	50	55	51,67	5,00	5,00	3,67	4,56
KÇ41	13	17	10	13,33	1,30	1,70	1,00	1,33	36	61	35	44,00	2,77	3,59	3,50	3,29
KÇ42	17	23	10	16,67	1,70	2,30	1,00	1,67	38	46	33	39,00	2,24	2,00	3,30	2,51
KÇ43	16	10	13	13,00	1,60	1,00	1,30	1,30	72	58	55	61,67	4,50	5,80	4,23	4,84



Şekil 4.30. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 6’da kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerden elde edilen sürgün çoğaltım katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 6’da yer alan çalışma kodlarının *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerin çoğaltım katsayısı ($F= 0.767$) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı ($F= 1.465$) üzerindeki etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir.

Uygulamada yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.47’de; sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.48’de; uygulamada kültüre alınan sürgünlerde elde edilen rejenerasyonlar Şekil 4.31’de yer almaktadır.

Çizelge 4.47. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 6’da yer alan çalışma kodlarının sürgün çoğaltım katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

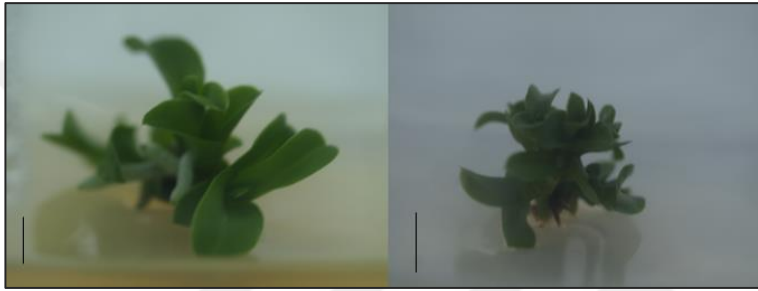
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5 %	1 %
Çalışma kodu	7	14.940	2.134	0.767ns	2.660	4.030
Hata	16	44.533	2.783			
Genel	23	59.473	2.586			

ns: Önemsiz (not significant)

Çizelge 4.48. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 6’da yer alan çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	7	24.586	3.512	1.465ns	2.660	4.030
Hata	16	38.365	2.398			
Genel	23	62.951	2.737			

ns: Önemsiz (not significant)



Şekil 4.31. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 6’da kültüre alınan sürgünlerde meydana gelen rejenerasyonlar (bar: 1 cm).

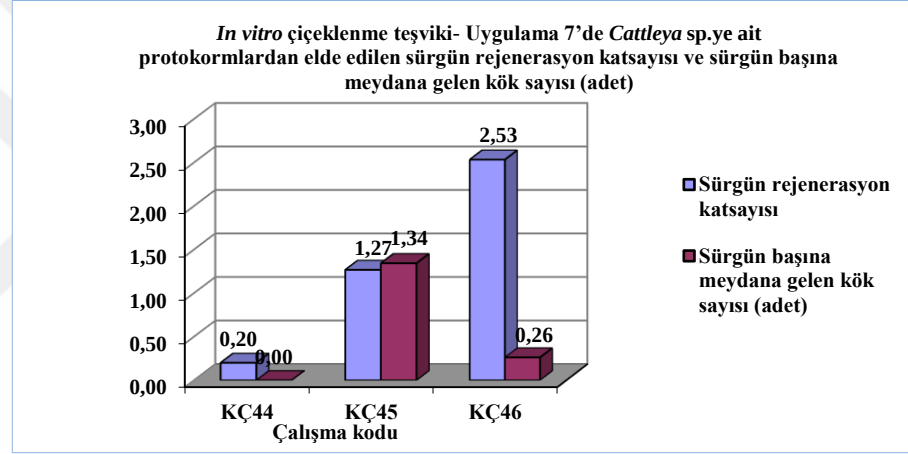
In vitro çiçeklenme teşviki– Uygulama 6’da K4 kodlu (8 sa gündüz/16 sa gece- 25±2°C) koşullarda kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait sürgünlerde elde edilen en yüksek sürgün çoğaltım katsayısı, büyüme düzenleyici içermeyen yarı katı MS besin ortamı içeriğine sahip KÇ36 kodlu çalışmada (3,80), sürgün başına meydana gelen en az kök sayısı ise 0,3 mg/l ABA ve 46 mg/l prolin içeren yarı katı MS besin ortamı içeriğine sahip KÇ37 kodlu çalışmada (1,81) elde edilmiştir.

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 7:**

Uygulama 7’de yer alan 2 aşamalı denemelerde kullanılan besin ortamlarında (KÇ44, KÇ45, KÇ46- Çizelge 3.20) kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden 2. Aşama sonunda elde edilen sürgün sayısı (adet), sürgün rejenerasyon katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) Çizelge 4.49’da ve Şekil 4.32’de yer almaktadır.

Çizelge 4.49. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 7’de yer alan besin ortamlarında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün rejenerasyon katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Çalışma kodu	Kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet)				Sürgün rejenerasyon katsayısı				Toplam kök sayısı (adet)				Sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
KÇ44	4	1	1	2,00	0,40	0,10	0,10	0,20	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
KÇ45	7	21	10	12,67	0,70	2,10	1,00	1,27	20	12	6	12,67	2,86	0,57	0,60	1,34
KÇ46	21	22	33	25,33	2,10	2,20	3,30	2,53	6	7	6	6,33	0,29	0,32	0,18	0,26



Şekil 4.32. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 7’de kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden elde edilen sürgün rejenerasyon katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre istatistiki değerlendirmesi yapılan KÇ44, KÇ45 ve KÇ46 kodlu 2 aşamalı çalışma kodlarının, *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden elde edilen sürgün rejenerasyon katsayıları üzerindeki etkisinin %1 düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiştir ($F=12.079$). Buna göre, KÇ46 kodlu besin ortamı 1. grupta (2.533), KÇ45 kodlu besin ortamı 2. grupta (1.267) ve KÇ44 kodlu besin ortamı 3. grupta (0.200) yer almaktadır ($HKO= 0.339$; $LSD= 1.763$). Bunun yanı sıra, uygulamada yer alan 2 aşamalı besin ortamı gruplarının, PLB’lerden meydana gelen sürgün başına kök sayıları üzerindeki etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir ($F= 2.938$).

Uygulamada yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.50’de; sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.51’de; uygulamada kültüre alınan PLB’lerden elde edilen rejenerasyonlar Şekil 4.33’te yer almaktadır.

Çizelge 4.50. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 7’de yer alan çalışma kodlarının sürgün rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

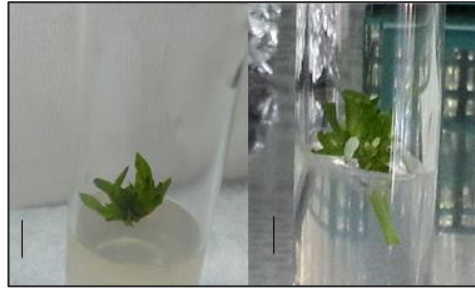
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	2	8.187	4.093	12.079**	5.140	10.920
Hata	6	2.033	0.339			
Genel	8	10.220	1.277			

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Çizelge 4.51. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 7’de yer alan çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	1	0.141	0.141	2.938ns	7.710	21.200
Hata	4	0.192	0.048			
Genel	5	0.332	0.066			

ns: Önemsiz (not significant)



Şekil 4.33. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 7’de kültüre alınan PLB’lerde meydana gelen rejenerasyonlar (bar: 1 cm).

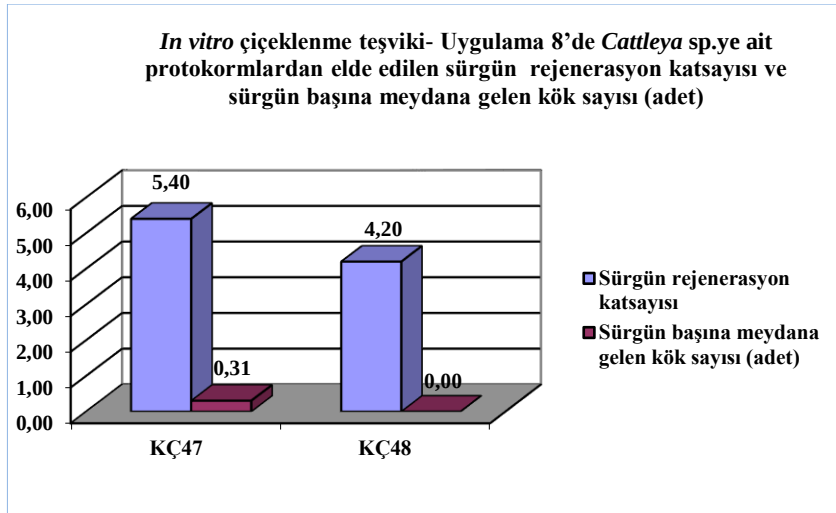
In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 7'de K1 kodlu (16 sa gündüz/8 sa gece- 25±2°C) koşullarda kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden elde edilen en yüksek sürgün rejenerasyon katsayısı (2,53) sırasıyla 1. aşamada 1 mg/l BAP ve 1 mg/l GA3 içeren 1/2MS; 2. aşamada 1 mg/l BAP ve 1 mg/l GA3 içeren Gamborg B5 besin ortamı içeriklerine sahip KÇ46 kodlu çalışmada elde edilirken, sırasıyla 1. aşamada 1 mg/l pepton ve 170 mg/l NaH₂PO₄ içeren 1/2MS, 2. aşamada 0,28 mg/l NAA, 0,7 mg/l TDZ içeren besin ortamı içeriklerine sahip KÇ44 kodlu çalışmalarda hiç kök oluşumu meydana gelmemiştir.

***In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 8:**

Uygulama 8'de yer alan 2 aşamalı denemelerde kullanılan besin ortamlarında (KÇ47, KÇ48- Çizelge 3.21) kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden 2. Aşama sonunda elde edilen sürgün sayısı (adet), toplam kök sayısı (adet), sürgün rejenerasyon katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet) Çizelge 4.52'de ve Şekil 4.34'te yer almaktadır.

Çizelge 4.52. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 8'de kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden meydana gelen sürgün sayısı (adet), sürgün rejenerasyon katsayısı, toplam kök sayısı (adet) ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Çalışma kodu	Kültür süresi sonunda meydana gelen sürgün sayısı (adet)				Sürgün rejenerasyon katsayısı				Toplam kök sayısı (adet)				Sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet)			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
KÇ47	60	42	60	54	6,00	4,20	6,00	5,40	18	26	0	14,67	0,30	0,62	0,00	0,31
KÇ48	36	43	47	42	3,60	4,30	4,70	4,20	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00



Şekil 4.34. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 8’de kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden elde edilen sürgün rejenerasyon katsayısı ve sürgün başına meydana gelen kök sayısı (adet).

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre istatistiki değerlendirmesi yapılan KÇ47 ve KÇ48 kodlu 2 aşamalı çalışma kodlarının, *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden elde edilen sürgün rejenerasyon katsayıları ($F= 3.108$) ve sürgün başına meydana gelen kök sayıları ($F= 2.938$) üzerindeki etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir.

Uygulamada yer alan kültür koşulları ve çalışma kodlarının sürgün rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.53’te; sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.54’te yer almaktadır.

Çizelge 4.53. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 8’de yer alan çalışma kodlarının sürgün rejenerasyon katsayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	1	2.160	2.160	3.108ns	7.710	21.200
Hata	4	2.780	0.695			
Genel	5	4.940	0.988			

ns: Önemsiz (not significant)

Çizelge 4.54. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 8’de yer alan çalışma kodlarının sürgün başına meydana gelen kök sayısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	1	0.141	0.141	2.938ns	7.710	21.200
Hata	4	0.192	0.048			
Genel	5	0.332	0.066			

ns: Önemsiz (not significant)



Şekil 4.35. *In vitro* çiçeklenme teşviki- Uygulama 8’de kültüre alınan PLB’lerde meydana gelen rejenerasyonlar (bar: 1 cm).

In vitro çiçeklenme teşviki- Uygulama 8’de K1 kodlu (16 sa gündüz/8 sa gece- 25±2°C) koşullarda kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB’lerden elde edilen en yüksek sürgün rejenerasyon katsayısı (5,40) sırasıyla 1. aşamada 20 g/l süktroz ve 0,5 mg/l ABA içeren MS, 2. aşamada 50 g/l süktroz ve 2 mg/l BAP içeren MS besin ortamı içeriklerine sahip KÇ47 kodlu çalışmada elde edilirken, sırasıyla 1. aşamada 20 g/l süktroz ve 2 mg/l ABA içeren MS, 2. aşamada 50 g/l süktroz ve 2 mg/l BAP içeren MS besin ortamı içeriklerine sahip KÇ48 kodlu çalışmada hiç köklenme gerçekleşmemiştir.

4.2. *Vanda* sp.

4.2.1 Yüzeysel sterilizasyon

In vivo koşullardan temin edilen olgun *Vanda* sp.ye ait çiçek, yaprak, gövde ve kök kısımlarına (Şekil 4.36) uygulanan farklı dozlarda (% $HgCl_2$) ve uygulama süreleri (dk) sonunda bitkinin her bir kısmı için ayrı ayrı yüzeysel sterilizasyon başarı yüzdeleri (%) belirlenmiştir.

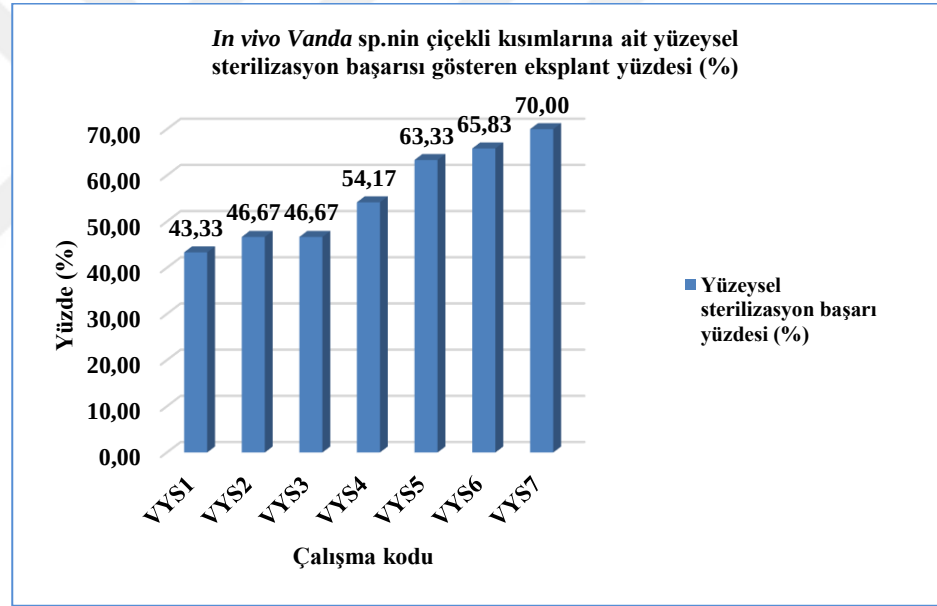


Şekil 4.36. *In vivo* koşullardan temin edilen *Vanda* sp.ye ait (a) çiçek, (b) gövde ve yaprak, (c) kök kısımları (bar: 1 cm).

Vanda sp.nin çiçekli kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%) Çizelge 4.55'te ve Şekil 4.37'de yer almaktadır.

Çizelge 4.55. *In vivo Vanda* sp.ye ait çiçekli kısımlarda yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Çalışma kodu	Çiçekli kısımlara ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet)				Çiçekli kısımlara ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant yüzdesi (%)			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
VYS1	18	14	20	17,33	45,00	35,00	50,00	43,33 b
VYS2	17	19	20	18,67	42,50	47,50	50,00	46,67 b
VYS3	13	22	21	18,67	32,50	55,00	52,50	46,67 b
VYS4	21	19	25	21,67	52,50	47,50	62,50	54,17 ab
VYS5	20	25	31	25,33	50,00	62,50	77,50	63,33 a
VYS6	24	28	27	26,33	60,00	70,00	67,50	65,83 a
VYS7	30	31	23	28,00	75,00	77,50	57,50	70,00 a



Şekil 4.37. *In vivo Vanda* sp.nin çiçekli kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant yüzdesi (%).

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılan istatistiksel değerlendirmede HgCl_2 uygulama dozu (% HgCl_2) ve sürelerine (dk) bağlı olarak belirlenen çalışma gruplarının (VYS1, VYS2, VYS3, VYS4, VYS5, VYS6, VYS7), *In vivo Vanda* sp.nin çiçek kısımlarına ait eksplantlarının yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkisinin %5 düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiştir ($F= 3.869$).

Ortalamaların karşılaştırıldığı LSD testinde VYS7, VYS6 ve VYS5 kodlu yüzeysel sterilizasyon uygulamaları 1. grupta (VYS7: 70.000; VYS6: 65.833; VYS5: 63.333), VYS4 kodlu uygulama 2. grupta (54.167), VYS2, VYS3 ve VYS1 kodlu uygulamalar ise 3. grupta (VYS2: 46.667; VYS3: 46.667; VYS1: 43.333) yer almaktadır (HKO= 88.393; LSD= 16.473). Uygulama dozları ve sürelerine göre gruplandırılan çalışma kodunun yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.56’da yer almaktadır.

Çizelge 4.56. *In vivo Vanda* sp.nin çiçekli kısımlarında uygulama dozları ve sürelerine göre gruplandırılan denemelerin yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

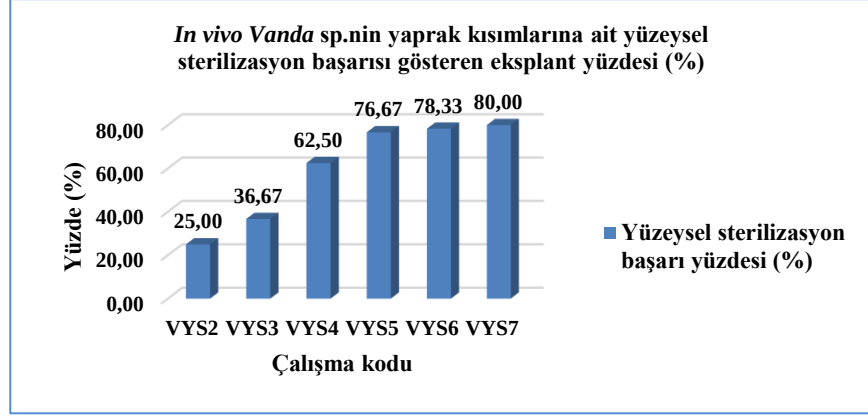
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	6	2051.786	341.964	3.869*	2.850	4.460
Hata	14	1237.500	88.393			
Genel	20	3289.286	164.464			

* Önemli %5 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Vanda sp.nin yaprak kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%) Çizelge 4.57’de ve Şekil 4.38’de yer almaktadır.

Çizelge 4.57. *In vivo Vanda* sp.de yaprak kısımlarında yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Çalışma kodu	Yaprak kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet)				Yaprak kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant yüzdesi (%)			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
VYS2	10	12	8	10,00	25,00	30,00	20,00	25,00
VYS3	15	16	13	14,67	37,50	40,00	32,50	36,67
VYS4	17	27	31	25,00	42,50	67,50	77,50	62,50
VYS5	24	32	36	30,67	60,00	80,00	90,00	76,67
VYS6	30	31	33	31,33	75,00	77,50	82,50	78,33
VYS7	33	29	34	32,00	82,50	72,50	85,00	80,00



Şekil 4.38. *In vivo Vanda* sp.nin yaprak kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarıları gösteren eksplant yüzdesi (%).

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılan istatistiksel değerlendirmede $HgCl_2$ uygulama dozu (% $HgCl_2$) ve sürelerine (dk) bağlı olarak belirlenen çalışma gruplarının (VYS2, VYS3, VYS4, VYS5, VYS6, VYS7), *In vivo Vanda* sp.ye ait yaprak kısımlarındaki yüzeysel sterilizasyon başarıları üzerindeki etkisinin %1 düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiştir ($F=15.302$). Ortalamaların karşılaştırıldığı LSD testinde VYS6, VYS5 ve VYS4 kodlu yüzeysel sterilizasyon uygulamalar 1. grupta (VYS6: 80.000; VYS5: 78.333; VYS4: 76.667), VYS3 kodlu uygulama 2. grupta (62.500), VYS2 kodlu uygulama 3. grupta (36.667), VYS1 kodlu uygulama ise 4. grupta (25.000) yer almaktadır (HKO= 109.375; LSD= 26.079). Uygulama dozları ve sürelerine göre gruplandırılan çalışma kodunun yüzeysel sterilizasyon başarıları üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.58’de yer almaktadır.

Çizelge 4.58. *In vivo Vanda* sp.nin yaprak kısımlarında uygulama dozları ve sürelerine göre gruplandırılan denemelerin yüzeysel sterilizasyon başarıları üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

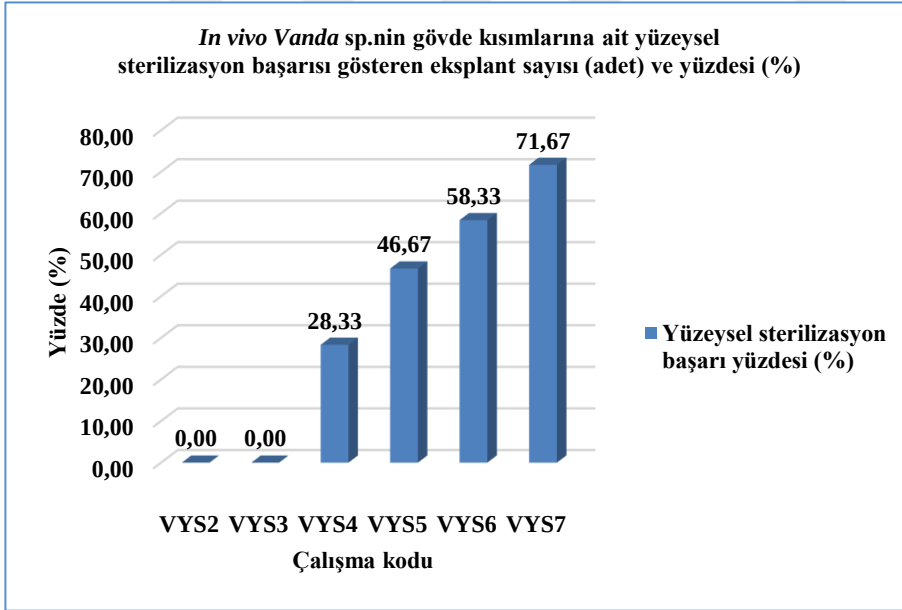
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	5	8368.403	1673.681	15.302**	3.110	5.060
Hata	12	1312.500	109.375			
Genel	17	9680.903	569.465			

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Vanda sp.nin gövde kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%) Çizelge 4.59'da ve Şekil 4.39'da, uygulama dozları ve sürelerine göre gruplandırılan çalışma kodunun yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.60'ta yer almaktadır.

Çizelge 4.59. *In vivo Vanda* sp.de bitkinin gövde kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Çalışma kodu	Gövde kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet)				Gövde kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant yüzdesi (%)			
	T1	T2	T3	Ortalama	T1	T2	T3	Ortalama
VYS2	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VYS3	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
VYS4	11	12	11	11,33	27,50	30,00	27,50	28,33
VYS5	21	18	17	18,67	52,50	45,00	42,50	46,67
VYS6	26	24	20	23,33	65,00	60,00	50,00	58,33
VYS7	29	28	29	28,67	72,50	70,00	72,50	71,67



Şekil 4.39. *In vivo Vanda* sp.nin gövde kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılan istatistiksel değerlendirmede HgCl_2 uygulama dozu (% HgCl_2) ve sürelerine (dk) bağlı olarak belirlenen çalışma gruplarının (VYS2, VYS3, VYS4, VYS5, VYS6, VYS7), *in vivo Vanda* sp.ye ait gövde kısımlarındaki yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkisinin %1 düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiştir ($F=181.451$).

Ortalamaların karşılaştırıldığı yapılan LSD testinde VYS6 kodlu yüzeysel sterilizasyon uygulaması 1. grupta (71.667), VYS5 kodlu uygulama 2. grupta (58,333), VYS4 kodlu uygulama 3. grupta (46.667), VSY3 4. grupta (28.333), VYS1 ve VYS2 kodlu uygulamalar 5. grupta (VYS1: 0.000; VYS2: 0.000) yer almaktadır (HKO= 14.931; LSD= 9.636).

Çizelge 4.60. *In vivo Vanda* sp.nin gövde kısımlarında uygulama dozları ve sürelerine göre gruplandırılan denemelerin yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

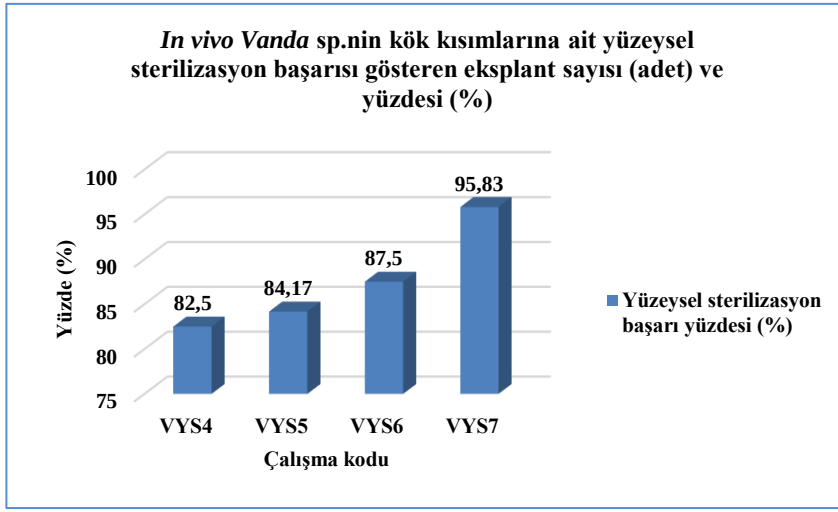
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	5	13545.833	2709.167	181.451**	3.110	5.060
Hata	12	179.167	14.931			
Genel	17	13725.000	807.353			

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Vanda sp.ye ait kök kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%) Çizelge 4.61'de ve Şekil 4.40'ta, uygulama dozları ve sürelerine göre gruplandırılan çalışma kodunun denemelerin yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.62'de yer almaktadır.

Çizelge 4.61. *In vivo Vanda* sp.de bitkinin kök kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Çalışma kodu	Kök kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet)				Kök kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant yüzdesi (%)			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
VYS4	29	36	34	33,00	72,50	90,00	85,00	82,50
VYS5	37	30	34	33,67	92,50	75,00	85,00	84,17
VYS6	36	32	37	35,00	90,00	80,00	92,50	87,50
VYS7	38	39	38	38,33	95,00	97,50	95,00	95,83



Şekil 4.40. *In vivo Vanda* sp.nin kök kısımlarına ait yüzeysel sterilizasyon başarısı gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılan istatistiksel değerlendirmede HgCl_2 uygulama dozu (% HgCl_2) ve sürelerine (dk) bağlı olarak belirlenen çalışma gruplarının (VYS4, VYS5, VYS6, VYS7), *In vivo Vanda* sp.ye ait kök kısımlarındaki yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkisinin önemsiz olduğu belirlenmiştir ($F= 2.684$)

Çizelge 4.62. *In vivo Vanda* sp.nin kök kısımlarında uygulama dozları ve sürelerine göre gruplandırılan denemelerin yüzeysel sterilizasyon başarısı üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	3	367.222	122.407	2.684ns	4.070	7.590
Hata	8	364.819	45.602			
Genel	11	732.040	66.549			

ns: Önemsiz (not significant)

In vivo koşullardan temin edilen *Vanda* sp.ye ait eksplantlara uygulanan yüzeysel sterilizasyon çalışmasında alınan en başarılı sonuçlar bitkinin çiçekli kısımlarında (%70), yaprak kısımlarında (%80), gövde kısımlarında (%71,67) ve köklerinde (%95,83) %0,2 HgCl₂'nin 10 dakika uygulandığı VYS7 kodlu denemelerde elde edilmiştir.

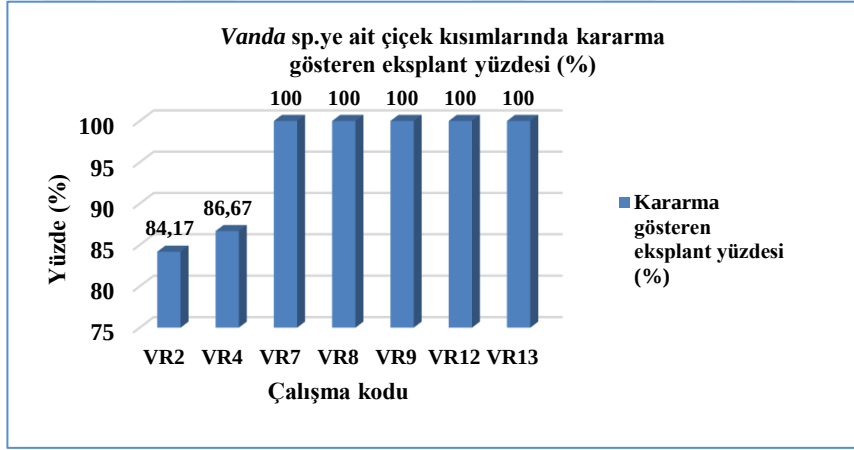
4.2.2. PLB rejenerasyonu

Yüzeysel sterilizasyonları tamamlanan *Vanda* sp.ye ait çiçek kısımları, yaprak, gövde ve kök eksplantlarında PLB rejenerasyonunu teşvik etmek üzere kullanılan farklı içerikteki besin ortamlarının gruplandırıldığı çalışma kodları Çizelge 3.23'te yer almaktadır. Denemelerde 1 aylık kültür süresi sonunda *Vanda* sp.ye ait gövde kısımlarından alınan eksplantlarda VR6 kodlu besin ortamında PLB ve kök rejenerasyonu teşvik edilirken, bitkinin çiçekli kısımlarından alınan anterlerde de kallus oluşumu meydana gelmiştir. Bunun yanı sıra, bitkinin rejenerasyon teşviki gözlenmeyen çiçek kısımları, yaprak, gövde ve kök eksplantlarında kararma meydana gelen eksplant sayıları ve yüzdeleri de belirlenmiştir.

Vanda sp.ye ait çiçek kısımlarında kararma gözlenen eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%) Çizelge 4.63'te ve Şekil 4.41'de; besin ortamı içeriklerine göre gruplandırılan çalışma kodlarının kararma yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.64'te yer almaktadır.

Çizelge 4.63. *Vanda* sp.ye ait çiçek kısımlarında kararırma gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Çalışma kodu	Kararırma gösteren çiçek eksplant sayısı (adet)				Kararırma gösteren çiçek eksplant yüzdesi (%)			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
VR2	34	34	33	33,67	85,00	85,00	82,50	84,17 b
VR4	33	36	35	34,67	82,50	90,00	87,50	86,67 b
VR7	40	40	40	40,00	100	100	100	100 a
VR8	40	40	40	40,00	100	100	100	100 a
VR9	40	40	40	40,00	100	100	100	100 a
VR12	40	40	40	40,00	100	100	100	100 a
VR13	40	40	40	40,00	100	100	100	100 a



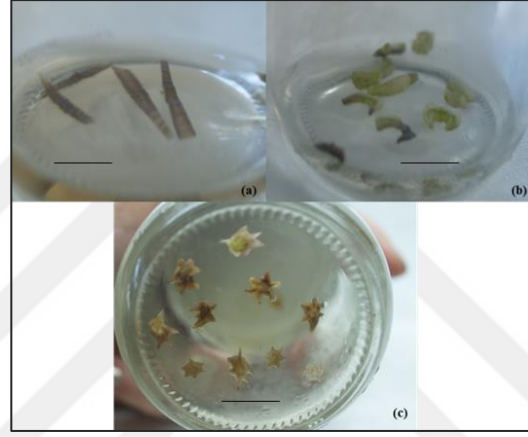
Şekil 4.41. *Vanda* sp.ye ait çiçek kısımlarında kararırma gösteren eksplant yüzdesi (%).

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılan istatistiksel değerlendirmede farklı içeriklere sahip besin ortamlarına bağlı olarak belirlenen çalışma gruplarının (VR2, VR4, VR7, VR8, VR9, VR12, VR13), *In vivo Vanda* sp.ye ait çiçek kısımlarında kararırma gözlenen eksplant yüzdeleri üzerindeki etkisinin %1 düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiştir ($F= 64.458$). Ortalamaların karşılaştırıldığı LSD testinde VR3, VR4, VR5, VR6 ve VR7 kodlu çalışma kodlarına sahip besin ortamlarının kullanımı sonucu elde edilen kararırma yüzdeleri 1. grupta (VR3, VR4, VR5, VR6 ve VR7 için Ort: 100,000), VR2 ve VR1 kodlu uygulamalar ise 2. grupta (VR2: 86.667; VR1: 84.167) yer almaktadır (HKO= 2.381; LSD= 3.750). Deneme sonunda çiçekli kısımlardan alınan eksplantlarda meydana gelen değişiklikler Şekil 4.42’de yer almaktadır.

Çizelge 4.64. Besin ortamı içeriklerine göre gruplandırılan çalışma kodlarının *Vanda* sp.ye ait çiçek kısımlarından alınan eksplantlarda meydana gelen kararma yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5 %	1 %
Çalışma kodu	6	920.833	153.472	64.458**	2.850	4.460
Hata	14	33.333	2.381			
Genel	20	954.167	47.708			

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

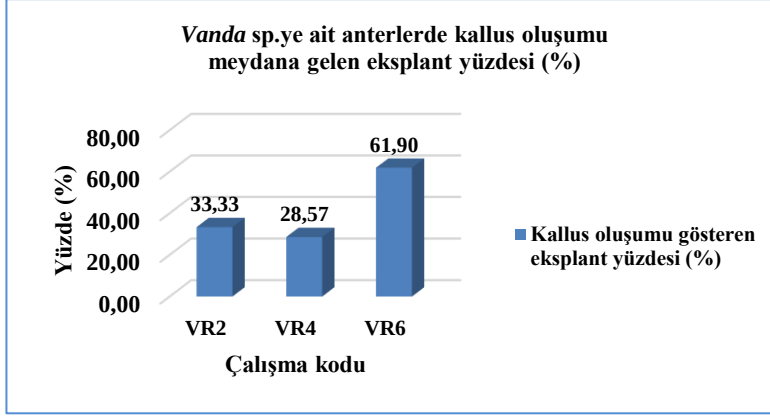


Şekil 4.42. *Vanda* sp.de çiçek kısımlarına ait (a) petal, (b) dudak ve (c) ovaryumdan kesit alınan eksplantlarda meydana gelen değişiklikler.

Denemede kallus oluşumu meydana gelen anter sayısı (adet) ve yüzdesi (%) Çizelge 4.65'te ve Şekil 4.43'te, besin ortamı içeriklerine göre gruplandırılan çalışma kodunun kallus oluşum yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.66'da yer almaktadır.

Çizelge 4.65. *Vanda* sp.ye ait anterlerde kallus oluşumu meydana gelen eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Çalışma kodu	Kallus oluşturan anter eksplant yüzdesi (%)				Kallus oluşturan anter eksplant yüzdesi (%)			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
VR2	4	1	2	2,33	57,14	14,29	28,57	33,33
VR4	2	1	3	2,00	28,57	14,29	42,86	28,57
VR6	4	4	5	4,33	57,14	57,14	71,43	61,90



Şekil 4.43. *Vanda* sp.ye ait anterlerde kallus oluşumu meydana gelen eksplant yüzdesi (%).

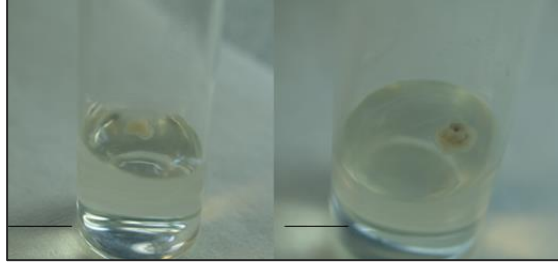
Uygulamada tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılan istatistiksel değerlendirmede farklı içeriklere sahip besin ortamlarına bağlı olarak belirlenen çalışma gruplarının (VR2, VR4, VR6), *Vanda* sp.ye ait anterlerde kallus oluşumu gözlenen eksplant yüzdeleri üzerindeki etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir ($F= 3.909$).

Çizelge 4.66. Besin ortamı içeriklerine göre gruplandırılan çalışma kodunun *Vanda* sp.ye ait çiçek kısımlarından alınan eksplantlarda gözlenen kallus oluşum yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5 %	1 %
Çalışma kodu	2	1950.150	975.075	3.909ns	5.140	10.920
Hata	6	1496.592	249.432			
Genel	8	3446.742	430.843			

ns: Önemsiz (not significant)

Denemede kallus oluşumu gözlenen anter eksplantları Şekil 4.44'te yer almaktadır.

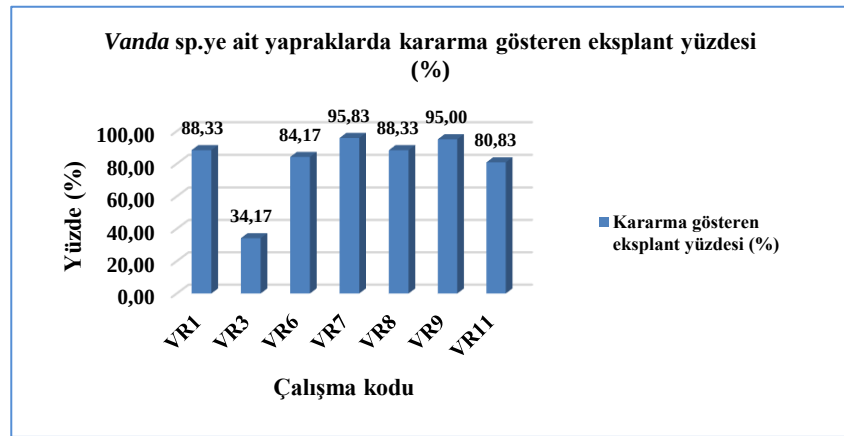


Şekil 4.44. *Vanda* sp.ye ait anter eksplantlarında meydana gelen kallus oluşumu (bar: 1 cm).

Uygulamada yaprak kısımlarında kararma gözlenen eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%) Çizelge 4.67’de ve Şekil 4.45’te, besin ortamı içeriklerine göre gruplandırılan çalışma kodunun kararma yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.68’de yer almaktadır.

Çizelge 4.67. *Vanda* sp.ye ait yapraklarda kararma gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Çalışma kodu	Kararma gösteren yaprak eksplant sayısı (adet)				Kararma gösteren yaprak eksplant yüzdesi (%)			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
VR1	37	37	32	35,33	92,50	92,50	80,00	88,33 a
VR3	13	17	11	13,67	32,50	42,50	27,50	34,17 b
VR6	38	29	34	33,67	95,00	72,50	85,00	84,17 a
VR7	31	38	46	38,33	77,50	95,00	115,00	95,83 a
VR8	36	30	40	35,33	90,00	75,00	100,00	88,33 a
VR9	38	32	44	38,00	95,00	80,00	110,00	95,00 a
VR11	33	26	38	32,33	82,50	65,00	95,00	80,83 a



Şekil 4.45. *Vanda* sp.ye ait yapraklarda kararma gösteren eksplant yüzdesi (%).

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılan istatistiksel değerlendirmede farklı içeriklere sahip besin ortamlarına bağlı olarak belirlenen çalışma gruplarının (VR1, VR3, VR6, VR7, VR8, VR9, VR11), *In vivo Vanda* sp.ye ait yaprak kısımlarında kararma gözlenen eksplant yüzdeleri üzerindeki etkisinin %1 düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiştir ($F = 15.302$). Ortalamaların karşılaştırıldığı LSD testinde VR7, VR9 ve VR1 VR8 VR11 çalışma kodlarına sahip besin ortamlarının kullanımı sonucu elde edilen kararma yüzdeleri 1. grupta (VR7: 95.833; VR9: 95.000; VR1: 88.333; VR8: 84.167; VR11: 80.833), VR3 kodlu uygulama 2. grupta (34.167), yer almaktadır (HKO= 171.429; LSD=31.822).

Çizelge 4.68. Besin ortamı içeriklerine göre gruplandırılan çalışma kodunun *Vanda* sp.ye ait yaprak kısımlarından alınan eksplantlarda gözlenen kararma yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	5	8368.403	1673.681	15.302**	3.110	5.060
Hata	12	1312.500	109.375			
Genel	17	9680.903	569.465			

** Önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Uygulamada kültür süresi sonunda eksplantlarda meydana gelen değişiklikler Şekil 4.46'da yer almaktadır.

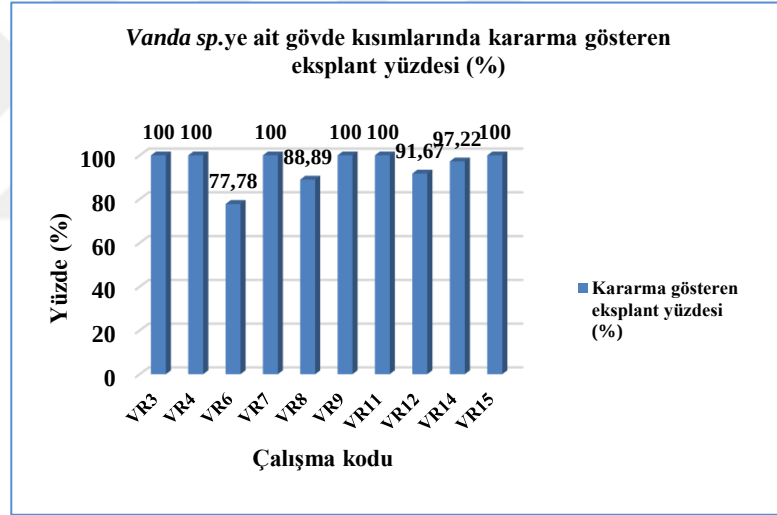


Şekil 4.46. *Vanda* sp.ye ait yaprak eksplantlarında meydana gelen değişiklikler (bar: 1 cm).

Çalışmada gövde kısımlarında kararma gözlenen eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%) Çizelge 4.69'da ve Şekil 4.47'de yer almaktadır

Çizelge 4.69. *Vanda* sp.ye ait gövde kısımlarında kararırma gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Çalışma kodu	Kararırma gösteren gövde eksplant sayısı (adet)				Kararırma gösteren gövde eksplant yüzdesi (%)			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
VR3	12	12	12	12,00	100	100	100	100 a
VR4	12	12	12	12,00	100	100	100	100 a
VR6	11	10	7	9,33	91,67	83,33	58,33	77,78 b
VR7	12	12	12	12,00	100	100	100	100 a
VR8	9	12	11	10,67	75	100	91,67	88,89 ab
VR9	12	12	12	12,00	100	100	100	100 a
VR11	12	12	12	12,00	100	100	100	100 a
VR12	10	11	12	11,00	83,33	91,67	100	91,67 a
VR14	12	11	12	11,67	100	91,67	100	97,22 a
VR15	12	12	12	12,00	100	100	100	100 a



Şekil 4.47. *Vanda* sp.ye ait gövde kısımlarında kararırma gösteren eksplant yüzdesi (%).

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılan istatistiksel değerlendirmede farklı içeriklere sahip besin ortamlarına bağlı olarak belirlenen çalışma gruplarının (VR3, VR4, VR6, VR7, VR9, VR11, VR12, VR14, VR15), *In vivo Vanda* sp.ye ait gövde kısımlarında kararırma gözlenen eksplant yüzdeleri üzerindeki etkisinin %5 düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiştir ($F= 2.981$).

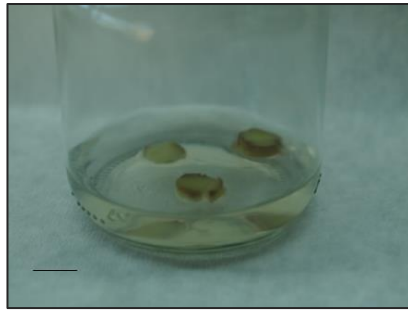
Ortalamaların karşılaştırıldığı LSD testinde VR3, VR4, VR7, VR9, VR11, VR12, VR14, VR15 kodlu çalışma kodlarına sahip besin ortamlarının kullanımı sonucu elde edilen kararlar yüzdesi 1. grupta (VR3: 100.000, VR4: 100.000, VR7: 100.000, VR9: 100.000, VR11: 100.000, VR12: 100.000, VR14: 97.222, VR15: 91.667), VR8 kodlu uygulama 2. grupta (88.889) ve VR6 kodlu çalışma 3. grupta (77.778) yer almaktadır (HKO= 55.557; LSD=12.703). .

Uygulamada besin ortamı içeriklerine göre gruplandırılan çalışma kodlarının kararlar yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu Çizelge 4.70’te; kültür süresi sonunda eksplantlarda meydana gelen değişiklikler Şekil 4.48’de yer almaktadır.

Çizelge 4.70. Besin ortamı içeriklerine göre gruplandırılan çalışma kodunun *Vanda* sp.ye ait gövde kısımlarından alınan eksplantlarda gözlenen kararlar yüzdesi üzerindeki etkilerine ait Varyans Analiz Tablosu.

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	Hesaplanan F	Tablo değeri	
					5%	1%
Çalışma kodu	9	1490.749	165.639	2.981*	2.408	3.485
Hata	20	1111.133	55.557			
Genel	29	2601.883	89.720			

* Önemli %5 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

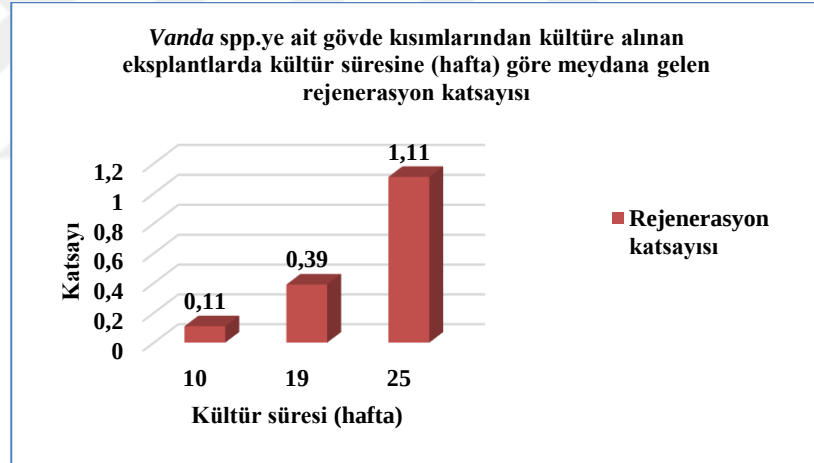


Şekil 4.48. *Vanda* sp.ye ait gövde eksplantlarında meydana gelen değişiklikler (bar: 1 cm).

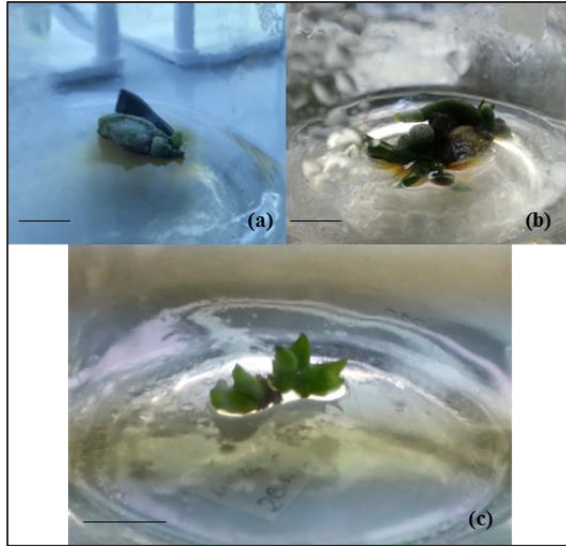
Vanda sp.de PLB rejenerasyonu çalışmasında VR6 kodlu besin ortamında kültüre alınan gövde eksplantlarında 10, 19 ve 25. haftaların sonunda meydana gelen PLB sayısı (adet) ve rejenerasyon katsayısı Çizelge 4.71’de ve Şekil 4.49’da, gövde eksplantlarında meydana gelen rejenerasyonlar Şekil 4.50’de ye almaktadır.

Çizelge 4.71. *Vanda* sp.ye ait gövde kısımlarından kültüre alınan eksplantlarda kültür süresine (hafta) göre meydana gelen PLB sayısı (adet) ve rejenerasyon katsayısı.

Kültür süresi (hafta)	Vanda sp.ye ait gövde kısımlarından meydana gelen PLB sayısı (adet)				Kültür süresine bağlı olarak belirlenen rejenerasyon katsayısı			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
10	2	1	1	1,33	0,17	0,08	0,08	0,11
19	2	7	5	4,67	0,17	0,58	0,42	0,39
25	4	22	14	13,33	0,33	1,83	1,17	1,11



Şekil 4.49. *Vanda* sp.ye ait gövde kısımlarından kültüre alınan eksplantlarda kültür süresine (hafta) göre meydana gelen PLB sayısı (adet) ve rejenerasyon katsayısı.

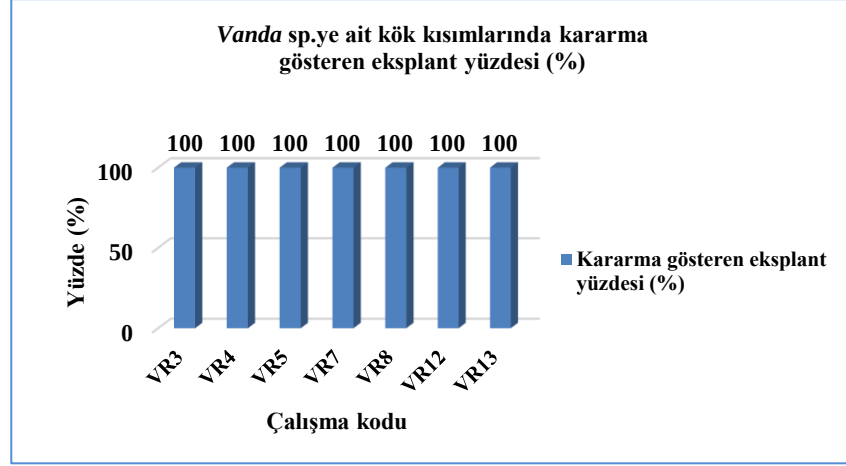


Şekil 4.50. *Vanda* sp.ye ait gövde kısımlarından alınan eksplantlarda (a) 10, (b) 19 ve (c) 25. haftalarda meydana gelen rejenerasyonlar (bar: 1 cm).

Vanda sp.ye ait kök kısımlarında kararma gözlenen eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%) Çizelge 4.72’de ve Şekil 4.51’de, kültür süresi sonunda eksplantlarda meydana gelen değişiklikler Şekil 4.52’de yer almaktadır.

Çizelge 4.72. *Vanda* sp.ye ait kök kısımlarında kararma gösteren eksplant sayısı (adet) ve yüzdesi (%).

Çalışma kodu	Kararma gösteren kök eksplant sayısı (adet)				Kararma gösteren kök eksplant yüzdesi (%)			
	T1	T2	T3	Ort	T1	T2	T3	Ort
VR3	40	40	40	40	100	100	100	100
VR4	40	40	40	40	100	100	100	100
VR5	40	40	40	40	100	100	100	100
VR7	40	40	40	40	100	100	100	100
VR8	40	40	40	40	100	100	100	100
VR12	40	40	40	40	100	100	100	100
VR13	40	40	40	40	100	100	100	100



Şekil 4.51. *Vanda* sp.ye ait kök kısımlarında kararma gösteren eksplant yüzdesi (%).

Tek faktörlü (çalışma kodu) tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılan istatistiksel değerlendirmede farklı içeriklere sahip besin ortamlarına bağlı olarak belirlenen çalışma gruplarında (VR3, VR4, VR5, VR7, VR8, VR12, VR13) kültüre alınan *Vanda* sp.ye ait kök eksplantlarının tamamında kararma meydana gelmiştir



Şekil 4.52. *Vanda* sp.ye ait kök eksplantlarında meydana gelen değişiklikler (bar: 1 cm).

Yüzeysel sterilizasyon uygulamaları tamamlandıktan sonra çeşitli besin ortamlarında kültüre alınan *Vanda* orkidesinin çiçekli kısımlar, yaprak, gövde ve köklerinden alınan eksplantlarda, 0,5 mg/l pepton, 2 mg/l BAP ve 1,2 mg/l NAA içeren Mitra besin ortamı içeriğine sahip VR6 kodlu besin ortamında kültüre alınan anterlerde %61,90 oranda kallus oluşumu gözlenirken, bitkinin gövde kısmından alınan eksplantlarda 25. hafta sonunda 1,11 rejenerasyon katsayısı elde edilmiştir.

5. TARTIŞMA ve ÖNERİLER

Bitki hücre, doku ve organ kültürleri ticari açıdan önemli ürünlerin klonal çoğaltımı (mikroçoğaltım), değerli sekonder metabolitlerin üretimi, moleküler tarımın yanı sıra, atık suların fitoremediasyonu (fitotransformasyon ve fitoekstraksiyon) için oldukça önemli araçlardır. *In vitro* koşullarda sıvı kültürler aracılığıyla, kontrollü koşulların sağlandığı biyoreaktörlerde farklılaşmış (embriyo, sürgün, fide, transforme ya da saçaklı kökler) ve farklılaşmadan geri dönmüş (dedifferentiation) bitki kültürlerinin büyük çapta üretimi sağlanabilmektedir (Georgiev ve ark., 2014).

Orkideler doğa koşullarında zor çimlenmelerinin yanı sıra, uzun bir gençlik dönemi geçirdikten sonra çiçeklenmektedirler. Bu nedenle, dünyada ve ülkemizde oldukça talep gören orkidelerin ticari çapta üretimi ve çoğaltımının yanı sıra, çiçeklenmelerinin sağlanmasında modern bitki hücre ve doku kültürü teknikleri önemli bir yer tutmaktadır.

Bitki doku kültürü çalışmalarında kullanılan $HgCl_2$, $NaOCl$ gibi sterilantlara göre daha kısa süre ve düşük konsantrasyonlarda uygulanmasının yanı sıra, oldukça etkili bir yüzeysel sterilizasyon sağlamaktadır. Srivastava ve ark.'nın (2010) doku kültürlerinde kullanılan yüzeysel sterilantlarla ilgili gerçekleştirdikleri çalışmada $NaOCl$ ile yüzeysel sterilizasyon uygulamasının daha ortalama bir sterilasyon sağlamanın yanı sıra, bitkisel materyallerde daha yüksek oranda kontaminasyon görülmesine neden olduğu, aynı zamanda $NaOCl$ 'nin konsantrasyonun ve uygulama süresinin artırılmasının genellikle bitkisel materyallerde çok önemli olmayan miktarda kontaminasyon oranını düşürdüğünü ifade etmektedirler. Bu nedenle, tez çalışmasında dış koşullardan temin edilen bitkisel materyallerin yüzeysel sterilizasyonunda $HgCl_2$ kullanımı tercih edilmiştir. Buna bağlı olarak, *in vivo* koşullardan temin edilen *Cattleya* sp.ye ait gövde ve kök eksplantları ile yapılan uygulamalarda, bitkinin gövdesinden alınan eksplantlarda 8 dk'lık %0,1 $HgCl_2$ uygulaması ile %83,33; kök eksplantlarında ise 5 dk'lık ve 8 dk'lık uygulamaların her ikisinde de %100 yüzeysel sterilizasyon başarısı elde edilmiştir.

Yüzeysel sterilizasyon uygulamasında *Cattleya* sp.ye ait gövdenin yapraklar tarafından sarılmış olması, sterilantın gövde dokularına girişini zorlaştırmasının yanı sıra, dış koşullarda yetişmiş bitkinin yaprak ve gövde dokuları arasındaki toz ve mikroorganizmaların temizlenmesini daha zor hale getirmektedir. Bu nedenle, yüzeyin daha düz olduğu kök gibi eksplantlarda 5 dakikalık sterilizasyon uygulaması yeterli olmasına rağmen, gövde gibi eksplantlarda uygulama süresi daha fazla olmaktadır.

Tez çalışmasında yüzeysel sterilizasyonu tamamlanan *in vivo* *Cattleya* sp.ye ait genç sürgün nodlarından enine kesitler olarak alınan ince hücre tabaka eksplantların 20 g/l sükroz, 1,2 mg/l BAP ve 1,2 mg/l NAA ilave edilen Knudson C besin ortamına aktarılması ile ilk 30 günlük kültür süresi sonunda 0,56 kat PLB rejenerasyonu elde edilirken, denemede yapılan gözlemler sonucu rejenerasyon sürecinin devam etmesine bağlı olarak, ilk 30 günlük kültür süresi sonunda elde edilen PLB'ler hiç bir işlem uygulanmadan, aynı içeriğe sahip taze besin ortamında altkültüre alınmışlardır ve 60 günlük kültür süresi sonunda, yani başlangıçtan itibaren 90 gün sonra elde edilen PLB rejenerasyonun 10,05 kat olduğu belirlenmiştir. Buna göre 90 günlük kültür süresi sonunda 25 adet ince kesit eksplanttan ortalama 251 adet rejenerant (tekli PLB, çoklu PLB kümesi ve sürgün) elde edilmiştir. Sinha ve ark.'ının (2007), *in vivo* koşullardan temin ettikleri olgun *Cattleya* hibridinin genç sürgün uçlarından TCL tekniği ile alınan 1-2 mm kalınlıktaki ince kesit eksplantlarda 12 haftalık kültür süresi sonunda 8 adet PLB elde etmişlerdir. Daha sonra, bu PLB'leri 8 parçaya bölerek, altkültüre aldıkları çalışmada, 8 hafta sonunda toplam 220 adet PLB elde etmişlerdir. TCL tekniği ile alınan enine kesit eksplantlar epidermal, kortikal, kambiyal, vasküler ve medullar dokular ile parankima hücrelerini içerir ve bu dokulardaki hücrelerden yeniden-farklılaşma sağlanmaktadır (Tran Han Van, 1980; Sinha ve ark., 2007). Buna göre, tez çalışmasında da elde edilen sonuçlara bağlı olarak, uygun besin ortamı içeriği ve kültür koşulları sağlandığı zaman, bitkinin yeniden-farklılaşma yeteneği fazla olan ve hızlı gelişim gösteren genç dokularından TCL tekniği ile alınan ince kesit eksplantlarda kısa sürede elde edilen rejenerasyonlar ile *Cattleya* orkidelerinin ticari çapta üretiminde oldukça avantajlı bir başlangıç tekniği olarak öne çıkmaktadır.

Orkidelerin embriyoları olarak isimlendirilen protokomlar, sürgün ve kök meristemlerine sahip, iyi farklılaşmış yapılardır. Bu nedenle, PLB'lerin çoğaltımı aracılığıyla orkidelerin ticari çapta üretimi yaygın olarak kullanılmaktadır. Tez çalışmasında ticari üretim hedefinin yakalanması için *in vitro* koşullarda rejenerasyonu sağlanan *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı ve PLB'den sürgün rejenerasyonunda, yarı katı kültür sistemleri ile erlen ve RITA® biyoreaktörünün kullanıldığı sıvı kültür sistemlerinde elde edilen sonuçlar incelenmiştir.

Yarı katı kültür sistemlerinde başlangıç eksplantı olarak bütün veya ince kesit PLB kullanımının, PLB çoğaltım katsayısı üzerindeki etkileri dikkate alındığında, *Cattleya* sp.ye ait bütün halinde PLB'lerin kullanıldığı denemede elde edilen çoğaltım katsayısı (7,50), ince kesit PLB'lerin kullanıldığı denemede alınan sonuca (5,28) göre 1,42 kat daha fazladır. Buna göre, *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımı için yarı katı besin ortamlarının kullanılması durumunda, *in vitro* koşullardan temin edilen, 3-4 aylık, 2-5 mm arasındaki uzunluklarda PLB'lerin bütün halinde kullanımı önerilmektedir. *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden sürgün rejenerasyonu teşviki çalışmasında elde edilen en başarılı rejenerasyon katsayısı bütün halinde PLB'lerin eksplant olarak kullanıldığı denemede (13,00), ince kesit eksplantların yer aldığı denemede alınan sonuca (2,11) göre 6 kat daha fazladır. Buna göre, yarı katı kültür sistemlerinde PLB'den sürgün rejenerasyonu teşvikinde, bütün halindeki PLB'lerden kullanımı oldukça öne çıkmaktadır.

PLB'den PLB çoğaltımı için erlende sıvı kültür sistemlerinde 3 farklı erlen hacmine bağlı olarak belirlenen besin ortamı hacmi ve besin ortamı hacmine paralel olarak artış gösteren inokülüm yoğunluklarında kültüre alınan bütün halinde ve ince kesit eksplantların PLB çoğaltım katsayısı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışmada, hem bütün halinde hem de ince kesit PLB'ler 100 ml'lik erlende 40 ml sıvı besin ortamı ve 7 adet eksplant; 250 ml'lik erlende 100 ml sıvı besin ortamı ve 18 adet eksplant ile 500 ml'lik erlende 200 ml sıvı besin ortamı ve 36 adet eksplant olacak şekilde 120 rpm'de sürekli çalkalama prensibine dayalı olarak kültüre alınmışlardır.

Erlenlerde sıvı kültür çalışmasında, hacim ve inokülüm yoğunlukları belirlenirken; besin ortamı hacminin, erlen hacminin yaklaşık 1/3ü; inokülüm yoğunluklarının da eksplant başına yaklaşık 6 ml besin ortamı olacak şekilde ayarlanmıştır. PLB'den PLB çoğaltımı için erlenlerde kültüre alınan hem bütün halinde hem de ince kesit eksplantlarda sadece PLB kümeleri meydana gelmiştir. 250 ml hacimli erlenin kullanıldığı denemede kültüre alınan bütün halindeki eksplantlarda rejenerasyon meydana gelmemesinin nedeninin, başlangıç eksplantlarına bağlı olduğu düşünülmektedir. Erlenlerde sıvı kültürlerde PLB'den PLB çoğaltımı çalışmasında alınan sonuçları eksplant tipine bağlı olarak değerlendirdiğimizde, *Cattleya* sp.ye ait 2-5 mm arasındaki uzunluklarda, 3-4 aylık bütün halindeki *in vitro* PLB'lerin kullanımına bağlı olarak elde edilen PLB çoğaltım katsayısı ortalaması (0,58), 1-2,5 mm kesit kalınlığındaki ince kesit eksplantlardan elde edilen PLB çoğaltım katsayısı ortalamasına (0,39) göre yaklaşık 1,5 kat daha başarılı sonuç vermiştir. Bunun yanı sıra, erlenlerin kullanıldığı sıvı kültür sistemlerinde yapılan çalışmada en başarılı PLB çoğaltım katsayısının (1,56), 500 ml hacimli erlen, 200 ml besin ortamı ve 36 adet bütün halinde eksplantın kullanımı ile elde edildiği belirlenmiştir. PLB'den sürgün rejenerasyonu teşvikinde kültüre alınan eksplantlarda da PLB kümelerinin meydana geldiği belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan bütün halinde PLB'lerde elde edilen ortalama çoğaltım katsayısı (0,54), ince kesit eksplantlarda elde edilen ortalama çoğaltım katsayısından (0,28) yaklaşık 2 kat daha fazla olduğu hesaplanmıştır. Buna göre, erlenlerde sıvı besin ortamlarında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden sürgün rejenerasyonu teşvikinde elde edilen en başarılı rejenerasyon katsayısı 7 adet inokülüm yoğunluğuna sahip bütün halinde PLB'lerin, 100 ml hacimli erlen ve 40 ml besin ortamında kültüre alındığı denemede (0,67) meydana gelmiştir.

Geçici daldırma sistemi prensibine sahip, iki bölmeden oluşan RITA® biyoreaktörlerinde *Cattleya* sp.ye ait PLB'lerden PLB çoğaltımında optimum çoğaltım prosesini belirlemek için sisteme giriş yapılan hava sıklığına ve süresine bağlı olarak ayarlanan daldırma periyodu; iki bölmeli biyoreaktörün alt kısmına doldurulan besin ortamı hacmi ve üst kısımda yer alan bölmeye yerleştirilen eksplantların inokülüm yoğunluğuna bağlı olarak belirlenen kombinasyonlarda, bütün halinde ve ince kesit PLB'ler eksplant olarak kullanılmıştır.

Tez çalışmasında, biyoreaktöre bağlanan hava pompası yardımı ile her 4 saatte ve 8 saatte 1 dakika olmak üzere sisteme hava girişinin sağlandığı iki farklı daldırma periyodu kullanılmıştır. Çalışmada bütün halinde ve ince kesitler olarak kültüre alınan PLB'lerin boyutlarının küçük olması nedeniyle, eksplantların sıvı besin ortamı ile temasının sağlandığı ve sisteme taze hava girişini mümkün kılan daldırma süresinin 1 dakika olması yeterli görülmüştür. Ducos ve ark.'nın (2007) kahve bitkisinin somatik embriyoları ile yaptıkları çalışmada, kısa daldırma süresinin, embriyolarda meydana gelen hiperhidrisiteye engel olduğu belirtilmiştir. Daldırma süresi boyunca sıvı besin ortamı ile muamele eden eksplantların üzeri ince bir sıvı besin ortamı tabakası ile kaplanmaktadır ve buna bağlı olarak, eksplant yüzeyi bir süre daha besin maddelerinin absorpsiyonunu ve atık maddelerin uzaklaştırılmasını gerçekleştirebilmektedir. Bunun yanı sıra, toplam 1 litre hacme sahip, iki bölmeli RITA® biyoreaktörlerinin alt haznesinde 150 ml, 200 ve 250 ml besin ortamı kullanımı da deneme parametreleri arasında yer almaktadır. RITA® biyoreaktörlerinin, yarı katı kültür sistemlerine benzer olarak, besin ortamının eklendiği alt hazne ile üst hazne arasında, eksplantların tutunmasını sağlayan bir filtre bulunmaktadır. Çalışmada *Cattleya* sp. ye ait bütün halinde ve ince kesit PLB'ler 10, 20 ve 30 adet olmak üzere üç farklı inokülüm yoğunluğunda kültüre alınmışlardır. Tüm bu parametrelerin kombinasyonlarının kullanıldığı RITA® biyoreaktörlerinde PLB'den PLB çoğaltımı çalışmasında tekli PLB'lerin yanı sıra, PLB kümeleri ve 2-3 yapraklı gelişkin PLB'ler meydana gelmiştir. Bu nedenle çoğaltım katsayısı belirlenirken, toplam rejenerant sayıları dikkate alınmıştır. Buna göre, çeşitli daldırma periyodu (1 dk/4 sa, 1 dk/8 sa), besin ortamı hacmi (150, 200, 250 ml), eksplant tipi (bütün halinde PLB, ince kesit PLB) ve inokülüm yoğunluğuna (10, 20, 30 adet) sahip kombinasyonların gruplandırıldığı çalışmada belirlenen en başarılı PLB çoğaltım katsayısı (111,85), ince kesit eksplantların, 4 saatte 1 dakika daldırma periyodu, 250 ml besin ortamı hacmi ve 20 adet inokülüm yoğunluğuna sahip denemede elde edilmiştir. PLB'den sürgün rejenerasyonu teşvikinde de tekli PLB, PLB kümesi ve 2-3 yapraklı gelişkin PLB'ler meydana gelmiştir. Buna bağlı olarak, RITA® biyoreaktörlerinde elde edilen en başarılı rejenerasyon katsayısı 20 adet inokülüm yoğunluğuna sahip ince kesit eksplantın, 4 saatte 1 dakika daldırma periyodu ve 150 ml besin ortamının kullanıldığı denemede 199,90 kat olarak meydana gelmiştir.

Moreira ve ark.'nın (2013), *Cattleya walkeriana* tohumlarından elde ettikleri 8 aylık fidelerin gelişiminde yarı katı ve sıvı kültür sistemlerini karşılaştırdıkları çalışmada, çift şişe ile kurulan geçici daldırma sisteminin, bu orkide türü uygun olduğunu belirtmişlerdir. Ross ve Castillo'nun (2009), biyoreaktörlerle yaptıkları çalışmada, biyoreaktörlerin pek çok zirai ve ormancılık türleri için manuel çalışmaya ihtiyacı azaltan sıvı kültür sistemlerinin, etkili ve hızlı çoğaltım sistemleri olduğunu ve agar kullanılan kültürlerle kıyaslandığında, biyoreaktörlerde kültüre alınan bitki dokularının kültür ortamı ile daha iyi temas ettiklerini, besin kaynağı ve büyüme düzenleyicilerinden optimum düzeyde faydalanılabildiğini belirtmektedirler.

Yarı katı besin ortamlarında kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait *in vitro* sürgünlerin çoğaltımı ve köklendirilmesinde elde edilen en başarılı sürgün çoğaltım katsayısı (3,50), 30 g/l sükroz, 1 mg/l BAP ve 3 g/l gelrite (pH 5,3) içeren 1/2MS besin ortamında; sürgün başına meydana gelen en fazla kök sayısı (7,34) ise 60 g/l sükroz, 1 mg/l BAP ve 3 g/l gelrite (pH5,3) içeren 1/2MS besin ortamında meydana gelmiştir. Righeto ve ark.'nın (2011), PBZ'un, *Cattleya labiata* Lindley ve *Cattleya eldorado* Linden orkidelerinin gelişimi üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada, 40 günde bir gerçekleştirilen altkültürlerle, 160 gün sonunda 1 mg/l PBZ kullanılan besin ortamında kültüre alınan sürgünlerin çok iyi geliştiği, güçlü köklere sahip olduğu ve bitkilerin aklimatizasyon aşamasına daha fazla uygun hale geldiğini belirtmişlerdir.

Tez çalışmasında, *in vitro* köklü *Cattleya* sürgünlerinin dış koşullara aktarımında kullanılan özel karışım bitki yetiştirme torfu (%30), torfsuz orkide toprağı (%44), orkide kültür torfu (%15), iri taneli cocopit (%3,75) ve pellet gübre (%7,5) bileşenlerinden oluşan saksı toprağı karışımında %92,89 oranda aklimatizasyon başarısı sağlanmıştır. Yapılan denemeler sonucunda, *Cattleya* orkideleri için dış koşullara aktarılacak bitkilerin sağlam ve gelişkin köklere sahip olması ve en az 4 yapraklı olması gerektiği düşünülmektedir. Dewir ve ark.'ı (2015), *Cattleya* ile gerçekleştirdikleri çalışmada IBA (2,4 mg/l) ve sükroz (%3) içeren 1/2MS besin ortamı ile 60 $\mu\text{mol/m}^2\text{s}$ ışık yoğunluğunun kullanıldığı koşullarda 8 haftalık kültür süresi sonunda *Cattleya*'ya ait sürgün nodlarında, sürgün başına 5,7 adet kök elde etmelerinin yanı sıra, *in vitro* rejenerasyonu

sağlanan bu sürgünlerin ağaç kabuğu:perlit:turba yosunu (1:1:1) karışımında aklimatizasyonlarının %98,3 oranda başarı sağlanmasına katkıda bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Yaygın olarak kısa gün bitkisi olduğu bilinen *Cattleya* orkideleri ile gerçekleştirilen *in vitro* çiçeklenme uygulamalarında çift tabakalı ve yarı katı kültür sistemlerinin, uzun gün-kısa gün fotoperiyotlara sahip veya gündüz-gece sıcaklık farkının oluşturulduğu çeşitli kültür koşullarında, yarı-tam kuvvette besin ortamları bileşimleri, yüksek sitokinin kullanımı ve N/P modifikasyonlarının yanı sıra, besin ortamlarına eklenen farklı büyüme geriletilici ve büyüme düzenleyicileri tipleri ile prolin, pepton, sukroz dozlarının kullanıldığı besin ortamı içerikleri ile çok çeşitli *in vitro* çiçeklenme teşviki uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Buna bağlı olarak, yarı katı kısmında 20 g/l sükroz, 5 mg/l BAP, 300 mg/l aktif kömür ve %1 (v/v) hindistan cevizi suyu (pH5,8) ilave edilmiş Knudson C besin ortamının kullanıldığı çift tabakalı sistemde kültüre alınan *Cattleya* sp.ye ait *in vitro* sürgünler, ilk etapta 11 hafta süresince 10 sa gündüz/14 sa gece fotoperiyot ve 20±2°C gündüz/12±2°C gece sıcaklıklara sahip koşullarda muhafaza edilmişlerdir. Bu aşamanın ardından, jeneratif gelişimi tetiklemek amacıyla 1 hafta süreyle sabit 25°C sıcaklık ve karanlık koşullara alınan kültürler, daha sonra tekrar ilk kültür koşullarına aktarılmışlardır (2 hafta). Toplam 14 aylık kültür süresi boyunca gelişimi gözlenen sürgünlerde, karanlık uygulamasından sonra özellikle köklenme açısından, hızlı bir ivme meydana geldiği gözlenmiştir. Bunun yanı sıra, karanlık uygulamasının ardından, kısa gün koşullarının ve gece-gündüz sıcaklık farkının sağlandığı uygulamada, bitkinin fizyolojik olgunluğa ulaştığı ve çiçeklenme teşvikinde önemli bir parametre olan pseudobulb gelişiminin meydana geldiği gözlenmiştir. Genel olarak *Cattleya* orkidelerinin çiçeklenme süreçlerinde, yeterli olgunluğa erişmiş bitkilerde meydana gelen pseudobulb oluşumu sonrasında uygun koşulların sağlanması ile önce çiçek sapı, ardından çiçek tomurcukları meydana gelmektedir. Goh ve Arditti (1985), *Cattleya gaskelliana*'da 16°C'nin üzerindeki sıcaklarda pseudobulbların normal gelişim gösterdiğini ve bitkide pseudobulb oluşumundan sonra 3 ay içinde kısa gün koşullarında gece sıcaklığının 13°C'ye indirilmesi ile çiçeklenmenin başladığını belirtmektedirler.

Lopez ve Runkle (2005), bazı *Cattleya* türlerinde bahar aylarında, düşük sıcaklık ve kısa fotoperiyotta çiçek tomurcuğu başlangıcının meydana geldiğini, fakat çiçeğin olgunlaşmasının ancak sonbahar aylarında gözlenebileceğini bildirmişlerdir.

Tez çalışmasında, *in vivo* koşullardan temin edilen *Vanda* sp.de 10 dakika %0,2 HgCl₂ uygulaması ile bitkinin çiçekli kısımlarında %70, yapraklarında %80, gövde kısımlarında %71,67 ve köklerinde %95,83 yüzeysel sterilizasyon başarıları elde edilmiştir. *Vanda* sp.ye ait çiçekli kısımlar, yapraklar, gövde ve köklere uygulanan çeşitli yüzeysel sterilizasyon dozu ve süreleri sonunda uzun süreli sterilant uygulamasının, bitkide özellikle çiçekli kısımlarından alınan renkli yapraklar ya da sekonder meristemlere sahip gövde nodları gibi hassas dokulara sahip yapılarda nekroz meydana getirmesi nedeniyle canlılık kaybı yaşanmasına rağmen, dış koşullardan temin edilen bitkinin özellikle yapraklar tarafından sarılmış olan gövde kısımlarında düşük doz ve kısa sürelerde gerçekleştirilen uygulamaların yüzeysel sterilizasyon için yeterli olmadığı belirlenmiştir. Buna bağlı olarak, yüzeysel sterilizasyonu zor fakat *in vitro* koşullarda üretiminin ticari olarak önemli olan orkideler ve süs bitkilerinde gümüş nitrat ya da gümüş nanopartiküller ile gerçekleştirilecek yüzeysel sterilizasyon uygulamaları önem kazanmaktadır.

Yüzeysel sterilizasyon uygulamaları tamamlandıktan sonra 0,5 mg/l pepton, 2 mg/l BAP ve 1,2 mg/l NAA içeren Mitra besin ortamında kültüre alınan *Vanda* sp.ye ait çiçekli kısımlardan alınan anterlerde %61,90 oranında kallus oluşumu meydana gelirken, bitkinin gövde kısmından alınan nod eksplantlarında 25. hafta sonunda 1,11 rejenerasyon katsayısı elde edilmiştir. Decruse ve ark.'nın (2003) *Vanda spathulata* nod eksplantlarında sürgün rejenerasyonu için yaptıkları çalışmada altı aylık kültür süresi sonunda BAP ve IAA içeren Mitra besin ortamında nod başına 12,6 adet sürgün rejenerasyonu elde edilmiştir. Buna bağlı olarak, ilerleyen çalışmalarda *Vanda* spp.'ye ait eksplantların çift tabakalı ya da sıvı kültür sistemlerinde kullanılacak daha farklı besin ortamı-bitki büyüme düzenleyicisi kombinasyonları ya da farklı fotoperiyot/sıcaklık uygulamalarının sağlandığı kültür koşulları kombinasyonları ile sürgün rejenerasyon katsayısının artırılması mümkündür.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adelberg, J., Pollock, R., Rajapakse, N., Young, R.,** 1998, Micropropagation, decontamination, transcontinental shipping and hydroponic growth of *Cattleya* while sealed in semipermeable membrane vessels, *Scientia Horticulturae*, 73:23–35.
- Afreen, F.,** 2006, Temporary Immersion Bioreactor: Engineering Considerations and Applications in Plant Micropropagation, *Plant Tissue Culture Engineering*, (Eds) Gupta, S. D., Ibaraki, Y., Springer, The Netherlands, 187-201.
- Alaiwi, W.A., Sairam, R.V., Josekutty, P.C., Potlakayala, S.D., Karelia, D., Goldman, S.L.,** 2012, *In vitro* regeneration, flowering, and cell culture of *Centaurea* species, *African Journal of Biotechnology*, 11(9):2296-2302.
- Alvard, D., Cote, F., Teisson, C.,** 1993, Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation, effects of temporary immersion of explants, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 32:55-60.
- Arditti, J.,** 1979, Aspect of the Physiology of Orchids, *Advances in Botanical Research*, Woolhouse, H.W. (Ed.), Academic Press, Londra, 7:421-665.
- Arditti, A., Ernst, R.,** 1993. History, In: *Micropropagation of Orchids*. Jonh Wiley and Sons, New York, NY, 3–23.
- Bartrina, I., Otto, E., Strnad, M., Werner, T., Schmölling, T.,** 2011, Cytokinin regulates the activity of reproductive meristems, flower organ size, ovule formation, and thus seed yield in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Cell*, 23:69–80.
- Bernier, G., Kinet, J.M., Saches, R.M.,** 1981, *The Physiology of Flowering*, Boca Raton, CRC Press, v.1:1-19.
- Berthouly, M., Etienne, H.,** 2005, Temporary Immersion System: A New Concept for Use Liquid Medium in Mass Propagation, *Liquid Culture Systems for In Vitro Plant Propagation*, (Ed.) Hvoslef-Eide, A.K. ve Preil, W, Springer, The Netherlands, 165-195.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chang, C., Chang, W.C.**, 2003, Cytokinins promotion of flowering in *Cymbidium ensifolium* var. *misericors* *in vitro*, Plant Growth Regulation, 39:217-221.
- Chauhan, N.S.**, 1990, Medicinal orchids of Himachal Pradesh., J. Orchid Soc. India, 4(1,2):99-105.
- Choi, S.H., Kim, M.J., Lee, J.S., Ryu, K.H.**, 2006, Genetic diversity and phylogenetic relationships among and within species of oriental cymbidiums based on RAPD analysis, Scientia Horticulturae, 108:79–85.
- Chugh, S., Guha, S., Rao, I.U.**, 2009, Micropropagation of orchids: a review on the potential of different explant, Sci. HOrt, 122:507-520 pp.
- Decruse, S.W., Gangaprasad, A., Seenii, S., Sarojini Menon, V.**, 2003, Micropropagation and ecorestoration of *Vanda spathulata*, an exquisite orchid, Plant Cell Tissue and Organ Culture, 72(2), 199-202.
- Demir, C.**, 2014, *Orchis Laxiflora* ve *Orchis Punctulata* (Orchidaceae) Taksonlarının DNA Sekans Yöntemiyle Moleküler Filogenetik Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Dewir, Y.H., Chakrabarty, D., Hahn, E.J., Datta, S.K., Paek, K.Y.**, 2008, Kinetics of nutrient utilization and photosynthetic enzyme activities during floral versus vegetative differentiation of *Spathiphyllum* in air-lift bioreactor cultures, Plant Growth Regul, 54:157–164.
- Dewir, Y.H., El-Mahrouk, M.E., Murthy, H.N., Paek, K.Y.**, 2015, Micropropagation of *Cattleya*: Improved *in vitro* rooting and acclimatization, Hort. Environ. Biotechnol., 56(1):89-93.
- Duan, J.X., Yazawa, S.**, 1994, *In vitro* floral development in $\times$ *Doriella* Tiny (*Doritis pulcherrima* $\times$ *Kingiella philippinensis*), Sci. Hortic., 59:253–264.
- Ducos, J.P., Lambot, C., Pétiard, V.**, 2007, Bioreactors for Coffee Mass Propagation by Somatic Embryogenesis, International Journal of Plant Developmental Biology, 1(1), 1-12.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ebay,** 2016, <http://www.ebay.com.au/itm/Orchid-mini-flask-Gift-Wedding-Anniversary-Valentine-keychain-iphone-android-/380448991041> (Erişim tarihi 30.05.2016).
- Floriculture Crops,** 2015, USDA, National Agricultural Statistics Service (Erişim tarihi 25.05.2016).
- Franklin, G., Pius, P.K., Ignacimuthu, S.,** 2000, Factors affecting *in vitro* flowering and fruiting of green pea (*Pisum sativum* L.), *Euphytica*, 115:65–73.
- Gamborg, O.L., Miller, R.A., Ojima, K.,** 1968, Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.* 50:151–158.
- Gantait, S., Sinniah, U.R.,** 2012, Rapid micropropagation of monopodial orchid hybrid (*Aranda* Wan Chark Kuan ‘Blue’ × *Vanda coerulea* Griff. ex. Lindl.) through direct induction of protocorm-like bodies from leaf segments, *Plant Growth Regulation*, 68(2), 129-140.
- George, E.F.,** 1993, *Plant Propagation by Tissue Culture, Part 1, The Technology.* Exegetic Ltd. Edington, Wilts, England.
- Georgiev, V., Schumann, A., Pavlov, A., Bley, T.,** 2014, Temporary immersion systems in plant biotechnology, *Review, Eng. Life Sci.*, 14:607–621.
- Gnasekaran, P., Poobathy, R., Mahmood, M., Smian, M.R., Subramaniam, S.,** 2012, Effects of complex organic additives on improving the growth of PLB’s of *Vanda* Kasem’s Delight, *Australian Journal of Crop Science*, *AJCS*, 6(8):1245-1248.
- Goh, C.J., Yang, A.L.,** 1978, Effects of growth regulators and decapitation on flowering of *Dendrobium* orchid hybrids, *Plant Sci. Lett.*, 12:287.
- Griesbach, R.J.,** 2002, Development of *Phalaenopsis* Orchids for the Mass-Market, In: Jainick, J., Whipkey, A. (Eds.), *Trends in New Crop and New Uses.* ASHS Press, Alexandria, VA.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Guangyuan, W., Zhihong, X., Tet-Fatt, C., Nam-Hai, C.,** 1997, *In vitro* flowering of *Dendrobium candidum*, Science in China (Series C), 40(1):35-42.
- Güler, N., Gönüz, A., Hürkan, K., Döver, E.,** 2008, Çan (Çanakkale–Türkiye) ilçesi doğal yayılışlı bazı orchidaceae taksonları üzerine gözlemler, ResearchGate, Conference Paper, 143-162. <http://cids2008.comu.edu.tr/Can.pdf> (Erişim tarihi: 7.06.2016).
- Gümüş, C., Ellialtıoğlu, Ş.,** 2010, Bazı orkide türlerinin asimbiyotik olarak çimlendirilmesi, protokorm ve bitki oluşturma üzerine farklı besin ortamları, GA₃ uygulamaları ile fotoperiyot üzerine bir araştırma. IV. Süs Bitkileri Kongresi, 20-22 Ekim 2010, Erdemli-Mersin.
- Hanhineva, K., Kokko, H., Renlampi, S.,** 2005, Shoot regeneration from leaf explants of five Strawberry (*Fragaria X Ananassa*) cultivars in temporary immersion bioreactor system, *In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant*, 41:826–831.
- He, Y.W., Loh C.S.,** 2002, Induction of early bolting in *Arabidopsis thaliana* by triacontanol, cerium and lanthanum is correlated with increased endogenous concentration of isopentyl adenosine (iPA_{dos}), *J. Exp. Bot.*, 53:505–512.
- Hee, K.H., Loh, C.S., Yeoh, H.H.,** 2007, Early *in vitro* flowering and seed production in culture in *Dendrobium* Chao Praya Smile (Orchidaceae), *Plant Cell Rep*, 26:2055–2062.
- Hempfling, T., Preil W.,** 2005, Application of a temporary immersion system. Liquid culture systems for *in vitro* plant propagation, (Eds.) Hroslef-Eide A.K., Preil W., Springer, Berlin: 197-211.
- Hossain, M.M., Sharma, M., Pathak, P.,** 2013, *In vitro* propagation of *Dendrobium aphyllum* (Orchidaceae) - seed germination to flowering, *J. Plant Biochem. Biotechnol.*, 22(2):157–167.
- Ishak, Z.,** 2001, Double-Layer Technique in Rooting of Oil Palm *In Vitro* Plantlets, MPOB Information Series, MPOB TT, No:99.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Islam, M., Akter, M., Prodhan, A.K.M.A.,** 2011, Effect of potato extract on *in vitro* seed germination and seedling growth of local *Vanda roxburgii* orchid, 2011, J. Bangladesh Agril. Univ., 9(2), 211–215.
- Jeong, S., Clark, S. E.,** 2005, Photoperiod Regulates Flower Meristem Development in *Arabidopsis thaliana*, Genetics, 169(2):907-915 pp.
- Kamemoto, H., Amore, T.D. and Kuehnle, A.R.,** 1999, Breeding *Dendrobium* Orchids in Hawaii, University of Hawaii Press, Honolulu.
- Kanchanapooma, K., Sakpetha, P., Kanchanapoomb, K.,** 2010, *In vitro* flowering of shoots regenerated from cultured nodal explants of *Rosa hybrida* cv. ‘Heirloom’, Science Asia, 36:161–164.
- Kano, K.,** 1965, Studies on the media for orchid seed germination, Mem. Fac. Agric. Kagawa Univ., 20:1–68.
- Kaur, S., Bhutani, K.K.,** 2009, *In vitro* propagation of *Vanda testacea* (Lindl.) Reichb.f.- A Rare orchid of high medicinal value. Plant Tissue Cult.&Biotech. 19(1): 1-7.
- Kesme Çiçek Sektör Raporu,** 2015, http://www.dogaka.gov.tr/Icerik/Dosya/www.dogaka.gov.tr_624_OW7B27_CN_Kesme-cicek-Sektor-Raporu-2015.pdf (Erişim tarihi 28.05.2016).
- Knudson, L.A.,** 1946, new nutrient solution for germination of orchid seed. Am. Orchid Soc. Bull., West Palm Beach, v.15, p.214-217.
- Koh, W.L., Loh, C.S.,** 2000, Direct somatic embryogenesis, plant regeneration and *in vitro* flowering in rapid-cycling Brassica napus, Plant Cell Rep., 19:1177–1183.
- Kostenyuk, I., Oh, B.J., So, I.S.,** 1999, Induction of early flowering in *Cymbidium niveo-marginatum* Mak *in vitro*, Plant Cell Reports, 19:1–5.
- Kulpa, D., Nowak, N.,** 2011, *In vitro* flowering of *Petunia × atkinsiana* D. Don, Folia Hort, 23(2):125-129.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lakshmanan, P., Loh, C.S., Goh, C.J.,** 1995, An *In vitro* method for rapid regeneration of a monopodial orchid hybrid *Aranda* Deborah using thin section culture. *Plant Cell Rep.*, 14:510–514.
- Liao, Y.J., Tsai, Y.C., Sun, Y.V., Lin, R.S., Wu, F.S.,** 2011, *In vitro* shoot induction and plant regeneration from flower buds in *Paphiopedilum* orchids, *In Vitro Cell.Dev.Biol.—Plant*, 47:702–709.
- Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchawan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, R., Chaidee, A., Bangyeekhun, T.,** 2008, Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the *Dendrobium* orchid. *Scientia Horticulturae*, 116:65–72.
- Lin, C-S., Chen, C-T., Lin, C-C., Chang, W-C.,** 2003, A Method for inflorescence proliferation, *Plant Cell Rep*, 21:838-843.
- Lopez, R.G., Runkle, E.S.,** 2005, Environmental physiology of growth and flowering of orchids, *Hort Science*, 40(7):1969-1973.
- Malabadi, R.B., Mulgund, G.S., Nataraja, K.,** 2004, Efficient regeneration of *Vanda coerulea*, an endangered orchid using Thidiazuron, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 76(3), 289-293.
- Malik, S., Mirjalili, M.H., Fett-Neto, A.G. and Mazzafera, P.,** 2013, Living between two worlds: two-phase culture systems for producing plant secondary metabolites, *Critical Reviews in Biotechnology*, 33(1):1-22.
- Martin, K.P. and Madassery, J.,** 2006, Rapid *in vitro* propagation of *dendrobium* hybrids through direct shoot formation from foliar explants and protocorm-like bodies, *Sci. HOrt* 108:95-99 pp.
- Masmoudi-Allouche, F., Meziou, B., Kriaa, W., Gargouri-Bouزيد, R., Drira, N.,** 2010, *In vitro* flowering induction in Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.), *J Plant Growth Regul*, 29: 35–43.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- McAlister, B., Finnie, J., Watt, M.P., Blakeway, F.,** 2005, Use of The Temporary immersion bioreactor system (RITA®) for production of commercial eucalyptus clones in Mondi Forests (SA), Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 81:347–358.
- MEB,** 2008, Orkide Yetiştiriciliği, Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi, T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara. http://hbogm.meb.gov.tr/modulerprogramlar/kursprogramlari/bahcecilik/moduller/orkide_yetistirciligi.pdf (Erişim tarihi: 30.05.2016)
- Mitra, G.C., R.N., Prasad, Roychowdhury, A.,** 1976, Inorganic salts and differentiation of protocorms in seed-callus of an orchid and correlated changes in its free amino acid content. *Indian J. Exp. Biol.* 14:350–351.
- Moreira, A.L., Silva, A.B., Santos, A., Reis, C.O., Landgraf, P.R.C.,** 2013, *Cattleya walkeriana* growth in different micropropagation systems, *Ciência Rural*, Santa Maria, 43:10, 1804-1810.
- Morel, G.** 1960, Producing virus-free Cymbidiums, *Am. Orchid Soc. Bul.*, 29:495–497.
- Motes, M.R.,** 2004, Vandas: Their botany, history and culture. Timber press, Inc, Oregon, USA, 9-10.
- Mukherjee, S.K.,** 1983, Orchids, Indian Council Of Agricultural Research, New Delhi, 102.
- Murashige, T. and Skoog, F.,** 1962, A Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiol. Plant.*, 15:473-479.
- Murthy, K.S.R.M., Kondamudi, R., Chalapathi Rao, P.V., Pullaiah, T,** 2012, *In vitro* flowering– A review, *Journal of Agricultural Technology*, 8(5):1517-1536.
- Nadgauda, R.S., Parasharami, V.A., Mascarenhas, A.F.,** 1990, Precocious flowering and seedling behaviour in tissue-cultured bamboos, *Nature*, 344:335–336.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Natural History Museum of Jamaica**, 2016, http://nhmj-ioj.org.jm/ioj_wp/botany/jamaican-orchids/ (Erişim tarihi: 04.06.2015)
- Ng, C.Y., Saleh, N.M.**, 2011, *In vitro* propagation of *Paphiopedilum* orchid through formation of protocorm-like bodies, *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 105:193–202.
- Ohto, M.A., Onai, K., Furukawa, Y., Aoki, E. and Nakamura, K.**, 2001, Effects of sugar on vegetative development and floral transition in *Arabidopsis*, *Plant Physiol.*, 127(1):252-261 pp.
- Peeters, A.J.M., Gerards, W., Barendse, G.W.M., Wullems, G.J.**, 1991, *In vitro* flower bud formation in tobacco: interaction of hormones, *Plant Physiol.*, 97:402–408.
- Phuekvilai, P., Pongtongkam, P., Peyachoknagul, S.**, 2009, Development of Microsatellite Markers for *Vanda* Orchid, *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*, 43:497–506.
- Pullman, G.S., Skryabina, A.**, 2007, Liquid medium and liquid overlays improve embryogenic tissue initiation in conifers, *Plant Cell Rep*, 26:873-87.
- Righeto, M.V.L., Almeida, L.V, Brondani, G.E., Amaral, A.F.C., Almeida, M.**, 2012, Morfofisiologia de plântulas de *Cattleya labiata* Lindley e *Cattleya eldorado* Linden cultivadas *in vitro* sob influência de paclobutrazol, *R. bras. Bioci.*, Porto Alegre, 10(1), 20-25.
- Robert, M. L., Herrera-Herrera, J.L., Herrera-Herrera, G., Herrera-Alamillo, M. Á., Fuentes-Carrillo, P.**, 2006, A New Temporary Immersion Bioreactor System for Micropropagation, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 318: *Plant Cell Culture Protocols*, Second Edition, (Ed.) Loyola-Vargas, V. M., Vázquez-Flota, F., Humana Press Inc., Totowa, NJ, 121-129.
- Ross, S., Castillo, A.**, 2009. Mass Propagation of *Vaccinium corymbosum* in Bioreactors, *Agroincia*, 13:1-8.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Roy, A.R., Patel, R.S., Patel, V.V., Sajeev, S., Bidyut, C.D.,** 2011, Asymbiotic seed germination, mass propagation and seedling development of *Vanda coerulea* Griff ex.Lindl. (Blue Vanda): An *In vitro* protocol for an endangered orchid, *Scientia Horticulturae*, 128(2011), 235-331.
- Sandal, G.,** 2009, Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Yetişen Orkideler ve Yetiştirme Ortamı Nitelikleri ile Tehdit Faktörlerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Peyzaj Mimarlığı ABD (Danışman Z. Söğüt), Adana.
- Saritha, K.V., Naidu, C.V.,** 2007, *In vitro* flowering of *Withania somnifera* Dunal.- An important antitumor medicinal plant, *Plant Science*, 172: 847–851.
- Saxena, S.N., Kaushik, N., Sharma, R.,** 2008, Effect of abscisic acid and proline on *in vitro* flowering in *Vigna aconitifolia*, *Biologia Plantarum*, 52(1):181-183.
- Scherwinski-Pereira, J.E., Lima, E.C.A., Silva, T.L., Mesquita, A.G.G., Maciel, S.A., Silva Costa, F.H.,** 2011, Double-phase culture system for large scale production of pineapple, *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 109:263-9.
- Schultes, R.E. and Pease, A.S.,** 1963, Ref.: In Arditti 1979, Aspect of the Physiology of Orchids, *Advances in Botanical Research*, 7:421-6659.
- Scorza, R., Janick, J.,** 1980, *In vitro* flowering of *Passiflora suberosa* L., *J Am. Soc. Hortic. Sci.*, 105:892–897.
- Senapati, SK.,** 2015, A Double phase culture system: An Economic and time saving protocol for *in vitro* propagation of plant, *SAJ Biotechnol.*, 1(3):301p.
- Sezik, E.,** 1967, Türkiye'nin Salepgilleri, Ticari Salep Çeşitleri ve Özellikle Muğla Salebi Üzerinde Araştırmalar, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, 76s.
- Sezik, E.,** 1984, Orkidelerimiz, Türkiye'nin Orkideleri, Sandoz Kültür Yayınları, 6: 166 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sharma, A., Kuma, V., Giridhar, P., Aswathanarayana Ravishankar, G.,** 2008, Induction of *in vitro* flowering in *Capsicum frutescens* under the influence of silver nitrate and cobalt chloride and pollen transformation, Electronic Journal of Biotechnology, 11(2):1-6.
- Sharma, V.,** 2012, Regenerative competence in root explants of *Cattleya* hybrid, an endangered genera: A study *in vitro*, International Journal of Scientific and Research Publications, 2(12).
- Sheeja, T.E., Mandal, A.B.,** 2003, *In vitro* flowering and fruiting in tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill), Asia Pacific. J. Mol. Biol. and Biotech., 11(1):37-42.
- Sim, G.E., Loh, C.S., Goh, C.J.,** 2007, High frequency early *in vitro* flowering of *Dendrobium* Madame Thong-In (Orchidaceae), Plant Cell Rep, 26:383–393.
- Singh, A., Duggal, S.,** 2009, Medicinal Orchids - An Overview, Ethnobotanical Leaflets, 13:309-412.
- Sinha, P., Roy, S.K.,** 2004, Regeneration of an indigenous orchid, *Vanda teres* (Roxb.) Lindl. through *in vitro* culture, Plant Tissue Culture, 14(1), 55-61.
- Sinha, P., Hakim, M.L., Alam, M.F.,** 2007, Clonal propagation of white flowered hybrid *Cattleya* through *in vitro* culture of thin cell layers from young shoots of mature plants, Orchid Science and Biotechnology, 1(1):24-28.
- Sridhar, T.M., Naidu, C.V.,** 2011, High frequency plant regeneration, *in vitro* flowering of *Solanum nigrum* (L.)- An important antiulcer medicinal plant, Journal of Phytology, 3(2):85-93.
- Srivastava, N., Kamal, B., Sharma, V., Negi, Y.K., Dobriyal, A.K., Gupta, S., Jadon, V.,S.,** 2010, Standardization of sterilization protocol for micropropagation of *Aconitum heterophyllum*- An Endangered medicinal herb, Academic Arena, 2(6).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Süs** **Bitkileri** **Sektör** **Raporu,** 2015,
http://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=24593&tipi=17&sube=0 (Erişim tarihi 28.05.2016).
- Te-chato, S., Nujeen, P., Muangsorn, S.,** 2009, Paclobutrazol enhance budbreak and flowering of Friederick's *Dendrobium* orchid *In Vitro*, Journal of Agricultural Technology, 5(1):151-165.
- Tee, C.S., Maziah, M., Tan, C.S.,** 2008, Induction of *in vitro* flowering in the orchid *Dendrobium* Sonia 17, Biologia Plantarum, 52(4):723-726.
- Tee, C.S., Wong, C.Q., Lam, X.L., Maziah, M.,** 2010, A Preliminary study of protocorm- like- bodies (plbs) induction using leaf explants of *Vanda* and *Dendrobium* orchids, AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol., 18(1), 189-191.
- Teisson, C., Alvard, D.,** 1999, *In vitro* production of potato microtubers in liquid medium using temporary immersion, Potato Research, 42:499-504.
- Tirado, J.M., Naranjo, E.J., Atehortua, L.,** 2005, *In vitro* propagation of *Phalaenopsis* (Orchidaceae) from protocorms, using the temporary immersion system “RITA”, Revista Colombiana de Biotecnologia, VII(1):25-31.
- Tisserat, B., Galletta, P.D.,** 1995, *In vitro* flowering and fruiting of *Capsicum frutescens* L., Hort Sci., 30:130-132.
- Tran Han Van, K.,** 1980, Control of morphogenesis by inherit and exogenously applied factors in thin cell layers, International Review of Cytology, 32, 291-311.
- TÜİK,** 2015, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001 (Erişim tarihi: 28.05.2016).
- Vacin, E., Went, F.W.,** 1949, Some pH changes in nutrient solutions, BOT. GAZ., 110:605-613.
- Vaz, A.P., Figueiredo-Ribeiro, R.C and Kerbaux, G.B.,** 2004, Photoperiod and Temperature Effects on *In Vitro* Growth and Flowering of *P. pusilla*, An Epiphytic Orchid, Plant Physiology and Biochemistry, 42(5):411-415 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wang, G.Y., Xu, Z.H., Chia, T.F., Chua, N.H.,** 1997, *In vitro* flowering of *Dendrobium candidum*, Sci China (Seres C), 40:35–42.
- Wang, Z.H., Wanga, L., Ye, Q.S.,** 2009, High frequency early flowering from *in vitro* seedlings of *Dendrobium nobile*, Sci. Hortic.,122:328–331.
- Yararbaş, R.T.,** 2008, Bazı Orkide Türlerinin *In Vitro* Koşullarda Çoğaltılması, Çiçeklenmesi, Doktora Tezi (Danışman: Prof. Dr. Ercan ÖZZAMBAK), Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı, Bornova, İzmir.
- Yearbook of Statistic Singapore,** 2015, http://www.singstat.gov.sg/docs/default-source/default-document-library/publications/publications_and_papers/reference/yearbook_2015/yos2015.pdf (Erişim tarihi 25.05.2016).
- Young, P.S., Murthy, H.N., Yoeup, P.K.,** 2000, Mass multiplication of protocorm-like bodies using bioreactor system and subsequent plant regeneration in *Phalaenopsis*, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 63:67–72.
- Zhao, P., Wang, W., Feng, F.S., Wu, F., Yang, Z.Q., Wang, W.J.,** 2007, High-frequency shoot regeneration through transverse thin cell layer culture in *Dendrobium Candidum* Wall Ex Lindl., Plant Cell Tiss Organ Cult, 90:131–139.
- Zhu, L. H., Li, X. Y., Welander, M.,** 2005, Optimisation of Growing Conditions for The Apple Rootstock M26 Grown in RITA Containers Using Temporary Immersion Principle, Liquid Culture Systems for *In Vitro* Plant Propagation, (Ed.) Hvoslef-Eide, A. K. ve Preil, W., Springer, The Netherlands, 253–261.
- Zivanovic, B. and Vucinic, Z.,** 1996, Photoperiodic induction of flowering in *Chenopodium rubrum* L. might be controlled by an oscillatory mechanism, Journal Of Plant Physiology.



ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Antakya’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Antakya’da yaptıktan sonra 1999-2003 yılları arasında lisans, 2003-2006 yılları arasında yüksek lisans eğitimini Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümünde tamamladı. Yüksek lisansın ardından dört yıl özel sektörde satış ve koordinatörlük ile ilgili tecrübe kazandıktan sonra 2010 yılında özel bir firmada çalışmaya devam ederken, Ege Üniversitesi Biyoteknoloji Anabilim Dalında tekrar yüksek lisansa başladı. Yüksek lisans ders aşamasını tamamladıktan 2012 yılında doktora geçiş yaptı. Doktora eğitimi süresince 1217.STZ.2012-1 No’lu Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı Bilim ve Teknoloji Genel Müdürlüğü SANTEZ ve 13-BIL-022 No’lu Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerinde tez öğrencisi olarak çalıştıktan sonra tez yazım aşamasında 7150575 No’lu 1507 - TÜBİTAK KOBİ Ar-Ge Başlangıç Destek Programı’nda Ar-Ge personeli olarak görev aldı.