

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Cyclamen persicum* Türünün Yeni Nesil Biyoreaktör Sistemi
Kullanılarak Mikroçoğaltılması**

Dilek TİRYAKİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Mayıs, 2025

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAYI

***Cyclamen persicum* Türünün Yeni Nesil Biyoreaktör Sistemi
Kullanılarak Mikroçoğaltılması**

Dilek TİRYAKİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Bu Yüksek Lisans Tezi/../.... Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Değerlendirilmiş ve Oy Birliği / Oy Çoğunluğu ile Kabul Edilmiştir.

Jüri : Prof. Dr. Yeşim YALÇIN MENDİ (Danışman)
: Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Doç. Dr. Pembe EVCI ÇÜRÜK

Bu Tez Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	8
2.1. Klasik Yöntemlerle Yürütülen Doku Kültürü Çalışmaları	8
2.2. Yeni Nesil Biyoreaktör Sistemiyle Yapılan Çalışmalar.....	13
3. MATERYAL VE METOT	17
3.1. Materyal	17
3.1.1. Bitkisel Materyal.....	17
3.2. Metot	18
3.2.1. Yüzey Sterilizasyonu	18
3.2.2. Besi Ortamlarının Hazırlanması.....	19
3.2.3. Kallus İndükleme Ortamı	21
3.2.4. Farklılaşma ve Somatik Embriyoların Çimlendirme Ortamı	21
3.2.5. Plantform Biyoreaktör Sistemi ile Mikroçoğaltım Denemesinin Kurulması	22
3.2.7. Bitkilerin Dış Ortam Koşullarına Alıştırılması	24
3.2.8. İncelenen Kriterler ve İstatistiksel Analizler.....	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1. Eksplantların Yüzey Sterilizasyonuna Ait Bulgular	25
4.2. Kallus Oluşumuna Ait Bulgular.....	26
4.3. Embriyo Çimlenmesine İlişkin Bulgular	27
4.4. Çimlenen Embriyoların Ağırlığı	29
4.5. Yaprak Klorofil Miktarına Ait Bulgular	30
4.6. Biyoreaktörden Kallustan Embriyoya Dönüşüm Yüzdesi ve Oluşan Embriyoların Ağırlığına İlişkin Bulgular.....	33
4.7. Plantform Sisteminde Embriyodan Bitkiciğe Dönüşüm Yüzdesi	36
4.8. Katı ve Sıvı Ortam Embriyo Ağırlıklarının Karşılaştırılması	40
4.9. Morfolojik Bulgular	41
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	55

***Cyclamen persicum* Türünün Yeni Nesil Biyoreaktör Sistemi Kullanılarak Mikroçoğaltılması**

Dilek TİRYAKİ

Danışman: Prof. Dr. Yeşim YALÇIN MENDİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

ÖZ

Süs bitkisi sektöründe önemi giderek artan *Cylamen* cinsine ait türler iç ve dış mekan süs bitkisi olarak kullanılmaktadır. Günümüzde sıklamen, özellikle saksılı süs bitkisi olarak yaygın şekilde tercih edilmekte ve hem ülkemizde hem de uluslararası alanda ticareti yapılan önemli bitki türleri arasında yer almaktadır. Bu nedenle, sıklamen türlerinin geliştirilmesine yönelik ıslah ve mikroçoğaltım çalışmaları büyük önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında Türkiye’de doğal yayılış gösteren *Cylamen persicum*’da somatik embriyogenezis yöntemi kullanılarak kallus ve embriyo oluşumu sağlamak amacıyla *in vitro*’da katı kültür ve yeni nesil geçici daldırma sistemlerinden Plantform biyoreaktör sistemi kullanılmış ve bitkiye dönüşümleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Tez çalışmasında ön çalışma olarak ½ MS ile birlikte bitki büyüme düzenleyicilerinden 2 mg/L 2,4-D ve 0,8 mg/L 2İP kombinasyonları içeren besi ortamında hem yaprak, hem de yaprak sapı eksplantları kültüre alındıktan sonra karanlık ortamda büyütme odasında tutulmuş ve *in vitro*’da gelişimleri gözlenmiştir. Plantform sistemi için *Cyclamen persicum* türünde ½ MS içeren besi ortamında 3 saat daldırma süresi denenmiştir.

Katı ortamda yaprak eksplantlarından %39,82, yaprak sapı eksplantlarından ise %50,77 oranında embriyo çimlenmesi elde edilmiştir. Plantform sisteminde ise, özellikle CP5 genotipinde yaprak embriyosu kullanıldığında %65’e varan bitkiye dönüşüm başarıları sağlanmıştır. Ayrıca, Plantform biyoreaktör sisteminde gelişen embriyoların ortalama ağırlığı 3,50 g iken, katı ortamda bu değer 2,30 g olarak kaydedilmiştir. SPAD değerleri ise sırasıyla 39,76 ve 29,35 olarak bulunmuştur. Sonuçlar, Plantform biyoreaktör sisteminin bitkiye dönüşüm oranı, embriyo kalitesi ve klorofil miktarı açısından klasik katı kültüre göre bir üstünlük sağladığını ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: *Cylamen persicum*, mikroçoğaltım, Plantform biyoreaktör sistemi

**Micropropagation of *Cyclamen persicum* species using new
generation bioreactor system**

Dilek TİRYAKİ

Supervisor: Prof. Dr. Yeşim YALÇIN MENDİ

Department of Biotechnology

ABSTRACT

Species belonging to the *Cyclamen* genus, which are becoming increasingly important in the ornamental plant industry, are used as indoor and outdoor ornamental plants. Nowadays, cyclamen is widely preferred, especially as a potted ornamental plant, and is among the significant plant species traded both in our country and internationally. Therefore, breeding and micropropagation studies aimed at improving cyclamen species are of great importance.

In this thesis study, to induce callus and embryo formation through the somatic embryogenesis method in *Cyclamen persicum*, which naturally grows in Türkiye, *in vitro* solid culture and the new-generation temporary immersion system, Plantform bioreactor system, were used, and their plant conversion efficiencies were comparatively examined. As a preliminary study, leaf and petiole explants were cultured in a medium containing ½ MS along with 2 mg/L 2,4-D and 0.8 mg/L 2IP plant growth regulators, then kept in a dark growth chamber for observation of their *in vitro* development. For the Plantform system, an immersion time of 3 hours was tested in a medium containing ½ MS for *Cyclamen persicum*.

In the solid medium, embryo germination rates were found to be 39.82% for leaf explants and 50.77% for petiole explants. In the Plantform system, particularly for the CP5 genotype, when leaf embryos were used, a plant conversion success rate of up to 65% was achieved. Additionally, the average weight of embryos developed in the Plantform bioreactor system was recorded as 3.50 g, whereas in the solid medium, this value was 2.30 g. SPAD values were determined as 39.76 and 29.35, respectively. The results demonstrated that the Plantform bioreactor system provides an advantage over conventional solid culture in terms of plant conversion rate, embryo quality, and chlorophyll content.

Keywords: *Cyclamen persicum* ,micropropagation ,Plantform bioreactor system

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezimi yürüttüğüm süre boyunca, her türlü desteğini esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Neslihan.Yeşim YALÇIN MENDİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında bilgi ve önerileriyle yol gösteren, tezimin değerlendirilmesine emek harcayan değerli hocalarım Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR ve Doç. Dr. Pembe EVCI ÇÜRÜK'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans tezimin düzenlenmesinde ve verilerin analizinin her aşamasında fikir ve tecrübeleriyle destek olan Ziraat Yüksek Mühendisi Ömer ÖZAKÇAOĞLU'na teşekkür ederim.

Yüksek Lisans eğitimim boyunca her konuda yardım ve desteklerini gördüğüm laboratuvar çalışma arkadaşlarım, Ziraat müh. Dr. Senem UĞUR'a, tezin fotoğraflarına destek veren Uzman Biyolog Çağlar YILDIZ'a, desteğini hep yanımda hissettiğim ve yardımlarını esirgemeyen Ziraat Yüksek Mühendisi Eda ZEKAİ'ye, Uzman Biyolog İlker Kaya'ya, teşekkür ederim.

Bahçe bitkileri bölümü Yüksek Lisans öğrencisi Velat KOYUN'a, ve Yüksek Lisans öğrencisi Fatih BÜYÜKEKİZ'e tezime gönüllü olarak yardımlarından dolayı teşekkür ederim.Siirt Üniversitesi Bahçe Bitkileri Lisans öğrencisi Bilal AL BENNİ'ye staj dönemi boyunca tezime yardımlarından ve katkılarından dolayı teşekkürü borç bilirim.

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bana destek olan değerli aileme ve kıymetli arkadaşım Ufuk Nergüz'e sonsuz teşekkür ederim.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünya Saksılı Bitkiler ve Kesme Çiçek Üretim Alanları	2
Çizelge 1.2. Türkiye Süs Bitkileri Üretim Alanları 2016-2023 yılı.	4
Çizelge 3.1. Sterilizasyon Denemelerinde Kullanılan Bileşenler ve Uygulama Süreleri.....	18
Çizelge 3.2. 1/2 MS Besi Ortamı İçeriği	20
Çizelge 3.3. MS Ortamlarına Ek Olarak İlave Edilen Bileşenler ve Miktarları	20
Çizelge 4.1. Çimlenen Embriyoların Ağırlıklarına İlişkin Veriler	29
Çizelge 4.2. Klorofil Miktarına ait Bulgular.....	30
Çizelge 4.4. Kallus Ağırlıklarına İlişkin Bulgular	33
Çizelge 4.5. Çimlenen Embriyoların Ağırlıklarına İlişkin Bulgular.....	34
Çizelge 4.6. Embriyo Ağırlıklarına İlişkin Bulgular	35
Çizelge 4.7. Morfolojik Bulgular.....	41
Çizelge 4.8. Yumru Sayısı.....	43
Çizelge 4.9. Kardeşlenme Sayısı	44

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Dünya Kesme Çiçek ve Saksılı Bitkiler Üretim Alanları.....	3
Şekil 1.2.	A- Alanya Kalesinden B-Çukurova Kampüs Alanından Çekilen Doğadan Sıklamen Görselleri	5
Şekil 1.3.	A- <i>Cyclamen persicum</i> ' da Meyve Yapısı, B-Tohum Kapsülü C-Kapsülden Çıkan	5
Şekil 1.4.	<i>Cyclamen persicum</i> Bitkisinin Genel Görünümü ve Kısımları	7
Şekil 3.1.	<i>Cyclamen persicum</i> Türüne ait Beş Saksı Örneğinden Farklı Genotipler A) CP1, B) CP2, C) CP5, D) CP4, E) CP3.....	17
Şekil 3.2.	Sterilizasyon Aşamasına ait Görüntüler. A) Bitkilerin Toplanarak Laboratuvar Ortamına Getirilmesi, B) Eksplantların Musluk Suyu Altında Yüzey Sterilizasyonu, C) Civa ile Muamele, D) EtOH Aşaması, E) Steril Yaprak, Yaprak Sapı Eksplantı	19
Şekil 3.3.	A) Besin Ortamı Hazırlığı, B) Besin Ortamlarının Petri Kaplarına Aktarımı	21
Şekil 3.4.	A) Yaprak ve Yaprak Sapı Eksplantlarının Kallus İndükleme Ortamına Aktarımı, ...	21
Şekil 3.5.	Çimlenen Kallusların Ağırlık Ölçümlerine İlişkin Görsel (A, B)	22
Şekil 3.6.	Plantform Biyoreaktör Sistemi Denemelerinin Kurulmasına Ait Görseller A) Plantform Sistemlerinin Genel Görünümü, B-D) Eksplantlar Plantforma Aktarıldıktan Sonra C) Eksplantlar Plantforma Aktarılırken	23
Şekil 3.7.	Yaprak Klorofil Miktarının Belirlenmesi	23
Şekil 3.8.	Bitkilerin Dış Ortama Aktarılması A) Bitki Köklerinin Besi Ortamından Arındırılması B) Fungusit Çözeltilisine Batırma C) Dış Ortama Aktarılmaya Hazır Bitkiler D) Dış Ortama Aktarılmış Bitkiler	24
Şekil 4.1.	Yaprak Eksplantına İlişkin Sterilizasyon Bulguları	25
Şekil 4.2.	Yaprak Sapı Eksplantına İlişkin Sterilizasyon Bulguları	26
Şekil 4.3.	Kallus Oluşumuna İlişkin Bulgular	26
Şekil 4.4.	Yaprak Eksplantlarından Gelişen Kalluslar (A, B)	27
Şekil 4.5.	Yaprak Sapı Eksplantlarından Gelişen Kalluslar (A, B)	27
Şekil 4.6.	Kallustan Embriyoya Dönüşüm Yüzdesine İlişkin Bulgular.....	28
Şekil 4.7.	Yaprak Eksplantının Embriyo Çimlenme Görselleri (A, B)	28
Şekil 4.8.	Yaprak Sapı Eksplantlarından Çimlenme Görselleri (A, B).....	29
Şekil 4.9.	Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Yüzdesi	30
Şekil 4.10.	Yaprak Klorofil Değerlerine ait Bulgular.....	31
Şekil 4.11.	Klorofil Ölçümünde Kullanılan Katı Ortam Bitkileri (A, B, C).....	31
Şekil 4.12.	Klorofil Ölçümünde Kullanılan Plantform Kültür Kabı Bitkileri (A, B)	32
Şekil 4.13.	Kallustan Embriyoya Dönüşüm Yüzdesi.....	33

Şekil 4.14. Plantform Kültür Ortamında Gelişen Kallus ve Embriyolardan Ağırlık Verilerinin Alınması	34
Şekil 4.15. Plantform Sisteminde Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Yüzdesi (Kontrol)	36
Şekil 4.16. Plantform Biyoreaktör Sisteminde Çimlenme A) Plantform Genel Görünüm.....	36
Şekil 4.17. Katı Besi Ortamında Çimlenme A) Petriden Genel Görünüm B) Yaprak Sapı Embriyo	37
Şekil 4.18. Embriyodan Bitkiciğe Dönüşen Yaprak Embriyoların Plantform Görüntüsü.....	38
Şekil 4.19. Plantform Sisteminde Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Yüzdesi	38
Şekil 4.20. Plantform Sisteminde Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Yüzdesi	39
Şekil 4.21. Plantform Kültür Kabında Gelişen Bitkiler (A, B, C).....	40
Şekil 4.22. Katı ve Sıvı Ortam Embriyo Ağırlıklarına Ait veriler.....	40
Şekil 4.23. A, C) Katı Kültür Ortamında Gelişen Bitkiler B) Plantform Kültür Kabında Gelişen Bitki	41
Şekil 4.24. Cyclamen Bitkisinin Yaprak Ölçümü A) Kumpas Cihazının Genel Görünümü, B) Siklamen Yaprığı; Yaprak En -Boy	42
Şekil 4.25. Katı Ortam ve Plantform Kültür Kabı Köklenme Yüzdeleri.....	42
Şekil 4.26. <i>C. persicum</i> 'da Yumru Gelişimi A, B) Plantformda Gelişen Yumru C) Katı Ortamda Gelişen Yumru.....	43
Şekil 4.27. A, B) Plantform Sisteminde, C) Katı Kültürde Mikroçoğaltım Sonucu Elde Edilen Bitkiler	44
Şekil 4.28. Dış Ortam Koşullarına Alıştırılan Bitkiler	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

2,4-D	: 2,4-dichlorophenoxyaceticacid
2iP	: 6-(γ , γ -dimethylallylamino)purine
cm	: Santimetre
cm ²	: Santimetre kare
Fe EDTA	: Demir Etilendiamintetraasetik Asit
g	: Gram
HgCl ₂	: Civa Klorür
MS	: Murashige ve Skoog Besi Ortamı
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
°C	: Santigrat derece
mM	: Mikromolar
dk	:Dakika
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
Ö.D.	: Önemli Değil
L	: Litre
μ l	: Mikrolitre
BBD	: Bitki Büyüme Düzenleyici
NAA	: Naftalenasetik asit
BA	: Benzi ladenin
TDZ	: Thidiazuron
ELS	: Embryo-like structures (Embriyo Benzeri Yapı)

1. GİRİŞ

Türkiye coğrafi konumu itibari ile Avrupa-Sibirya, İran-Turan ve Akdeniz bölgelerinin kesiştiği bir noktada 3 farklı gen kuşağı içerisinde yer almaktadır. Farklı gen kuşakları içerisinde yer alması iklim özelliklerinin geniş olmasına imkân sunarken, bu da zengin doğal bitki örtüsüne sahip olmasına olanak tanımaktadır. Ülkemiz bulunduğu özel konum itibariyle yaklaşık 12 bin bitki taksonuyla dünyada önemli bir konumdadır (Çürük ve Mendi, 2016).

Günümüzde hızlı kentleşme, sanayileşme ve teknolojik gelişmelerin etkisiyle stresli iş ve yaşam koşullarının artması, bireylerin doğaya duyduğu özlemi ve ihtiyacı önemli ölçüde artırmıştır. Bu bağlamda süs bitkileri, yalnızca iç ve dış mekanlarda hobi amaçlı yetiştirilmenin ötesinde, bireylerin doğayla olan bağını güçlendirme işlevi görmektedir. Ayrıca, süs bitkileri yetiştiriciliği, büyük ekonomik potansiyele sahip bir tarımsal faaliyet olarak dikkat çekmektedir. Özellikle 20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren üretim alanı ve ekonomik değeri bakımından dünya genelinde hızla gelişen bu sektör, bilgi ve deneyimlerin artmasıyla birlikte, yetiştiricilikten satış süreçlerine kadar geniş bir yelpazeyi kapsayan bir "Süs Bitkileri Endüstrisi" olarak tanımlanmaya başlamıştır (Karagüzel ve ark., 2010).

Süs bitkileri sektörü, bitkisel üretim alanında önemli bir konuma sahip olup, yüksek katma değer yaratma potansiyeli ile öne çıkan bir ekonomik faaliyet alanıdır. Özellikle büyük ihracat kapasitesi sayesinde dünya genelinde giderek artan bir öneme sahiptir. Süs bitkileri ve çiçekler, özel günlerde, sosyal etkinliklerde ve çeşitli organizasyonlarda estetik bir dekorasyon unsuru olarak yaygın biçimde tercih edilmekte ve bu doğrultuda popülaritesi sürekli artış göstermektedir. Bunun yanı sıra, konut sektöründe iç mekan bitkileri ve çiçeklere olan talebin artışı, çiçek ve süs bitkileri pazarındaki büyümeyi tetikleyen temel faktörlerden biridir. Süs bitkileri, kullanım alanlarına ve amaçlarına bağlı olarak dört ana ürün grubunda sınıflandırılmaktadır:

- Kesme Çiçekler
- İç Mekan (Saksılı) Süs Bitkileri
- Dış Mekan Süs Bitkileri
- Doğal Çiçek Soğanları

2022 yılı verilerine göre, dünya genelinde kesme çiçek ve saksılı bitkiler üretimi toplamda yaklaşık 735.500 hektarlık bir alanı kapsamaktadır. Dünya süs bitkileri üretim alanlarının %77'si, yani 570.000 hektarlık kısmı, Asya/Pasifik bölgesinde yer almaktadır. Bu bölge, özellikle Hindistan ve Çin gibi ülkelerin öncülüğünde, dünya süs bitkileri üretiminde en önemli merkezlerden biri haline gelmiştir. Çizelge 1.1'de Dünya Saksılı Bitkiler ve Kesme Çiçek Üretim Alanları verilmiştir.

Çizelge 1.1. Dünya Saksılı Bitkiler ve Kesme Çiçek Üretim Alanları (Dünya Süs Bitkileri Sektörü Raporu, 2023)

BÖLGE	ALAN (HEKTAR)
AVRUPA	60.000
ORTA DOĞU	8.500
AFRİKA	18.000
ASYA & PASİFİK	570.000
KUZEY AMERİKA	33.000
ORTA & GÜNEY AMERİKA	46.000
TOPLAM	735.500

Dünya genelinde süs bitkileri üretimi, 20. yüzyılın başlarından itibaren önem kazanmaya başlamıştır. Günümüzde, süs bitkileri üretimi 40'tan fazla ülkede gerçekleştirilmektedir. Bu ülkeler arasında gelişmiş ülkelerin yanı sıra, Kenya ve Ekvador gibi gelişmekte olan ülkeler de bulunmaktadır. Özellikle, bu ülkeler uygun iklim koşulları ve düşük maliyetli iş gücü avantajlarından yararlanarak sektörden önemli gelirler elde etmektedir. Dünya genelindeki süs bitkileri ticaret hacmi 50 milyar doları aşan bir değere sahiptir. Tüketim ise başta Avrupa, ABD ve Japonya gibi yüksek satın alma gücüne sahip pazarlarda yoğunlaşmaktadır.

Dünya genelinde süs bitkileri üretimi gerçekleştiren önde gelen ülkeler arasında Hindistan, Çin, ABD, Japonya, Brezilya, İtalya, Tayland, Güney Afrika, Meksika, Kolombiya, Hollanda ve İngiltere bulunmaktadır. Hindistan, Çin, Japonya, Meksika, Brezilya ve Tayland gibi ülkeler, üretimlerini genellikle kendi iç pazarlarına yönelik gerçekleştirmektedir. Buna karşın, Latin Amerika ve Afrika'da bulunan Kolombiya, Ekvador, Etiyopya ve Kenya, uygun iklim koşulları ve düşük iş gücü maliyetleri gibi avantajlarıyla son yıllarda üretim kapasitelerini hızla artırmış ve dünyanın önde gelen süs bitkileri üreticileri arasında yer almayı başarmıştır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Dünya Kesme Çiçek ve Saksılı Bitkiler Üretim Alanları (Dünya Süs Bitkileri Sektörü Raporu, 2023)

Türkiye’de süs bitkileri üretim alanı her yıl artış göstermekte olup, 2023 yılı verilerine göre toplamda 58.146 dekar alanda yetiştiricilik yapılmaktadır. Üretim alanlarında en büyük payı, dış mekan süs bitkileri (%70,6) almakta olup, bunu sırasıyla kesme çiçekler (%25,3), iç mekan süs bitkileri (%3,6) ve çiçek soğanları (%0,6) takip etmektedir. Çizelge 1.2’de Türkiye Süs Bitkileri Üretim Alanları verilmiştir.

Çizelge 1.2. Türkiye Süs Bitkileri Üretim Alanları 2016-2023 yılı (TÜİK,2024).

Ürün Grubu	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Kesme Çiçekler	11.949	11.748	11.920	12.374	12.374	12.652	12.652	14.665
İç Mekân Süs Bitkileri	1.312	1.650	2.081	1.992	1.992	1.794	1.839	2.067
Dış Mekân Süs Bitkileri	34.721	36.623	37.307	37.699	37.699	39.185	39.985	41.026
Çiçek Soğanları	597	426	494	412	412	506	551	347
Toplam	48.579	50.087	51.802	52.477	52.477	55.291	56.865	58.146

Sıklamen, uluslararası düzeyde ticareti en yaygın ve süs bitkisi olarak sıklıkla tercih edilen bitki cinslerinden biridir. *Cyclamen* isminin kökeni, Latince “kuklamis” ve “kuklamiren” sözcüklerinden türemiştir. Latince “kuklos” veya “cyclos” kelimeleri ise daire anlamını taşımaktadır. Bu isim, M.Ö. 370-285 yılları arasında yaşamış olan botanikçi Theophrastus tarafından verilmiştir. Bitkinin bu adla anılmasının nedeni, toprak altındaki yumrularının yuvarlak şekli, yapraklarının dairesel formu veya meyve saplarının helezonik bir şekilde kıvrılarak toprağa doğru uzanmasıdır (Tanker ve Türköz, 1984) (Şekil 1.2).

Cyclamen cinsi, ismini Yunanca’da “kyklos” kelimesinden türemiş olup, bu terim küresel yumruya veya spiral sapa atıfta bulunmaktadır. Romalılar tarafından “Cyclamin” olarak adlandırılan bu cins, 1700’lü yıllarda Fransız botanikçi Joseph Pitton de Tournefort tarafından “*Cyclamen*” ismiyle tanımlanmıştır. Sıklamen bitkisinin yumruları, domuzların sıklıkla tüketmesi nedeniyle “domuz elması,” “domuz turpu” ve “domuz ekmeği” gibi adlarla anılmıştır. Ayrıca, halk arasında “alayaparak,” “yer somunu,” “tavşankulağı” ve “şeytan kabalağı” gibi farklı isimlerle de bilinmektedir (Acar ve Tekin, 2018).



Şekil 1.2. A- Alanya Kalesinden B-Çukurova Kampüs Alanından Çekilen Doğadan Siklamen Görselleri



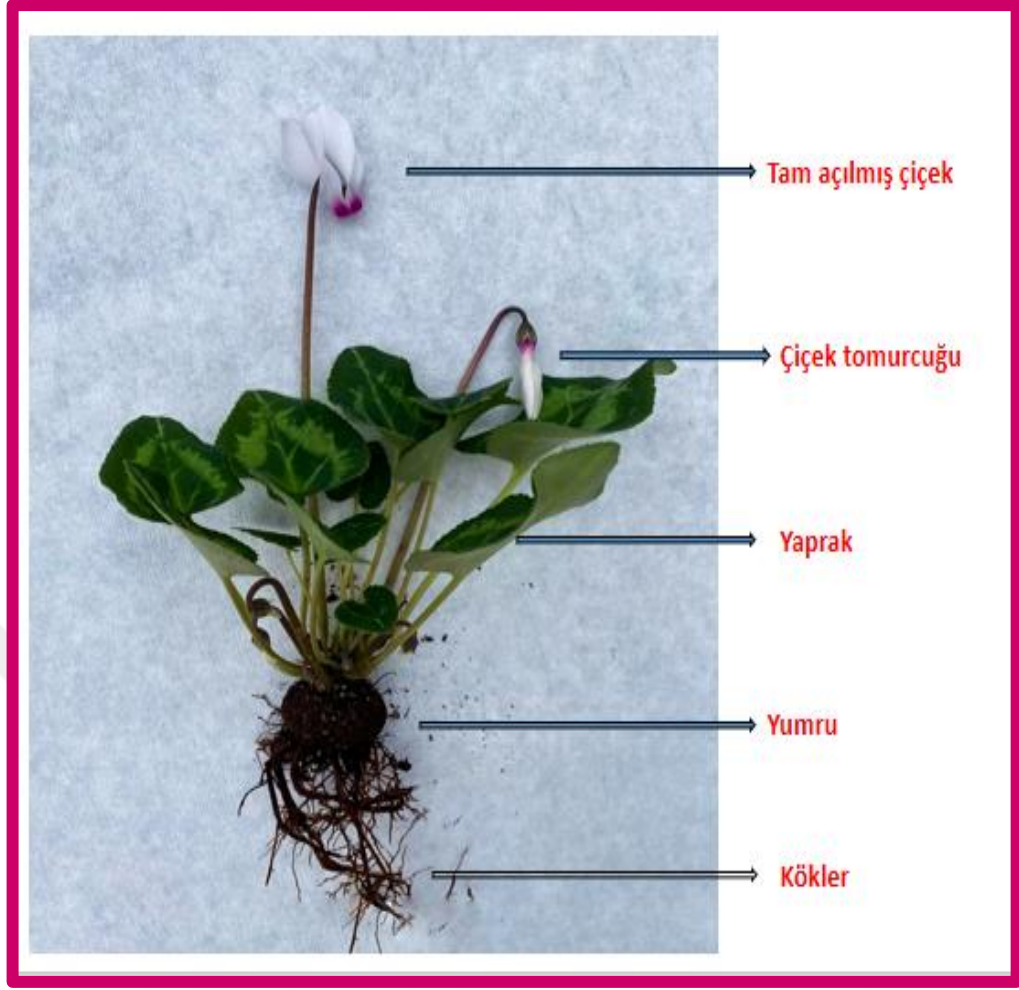
Şekil 1.3. A- *Cyclamen persicum*’ da Meyve Yapısı, B-Tohum Kapsülü C-Kapsülden Çıkan Tohumlar

Cyclamen cinsi, *Ericales* takımına, *Myrsinoideae* familyasına ait olup, 24 türden oluşmaktadır. Türkiye’de doğal olarak iki farklı dönemde çiçeklenme göstermektedir; bazı türler ilkbaharda, bazıları ise sonbaharda çiçek açmaktadır. *Cyclamen* türleri, yumrulu, çok yıllık ve otsu bitkiler olarak bilinmektedir. Çiçekler, genellikle tek bir sap üzerinde, öne doğru eğilmiş şekilde açar. Çiçek sapları uzun olup, olgunlaştıkça genellikle spiral biçimde kıvrılmaktadır. Kaliks yapısı beş lobdan oluşmaktadır. Stamenler beş adettir ve korollanın tabanına yerleşmiştir. Filamentler

oldukça kısa, anterler ise geniş olup koni şeklinde bir araya gelmektedir. Tohumlar yumuşak, ıslak bir yapıya sahip olup, genellikle tek bir tohum bulunmaktadır (Davis, 1978) (Şekil 1.3).

Cyclamen persicum, geleneksel olarak tohumlar aracılığıyla çoğaltılmaktadır. Ancak ana bitkilerin üretimi ve çoğaltılması zorlu bir süreçtir ve tohumlar genellikle pahalıdır. Bu nedenle, ıslahçılar ve araştırmacılar, bitkilerin çoğaltılmasında özellikle vejetatif üretim yöntemlerini tercih etmektedir. Vejetatif üretim, daha hızlı ve verimli bir çoğaltma sağlayarak, tohum maliyetlerini düşürmekte ve üretim sürecini kolaylaştırmaktadır (Çelik ve Yılmaz, 2019).

Cyclamen, vejetatif gelişim döneminde, 15-20 °C sıcaklık aralığında, generatif dönemde ise 12-15 °C sıcaklıkta optimum gelişim göstermektedir. Sıcaklık değerlerinin artması, yaprak gelişimini teşvik ederken çiçeklenmeyi olumsuz yönde etkileyebilir. *Cyclamen*, %70 nispi nem koşullarında daha sağlıklı büyüme göstermekte ve bu nem oranı, bitkinin genel gelişimini desteklemektedir. Çiçekli dönemde, çiçek kalitesinin korunması amacıyla üstten sulama yapılmamalıdır. Bitki, uzun gün periyotlarında ve yüksek ışık seviyelerinde daha fazla çiçek tomurcuğu oluşturur. Ancak çiçeklenme döneminde doğrudan güneş ışığına maruz bırakılmamalı, bol aydınlık fakat dolaylı ışık alan bir ortamda bulundurulmalıdır. Yaz aylarında, bitkiye %60 oranında gölgeleme yapılması önerilir. Yetişkin bitkiler için 20.000 lux, genç bitkiler için ise 60.000 lux aydınlatma seviyesi uygun görülmektedir. Çiçeklenme dönemi sona erdiğinde, sulama miktarı kademeli olarak azaltılmalı ve bitkinin dinlenme dönemine geçişi sağlanmalıdır (Boztok, 2002).



Şekil 1.4. *Cyclamen persicum* Bitkisinin Genel Görünümü ve Kısımları

Cyclamen, *Myrsinaceae* familyasına ait bir bitkidir (Jalali ve ark., 2012; Çürük ve ark., 2015). *Myrsinaceae* familyası 22 tür ile dünyada yayılış alanına sahiptir. Bu 22 türün 10 tanesi ülkemizde doğal yayılış alanı gösterirken aynı zamanda 6'sı endemiktir (Çürük ve ark., 2016).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Klasik Yöntemlerle Yürütülen Doku Kültürü Çalışmaları

Gündoğan, (2003) Türkiye’de doğal olarak yetişen *Cyclamen* cinsine ait türleri, çiçeklenme dönemlerine göre sınıflandırmıştır. İlkbaharda çiçeklenen türler arasında *Cyclamen persicum* Miller, *C. pseudibericum* Hildebr, *C. coum* Miller, *C. alpinum* Dammann ex Spreng, *C. trochopteranthum* O. Schwarz ve *C. parviflorum* Pobed bulunmaktadır. Sonbaharda çiçeklenen türler ise *C. hederifolium* Aiton, *C. graecum* Link, *C. cilicium* Boiss ve Heldr ve *C. mirabile* Hildebr olarak belirtilmiştir.

Ekim ve ark (1991), Türkiye’de yetişen endemik *Cyclamen* türlerini şu şekilde sıralamıştır: *C. repandum* Sm. in Sibth. & Sm., *C. parviflorum* Pobed., *C. pseudibericum* Hildebr., *C. trochopteranthum* O. Schwarz., *C. cilicium* Boiss. & Heldr. ve *C. mirabile* Hildebr. Bu altı endemik tür, Anadolu coğrafyasında geniş bir yayılım göstermektedir (Çürük, 2013).

Prange ve ark (2010), farklı *Cyclamen* türlerinin somatik embriyogenez yöntemiyle rejenerasyon süreçlerini kapsamlı bir şekilde incelemişlerdir. Araştırmada özellikle *C. mirabile*, *C. alpinum*, *C. graecum* ve *C. persicum* türleri ele alınmıştır. Çalışmada, bu türlerin genotip bağımlı rejenerasyon kapasiteleri ve somatik embriyo üretimindeki farklılıklar detaylı olarak değerlendirilmiştir. *C. persicum*, araştırmada referans tür olarak kullanılmıştır ve diğer türlerin embriyogenez süreçleriyle karşılaştırılmıştır. *C. persicum*’da klasik ıslah yöntemlerinin geniş ölçüde kullanıldığı, ancak türler arası melezleme çabalarının çoğunlukla başarısız olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte, somatik embriyogenez yöntemiyle *C. persicum*’dan başarılı bir şekilde embriyogenik kallus üretimi sağlanmıştır. Araştırma, bu türün protoplast kültürü ve bitki rejenerasyonu süreçlerinde yüksek bir başarı oranına sahip olduğunu göstermektedir. Protoplast kültürlerinde ise *C. persicum*, alginat içinde yerleştirilen protoplastlar aracılığıyla başarılı bir şekilde mikro kallus ve somatik embriyo üretmiştir. Agaroz kullanılan kültürlerde ise hücre bölünmesi ve gelişimi sınırlı kalmış, bu durum kültür ortamının seçiminde belirli türler için optimizasyonun gerekliliğini vurgulamıştır. *Cyclamen* türlerinde somatik embriyogenez ve protoplast rejenerasyonunun türler arası genetik çeşitliliği ortaya koyduğunu ve yeni bitki ıslahı yöntemleri için bir temel oluşturduğunu göstermektedir. *C. persicum*, türler arasında karşılaştırma için değerli bir model oluşturmuş, diğer türler ise Anadolu’nun endemik florasına katkıda bulunabilecek genetik kaynaklar olarak değerlendirilmiştir.

Jalali ve ark (2012), *C. persicum* ve diğer türlerin doku kültürü yöntemleri üzerine kapsamlı bir inceleme gerçekleştirmiştir. Çalışmada, *Cyclamen* türlerinin organogenez, kallus kültürü, somatik embriyogenez ve tüpleşme süreçleri ayrıntılı olarak ele alınmıştır. Araştırmada, özellikle *C. persicum*’un doku kültüründe geniş çapta kullanılan bir model tür olduğu ve yüksek somatik embriyo üretimi kapasitesine sahip olduğu vurgulanmıştır. Organogenez süreçlerinde, farklı doku kültürü teknikleri ve büyüme düzenleyicileri (örneğin, NAA, BA, TDZ) kullanılarak

petiole, yaprak, kök ve tüp gibi farklı bitki parçalarının rejenerasyon kapasitesi incelenmiştir. *C. persicum*, diğer türlere kıyasla tüp ve petiole eksplantlarında daha yüksek bir rejenerasyon başarısı göstermiştir. Somatik embriyogenezde, 1/2 MS besi ortamında düşük konsantrasyonlu 2,4-D ve kinetin kombinasyonlarının etkili olduğu bulunmuştur. Araştırma ayrıca, somatik embriyogenez yoluyla üretilen embriyoların biyoreaktörlerde büyük ölçekli çoğaltılma potansiyeline dikkat çekmektedir. Bununla birlikte, somatik embriyo üretimindeki genotip bağımlılığı ve düşük çimlenme oranları gibi sınırlamalar vurgulanmıştır. Çalışma, *Cyclamen* türlerinin genetik çeşitliliğini koruma ve yeni bitki ıslah programlarına katkı sağlama açısından kritik bir öneme sahiptir. Jalali ve arkadaşları, doku kültürünün *Cyclamen* türlerinin ticari üretimi ve biyoteknolojik araştırmaları için etkin bir araç olduğunu belirtmektedir. Çalışmada ayrıca, somatik embriyogenez süreçlerinin optimizasyonu ve kültür ortamlarının iyileştirilmesi için daha fazla araştırma yapılması gerektiği önerilmektedir.

Koçak ve ark (2014), Türkiye florasında doğal olarak yetişen *C. persicum* genotiplerinin somatik embriyogenez süreçlerini detaylı bir şekilde incelemişlerdir. Çalışmada, *C. persicum*'un farklı genotiplerinden elde edilen dört farklı eksplant (ovaryum, ovül, yaprak ve petiyol) kullanılarak kallus indüksiyonu ve somatik embriyo üretimi değerlendirilmiştir. Bu araştırma, *C. persicum* türünün genetik çeşitliliği koruma ve ticari kullanım potansiyelini artırma amacıyla önemli bulgular sunmaktadır. Araştırmada, embriyojenik kallus indüksiyonu için yarım konsantrasyon Murashige ve Skoog (MS) besi ortamı kullanılmıştır. Kallus üretim oranları eksplant tipine bağlı olarak önemli farklılıklar göstermiştir. Petiyol eksplantları en yüksek kallus oluşumunu sağlarken, somatik embriyolar en verimli şekilde ovaryum eksplantlarından elde edilmiştir. Genotipler arasında da önemli varyasyonlar gözlemlenmiş; C-15 genotipi, kallus oluşumu bakımından en yüksek başarıyı göstermiştir. Somatik embriyogenez sürecinde, kallus kültürlerinin bitki büyüme düzenleyicileri içermeyen besi ortamına aktarılmasının embriyo farklılaşmasını teşvik ettiği belirtilmiştir. Embriyojenik kallusların genellikle açık kahverengi, yumuşak ve homojen olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, petiyol ve yaprak eksplantlarından üretilen embriyoların diğer eksplantlara göre daha kolay ayrılabilirdiği ve bireysel olarak alt kültüre alınabildiği rapor edilmiştir. Araştırmanın sonuçları, somatik embriyogenez protokollerinin *Cyclamen persicum*'un klonal çoğaltılması ve genetik iyileştirilmesi için uygulanabilir olduğunu ortaya koymaktadır. Bu türden elde edilen somatik embriyoların kriyoprezervasyon, kapsülleme ve vegetatif çoğaltma gibi biyoteknolojik uygulamalarda kullanılabileceği belirtilmiştir.

Koçak (2012), *C. persicum*'da somatik embriyogenez sürecinin optimizasyonunu hedefleyen çalışmasında, çeşitli eksplant kaynakları (ovul, ovaryum, yaprak ve yaprak sapı) üzerinde araştırmalar yapmıştır. Çalışmada, farklı eksplant tiplerinin kallus ve somatik embriyo oluşturma kapasiteleri karşılaştırılmış ve genotipik farklılıklar belirlenmiştir. En yüksek kallus oluşumu yaprak sapı eksplantında görülürken, somatik embriyo oluşum oranı ovaryum eksplantında en yüksek düzeye ulaşmıştır. Araştırmada kullanılan hormon protokollerine göre,

kallus indüksiyonu için 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ve 6-(γ,γ -dimethylallylamino) purine (2iP) kombinasyonu etkili bulunmuştur. Bunun yanı sıra, hormon içermeyen besi ortamında kallusların somatik embriyoya dönüşüm oranları incelenmiştir. Embriyoların morfolojik gelişimi ve olgunlaşma süreçleri detaylı şekilde gözlemlenmiş, kallusların embriyoya dönüşüm oranının %11.3 ile en yüksek ovaryum eksplantlarında olduğu belirlenmiştir. Biyoreaktör kullanımı açısından çalışma, embriyogenik kallusların farklılaşma ve embriyo oluşumu süreçlerinde biyoteknolojik potansiyeli vurgulamaktadır. Ancak bu tezde biyoreaktörler üzerinde spesifik bir uygulama yapılmamış olup, literatürde yer alan biyoreaktör çalışmaları ile bağlantılı bilgiler referans alınmıştır.

Uğur (2024), *C. persicum* üzerinde fiziksel mutagenler (Kobalt-60 ve Sezyum-137) kullanılarak yapılan mutasyon ıslahı çalışmaları kapsamında, bu türün genetik çeşitliliğini artırma ve yeni çeşitler geliştirme potansiyelini değerlendirmiştir. Çalışmada, gama ışını dozlarının etkili mutasyon dozunu belirleme üzerindeki rolü incelenmiş ve türün morfolojik, fizyolojik ve fenotipik özellikleri detaylı şekilde analiz edilmiştir. Araştırma, tohumlar ve bitki materyali üzerinde farklı gama ışını dozlarının uygulanmasını kapsamaktadır. Kobalt-60 kaynağı ile doz farkı nedeniyle etkili mutasyon dozu hesaplanamazken, Sezyum-137 kaynağı ile bu değer 301.9 Gy olarak hesaplanmıştır. Daha yüksek çimlenme oranı için bu doz 290 Gy olarak optimize edilmiştir. Sonuçlar, *C. persicum*'un gama ışınları ile mutasyon ıslahına duyarlı olduğunu ve morfolojik özellikler açısından umut vadeden genotiplerin elde edildiğini göstermektedir. Özellikle yaprak büyüklüğü, çiçek morfolojisi ve renk özelliklerindeki varyasyonlar dikkat çekmiştir. Bununla birlikte, ışınlama sonrası bazı fizyolojik anormalliklerin (örneğin, yaprak deformasyonu ve klorofil kaybı) ortaya çıktığı belirtilmiştir.

Rode ve ark (2011), *C. persicum* somatik embriyogenez sürecinde proteomik değişiklikleri analiz etmiş ve bu süreçteki fizyolojik mekanizmaları detaylandırmıştır. Çalışmada, embriyo gelişiminin farklı aşamaları için proteinlerin bolluğu incelenmiş ve depolama bileşiklerinin birikimi gibi embriyo olgunlaşma sürecine özgü belirteçler tanımlanmıştır. Yazarlar, torpido şeklindeki embriyolarda sukroz seviyesinin ve absisik asidin (ABA) depolama bileşiklerinin birikimini artırdığını ve embriyo kalitesini olumlu yönde etkilediğini vurgulamışlardır. Ayrıca, yüksek sukroz konsantrasyonu ve ABA uygulamasının embriyo olgunlaşmasını teşvik ettiğini, ancak embriyoların oksidatif stres belirtileri gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu durum, embriyoların biyoteknolojik uygulamalarda kullanımı için önemli bilgiler sunmaktadır.

Winkelmann ve Serek (2005), *C. persicum* türlerinde somatik embriyogenez üzerine genotipik farklılıkları ve biyoteknolojik potansiyeli detaylı şekilde incelemiştir. Çalışmada, 32 farklı F1 hibrit çeşidi üzerinde kallus oluşumu ve somatik embriyo rejenerasyonu değerlendirilmiştir. Çeşitler arasında kallus oluşumu oranı %42 ile %85 arasında değişirken, somatik embriyo rejenerasyonu %0 ile %65 arasında farklılık göstermiştir. Mini ve giganteum tipleri, midi tiplerine kıyasla daha yüksek rejenerasyon oranlarına sahip olmuştur. Araştırmada

kallus indüksiyonu için Murashige ve Skoog (MS) besi ortamı 2,4-D ve 2iP gibi büyüme düzenleyicilerle zenginleştirilmiş ve embriyogenik kallusların gelişimi 8 hafta boyunca takip edilmiştir. Bununla birlikte, embriyo rejenerasyonu için hormon içermeyen bir ortamda kültürler devam ettirilmiştir.

You ve ark (2011), *C. persicum* türü için yüksek verimli döngüsel ikincil somatik embriyogenez sistemini tanımlamış ve bu süreçte kullanılan birincil somatik embriyoların (PSE) farklı gelişim aşamalarındaki etkilerini detaylı bir şekilde incelemiştir. Çalışma, PSE'lerin globüler embriyolar (GE), torpedo evresi embriyoları (TE) ve diğer morfolojik evrelerdeki kapasitesine odaklanmıştır. Araştırma bulguları, PSE kaynaklı embriyogenik kallusların %90'ın üzerinde bir oranda üretildiğini ve büyük globüler embriyoların, yüksek ikincil somatik embriyo (SSE) üretim kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle, ilk geçişten elde edilen kalluslardan gram başına 3.306 SSE üretilmiş, bu da kallus yenilemenin embriyogenik kapasiteyi artırdığını göstermiştir. Sonuç olarak, You ve arkadaşlarının çalışması, *C. persicum* türünde somatik embriyogenez süreçlerinin optimizasyonu ve döngüsel embriyogenik sistemlerin uzun vadeli potansiyelini vurgulamaktadır. Bu bulgular, bitki biyoteknolojisi ve ticari üretim için önemli bir katkı sunmaktadır.

Alkowni ve ark (2018), *C. persicum* türünün yumru özütlerinin fitokimyasal içeriği ve antibakteriyel aktivitesini değerlendirmiştir. Çalışmada, dört farklı çözücü (metanol, etanol, hekzan ve su) ile hazırlanan dokuz özüt, çeşitli gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı agar difüzyon yöntemiyle test edilmiştir. Araştırmada, *C. persicum* yumru özütlerinin gram-pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis*) karşı etkili olduğu, ancak gram-negatif bakterilere (*Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*) karşı hiçbir inhibisyon göstermediği tespit edilmiştir. Çalışma, saponin glikozitlerinin *C. persicum* özütlerindeki başlıca aktif bileşenler olduğunu ve bu bileşenlerin metanol bazlı özütlerde daha yoğun bulunduğunu ortaya koymuştur. Metanol ekstraksiyonu, özellikle 10 saatlik uzun ekstraksiyon süresiyle, en yüksek antibakteriyel aktiviteyi göstermiştir. Çalışmada ayrıca hekzan ve su bazlı özütlerin antibakteriyel etkiler göstermediği ve bu nedenle kontrol olarak kullanıldığı belirtilmiştir. *C. persicum*'un tuber özütlerinden metanol kullanılarak elde edilen ekstraktların gram-pozitif bakterilere karşı etkili bir antibakteriyel ajan olarak kullanılabileceğini öne sürmektedir. Özellikle, metanolün uzun süreli ekstraksiyonu (MLt yöntemi), hem fitokimyasal içerik hem de antibakteriyel aktivite açısından en etkili yöntem olarak tanımlanmıştır.

Tütüncü (2020), *C. persicum* üzerinde ışınlanmış polen yöntemiyle partenogenezis çalışmalarını incelemiş ve farklı gama ışın dozlarının polen canlılığı, polen çimlenmesi ve embriyo gelişimi üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Çalışmada, Co-60 kaynağı kullanılarak farklı ışın dozları (0, 50, 100, 150, 200, 300, 450 Gy) uygulanmış ve elde edilen polenlerle yapılan tozlama sonrası ovül kültürü teknikleriyle embriyo kurtarma süreçleri optimize edilmiştir. Araştırma bulguları, polen canlılık oranlarının ışın dozlarından önemli ölçüde etkilenmediğini (%82-87 aralığında)

ancak çimlenme oranlarının dozlara bağlı olarak değiştiğini göstermiştir. En yüksek çimlenme oranı %65 iken, en düşük oran %31 olarak tespit edilmiştir. Histolojik analizlerde, tozlamadan sonraki 20. günde embriyo gelişiminin başladığı ve ovül kültürü ile %2,66 oranında embriyo uyartımı sağlandığı belirlenmiştir. Çalışma, *in situ* partenogenez yönteminin, *C. persicum* gibi dölllenme biyolojisi açısından zorlu türler için etkili bir haploidizasyon tekniği sunduğunu göstermiştir.

Sezgin ve Kapdan (2019), Türkiye'de yetişen tıbbi ve aromatik bitkilerin biyoteknolojik yöntemlerle çoğaltılmasına yönelik yapılan çalışmaları kapsamlı bir şekilde derlemiştir. Çalışmada, *C. persicum* da dahil olmak üzere birçok bitkinin somatik embriyogenez, organogenez ve biyoreaktör uygulamaları gibi *in vitro* yöntemlerle üretilmesine dair bulgular ele alınmıştır. Araştırmada, *C. persicum*'un somatik embriyo üretiminde MS besin ortamının etkinliği ve büyüme düzenleyicilerin embriyo gelişimine olan etkileri detaylandırılmıştır. Özellikle, 2,4-D ve NAA gibi büyüme düzenleyicilerinin doğru kombinasyonlarda kullanıldığında kallus oluşumunu ve embriyo gelişimini olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir. Çalışma, biyoreaktörlerin somatik embriyogenez süreçlerini optimize etmedeki potansiyeline vurgu yapmıştır. Biyoreaktörlerin oksijen ve besin dağılımını eşit şekilde sağlaması, daha yüksek embriyo üretim oranlarına ulaşılmasına olanak tanıdığı belirtilmiştir. Bu, özellikle ticari üretim için büyük ölçekli uygulamalarda önemli bir avantaj sağlamaktadır. Sezgin ve Kapdan'ın çalışması, *C. persicum* gibi tıbbi ve aromatik bitkilerin biyoteknolojik yöntemlerle üretiminde somatik embriyogenez ve biyoreaktör uygulamalarının önemini vurgulamaktadır. Çalışma, bu yöntemlerin Türkiye'deki flora çeşitliliği için sürdürülebilir bir çözüm sunduğunu ve tıbbi bitki üretiminde yüksek verimlilik sağladığını göstermektedir.

Cengiz ve Mendi (2016), *C. persicum* ve *C. coum* türlerinde farklı büyüme düzenleyicileri, eksplant tipleri ve genotiplerin organogenezis üzerindeki etkilerini incelemiştir. Çalışmada, yaprak, yaprak sapı ve yumru eksplantları kullanılarak kallus ve sürgün oluşumu araştırılmıştır. Denemelerde farklı büyüme düzenleyicileri (GA3, Prolin, Spermin, NAA, IBA, BA ve Kinetin) ve çeşitli besin ortamları (MS, B5, ROM ve WPM) kullanılmıştır. Araştırma sonuçları, kallus oluşum oranlarının eksplant tipi ve kullanılan ortam kombinasyonlarına göre değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur. *C. persicum*'da en yüksek kallus oluşum oranı %39.6 ile yumru eksplantlarından ve MS ortamında elde edilmiştir. Sürgün oluşumu ise %14.58 ile yaprak sapı eksplantları ve WPM ortamında gözlenmiştir. Kök oluşumu açısından en iyi sonuç, WPM ortamında yaprak sapı eksplantlarında %12.5 oranında elde edilmiştir.

İzgü ve ark. (2016), Türkiye'ye endemik dört *Cyclamen* türü (*C. cilicium*, *C. parviflorum*, *C. mirabile* ve *C. pseudibericum*) için etkili bir embriyo-benzeri yapı (ELS) rejenerasyon protokolü geliştirmiştir. Çalışmada dört farklı eksplant (yaprak, petiyol, ovül ve ovaryum) ve 2,4-D ile 2iP hormonlarının 13 farklı kombinasyonu test edilmiştir. En yüksek kallus indüksiyonu *C. pseudibericum* türünün petiyollerinden elde edilirken, en fazla ELS oluşumu da yine bu türde petiyol ve ovaryum kaynaklı eksplantlardan elde edilmiştir. Elde edilen bitkicikler %25–70

oranında başarıyla dış ortama adapte edilmiştir. Bu çalışma, endemik *Cyclamen* türlerinin genetik kaynaklarının korunmasında in vitro rejenerasyonun etkinliğini ortaya koymaktadır.

2.2. Yeni Nesil Biyoreaktör Sistemiyle Yapılan Çalışmalar

Hvoslef-Eide ve Munster (1998), *C. persicum* türünün somatik embriyogenez yoluyla biyoreaktör sistemlerinde çoğaltılabilirliğini araştırmışlardır. Bu çalışmada, sıvı besin ortamında karıştırmalı bir biyoreaktör prototipi geliştirilmiş ve embriyogenik kültürlerin bu ortamda büyüme ve embriyo oluşturma potansiyelleri test edilmiştir. Deneysel biyoreaktör, homojen karıştırmayı sağlayacak şekilde tasarlanmış ve kültürün gaz alışverişi ile besin maddelerine daha iyi erişimi hedeflenmiştir. Çalışmanın sonucunda, biyoreaktör ortamında somatik embriyo oluşumunun klasik yarı katı kültürlerle kıyasla daha verimli olduğu, ayrıca embriyolardan sağlıklı bitki gelişimi sağlanabildiği belirtilmiştir. Bu bulgular, *Cyclamen* gibi zor rejenerasyon gösteren süs bitkilerinin büyük ölçekli üretiminde biyoreaktör sistemlerinin etkili bir alternatif olduğunu göstermektedir.

Hohe ve ark. (1999), *C. persicum* embriyogenik süspansiyon kültürlerinde biyoreaktör ortamında biriken karbondioksit gazının (CO₂) hücre büyümesi ve somatik embriyo rejenerasyonu üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Araştırmada, airlift tipi ve baloncuksuz (membranlı) biyoreaktörlerde kültürlen embriyogenik hücrelerde CO₂ birikiminin zamanla %10'a kadar çıktığı ve bu yüksek seviyelerin hücre proliferasyonunu yavaşlattığı tespit edilmiştir. Ancak dikkat çeken bir bulgu, yüksek CO₂'ye maruz kalan hücrelerin daha yüksek oranda embriyo oluşturduğu yönündedir. CO₂'nin ortamdan kimyasal yöntemlerle uzaklaştırılması, hücre büyümesini iyileştirmiştir. Çalışma, gaz yönetiminin biyoreaktör sistemlerinde kritik önemde olduğunu ve embriyo verimliliği ile CO₂ stresinin paradoksal bir ilişkisi olabileceğini ortaya koymuştur.

Lyngved, 2008 ise biyoreaktörlerde oksijen konsantrasyonu ve sıcaklık faktörlerinin embriyo gelişimi üzerindeki etkilerini inceleyerek biyoreaktör kullanımının klonal çoğaltımda maliyet etkin bir yöntem olduğunu vurgulamıştır. *C. persicum* üzerinde yapılan bu çalışma, somatik embriyogenez ve kallus indüksiyonu süreçlerinin genetik kaynakların korunması ve klonal çoğaltım için biyoteknolojik yaklaşımlar sunmaktadır. Bu tür araştırmalar, biyoreaktör sistemlerinin de dahil olduğu yenilikçi yöntemlerle daha fazla verimlilik ve genetik çeşitliliğin korunmasına katkı sağlayacaktır.

Kreuger ve ark (1995), *C. persicum* türü için sıvı ortamda somatik embriyo üretimi amacıyla beş aşamalı bir mikroçoğaltım protokolü geliştirmişlerdir. Protokolde, embriyogenik kallusun oluşturulmasından embriyogenik süspansiyon kültürlerinin başlatılmasına, embriyo ön-olgunlaştırılması ve olgunlaştırılması gibi kademeli süreçler yer almıştır. Araştırma boyunca sıvı ortam kullanımı, embriyo oluşumunun senkronize ilerlemesini ve yüksek verimli bir üretim döngüsünü mümkün kılmıştır. Olgunlaşan embriyolar, yapay tohum üretimi çalışmalarına uygun hale getirilmiş ve çimlendirme sonucunda sağlıklı fideler elde edilmiştir. Bu çalışmayla, *Cyclamen*

için sıvı kültür tabanlı üretim laboratuvar ortamından ticari üretime geçişte uygun bir yöntem olabileceği ortaya konmuştur.

Hvoslef-Eide ve ark (2005), *C. persicum* dahil olmak üzere bazı ss bitkilerinin embriyo üretimi için özel olarak geliştirilen bilgisayar kontrollü biyoreaktör sistemlerini tanıtılmıştır. Bu sistemde yavaş dönen ve yn değiştirebilen bir karıştırıcı mekanizma, hücrelerin homojen dağılımını sağlarken, havalandırma baloncuksuz aerasyon sistemiyle gerçekleştirilmiştir. Böylece doku hasarı ve hücre kümelenmesi nlenmiş, daha sağlıklı embriyo gelişimi sağlanmıştır. Çalışma sonucunda, biyoreaktör sisteminde yetiştirilen *Cyclamen* embriyogenik kültürlerinin, klasik yöntemlere göre daha hızlı büyüdüğü ve daha fazla embriyo verdiği grlmştir. Sistem; pH, sıcaklık, oksijen düzeyi ve ışık spektrumu gibi faktörlerin tam kontrolünü sağlamaktadır. Bu bulgular, biyoreaktör sistemlerinin *Cyclamen* retiminde modern, etkili ve sürdürülebilir bir yöntem olduğunu ortaya koymuştur.

Aka Kaçar ve ark. (2020), tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada, *Spathiphyllum* 'Chico' genotipinin mikroçoğaltımında iki farklı sistemin, klasik agar ortamı ve geçici daldırma biyoreaktör sisteminin (Plantform), etkinliğini karşılaştırmışlardır. Kullanılan büyüme düzenleyicileri 1 mg/L 6-Benzilaminopürin (BAP) ve 1 mg/L İndol-3-bütirik asittir (IBA). SRAP (Sequence-Related Amplified Polymorphism) analizleri ile bitkilerde genetik stabilite değerlendirilmiştir. Her iki sistemde de başarılı çoğaltım sağlanmıştır. Biyoreaktör sisteminde büyüme daha hızlı ve homojen olmuştur. Bu alışma, geçici daldırma sistemlerinin ss bitkilerinin ticari üretiminde klasik yöntemlere eşdeğer olduğunu ortaya koymaktadır.

Topcu ve lgeen (2015) alışmasında, bitki sekonder metabolitlerinin biyoreaktör sistemlerinde üretimi incelenmiştir. Biyoreaktörlerin tanımı, tarihçesi, sınıflandırılması ve ölçeklendirme stratejileri detaylandırılmıştır. Bitki doku kültürü tekniklerinin, biyoaktif bileşiklerin ticari ölçekte üretimi için nasıl kullanıldığı örneklerle açıklanmıştır. Literatür destekli örneklerle, biyoreaktörlerin endüstriyel üretim sreerindeki yeri vurgulanmış, sekonder metabolitlerin standardize üretimi için bu sistemlerin vazgeçilmezliği belirtilmiştir.

Kaya ve Yılmaz Gökdoğan (2015) alışmasında, Muğla'ya özgü endemik bir tür olan *Thymus cariensis* bitkisinin biyoteknolojik yöntemlerle korunmasını amaçlamaktadır. Geçici daldırma biyoreaktör sistemiyle bitki mikroçoğaltımı yapılmış, ardından vitrifikasyon tekniği kullanılarak kriyoprezervasyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular, hem çoğaltım hem de uzun vadeli germplazma korunmasında bu yöntemlerin etkili olduğunu göstermiştir. Bu durum, nadir ve endemik türlerin sürdürülebilirliği için önemli katkılar sunmaktadır.

Rico ve ark (2022) alışmasında, tıbbi ve endüstriyel kullanımı giderek yaygınlaşan *Cannabis sativa* bitkisinin mikroçoğaltımı amacıyla geçici daldırma biyoreaktör sistemlerinin (RITA® ve Plantform™) verimliliğini karşılaştırmalı olarak değerlendirmeyi amaçlamıştır. Araştırmacılar, farklı eksplant tipleri (meristematik sürgün, nodal segment), eksplant yoğunluğu (2, 4 ve 6 eksplant/biyoreaktör), daldırma süreleri ve sıklıkları (5 dakikada bir, 15 dakikada bir) gibi

kültürel parametreleri optimize etmiş ve kültür sürelerini 3 ila 6 hafta arasında test etmiştir. Kullanılan besin ortamlarında büyüme düzenleyici hormon kompozisyonları da (BA, GA₃, IBA gibi) değişken olarak planlanmıştır. Çalışma sonucunda, her iki biyoreaktör sistemi de sağlıklı ve homojen sürgün gelişimini teşvik etmiş, özellikle 4 eksplantla 15 dakikada bir daldırma uygulanan gruplarda en yüksek sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu gözlenmiştir. RITA® sistemi, daha kısa kültür süresinde daha hızlı sürgün oluşumu sağlarken; Plantform™, daha uzun süreli kültürlerde daha fazla biyokütle üretmiştir. Ayrıca, her iki sistemde üretilen bitkilerde hiperhidrosis görülmemiş, aklimatizasyon sürecinde ise %90'ın üzerinde sağkalım oranı rapor edilmiştir. Bu yönüyle çalışma, *Cannabis sativa* gibi üretiminde regülasyon ve kalite kontrolü önemli olan bitkiler için geçici daldırma biyoreaktörlerinin kontrollü, tekrarlanabilir ve ticari ölçekte uygulanabilir çoğaltım sistemleri sunduğunu göstermektedir.

Othmani ve ark (2017) çalışmalarında, *Phoenix dactylifera* (hurma) bitkisinin geçici daldırma biyoreaktör sistemi (Plantform™) kullanılarak yüksek verimli ve senkronize bir mikroçoğaltım protokolünün geliştirilmesini hedeflemişlerdir. Araştırmacılar, hurma gibi yavaş büyüyen ve somatik embriyo oluşumu açısından zor türlerin laboratuvar ortamında hızlı ve standardize şekilde çoğaltılabilmesini sağlamak amacıyla, embriyo gelişim aşamaları, kültür yoğunluğu ve daldırma parametreleri üzerinde kapsamlı deneyler yürütmüşlerdir. Plantform sistemi ile yapılan uygulamalarda, somatik embriyoların olgunlaşma süresi önemli ölçüde kısalmış, gelişim evrelerinde daha homojen sonuçlar elde edilmiştir. Özellikle, embriyoların yüksek oksijen temini sayesinde daha düzgün morfolojik özellikler kazandığı gözlemlenmiştir. Bu sistem ayrıca, embriyo çimlenme oranlarında da %40'tan %80'in üzerine çıkan bir iyileşme sağlamıştır. Aklimatizasyon sürecinde ise dış ortama adapte olan fidanların yaşama oranı, geleneksel kültür tekniklerine göre %25 daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, Plantform gibi geçici daldırma biyoreaktörleri, hurma gibi uzun üretim döngüsüne sahip türlerde hem üretim süresini kısaltmakta hem de kültür verimliliğini artırarak ticari çoğaltım için yeni bir standart önermektedir.

Cengiz (2018) tarafından yürütülen bu çalışma, turuncgil üretiminde yaygın olarak kullanılan 'Tuzcu 31-31 turuncu' ve 'C-35 sitranjı' genotiplerinin mikroçoğaltım ve köklendirme süreçlerinde klasik katı kültür yöntemleri ile Plantform geçici daldırma biyoreaktör sistemi (Temporary Immersion System- TIS) performanslarını karşılaştırmalı olarak değerlendirmeyi amaçlamıştır. Çalışmada, ilk olarak katı kültürde optimal büyüme ortamları belirlenmiş; ardından bu ortamlar Plantform sistemiyle uygulamaya alınarak, her iki sistemde elde edilen sonuçlar biyometrik veriler ve moleküler analizlerle karşılaştırılmıştır. Plantform sisteminde, belirli zaman aralıklarında (4 saatte bir 10 dakika daldırma, 4 saatte bir 15 dakika havalandırma) uygulanan kontrollü ortam, oksijenlenme ve besin alımı açısından daha dengeli bir kültür koşulu oluşturmuştur.

Araştırmanın bulgularına göre, Tuzcu 31-31 türünde Plantform sistemi ile elde edilen sürgün uzunluğu katı kültürdeki 1.0 cm'ye kıyasla 6.23 cm'ye ulaşmış, kardeşlenme katsayısı da 3.4'ten 5.2'ye çıkmıştır. Bitki kalitesinde gözle görülür artış olduğu vurgulanmıştır. C-35 sitranjı türünde ise mikroçoğaltım parametreleri iki sistem arasında benzer düzeyde olsa da, köklenme denemelerinde Plantform sistemi açık üstünlük sağlamıştır. Özellikle bitki boyu (6.50 cm), kök uzunluğu (6.26 cm) ve %100 köklenme oranı gibi veriler bu sistemin etkinliğini göstermiştir. TIS sisteminin önemli avantajlarından biri de aklimatizasyon sürecindeki başarısıdır. Her iki genotipte de dış ortama adaptasyon oranları oldukça yüksek bulunmuş ve genetik kararlılık, SSR marker'ları ile yapılan analizlerle doğrulanmıştır. Bu, geçici daldırma sisteminin sadece üretim verimi değil, aynı zamanda genetik stabilite açısından da güvenilir olduğunu ortaya koymuştur. Sonuç olarak, Plantform geçici daldırma biyoreaktör sistemi, turuncgil gibi odunsu bitkilerin in vitro mikroçoğaltımı ve köklendirmesinde; kontrollü çevresel koşulları, düşük kontaminasyon riski, artan bitki kalitesi ve sürdürülebilir kitlesel üretim potansiyeli ile klasik sistemlere göre önemli bir alternatif sunmaktadır.

Uğur, (2019) tarafından yürütülen çalışmada, Türkiye'de doğal yayılış gösteren bazı eğrelti türlerinin (*Asplenium trichomanes*, *Asplenium scolopendrium* ve *Asplenium ceterach*) gametofit evreden sporofit evreye geçiş süreçlerinde klasik katı kültür yöntemi ile Plantform geçici daldırma biyoreaktör sistemi (Temporary Immersion System – TIS) kullanımının etkinliğini karşılaştırmalı olarak incelemeyi amaçlamıştır. Plantform sisteminde 1/2 MS ortamı kullanılarak 3 saatlik ve 6 saatlik daldırma süreleri test edilmiş; 3 saatlik sürenin en verimli olduğu belirlenmiştir. Bu süreçte *Asplenium trichomanes* türünde bitkiye dönüşüm oranı en yüksek seviyeye (%34,37 bitkicik) ulaşmıştır. Bu süre daha sonra diğer türlerde de standartlaştırılarak uygulanmıştır. Sonuçlar, Plantform sisteminin katı kültüre kıyasla özellikle *Asplenium trichomanes* türünde hem gametofit ağırlığında (6.32 g'ye karşılık 4.74 g) hem de sporofite dönüşüm oranlarında istatistiksel olarak anlamlı üstünlük sağladığını göstermiştir. *Asplenium scolopendrium* türünde ise sistemler arasında gametofit ağırlığı açısından istatistiksel fark gözlenmemekle birlikte, Plantform sisteminde daha sağlıklı gelişim bildirilmiştir. Bu sistemin etkinliğini açıklayan bir diğer önemli kaynak ise Etienne ve Berthouly'nin (2001) çalışmasıdır. Bu çalışmada geçici daldırma biyoreaktörleri 4 kategoriye ayrılmış ve sistemin mikroçoğaltım verimliliğine katkı sağladığı vurgulanmıştır. Üretim maliyetlerini azaltmaya yönelik dört ana avantaj öne çıkarılmıştır:

- İş gücünde azalma,
- Raf alanında tasarruf,
- Kullanılan kap sayısında azalma,
- Daha iyi biyolojik ürün elde edilmesi.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Tez çalışmasında bitkisel materyal olarak *Cyclamen persicum* kullanılmıştır. *Cyclamen persicum* türüne ait bitkiler Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü süs bitkileri serasından alınmıştır ve çalışma Bahçe Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

3.1.1. Bitkisel Materyal

C. persicum, Yunanistan, Suriye, Lübnan, İsrail, Ürdün, Kıbrıs, Rodos, Kerpe ve Girit adalarında Cezayir ve Tunus'da yetişirken Türkiye'de ise İzmir, Hatay ve Adana illerinde yaygın olarak yetişmektedir. *C. persicum* soğuğa karşı hassas bir tür olup, kromozom sayısı $2n=48$ 'dir.

Az kokulu bir tür olan *C. persicum* tekli veya çok sayıda açan çiçeklere sahip olup bu çiçekler genellikle beyaz bazen açık pembe veya pembe tonlarındadır. Her petalin dip kısmı koyu pembe veya kırmızı renktedir.

Yapraklar yeşilin farklı tonlarında ve grimsi yeşil veya beyaz benekli olup yürek şeklindedir. Yaprak alt yüzeyi genellikle yeşil nadiren alacalı mor renktedir. Yumruları büyük 15 cm'da varan çapta küre veya basık küre şeklindedir. Kökler ise yumrunun tabanından gelişir.

Batı ve Güney Anadolu bölgelerinde 0-800 m yüksekliklerde, genellikle ormanlık alanlar çalılıklar makiler ve kayalık taşlı çakıllı kurak yamaçlarda yayılım gösterebilmektedir (Mendi ve Çürük, 2016). Bu tez kapsamında Bahçe Bitkileri bölüm serasında bulunan *Cyclamen persicum* türüne ait beş saksı örneğinden farklı genotiplere ilişkin yaprak ve yaprak sapı eksplantları kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *Cyclamen persicum* Türüne ait Beş Saksı Örneğinden Farklı Genotipler A) CP1, B) CP2, C) CP5, D) CP4, E) CP3

3.2. Metot

Tez çalışmasında *C. persicum* bitkilerinden alınan yaprak ve yaprak sapları eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. Bitki materyalleri Çukurova Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü süs bitkileri serasından temin edilmiştir.

3.2.1. Yüzey Sterilizasyonu

Bu tez çalışmasında eksplant kaynağı olarak kullanılan yaprak ve yaprak sapı eksplantları seradan toplandıktan sonra ilk önce antibakteriyel sıvı sabunla 20 dk musluk suyu altında bırakılmıştır. Ardından çeker ocakta %0,1 lik $HgCl_2$ 'de bekletilmiştir. Bu amaçla $HgCl_2$ aşaması için 3 farklı bekletme süresi denenmiştir. Deneme süreleri 5, 10 ve 15 dk. olacak şekilde tasarlanmıştır. $HgCl_2$ 'nin ardından bitkiler steril saf su ile durulanmış ardından steril kabin içerisine alınmıştır. Steril kabin içersinde sırası ile %70'lik etil alkolde 1dk, %30'luk NaOCl'de de 20 dk. bekletilmiştir. Her uygulamadan sonra eksplantlar üç kez steril saf su ile durulanmıştır. Sterilizasyon denemesine ait uygulamalar, Çizelge 3.1'de sunulmuştur. Sterilizasyonu tamamlanan eksplantlar filtre kağıdı üzerinde kurulandıktan sonra yapraklar yaklaşık 1 cm² yüzey alanına sahip ölçülerde, yaprak sapları ise 1 cm uzunluklarda kesilerek besin ortamlarına transfer edilmiştir (Şekil 3.2).

Çizelge 3.1. Sterilizasyon Denemelerinde Kullanılan Bileşenler ve Uygulama Süreleri

İşlem	Konsantrasyon	Uygulama Süresi
Musluk suyu altında bekletme	-	20 dk
HgCl ₂ 'de bekletme	%0,1	5 dk
		10 dk
		15 dk
Saf su ile durulama		
EtOH	%70	1 dk
Steril saf su ile durulama		
NaOCl	%30	20 dk
Steril saf su ile durulama		



Şekil 3.2. Sterilizasyon Aşamasına ait Görüntüler. A) Bitkilerin Toplanarak Laboratuvar Ortamına Getirilmesi, B) Eksplantların Musluk Suyu Altında Yüzey Sterilizasyonu, C) Civa ile Muamele, D) EtOH Aşaması, E) Steril Yaprak, Yaprak Sapı Eksplantı

3.2.2. Besi Ortamlarının Hazırlanması

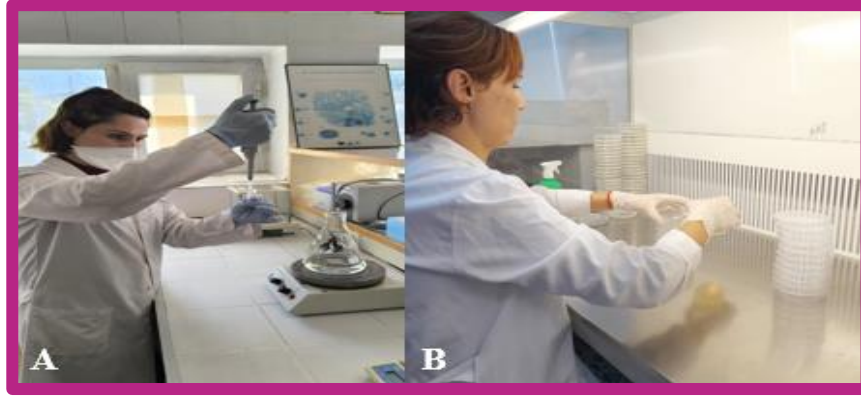
Bu tez çalışmasında eksplantlar kallus indüklemeye ve farklılaşma ortamı olmak üzere iki farklı besin ortamında kültürlenmişlerdir. Eksplantlardan kallus oluşumunu teşvik etmek için yaprak ve yaprak sapları, 2 mg/L 2,4-D, 0,8 mg/L 2iP ile desteklenen $\frac{1}{2}$ MS ortamına transfer edilmiştir. Elde edilen kalluslar daha sonra hormonsuz $\frac{1}{2}$ MS ortamına aktarılmıştır. $\frac{1}{2}$ MS besin ortamı içeriği, Çizelge 4’de sunulmuştur. Besin ortamları, Sükroz, D (+) Glikoz, MS vitamin solüsyonu, FeEDTA, Pepton, myoinositol ile desteklenmiştir. Çizelge 3.2’de verilmiştir. Besin ortamlarının pH’sı 5.7’ye ayarlanmıştır. Ortamlar 7 g agar ile katılaştırılmıştır. Ortamlar 121°C’de ve 1.2 atm basınçta otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuştur. Ortamların sterilizasyonu tamamlandıktan sonra steril kabin içerisinde her petride (20x100 mm) 25 ml olacak şekilde kültür kaplarına dökülmüştür (Şekil 3.3).

Çizelge 3.2. 1/2 MS Besi Ortamı İçeriği

Makro elementler	mg/L
NH₄NO₃	825
KNO₃	950
CaCl₂ x 2H₂O	220
MgSO₄ x 7H₂O	185
KH₂PO₄	85
Mikro elementler	mg/L
H₃BO₃	3,1
MnSO₄ x H₂O	8,45
ZnSO₄ x 7H₂O	5,3
KI	0,415
Na₂MoO₄ x 2H₂O	0,125
CuSO₄ x 5H₂O	0,0125
CoCl₄ x 6H₂O	0,0125
FeSO₄x7H₂O	13,9
Na₂EDTA	18,65
Vitaminler	mg/L
myo-Inositol	50
Nikotinik asit	0,250
Thiamine HCl	0,05
Pridoksin HCl	0,250

Çizelge 3.3. MS Ortamlarına Ek Olarak İlave Edilen Bileşenler ve Miktarları

İçerik	Miktar (1L için)
MS Vitamin	500 µl
FeEDTA	5 ml
Pepton	250 mg
Sükroz	30 g
D(+) Glikoz	2 g
Myoinositol	0,05 g
Agar	7 g

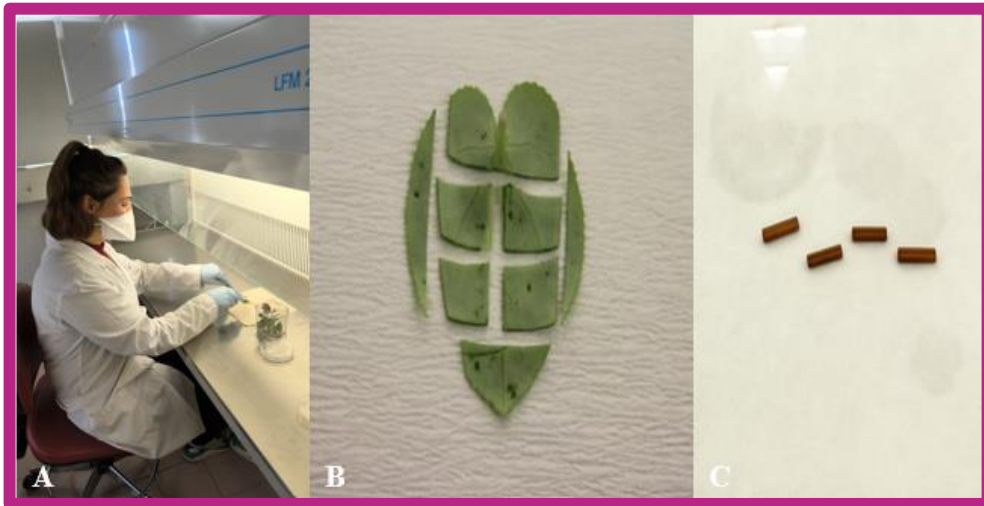


Şekil 3.3. A) Besin Ortamı Hazırlığı, B) Besin Ortamlarının Petri Kaplarına Aktarımı

3.2.3. Kallus İndükleme Ortamı

Eksplantlar (yaprak ve yaprak sapı) kallus indükleme ortamına aktarıldıktan sonra tamamen karanlık ortamda 22-25°C’de 8 hafta süre ile ½ MS katı besiyerinde kültüre alınmıştır.

Her petri kabına 4 adet yaprak, 4 adet yaprak sapı olacak şekilde eksplantlar aktarılmıştır. Eksplantlar serada bulunan 5 farklı saksıdan toplanmış olup her saksıdan alınan örnekler için her bir eksplant (yaprak ve yaprak sapı) 10 petri (10 tekerrür) olmak üzere toplam 20 petride deneme kurulmuştur (Şekil 3.4.). Sekiz haftalık kültürün ardından eksplantlar, her 4 haftada bir aynı içeriğe sahip besin ortamında alt kültüre alınmıştır. 16 hafta sonra kallus oluşturan eksplantlar farklılaşma ortamına aktarılmıştır.

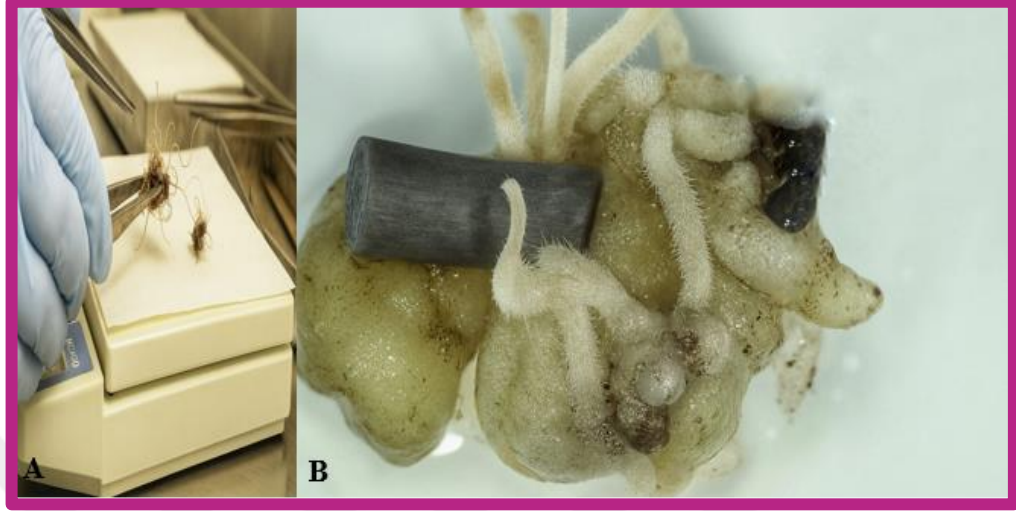


Şekil 3.4. A) Yaprak ve Yaprak Sapı Eksplantlarının Kallus İndükleme Ortamına Aktarımı, B) Yaprak Eksplantı, C) Yaprak Sapı Eksplantı

3.2.4. Farklılaşma ve Somatik Embriyoların Çimlendirme Ortamı

Kallus oluşturma besiyerinde 16 haftalık kültürün ardından elde edilen kalluslar hormonsuz besin ortamına aktarılmıştır. Eksplantlar yeni ortamlarına aktarılırken steril kurutma kağıtlarıyla eski ortam kalıntılarından arındırılmıştır. Hormonsuz besiyerinde 4 haftada bir altkültüre alınan

kalluslar 22-25°C’de sıcaklıkta tamamen karanlık ortamda bekletilmeye devam edilmiştir. 4 haftada bir düzenli aralıklarla tekrarlanan altkültürler neticesinde oluşan somatik embriyolar çimlenme aşamasına kadar petrilere daha sonra ise kavanozlara aktarılmıştır.



Şekil 3.5. Çimlenen Kallusların Ağırlık Ölçümlerine İlişkin Görsel (A, B)

3.2.5. Plantform Biyoreaktör Sistemi ile Mikroçoğaltım Denemesinin Kurulması

C.persicum türünün yaprak ve yaprak sapı eksplantları için 1/2 MS içeren katı kültür ortamından elde edilen kallus ve embriyolar ile Plantform geçici daldırma sisteminde mikroçoğaltım denemesi kurulmuştur (Şekil 3.6). Sistem bir aparat aracılığıyla dört bölmeye ayrılmış olup, yaprak kallus, yaprak sapı kallus, yaprak embriyo ve yaprak sapı embriyolarıyla kurulmuştur. Plantform sistemi her 3 saatte bir 10’ar dk. daldırma, 3 saatte bir 15 dk. havalandırma olacak şekilde karanlık ortamda 24 derece sıcaklıkta büyütme odasında kültüre alınmıştır. *C. persicum* bitkileri hormonlu ve hormonsuz olmak üzere kurulan Plantform kültür kaplarında 8 haftada bir alt kültüre alınmıştır. Hormonlu ortam denemesi için 1/2 MS besi ortamına 2mg/L 2,4 - D ve 0,8 mg/L 2 İP ve her kültür kabına ise 500 mL besin ortamı eklenmiştir. Biyoreaktör kaplarına aktarılan eksplantların hepsinde 1 hafta sonra enfeksiyon gözlenmiştir. Bu nedenle 500 mL besin ortamına 250 mg/L ortam baskılayıcı (ProClin) eklenerek çalışmaya devam edilmiştir.



Şekil 3.6. Plantform Biyoreaktör Sistemi Denemelerinin Kurulmasına Ait Görseller A) Plantform Sistemlerinin Genel Görünümü, B-D) Eksplantlar Plantforma Aktarıldıktan Sonra C) Eksplantlar Plantforma Aktarılırken

3.2.6. Yaprak Klorofil Miktarı Belirlenmesi (SPAD analizi)

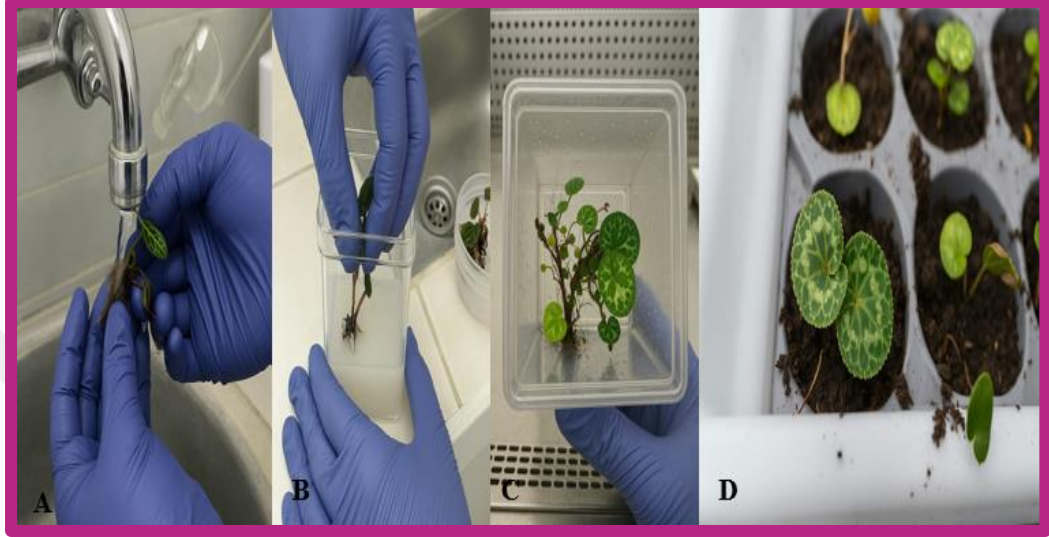
Bitkilerdeki yaprakların klorofil miktarı, clorofiLOG CFL 2060 (FALKER) klorofil metre ile belirlenmiştir. Ölçümler hem katı kültürde, hem de Plantform biyoreaktör sisteminde gelişen bitkiciklerin yapraklarından ölçülmüştür (Şekil 3.7). Cihaz okumalarında, üç tekrarlı olacak şekilde her uygulamadan 3'er SPAD okuması yapılmıştır (Uğur, (2024), Pestana ve ark. (2005). Aynı bitkiden üç farklı yaprak örneğinden alınan verilere ait SPAD değerinin ortalaması, o örneğin ortalama SPAD değeri olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.7. Yaprak Klorofil Miktarının Belirlenmesi

3.2.7. Bitkilerin Dış Ortam Koşullarına Alıştırılması

Plantform biyoreaktör sisteminde ve katı kültür ortamında bitkiye dönüşen, sağlıklı kök oluşturan bitkiler % 0.2 fungusit çözeltisine (Captan) daldırılmıştır. Ardından %50 perlit, %50 torf bulunan viyollere dikilmiştir (Şekil 3.8). Bitkilerin nem kayını önlemek için üzerine şeffaf poşet geçirilmiştir. Daha sonra poşetin ağzı yavaşça açılarak dış ortama alışması sağlanmıştır.



Şekil 3.8. Bitkilerin Dış Ortama Aktarılması A) Bitki Köklerinin Besi Ortamından Arındırılması B) Fungusit Çözeltisine Batırma C) Dış Ortama Aktarılmaya Hazır Bitkiler D) Dış Ortama Aktarılmış Bitkiler

3.2.8. İncelenen Kriterler ve İstatistiksel Analizler

Tez çalışması kapsamında incelenen parametreler aşağıda sıralanmıştır:

Kallus Oluşum Süresi: Eksplantın kültüre alındığı tarihten itibaren organize olmamış kallus yapıları oluşumuna kadar geçen süredir.

Kallus Oluşum Yüzdesi: Kültüre alınan eksplantlardan, kallus oluşturanların yüzdesi hesaplanmıştır.

Çimlenen Embriyolarının Ağırlığı: Çimlenen embriyoların ağırlıklarının belirlenmesi.

Embriyojenik Kalluslardan Çimlendirme Oranı: Çimlenme sürecini başarı ile geçen ve bitkiye dönüşen embriyolar sayılmıştır.

Morfolojik Gözlemler: Bitki boyu, kök boyu, kök sayısı, yaprak genişliğine ait ölçümler alınmıştır.

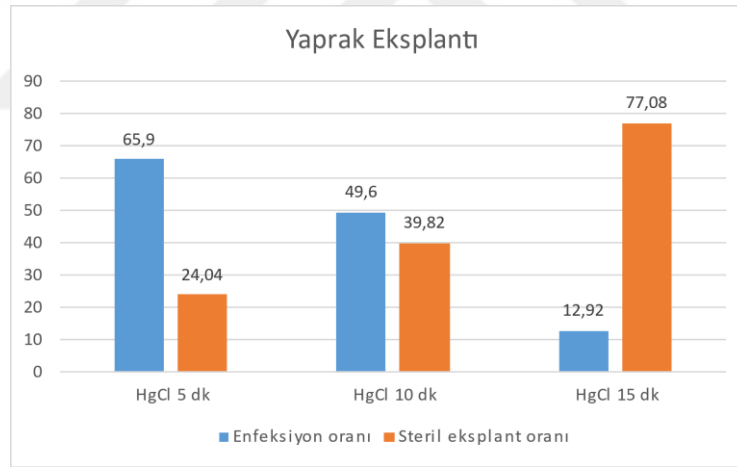
Denemede elde edilen yüzde değerlere açılı transformasyonu uygulanmıştır. Deneme deseni tesadüf parsellerinde faktöriyel düzende 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi JMP 18 programı kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Tez çalışması kapsamında, *C. persicum* türünün yaprak ve yaprak sapı eksplantlarında kallus oluşumu ve farklılaşma ile çimlendirmeye ilişkin bulgular kaydedilmiştir. Eksplantların giriş ortamı olarak 2,4-D ve 2İP hormon kombinasyonlarını içeren ½ MS besin ortamı kullanılmıştır. Katı ortam girişlerinde farklı konsantrasyonlarda $HgCl_2$ içeren sterilizasyon denemeleri kurulmuştur. Sterilizasyon denemeleri sonucu, katı ortama aktarılan eksplantlardan kallus oluşum yüzdeleri hesaplanmıştır. Elde edilen kallus ve kallustan embriyoya dönüşen eksplantlardan bir kısmı katı ortamda gelişimlerine devam ederken, bir kısmıyla da Plantform sistemi denemeleri kurulmuştur. Plantform sistemi 3 saatte bir 10 dk. daldırma yapacak şekilde ayarlanmıştır. Çalışmada katı ortam ve Plantform sisteminin *C. persicum* yaprak ve yaprak sapı eksplantlarının gelişimi üzerindeki etkisi karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

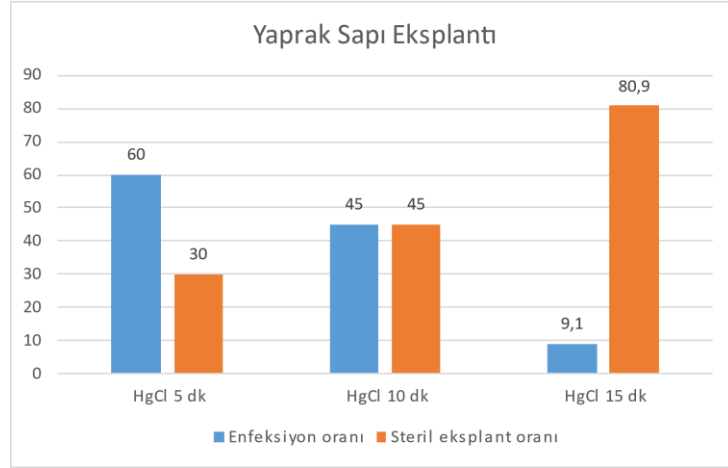
4.1. Eksplantların Yüzey Sterilizasyonuna Ait Bulgular

Bu tez çalışması kapsamında uygulanan sterilizasyon protokolünde, $HgCl_2$ uygulaması için üç farklı uygulama süresi denenmiş ve hem yaprak sapı hem de yaprak eksplantları için bu bulgular ayrı ayrı incelenmiştir. Bu bulgulara ilişkin veriler, Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de sunulmuştur.



Şekil 4.1. Yaprak Eksplantına İlişkin Sterilizasyon Bulguları

Yaprak eksplantına ilişkin sterilizasyon bulguları incelendiğinde, steril eksplant eldesi en iyi 15 dk. $HgCl_2$ uygulamasında sağlanmıştır. $HgCl_2$ uygulaması 5 dk. olan denemede en yüksek enfeksiyon oranı kaydedilmiştir. Uygulama süresinin sterilizasyon başarısını iyi yönde etkilediği bildirilmektedir.

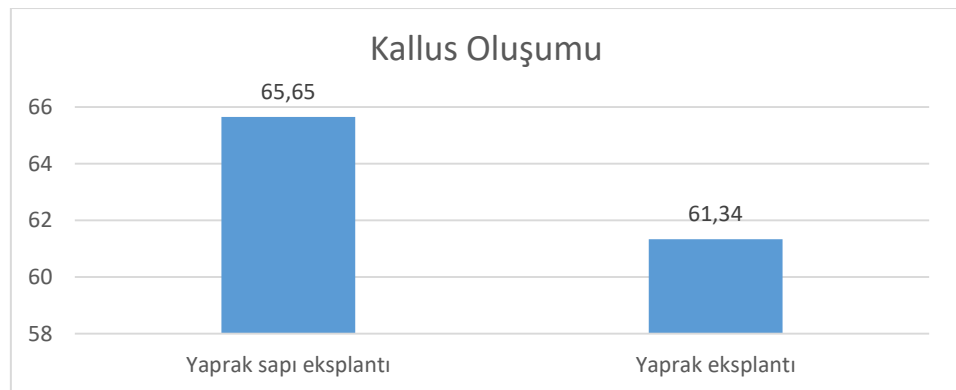


Şekil 4.2. Yaprak Sapı Eksplantına İlişkin Sterilizasyon Bulguları

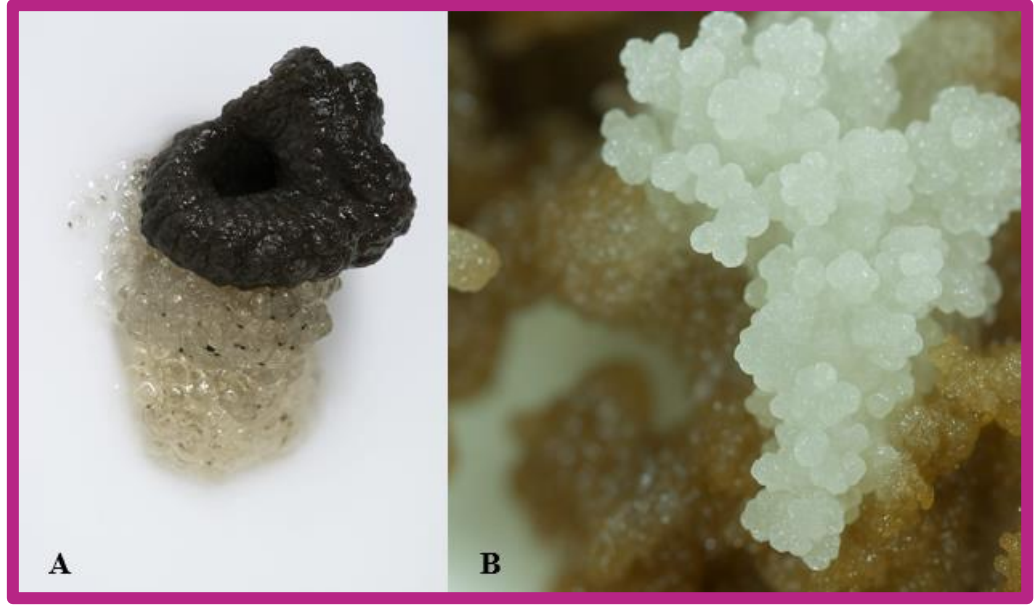
Yaprak sapı eksplantına ilişkin bulgular değerlendirildiğinde ise yaprak eksplantı ile aynı sonuçlar gözlemlenmiştir. Bu eksplantta 15 dk. HgCl₂ uygulamasında en yüksek steril eksplant eldesi (%80,9) gözlemlenmiştir. 10 dk. HgCl₂ uygulamasında ise yarı yarıya başarı eldesi gerçekleşmiştir.

4.2. Kallus Oluşumuna Ait Bulgular

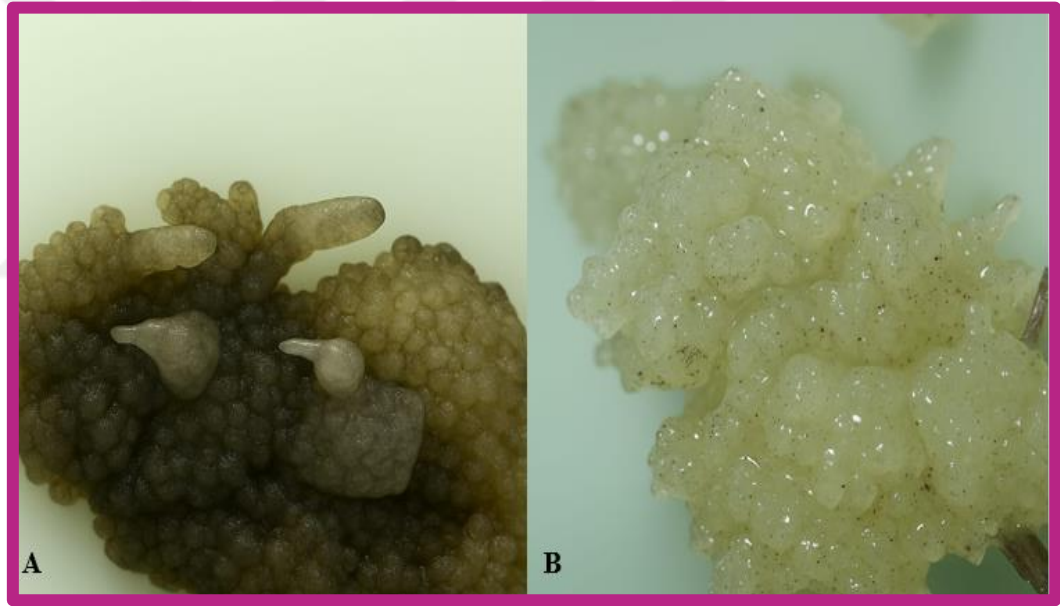
Çalışmada *C. persicum* türüne ait yaprak ve yaprak sapı eksplantları kültüre alınarak somatik embriyo potansiyelleri test edilmiştir. Eksplantlardan kallus oluşumu ikinci haftadan itibaren gözlenmeye başlanmıştır. Eksplant tiplerinde farklı oranlarda kallus eldesi gerçekleşmiştir; yaprakta %61,34, kallus oluşum oranı tespit edilirken, yaprak sapında ise %65,65 oranında kallus oluşum oranı tespit edilmiştir. Kültüre alınan eksplantların bazılarında başlangıç aşamasında çok az miktarda kallus oluşumu gözlenmiş fakat ilerleyen aşamalarda eksplant gelişimi durmuştur. Sonraki süreçte ise eksplantlarda nekrozlaşma meydana gelmiştir. Kallus oluşumuna ilişkin bulgular, Şekil 4.3’de sunulmuştur (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5).



Şekil 4.3. Kallus Oluşumuna İlişkin Bulgular



Şekil 4.4. Yaprak Eksplantlarından Gelişen Kalluslar (A, B)

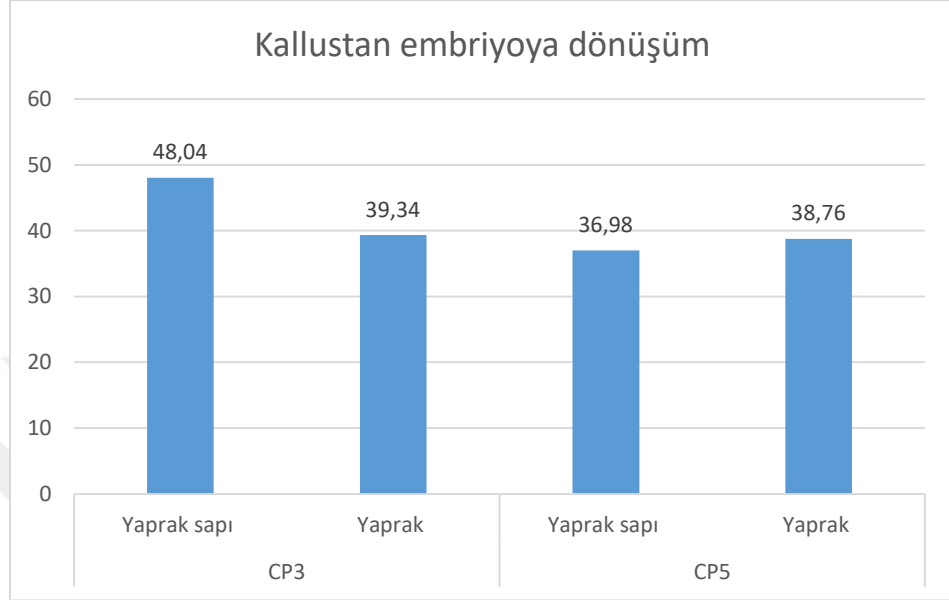


Şekil 4.5. Yaprak Sapı Eksplantlarından Gelişen Kalluslar (A, B)

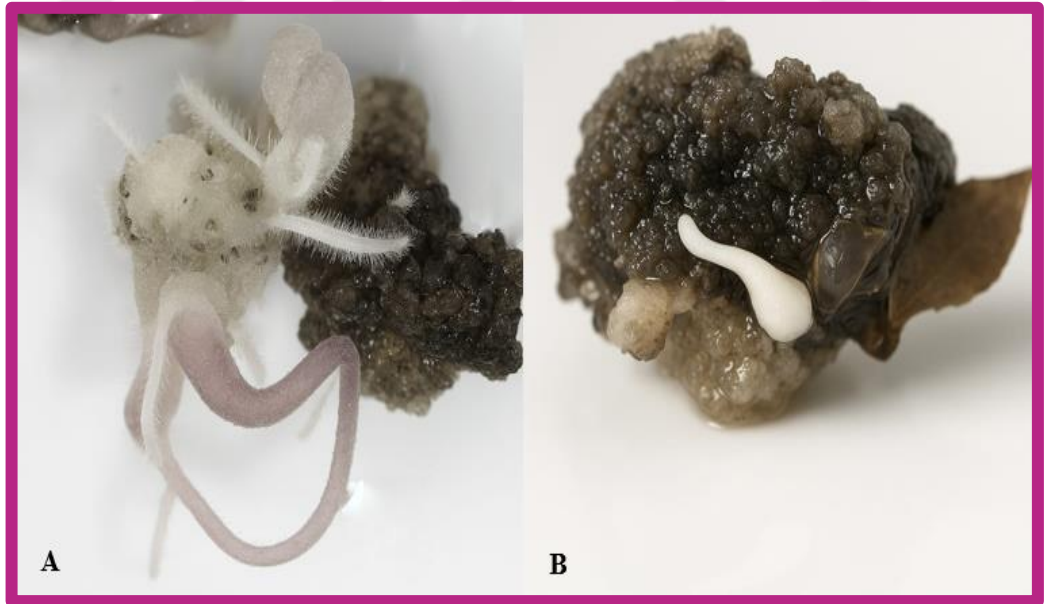
4.3. Embriyo Çimlenmesine İlişkin Bulgular

Embriyo çimlenmesi, eksplant girişinden sonra 12 hafta itibari ile gözlemlenmeye başlanmıştır. Embriyoların çimlenmelerine ilişkin veriler eksplant tipleri ve genotip bazında değerlendirildiğinde, yaprak eksplantlarında CP3 genotipinde %39,34, CP5 genotipinde % 38.76 oranında saptanırken, yaprak sapında ise CP3’de %48.04, CP5’de %36.98 oranında tespit edilmiştir. Bulgulara ilişkin veriler, Şekil 4.6’da sunulmuştur. Ayrıca eksplant tiplerine göre oluşan kallus yapıları yaprakta daha dağınık iken yaprak sapında ise daha kompakt yapıda gözlemlenmiştir (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8). Bazı bitkilerde meydana gelen kallus oluşumu ve ilerleyen safhalarda bu kallusların farklılaşarak embriyo oluşumu gözlenmesine rağmen bazı bitkilerde hiç

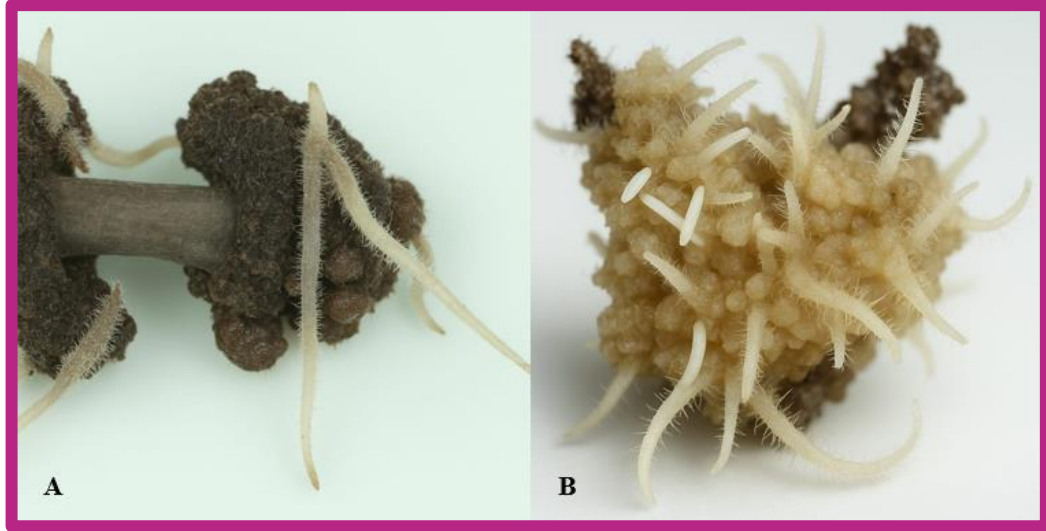
embriyo oluşumuna rastlanmamıştır. Gözlemlenen bu farklılık aynı bitkiye ait eksplantlar arasında da tespit edilmiştir. Bu durumun sebebinin yaprak ve yaprak sapının rejeneratif hücre içerip içermemesinden kaynaklandığı şeklinde düşünülmüştür. Bitkisel materyal olarak vejetatif açıdan yaprak ve yaprak sapı eksplantları tamamen somatik dokulardan oluşmaktadır.



Şekil 4.6. Kallustan Embriyoya Dönüşüm Yüzdesine İlişkin Bulgular



Şekil 4.7. Yaprak Eksplantının Embriyo Çimlenme Görselleri (A, B)



Şekil 4.8. Yaprak Sapı Eksplantlarından Çimlenme Görselleri (A, B)

4.4. Çimlenen Embriyoların Ağırlığı

Çimlenen yaprak ve yaprak sapı örneklerinden 1'er gram tartılıp dörder hafta arayla hormon içermeyen besin ortamında alt kültüre alınmıştır. Toplamda üç alt kültür yapılmıştır. Bu aşamada eksplantların alındığı saksıların verileri de karşılaştırılmış ve istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Ağırlığa ilişkin veriler, Çizelge 4.1'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Çimlenen Embriyoların Ağırlıklarına İlişkin Veriler

Genotip Numarası	Yaprak Eksplantı Ağırlığı	Yaprak Sapı Eksplantı Ağırlığı
Cp 1	0 b	0 b
Cp 2	0 b	0 b
Cp 3	2.30 a	2.03 a
Cp 4	0 b	0 b
Cp 5	2.06 a	1.80 a

LSD_{yaprakeksplantı}:0.75***

LSD_{yapraksapieksplantı}:0.64***

Veriler değerlendirildiğinde en iyi ağırlık ölçümü 3 numaralı saksıdan alınan yaprak ve yaprak sapı eksplantlarından gözlemlenirken, 1, 2 ve 4. saksılardan kayda değer sonuç elde edilememiştir. Bu sonuca neden olan faktörün saksılardaki bitkilerin genotip farklılığından kaynaklandığı öngörülmektedir.

Ağırlık ölçümü yapılan embriyoların, kontrol ortamında bitkiye dönüşüm yüzdeleri incelenmiş ve Şekil 4.9'da sunulmuştur.



Şekil 4.9. Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Yüzdesi

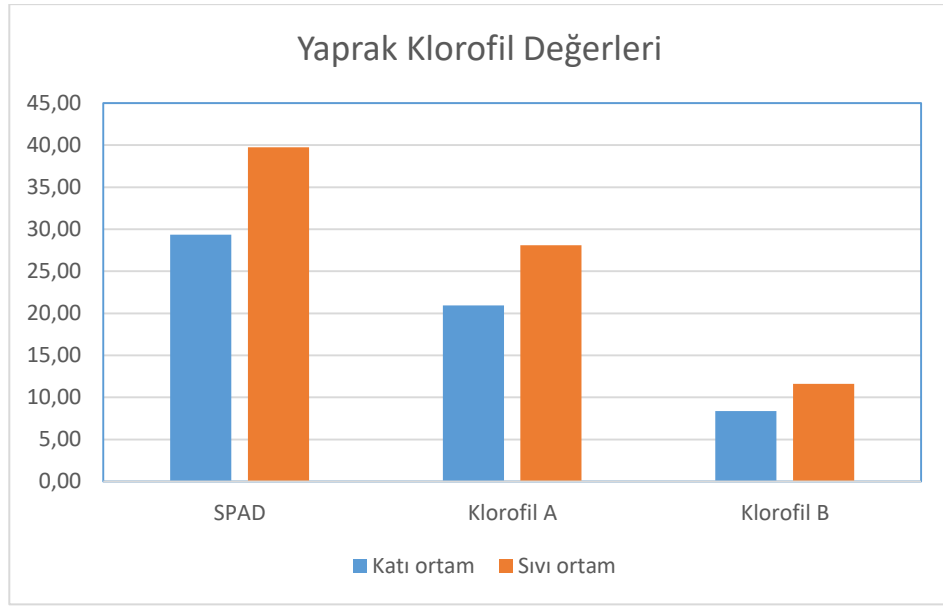
Yaprak sapı ve yaprak eksplantlarında embriyodan bitkiye dönüşüm oranları, genotip ve eksplant tipi açısından farklılık göstermektedir. Yaprak sapı eksplantlarında CP5 genotipi (%33,21), CP3 genotipine (%31,94) kıyasla daha yüksek dönüşüm oranı göstermiştir. Yaprak eksplantlarında ise CP5 genotipinin dönüşüm oranı (%38,05), CP3'e (%33,21) göre belirgin şekilde daha yüksektir. Bu veriler, CP5 genotipinin her iki eksplant tipinde de CP3'e kıyasla daha yüksek rejenerasyon kapasitesine sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, eksplant tipi karşılaştırıldığında, yaprak eksplantlarının, yaprak sapına göre daha yüksek dönüşüm oranları sunduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, embriyodan bitkiye dönüşümde genotip ve eksplant tipinin birlikte belirleyici rol oynadığını ve özellikle CP5 genotipinin yaprak eksplantlarıyla daha verimli sonuçlar verdiğini göstermektedir.

4.5. Yaprak Klorofil Miktarına Ait Bulgular

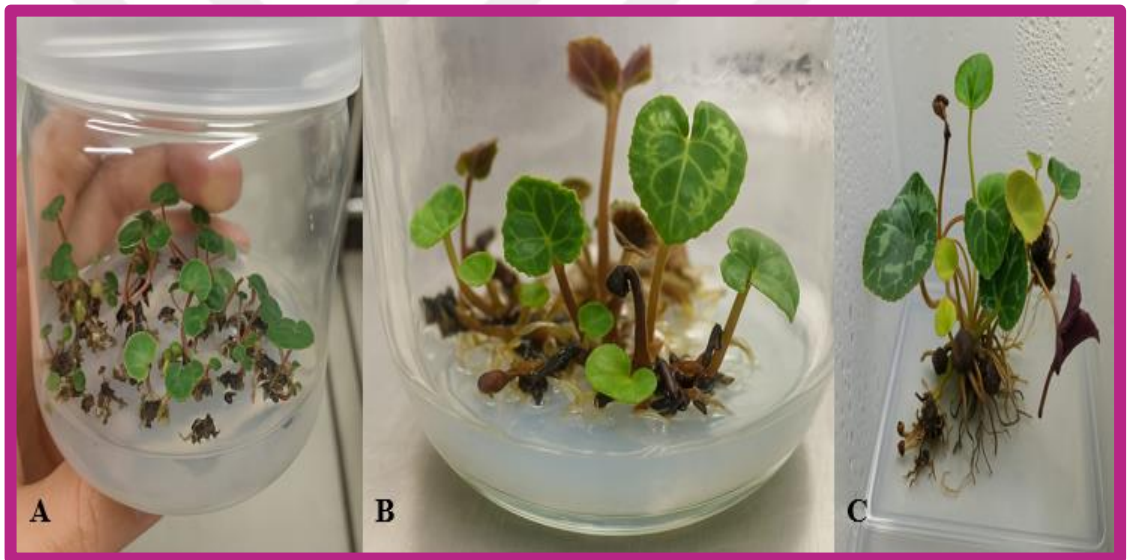
Çizelge 4.2. Klorofil Miktarına ait Bulgular

Ortam türü	SPAD	Klorofil A	Klorofil B
Katı ortam	29,35	20,94	8,37
Sıvı ortam	39,76	28,10	11,60
LSD	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.

Katı ve sıvı ortam denemelerinden alınan, yaprak klorofil miktarına (SPAD) ait veriler incelendiğinde, istatistiksel açıdan değerler önemsiz bulunmuştur. Ancak sıvı ortam verilerinin Klorofil A ve Klorofil B ölçümlerinin katı ortam verilerine kıyasla yüksek olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2).



Şekil 4.9. Yaprak Klorofil Değerlerine ait Bulgular



Şekil 4.10. Klorofil Ölçümünde Kullanılan Katı Ortam Bitkileri (A, B, C)



Şekil 4.11. Klorofil Ölçümünde Kullanılan Plantform Kültür Kabı Bitkileri (A, B)

Biyoreaktörden Elde Edilen Kallusların Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

Çizelge 4.3. Kallus Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

	Genotip	Eksplant türü		Genotip ortalaması
		Yaprak sapı kallus	Yaprak kallus	
Kontrol	CP3	4.45 a	4.15 a	4.30 a
	CP5	2.45 b	2.75 b	2.60 b
	Eksplant türü ortalaması	3.45 a	3.45 a	

LSDeksplanttürüortalaması:Ö.D.

LSDgenotiortalaması: 0.31***

LSDeksplanttürü*genotip: Ö.D.

C.persicum türünde kontrol ortamında bulunan yaprak ve yaprak sapı eksplantlarına ait kallus ağırlıkları incelendiğinde, eksplant türü ortalaması istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Genotip çeşidinin eksplant türüne etkisi incelendiğinde, önemsiz bulunmuştur. Genotip ortalaması incelendiğinde, en fazla ağırlık (4.30 g/bitki), CP3 genotipinde bulunmuşken, en az ağırlık (2.60 g/bitki) CP5 genotipinde gözlenmiştir. (Çizelge 4.3)

Çizelge 4.4. Kallus Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

2İP + 2,4-D	Genotip	Eksplant türü		Genotip ortalaması
		Yaprak sapı kallus	Yaprak kallus	
	CP3	3.45 a	2.75 b	3.10 a
	CP5	1.25 c	2.45 b	1.85 b
	Eksplant türü ortalaması	2.60 a	2.35 a	

LSDeksplanttürüortalaması:

Ö.D.

LSDgenotiortalaması:

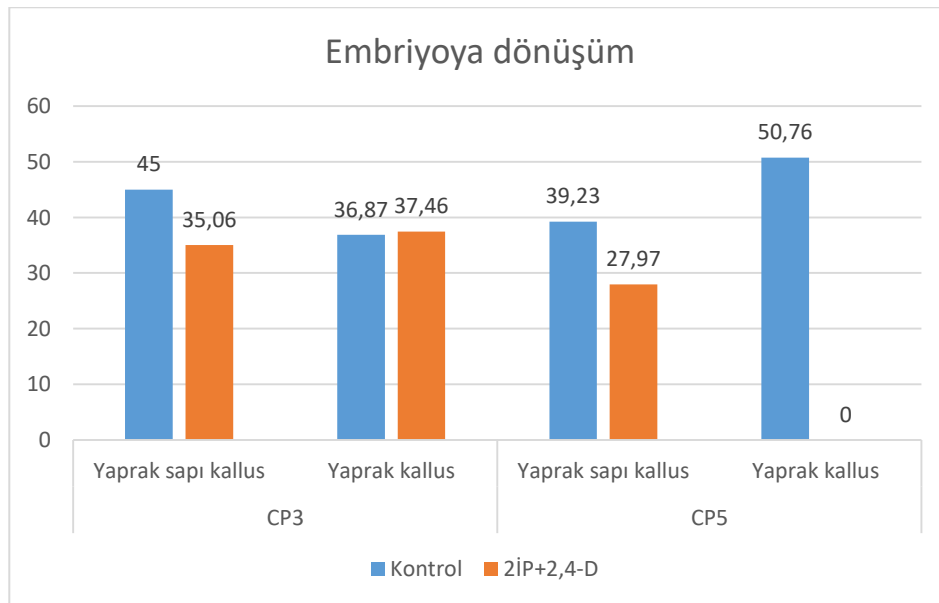
0.42**

LSDeksplanttürü*genotip:

0.59**

C.persicum türünde 2İP + 2,4-D ortamında bulunan yaprak ve yaprak sapı eksplantlarına ait kallus ağırlıkları incelendiğinde, eksplant türü ortalaması istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Genotip çeşidinin eksplant türüne etkisi incelendiğinde, en fazla ağırlık (3.45 g/bitki), CP3 genotipinden alınan yaprak sapı eksplantlarından elde edilirken, en az ağırlık (1.25 g/bitki) CP5 genotipinden alınan yaprak sapı eksplantlarından elde edilen bitkilerde gözlenmiştir. Genotip ortalaması incelendiğinde, en fazla ağırlık (3.10 g/bitki), CP3 genotipinde bulunmuşken, en az ağırlık (1.85 g/bitki) CP5 genotipinde gözlenmiştir. (Çizelge 4.4)

4.6. Biyoreaktörden Kallustan Embriyoya Dönüşüm Yüzdesi ve Oluşan Embriyoların Ağırlığına İlişkin Bulgular



Şekil 4.12. Kallustan Embriyoya Dönüşüm Yüzdesi

CP3 ve CP5 genotiplerinin yaprak ve yaprak sapında kallustan embriyoya dönüşüm yüzdeleri, hem kontrol grubu hem de 2İP + 2,4-D içeren ortam koşulları altında karşılaştırmalı olarak sunulmuştur (Şekil 4.12). Elde edilen bulgular, genotip eksplant tipi ve hormon kombinasyonlarının, embriyoya dönüşüm oranı üzerinde önemli etkiler oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Bu veriler, hormon kombinasyonlarının genotipler arasında farklı etkilere yol açtığını ve CP5 genotipinin kontrol ortamında özellikle yaprak embriyoları kullanıldığında yüksek embriyoya dönüşüm kapasitesine sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Diğer yandan, CP3 genotipinin kontrol ortamında yaprak sapı eksplantlarından elde edilen kallusların embriyoya dönüşüm oranlarının kontrol ortamında daha başarılı olduğu gözlenmiştir. Bu durum, genotip ortam etkileşiminin kallustan embriyoya dönüşüm oranında belirleyici bir faktör olduğunu desteklemektedir.

Çizelge 4.5. Çimlenen Embriyoların Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

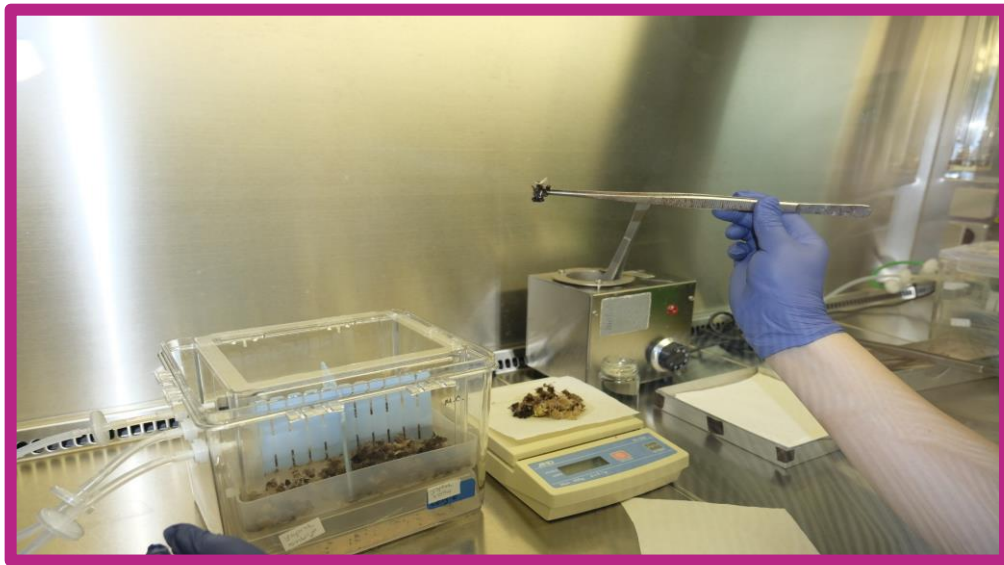
	Genotip	Eksplant türü		Genotip ortalaması
		Yaprak sapı embryo	Yaprak embryo	
Kontrol	CP3	2.75 c	5.30 a	4.02 a
	CP5	2.65 c	3.75 b	3.20 b
	Eksplant türü ortalaması	2.70 b	4.52 a	

LSDeksplanttürüortalaması:

0.48***

LSDgenotiortalaması: 0.48**

LSDeksplanttürü*genotip: 0.67*



Şekil 4.13. Plantform Kültür Ortamında Gelişen Kallus ve Embriyolardan Ağırlık Verilerinin Alınması

C.persicum türünde kontrol ortamında bulunan yaprak ve yaprak sapı eksplantlarına ait çimlenen embriyo ağırlıkları incelendiğinde, veriler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (Şekil 4.12). Eksplant türü ortalaması incelendiğinde, en fazla ağırlık (4.52 g/bitki) yaprak eksplantında gözlenirken, en az ağırlık (2.70 g/bitki) yaprak sapı eksplantında gözlenmiştir. Genotip çeşidinin eksplant türüne etkisi incelendiğinde, en fazla ağırlık (5.30 g/bitki), CP3 genotipinden alınan yaprak eksplantlarından elde edilirken, en az ağırlık (2.65 g/bitki) CP5 genotipinden alınan yaprak sapı eksplantlarından elde edilen bitkilerde gözlenmiştir. Genotip ortalaması incelendiğinde, en fazla ağırlık (4.02 g/bitki), CP3 genotipinde bulunmuşken, en az ağırlık (3.20 g/bitki) CP5 genotipinde gözlenmiştir. (Çizelge 4.5)

Çizelge 4.6. Embriyo Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

2İP + 2,4- D	Genotip	Eksplant türü		Genotip ortalaması
		Yaprak sapı embryo	Yaprak embryo	
	CP3	3.00 b	3.50 a	3.25 a
	CP5	1.25 c	3.35 ab	2.30 b
	Eksplant türü ortalaması	2.12 b	3.42 a	

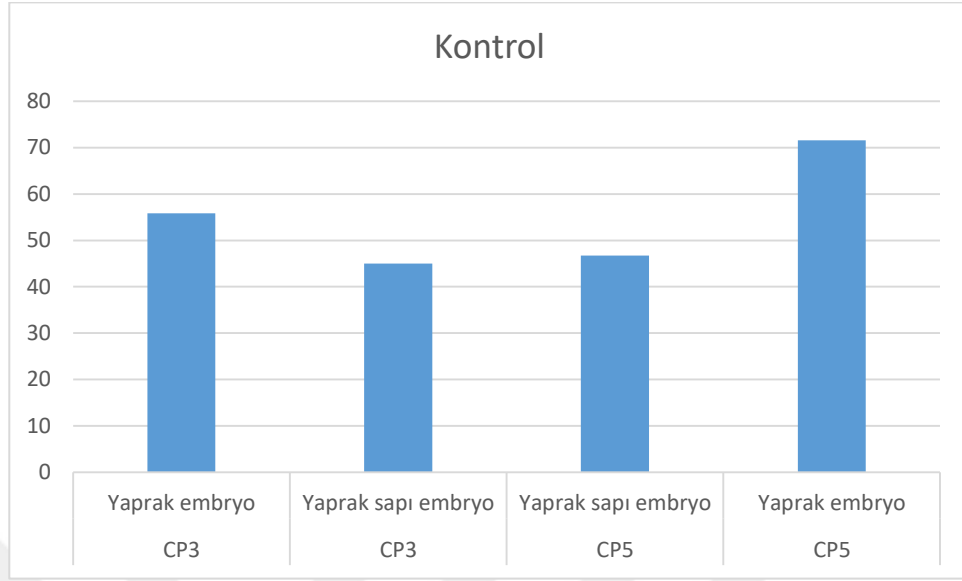
LSDeksplanttürüortalaması: 0.32***

LSDgenotiportalaması: 0.32**

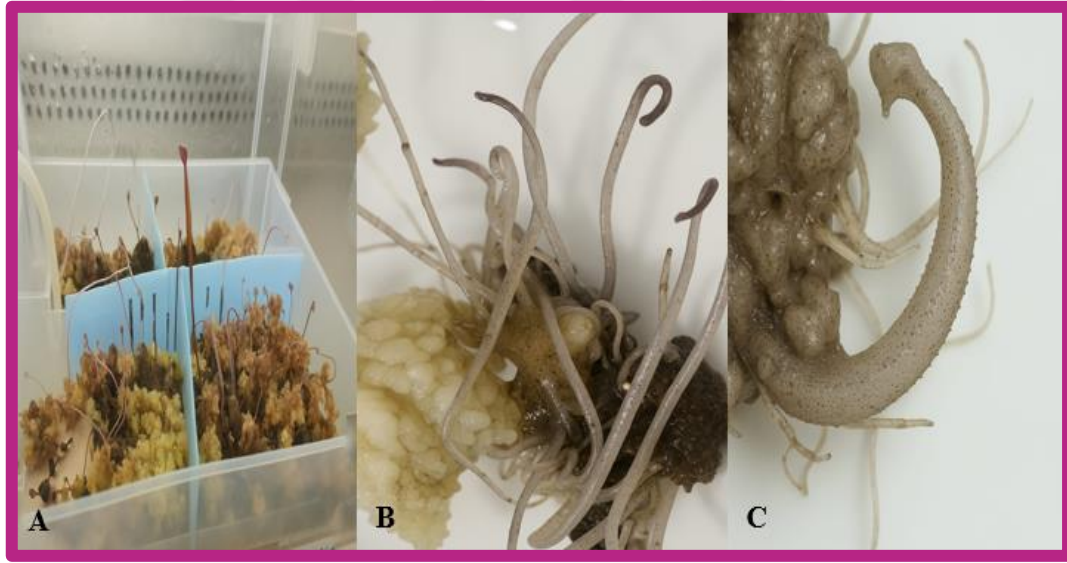
LSDeksplanttürü*genotip: 0.46**

C.persicum türünde kontrol ortamında bulunan yaprak ve yaprak sapı eksplantlarına ait çimlenen embriyo ağırlıkları incelendiğinde, veriler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Eksplant türü ortalaması incelendiğinde, en fazla ağırlık (3.42 g/bitki) yaprak eksplantında gözlenirken, en az ağırlık (2.12 g/bitki) yaprak sapı eksplantında gözlenmiştir. Genotip çeşidinin eksplant türüne etkisi incelendiğinde, en fazla ağırlık (3.50 g/bitki), CP3 genotipinden alınan yaprak eksplantlarından elde edilirken, en az ağırlık (1.25 g/bitki) CP5 genotipinden alınan yaprak sapı eksplantlarından elde edilen bitkilerde gözlenmiştir. Genotip ortalaması incelendiğinde, en fazla ağırlık (3.25 g/bitki), CP3 genotipinde bulunmuşken, en az ağırlık (2.30 g/bitki) CP5 genotipinde gözlenmiştir. (Çizelge 4.6)

4.7. Plantform Sisteminde Embriyodan Bitkiciğe Dönüşüm Yüzdesi



Şekil 4.14. Plantform Sisteminde Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Yüzdesi (Kontrol)



Şekil 4.15. Plantform Biyoreaktör Sisteminde Çimlenme A) Plantform Genel Görünüm B) Yaprak Embriyo C) Yaprak Sapı Embriyo

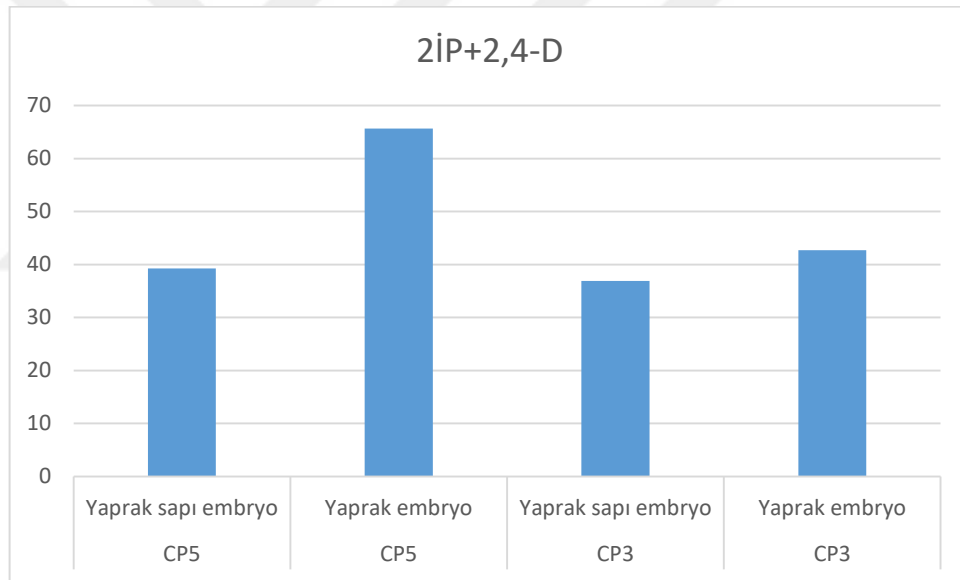


Şekil 4.16. Katı Besi Ortamında Çimlenme A) Petriden Genel Görünüm B) Yaprak Sapı Embriyo C) Yaprak Embriyo

Cyclamen persicum'a ait kontrol ortamında embriyodan bitkiye dönüşüm yüzdesi verileri, Şekil 4.15'de gösterilmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular, genotip ve eksplant tipinin embriyodan bitkiye dönüşüm oranı üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle CP5 genotipinin, hem yaprak sapı hem de yaprak eksplantlarında CP3 genotipine kıyasla daha yüksek dönüşüm oranları sergilediği belirlenmiştir. Eksplant tipi açısından değerlendirildiğinde ise, yaprak eksplantlarının, yaprak sapına göre daha yüksek bitkiye dönüşüm oranı sağladığı gözlemlenmiştir. Bu durum, CP5 genotipinin rejenerasyon kapasitesinin daha yüksek olduğunu ve yaprak eksplantlarının morfolojik ve fizyolojik özellikleri bakımından embriyo gelişimini daha iyi desteklediğini düşündürmektedir. Dolayısıyla, bitkiye dönüşüm verimliliğinin artırılmasında genotip seçimi kadar uygun eksplant tipinin belirlenmesinin de kritik öneme sahip olduğu sonucuna varılabilir. Yüzdelik veriler incelendiğinde, CP3 ve CP5 genotiplerinde en iyi sonuç yaprak embriyolarında gözlenmiştir.



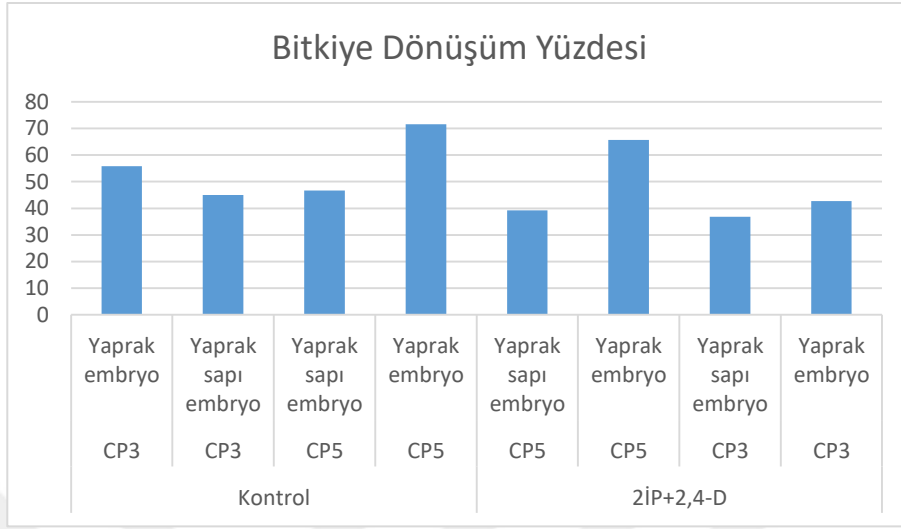
Şekil 4.17. Embriyodan Bitkiciğe Dönüşen Yaprak Embriyoların Plantform Görüntüsü



Şekil 4.18. Plantform Sisteminde Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Yüzdesi

2İP +2,4-D içeren Plantform sisteminde CP3 ve CP5 genotiplerine ait yaprak ve yaprak sapı eksplant tiplerinden elde edilen embriyoların bitkiye dönüşüm yüzdeleri karşılaştırılmıştır (Şekil 4.19) Elde edilen bulgulara göre CP5 genotipi, özellikle yaprak embriyosu kullanıldığında yaklaşık %65 dönüşüm oranı ile en yüksek başarıyı göstermiştir. Aynı genotipe ait yaprak sapı embriyosu ise yaklaşık %40'lık bir dönüşüm oranına sahiptir. Bu sonuçlar CP5 genotipinin somatik embriyodan bitki rejenerasyonu açısından CP3'e kıyasla daha yüksek bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde aynı hormon kombinasyonu altında CP5 genotipinin özellikle yaprak embriyolarında daha yüksek dönüşüm yüzdesi göstermesi, genotip ve eksplant tipinin bitki rejenerasyonunda kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Bu

veriler, genotipe özgü protokollerin optimize edilmesinin, bitki doku kültürü çalışmalarında başarı oranlarını arttırabileceğine işaret etmektedir.



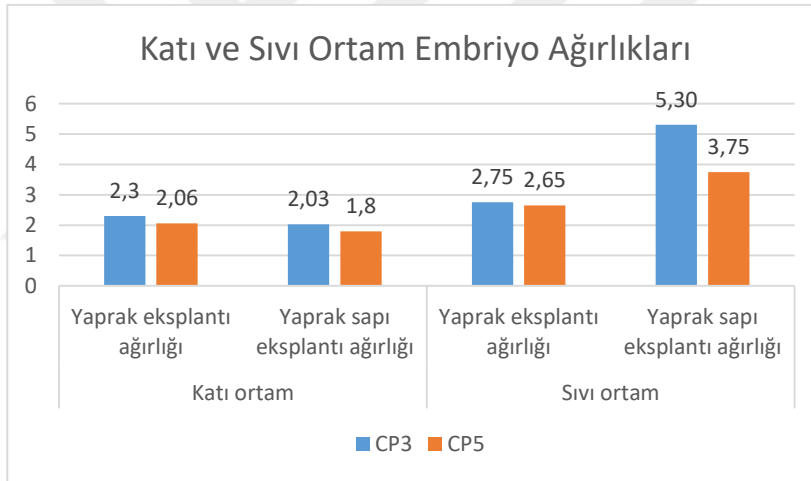
Şekil 4.19. Plantform Sisteminde Embriyodan Bitkiye Dönüşüm Yüzdesi

CP3 ve CP5 genotiplerinin yaprak ve yaprak sapı embriyolarından bitkiye dönüşüm yüzdeleri, hem kontrol grubu hem de 2İP + 2,4-D içeren ortam koşulları altında karşılaştırmalı olarak sunulmuştur (Şekil 4.20). Elde edilen bulgular, genotip, eksplant tipi ve hormon kombinasyonlarının rejenerasyon verimliliği üzerinde önemli etkiler oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Bu veriler hormon kombinasyonlarının genotipler arasında farklı etkilere yol açtığını ve CP5 genotipinin, 2İP + 2,4-D içeren ortamda özellikle yaprak embriyoları kullanıldığında yüksek rejenerasyon kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Diğer yandan, CP3 genotipinin kontrol ortamında daha başarılı olduğu ancak hormon ilavesine düşük yanıt verdiği gözlemlenmiştir. Bu durum, genotip ortam etkileşiminin bitki rejenerasyonunda belirleyici bir faktör olduğunu desteklemektedir.



Şekil 4.20. Plantform Kültür Kabında Gelişen Bitkiler (A, B, C)

4.8. Katı ve Sıvı Ortam Embriyo Ağırlıklarının Karşılaştırılması



Şekil 4.21. Katı ve Sıvı Ortam Embriyo Ağırlıklarına Ait veriler

Katı ve sıvı ortamda CP3 ve CP5 genotiplerine ait embriyo ağırlıkları karşılaştırılmıştır (Şekil 4.22). Her iki genotipte de sıvı ortamda katı ortama göre daha yüksek embriyo ağırlıklarına ulaşıldığı gözlenmiştir. Genotipler kendi içinde kıyaslandığında CP3 genotipinin yaprak ve yaprak sapı eksplantlarının kalluslarından gelişen embriyo ağırlık artışının daha fazla olduğu gözlenmiştir. Katı ortamda genotipler arasındaki fark daha az belirgin bir şekilde kendini göstermiştir. Bu sonuçlar, sıvı ortamın embriyo gelişimi açısından daha elverişli olduğunu ve özellikle CP3 genotipinin sıvı ortamda ağırlık artışı açısından avantajlı genotip olarak öne çıktığını göstermektedir. Bu durumda ortam tipi ve genotip etkileşiminin, *in vitro* gelişimi açısından önemli bir faktör olduğu söylenebilir.

4.9. Morfolojik Bulgular

Katı ortam ve Plantform yeni nesil biyoreaktör sisteminde ½ MS kontrol ortamında mikroçoğaltım denemeleri kurulmuştur. Mikroçoğaltım sonucu elde edilen bitkilerde bitki boyu, kök uzunluğu, kök sayısı, yaprak eni, yaprak boyu parametreleri incelenmiştir. Bulgular, (Çizelge 4.7)'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Morfolojik Bulgular (Bitki boyu, Kök boyu, Kök sayısı, Yaprak eni-boyu)

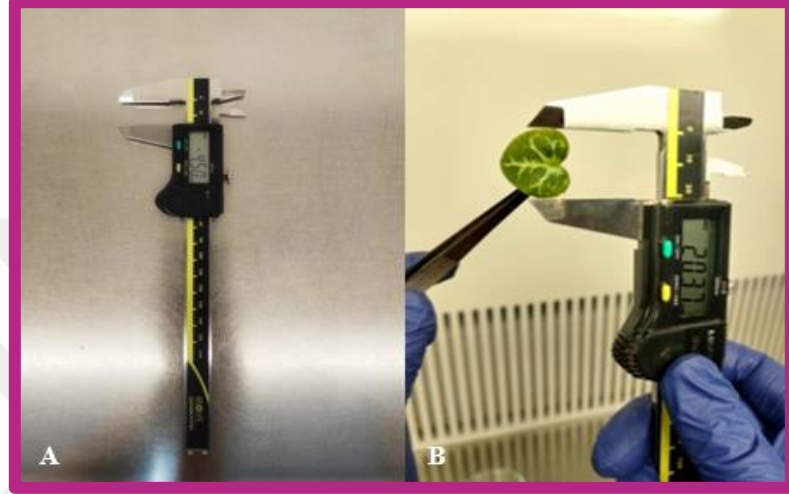
	Bitki boyu(cm)	Kök uzunluğu(cm)	Kök sayısı(kök/bitki)	Yaprak eni(cm)	Yaprak boyu(cm)
Katı ortam	2.40 b	2.82 a	7.00 a	1.35 b	1.32 b
Plantform	4.54 a	2.02 a	2.00 b	2.34 a	1.97 a
LSD	1.51*	Ö.D.	1,03***	0.47**	0.46*

Plantform kültür kabı ve katı kültür besi ortamı mikroçoğaltım denemelerinin sonuçları karşılaştırıldığında *C.persicum* türünün bitki boyu Plantform kültür kabında 4.54 cm, katı kültür besi ortamında ise 2.40 cm olarak tespit edilmiştir. Bu durum, Plantform sisteminin bitki gelişimi açısından daha avantajlı olduğunu göstermektedir. Plantform kültür kabı ve katı kültür besi ortamı mikroçoğaltım denemelerinde gelişen bitkilerin kök uzunluğu sonuçlarına bakıldığında, Plantform'da yetişen bitkilerin kök uzunluğu 2.02 cm, katı kültür ortamında yetişen bitkilerin kök uzunluğu ise 2.82 cm, olarak ölçülmüştür. Bu durum, kök uzunluğu açısından iki sistem arasında belirgin bir üstünlük söz konusu değildir. Kök sayısı verilerinin sonuçları incelendiğinde katı ortamda 7.00 (kök/bitki), Plantform'da 2.00 (kök/bitki) olarak bulunmuştur. Katı ortamda kök sayısı anlamlı derecede daha fazladır. Plantform sisteminin bu parametrede daha düşük performans gösterdiği anlaşılmaktadır. Bitki boyu, kök uzunluğu ve ölçümüne ait görsel, Şekil 4.23'de sunulmuştur.



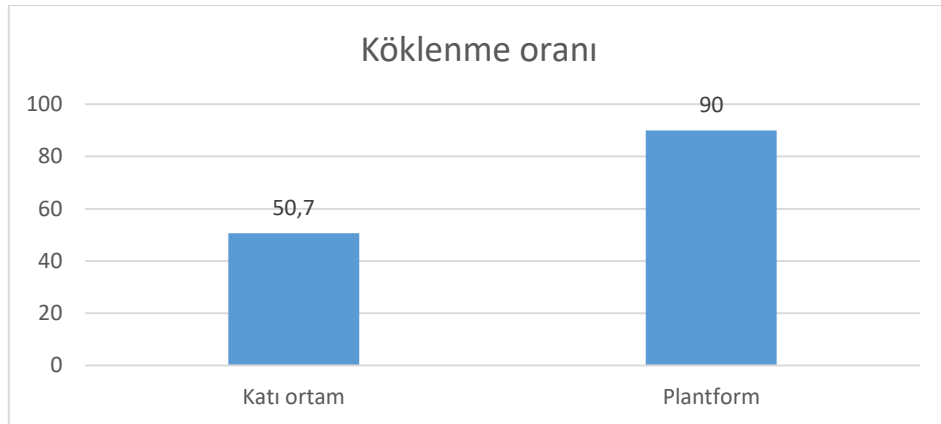
Şekil 4.22. A, C) Katı Kültür Ortamında Gelişen Bitkiler B) Plantform Kültür Kabında Gelişen Bitki

Yaprak en- boy (mm) ölçümü için kumpas (Mitutoyo,150 mm) kullanılmıştır. Ölçümlerde yaprağın eni; yaprağın tam ortasından, yaprak boyu ise yaprağa dik olacak şekilde (Şekil 4.24) ölçülmüştür. Yaprak enine ait veriler incelendiğinde, katı kültür ortamında 1.35 cm, Plantform’da 2.34 cm olarak ölçülmüştür. Yaprak boyu ise katı kültür ortamında 1.32 cm, Plantform’da 1.97 cm olarak ölçülmüştür. Yaprak eni ve boyuna ait veriler incelendiğinde, Plantform kültür kabında gelişen bitkilerin katı ortam denemesinde elde edilen bitkilere göre yaprak eni ve yaprak boyu istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur.



Şekil 4.23. Cyclamen Bitkisinin Yaprak Ölçümü **A)** Kumpas Cihazının Genel Görünümü, **B)** Sıklamen Yaprığı; Yaprak En -Boy

Katı kültür ortamı ve Plantform kültür kabında mikroçoğaltımla gelişen bitkilerin, köklenme oranı (%) incelenmiş ve köklenme oranlarının katı kültürde (%) 50.7, Plantform sisteminde (%) 90 olarak elde edilmiştir. *C.persicum* için katı kültür ve Plantform sistemi köklenme yüzdeleri incelendiğinde Plantform sisteminde daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.23).

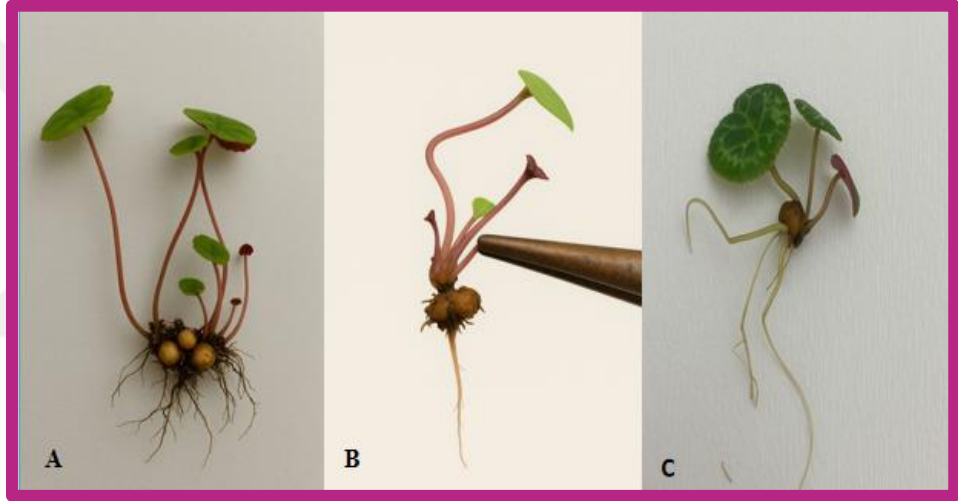


Şekil 4.24. Katı Ortam ve Plantform Kültür Kabı Köklenme Yüzdeleri

Katı ortam ve Plantform kültür kabında gelişen bitkiler yumru sayısı bakımından kıyaslanmıştır. Plantform kültür kabında 8.40 adet/bitki yumru, katı kültürde ise 3.20 adet/bitki yumru hesaplanmıştır. Sonuçlar kıyaslandığında Plantform kültür kabından elde edilen bitkiler, yumru sayısı bakımından katı kültür ortamındaki bitkilerden daha başarılı bulunmuştur (Çizelge 4.8). Bu sonuç siklamen üretiminde istenen bir özelliktir, çünkü yumrular yeni bitki üretimi ve muhafaza için kritik öneme sahiptir. Yumrulara ait görseller Şekil 4.26’da sunulmuştur.

Çizelge 4.8. Yumru Sayısı

	Yumru sayısı (adet)
Katı ortam	3.20 b
Plantform	8.40 a
LSD	2.06***

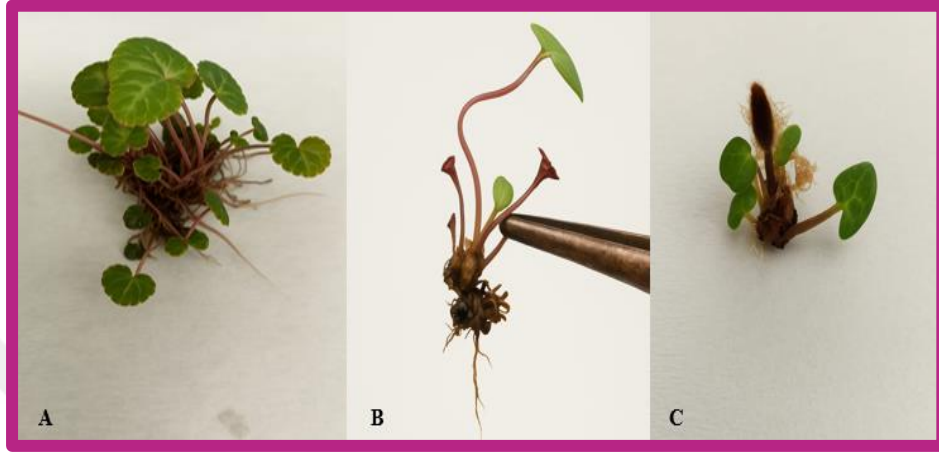


Şekil 4.25. *C. persicum*’da Yumru Gelişimi A, B) Plantformda Gelişen Yumru C) Katı Ortamda Gelişen Yumru

Katı kültür ve Plantform kültür kabında mikroçoğaltımla elde edilen bitkilerde, kardeşlenme katsayısı katı kültürde 2.60 (kardeş/bitkicik) iken, Plantform mikroçoğaltım denemesinde 9.00 (kardeş/bitkicik) olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.9). Kardeşlenme katsayısına ait veriler istatistiksel açıdan incelendiğinde, Plantform sisteminde kardeşlenme katsayısı ortalaması daha yüksek bulunmuş olup bitki kalitesinin daha iyi olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.27).

Çizelge 4.9. Kardeşlenme Sayısı

	Kardeş sayısı (adet)
Katı ortam	2.60 b
Plantform	9.00 a
LSD	2.14***



Şekil 4.26. A, B) Plantform Sisteminde, C) Katı Kültürde Mikroçoğaltım Sonucu Elde Edilen Bitkiler

Katı kültür ve Plantform sistemlerinden elde edilen köklü bitkiler, dış ortam koşullarına alıştırılmış ve bitkilerin dış ortam koşullarında yaşama oranı %90 olmuştur. Dış ortam koşullarına alıştırılan bitkilere ait görüntü Şekil 4.28’de verilmiştir.



Şekil 4.27. Dış Ortam Koşullarına Alıştırılan Bitkiler

Kallus oluşumu ve somatik embriyo oluşumu değerlendirildiğinde, Koçak ve arkadaşlarının (2014) belirttiği protokol uygulanmıştır. Bu protokol içeriğinde, ½ MS (Murashige and Skoog, 1962) ile birlikte 2mg/L 2,4-D ve 0,8 mg/L 2İP büyüme düzenleyicileri ortama ilave edilmiştir. Elde edilen kallusların farklılaşması ve somatik embriyoların çimlenmesi için hormonsuz MS ortamı kullanılmıştır (Pueschel ve ark. 2003).

Eksplant kaynağı olarak yaprak ve yaprak sapı kullanılmıştır. Kallus oluşumunda en iyi sonuç veren eksplant tipi yaprak sapı olmuştur. Koçak ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada aynı sonucu bildirmiş, yaprak sapında oluşan kallus miktarı, ovul ve ovaryumdan oluşan kallus miktarından daha fazla gözlemlemiştir. Yapmış olduğumuz tez çalışması ile sonuçlar tutarlı bulunmuştur. Bu durum, çalışmalarda aynı genotiplerin kullanılması ve deneylerin benzer laboratuvar koşullarında yürütülmesi ile ilişkilendirilebilir. Aynı zamanda genotip kaynaklı biyolojik varyasyonların ve çevresel faktörlerin kontrol altında tutulmasının, sonuçlar üzerindeki etkisini azaltarak deneysel tutarlılığı arttırdığına da işaret eder.

İzgü ve ark.(2016) yaptıkları çalışmada etkili ve tekrarlanabilir bir embriyo-benzeri yapı (ELS) rejenerasyon protokolü geliştirmiştir. Farklı eksplant tipleri (yaprak, petiyol, ovül, overyum) ve 2,4-D ile 2İP kombinasyonları, kallus indüksiyonu ve ELS oluşumu üzerinde belirgin etkilere sahip olmuş; özellikle petiyol ve yaprak eksplantları yüksek rejenerasyon potansiyeli göstermiştir. *C. pseudibericum* türünde elde edilen yüksek ELS oluşumu ve başarılı bitkicik gelişimi, bu türün in vitro çoğaltıma uygunluğunu ortaya koymaktadır. Bitkiciklerin ex vitro koşullarda yüksek adaptasyon başarısı ise protokolün pratik uygulanabilirliğini desteklemektedir. Bu çalışmada kullanılan 2,4-D ve 2İP kombinasyonlarının, embriyo-benzeri yapı (ELS) oluşumu ve bitkicik gelişimini destekleyici etkisi, İzgü ve ark. (2016) tarafından Türkiye'ye özgü *Cyclamen* türlerinde bildirilen bulgularla büyük ölçüde örtüşmektedir. Benzer şekilde, kendi çalışmamda da bu hormon kombinasyonlarıyla eksplantlarda yüksek kallus indüksiyonu ve belirgin bir rejenerasyon potansiyeli gözlenmiştir. Bu durum, söz konusu bitki büyüme düzenleyici kombinasyonlarının farklı *Cyclamen* türlerinde rejeneratif yanıtları uyarmada etkili ve güvenilir bir araç olduğunu desteklemektedir. Elde edilen bulgular, endemik türlerin korunması ve biyoteknolojik üretim süreçlerinde kullanılabilecek güvenilir bir temel sunmaktadır.

Jalali ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada ½ MS besi ortamı içeriğine düşük konsantrasyonda kullandıkları 2,4-D ve Kinetin içeren ½ MS besi ortamında en iyi sonucu verdiğini tespit etmişlerdir. Çalışmalarında 2,4-D'nin dozunun 2İP ile birlikte kullanılmasıyla kallus oluşumu ve somatik embriyo gelişimine önemli katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır. İlerleyen çalışmalarda bu genotiplerde de Kinetin uygulamasının yararlı sonuçlar sağlayabileceği öngörülmektedir.

Somatik embriyo gelişim ortamı için hormon kullanılmasının gerekli olmadığı Kiviharju ve ark. (1991) ve Koçak ve ark. (2014)'nın yaptıkları çalışmalarda bildirilmiştir. Çalışmalarında somatik embriyoların eldesi ve çimlenmesi hormonsuz besin ortamlarından elde edilmiştir.

Sıklamen bitkisinin içsel hormon dengesinin somatik embriyo ve çimlenme için yeterli olduğu görülmüştür.

Farklılaşma ve embriyo çimlenmesi aşamasında, hormonsuz ortama aktarılan kallusların gelişiminde olumlu sonuçlar alınmıştır. Önceki literatürde, somatik embriyogenez sürecinde kullanılan büyüme düzenleyicilerinin kallus indüksiyonu sonrası çıkarılmasının embriyo farklılaşması açısından avantaj sağladığı belirtilmiştir (Koçak, 2012; Prange ve ark., 2010). Bu bağlamda, hormon baskısının ortadan kalkması, embriyo gelişimini desteklemiş ve gelişen embriyoların homojen morfolojik yapılar sergilemesine neden olmuştur. Çalışmamızda da bu gözlem doğrulanmış, farklı genotiplerden elde edilen embriyoların çimlenme kapasitesi tatmin edici bulunmuştur.

Plantform geçici daldırma sistemiyle yapılan uygulamalarda, klasik katı kültüre kıyasla daha hızlı gelişim, daha yüksek embriyo sayısı ve daha kaliteli bitkicikler elde edilmiştir. Bu bulgu, Uğur (2019) tarafından yapılan eğrelti türleri üzerindeki çalışmayla uyum içerisindedir. Söz konusu araştırmada, 3 saatlik daldırma süresiyle elde edilen en yüksek sporofit dönüşüm oranı Plantform sisteminin etkinliğini göstermiştir. Benzer şekilde, Cengiz (2018)'in çalışmasında turuncgil genotiplerinde Plantform sisteminin klasik kültüre kıyasla sürgün uzunluğu, köklenme oranı ve aklimatizasyon başarısı açısından üstünlük sağladığı bildirilmiştir. *C. persicum* 'la yapılan çalışmamızda da, Plantform sisteminin sağladığı kontrollü gaz alışverişi ve besin dağılımı sayesinde bitki gelişimi hızlanmış ve çimlenen embriyoların morfolojisi daha dengeli olmuştur. Kreuger ve ark (1995) çalışmasında, *Cyclamen persicum* türü için sıvı ortamda somatik embriyo üretimi amacıyla beş aşamalı bir mikroçoğaltım protokolü geliştirmiştir. Protokolde, embriyojenik kallusun oluşturulmasından embriyojenik süspansiyon kültürlerinin başlatılmasına, embriyo ön-olgunlaştırılması ve olgunlaştırılması gibi kademeli süreçler yer almıştır. Araştırma boyunca sıvı ortam kullanımı, embriyo oluşumunun senkronize ilerlemesini ve yüksek verimli bir üretim döngüsünü mümkün kılmıştır. Olgunlaşan embriyolar, yapay tohum üretimi çalışmalarına uygun hale getirilmiş ve çimlendirme sonucunda sağlıklı fideler elde edilmiştir. Bu çalışmayla, *Cyclamen* için sıvı kültür tabanlı üretimin laboratuvar ortamından ticari üretime geçişte uygun bir yöntem olabileceği ortaya konmuştur. Bu tez çalışmasında ise, *Cyclamen persicum* türüne ait yaprak ve yaprak sapı eksplantları kullanılarak somatik embriyo potansiyelleri test edilmiştir. Eksplantlardan kallus oluşumu ve embriyo çimlenmesi süreçleri incelenmiş ve Plantform biyoreaktör sistemi kullanılarak mikroçoğaltım denemeleri yapılmıştır. Çalışmanın sonunda, Plantform sisteminde bitkiye dönüşüm oranı ve kalitesinin daha iyi olduğu gözlenmiştir. Etienne ve Berthouly'nin (2002) çalışmasında geçici daldırma biyoreaktörleri 4 kategoriye ayrılmış ve sistemin mikroçoğaltım verimliliğine katkı sağladığı vurgulanmıştır. Üretim maliyetlerini azaltmaya yönelik dört ana avantaj öne çıkarılmıştır:

- İş gücünde azalma,
- Raf alanında tasarruf,
- Kullanılan kap sayısında azalma,
- Daha iyi biyolojik ürün elde edilmesidir.

Bu bulgular, Uğur, (2019)'un çalışmasıyla birlikte değerlendirildiğinde, geçici daldırma biyoreaktör sisteminin özellikle eğrelti türlerinde verimli ve sürdürülebilir bir çoğaltım yöntemi sunduğu; düşük iş gücü gereksinimi sağladığı, azalan kontaminasyon riski, homojen ışık dağılımı ve sterilizasyon imkânı gibi avantajlarıyla bitki biyoteknolojisi alanında önemli bir alternatif oluşturduğunu vurgulanmaktadır.

Aka Kaçar ve arkadaşları (2020) çalışmasında, *Spathiphyllum* 'Chico' genotipinin mikroçoğaltımında iki farklı sistemin, klasik agar ortamı ve geçici daldırma biyoreaktör sisteminin (Plantform), etkinliği karşılaştırılmıştır. Kullanılan büyüme düzenleyicileri 1 mg/L 6-Benzilaminopürin (BAP) ve 1 mg/L Indol-3-bütirik asittir (IBA). SRAP (Sequence-Related Amplified Polymorphism) analizleri ile bitkilerde genetik stabilite değerlendirilmiştir. Her iki sistemde de başarılı çoğaltım sağlanmıştır. Biyoreaktör sisteminde büyüme daha hızlı ve homojen olmuştur. Bu çalışma, geçici daldırma sistemlerinin süs bitkilerinin ticari üretiminde klasik yöntemlere eşdeğer olduğunu ortaya koymaktadır.

Rico ve arkadaşları (2022) çalışmasında, tıbbi ve endüstriyel kullanımı giderek yaygınlaşan *Cannabis sativa* bitkisinin mikroçoğaltım amacıyla geçici daldırma biyoreaktör sistemlerinin (RITA® ve Plantform™) verimliliğini karşılaştırmalı olarak değerlendirmeyi amaçlamıştır. Bu durum, nadir ve endemik türlerin sürdürülebilirliği için önemli katkılar sunmaktadır. Rico ve arkadaşları (2022) çalışmasında, geçici daldırma biyoreaktör sistemlerinin kontrollü, tekrarlanabilir ve ticari ölçekte uygulanabilir çoğaltım sistemleri sunduğu belirtilmiştir. Bu tez çalışmasında da benzer şekilde, Plantform biyoreaktör sistemi kullanılarak embriyo gelişimi ve bitkiye dönüşüm oranı artırılmıştır.

SPAD analizleri, biyoreaktör ortamında yetişen bitkilerin yapraklarında daha yüksek klorofil düzeylerini ortaya koymuştur. Ayrıca yaprak eni ve boyuna ait veriler incelendiğinde, Plantform kültür kabında gelişen bitkilerin katı ortam denemesinde elde edilen bitkilere göre yaprak eni ve yaprak boyu istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Bu durum, biyoreaktör sistemlerinde oksijen düzeyinin yeterli olması ve fotosentezi destekleyen koşulların sağlanmasıyla açıklanabilir. Hohe ve ark. (1999) biyoreaktör ortamında biriken CO₂'nin hücre büyümesini baskımlarken embriyo oluşumunu artırdığını raporlamış, aynı zamanda oksijen yönetiminin kültür başarısında kritik rol oynadığını vurgulamıştır. Ayrıca Lyngved ve ark. (2008)'da oksijen konsantrasyonu ve sıcaklığın embriyo gelişimi üzerindeki etkilerini ortaya koyarak, biyoreaktör ortamlarının klonal çoğaltımda maliyet-etkin bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Çalışmada kullanılan büyüme düzenleyicileri 2,4-D ve 2iP'nin kallus indüksiyonu ve somatik embriyo oluşumundaki etkisi, Jalali ve ark. (2012); Koçak (2012) ve Winkelmann ve Serek (2005) tarafından da başarılı bulunmuştur. Bu kombinasyonun düşük konsantrasyonlarda kullanılması, kallusların embriyogenik yetenek kazanmasını kolaylaştırmış, ancak farklılaşma için hormonsuz ortama geçişin gerektiği doğrulanmıştır.

Genotipler arası farklılıklar da somatik embriyo oluşumu ve bitki gelişimi açısından etkili olmuştur. Jalali ve Koçak'ın çalışmalarında da vurgulandığı gibi, farklı *C. persicum* genotiplerinin rejenerasyon kapasitesi arasında önemli farklar bulunmakta, bu nedenle genotip seçimi başarıyı doğrudan etkilemektedir. Bu çalışmada kullanılan CP1, CP2, CP3, CP4 ve CP5 genotipleri arasında embriyo oluşumu ve SPAD değerleri açısından farklar gözlenmiş, bu bulgu literatürde bildirilen genotip bağımlılığıyla örtüşmüştür.

Cengiz, (2018)'in yaptığı çalışmanın bulgularına göre, Tuzcu 31-31 türünde Plantform sistemi ile elde edilen sürgün uzunluğu katı kültürdeki 1.0 cm'ye kıyasla 6.23 cm'ye ulaşmış, kardeşlenme katsayısı da 3.4'ten 5.2'ye çıkmıştır. Bitki kalitesinde gözle görülür artış olduğu vurgulanmıştır. C-35 sitranjı türünde ise mikroçoğaltım parametreleri iki sistem arasında benzer düzeyde olsa da, köklenme denemelerinde Plantform sistemi açık üstünlük sağlamıştır. Özellikle bitki boyu (6.50 cm), kök uzunluğu (6.26 cm) ve %100 köklenme oranı gibi veriler bu sistemin etkinliğini göstermiştir. Bu tez çalışmasında da bitki boyu Plantform'da (4.54 cm), katı kültürde ise (2.40 cm) ölçülmüş, kardeşlenme katsayısı katı kültürde 2.60 (kardeş/bitkicik) iken Plantform mikroçoğaltım denemesinde 9.00 (kardeş/bitkicik) ölçülerek Plantform sisteminin etkinliğinin katı ortama göre açık üstünlük sağladığı tez çalışmasının bulgularıyla desteklenmiştir.

C.persicum türünde Plantform'da ve katı kültür ortamında bulunan yaprak ve yaprak sapı eksplantlarına ait çimlenen embriyo ağırlıkları incelendiğinde, veriler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Eksplant türü ortalaması incelendiğinde, en fazla ağırlık (4.52 g/bitki) yaprak eksplantında gözlenirken, en az ağırlık (2.70 g/bitki) yaprak sapı eksplantında gözlenmiştir. Genotip çeşidinin eksplant türüne etkisi incelendiğinde, en fazla ağırlık (5.30 g/bitki), CP3 genotipinden alınan yaprak eksplantlarından elde edilirken, en az ağırlık (2.65 g/bitki) CP5 genotipinden alınan yaprak sapı eksplantlarından elde edilen bitkilerde gözlenmiştir. Genotip ortalaması incelendiğinde, en fazla ağırlık (4.02 g/bitki), CP3 genotipinde bulunmuşken, en az ağırlık (3.20 g/bitki) CP5 genotipinde gözlenmiştir. Katı kültür verilerinde de genotip ve ortam etkileşimi CP3 yaprak eksplantlarında (2.30 g/bitki), CP5 yaprak eksplantlarında 2.06 (g/bitki); yaprak sapı eksplantlarında CP3 (2.03 g/bitki), CP5 (1.80 g/bitki) ağırlık ölçüm sonuçlarında etkisini göstermiştir. Plantform sisteminde daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. CP5 genotipinin somatik embriyodan bitki rejenerasyonu açısından CP3'e kıyasla daha yüksek bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde aynı ortam koşulları altında CP5 genotipinin özellikle yaprak embriyolarında daha yüksek dönüşüm yüzdesi göstermesi, genotip ve eksplant tipinin bitki rejenerasyonunda kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

Bu tez çalışmasında embriyodan bitkiye dönüşüm oranları, hem katı kültür ortamında hem de Plantform biyoreaktör sisteminde değerlendirilmiş ve iki sistem arasında belirgin farklar gözlemlenmiştir. Katı kültür ortamında CP3 genotipinde yaprak sapı eksplantı ile dönüşüm oranı %31.94, yaprak eksplantı ile %33.21 olarak ölçülmüştür. Aynı genotipte Plantform sisteminde bu oranlar sırasıyla %43 (yaprak sapı) ve %55 (yaprak) olarak belirlenmiştir. CP5 genotipinde ise katı ortamda yaprak sapı ile dönüşüm %33.21, yaprak ile %38.05 olarak kaydedilirken, Plantform sisteminde bu oranlar sırasıyla %45 (yaprak sapı) ve %70 (yaprak) düzeyine ulaşmıştır.

Tez çalışmasında embriyodan bitkiye dönüşüm oranları, hem katı kültür ortamında hem de Plantform biyoreaktör sisteminde değerlendirilmiş ve iki sistem arasında belirgin farklar gözlemlenmiştir. Katı kültür ortamında CP3 genotipinde yaprak sapı eksplantı ile dönüşüm oranı %31.94, yaprak eksplantı ile %33.21 olarak ölçülmüştür. Aynı genotipte Plantform sisteminde bu oranlar sırasıyla %43 (yaprak sapı) ve %55 (yaprak) olarak belirlenmiştir. CP5 genotipinde ise katı ortamda yaprak sapı ile dönüşüm %33.21, yaprak ile %38.05 olarak kaydedilirken, Plantform sisteminde bu oranlar sırasıyla %45 (yaprak sapı) ve %70 (yaprak) düzeyine ulaşmıştır.

Tez kapsamında incelenen her iki genotipte de Plantform sisteminin, katı kültür ortamına kıyasla embriyodan bitkiye dönüşüm oranlarını önemli ölçüde artırdığını göstermektedir. En yüksek artış CP5 genotipinin yaprak eksplantlarında gözlenmiş olup, bu grup Plantform sisteminde yaklaşık %70 dönüşüm oranı ile dikkat çekmektedir. Bu durum, Plantform sisteminin sıvı ortam ve kontrollü havalandırma gibi dinamik koşulları sayesinde embriyo gelişimini daha etkin desteklediğini düşündürmektedir. Ayrıca her iki kültür sisteminde de yaprak eksplantları, yaprak sapı eksplantlarına kıyasla daha yüksek dönüşüm oranları sağlamıştır. Bu sonuç, yaprak dokularının farklılaşma ve rejenerasyon yeteneğinin daha yüksek olduğunu, yapısal ve fizyolojik özelliklerinin embriyo gelişimine daha elverişli olduğunu desteklemektedir. Genotip açısından ise CP5 genotipi, her iki sistemde ve her iki eksplant tipinde de CP3 genotipine göre daha yüksek rejenerasyon kapasitesi sergilemiştir. Bu bulgular, bitkiye dönüşüm verimliliğini artırmak amacıyla uygun genotip-eksplant-kültür sistemi kombinasyonunun dikkatle seçilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Cyclamen persicum bitkisinde yaprak ve yaprak sapı eksplantlarında yürütülen tez çalışmasında sterilizasyon, kallus gelişimi, embriyo çimlenmesi ve embriyo ağırlığı verileri incelenmiştir. Eksplantlardan kallus oluşumu ve embriyo çimlenmesi süreçleri incelenmiş ve Plantform biyoreaktör sistemi kullanılarak mikroçoğaltım denemeleri yapılmıştır. Çalışmanın sonunda, Plantform sisteminde bitkiye dönüşüm oranı ve kalitesinin daha iyi olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular, önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında biyoreaktör sistemlerinin embriyo gelişimi ve bitki çoğaltımı üzerindeki olumlu etkilerini doğrulamaktadır.

Bu çalışma sonucunda sterilizasyon protokolünde $HgCl_2$ uygulamasının süresi artırıldığında sterilizasyon başarısı üzerine olumlu bir yanıt sergilediği bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalarda $HgCl_2$ 'nin toksik etkisine alternatif olabilecek PPM gibi enfeksiyon baskılayıcı maddelerin denenmesi önerilmektedir.

Kallus oluşumuna ait veriler incelendiğinde en iyi gelişim yaprak sapı eksplantından elde edilmiştir. Embriyo çimlenme verileri de değerlendirildiğinde benzer sonuçlar gözlemlenmiş bunun sonucunda da yaprak sapı eksplantlarının rejenasyon oranının daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. En iyi ağırlık ise CP3 genotipinden elde edilmiştir.

Bundan sonraki yapılacak çalışmalarda farklı bitki büyüme düzenleyicilerin etkisinin de değerlendirilerek araştırılması önerilmektedir.

Bu tez çalışmasında, Plantform biyoreaktör sistemi kullanılarak embriyo gelişimi ve bitkiye dönüşüm oranı artırılmıştır. Bu durum, biyoreaktör sistemlerinin embriyo gelişimi ve bitki çoğaltımı üzerindeki olumlu etkilerini göstermektedir. Biyoreaktör sistemlerinin kullanımı, embriyo gelişimi ve bitki çoğaltımı üzerinde olumlu etkiler göstermektedir. Bu nedenle biyoreaktör sistemlerinin kullanımı, embriyo gelişimi ve bitki çoğaltımı üzerinde olumlu etkiler göstermektedir. Bitki biyoteknolojisi alanında daha yaygın kullanımı teşvik edilmelidir.

Tez çalışmamızda Plantform biyoreaktör sistemi kullanılarak embriyo gelişimi ve bitkiye dönüşüm oranı artırılmıştır. Bu durum, biyoreaktör sistemlerinin embriyo gelişimi ve bitki çoğaltımı üzerindeki olumlu etkilerini göstermektedir. Geçici daldırma yöntemi, eksplantların besin ortamına erişimini sağlayarak embriyo gelişimini desteklemektedir. Bu yöntemin optimizasyonu, embriyo gelişimi ve bitkiye dönüşüm oranını artırabilir. Geçici daldırma süresi ve sıklığı gibi parametrelerin optimize edilmesi önerilmektedir.

Genotip ve eksplant tipinin, embriyo ağırlığı ve genel bitki gelişimi üzerinde önemli bir etkisi bulunmaktadır. Bu nedenle, genotip ve eksplant tipinin dikkatli seçimi, embriyo gelişimi ve bitkiye dönüşüm oranını artırabilir.

Büyüme düzenleyicilerinin kullanımı, embriyo gelişimi ve bitki çoğaltımı üzerinde olumlu etkiler göstermektedir. Bu nedenle, büyüme düzenleyicilerinin farklı kombinasyonlarının da kullanılması önerilmektedir.

Biyoreaktör sistemlerinin endemik türlerin korunmasında ve uzun vadeli germplazma korunmasında etkili olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle, biyoreaktör sistemlerinin endemik türlerin korunmasında kullanımı teşvik edilmelidir.

Biyoreaktör sistemlerinin kontrollü, tekrarlanabilir ve ticari ölçekte uygulanabilir çoğaltım sistemleri sunduğu belirtilmiştir. Bu nedenle, biyoreaktör sistemlerinin ticari üretim ve uygulama alanlarında kullanımı teşvik edilmelidir.

Sonuç olarak, biyoreaktör sistemlerinin kullanımı, embriyo gelişimi ve bitki çoğaltımı üzerinde olumlu etkiler göstermektedir. Bu nedenle, biyoreaktör sistemlerinin bitki biyoteknolojisi alanında daha yaygın kullanımı ve optimizasyonu önerilmektedir. Ayrıca, genotip ve eksplant tipinin dikkatli seçimi, büyüme düzenleyicilerinin doğru kombinasyonlarının kullanılması ve endemik türlerin korunmasında biyoreaktör sistemlerinin kullanımı teşvik edilmelidir.



KAYNAKLAR

- Acar, Y., & Tekin, M. (2018). Türkiye'deki bitki türleri üzerine bir inceleme. Türkiye İstatistik Kurumu Yayınları. Ankara.
- Aka Kaçar, Y., Gürsoy, Y., & Yıldız, R. (2020). *Spathiphyllum* 'Chico' bitkisinde geçici daldırma biyoreaktör sistemi ile mikroçoğaltım. Erciyes Üniversitesi Yayınları. <https://avesis.erciyes.edu.tr>
- Alkowni, R., Jodeh, S., Hussein, F., & Jaradat, N. (2018). Phytochemical screening and antibacterial activity of *Cyclamen persicum* Mill tuber extracts. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 31(1), 187–192.
- Boztok, Ş. (2002). Siklamen (*C. persicum*)’de çiçeklenme üzerine Giberellik asidin etkisi. Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 39(3), 1-8.
- Cengiz, M. (2018). Bazı turuncgil genotiplerinin klasik ve yeni nesil doku kültürü teknikleri ile mikroçoğaltımı ve genetik kararlılığının belirlenmesi, Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
- Cengiz, Ö., & Mendi, Y. Y. (2016). The effect of different growth regulators, explant types, and genotype on organogenesis in *Cyclamen coum* and *Cyclamen persicum*. Advances in Horticultural Science, 38, 25–30.
- Çelik, A., & Yılmaz, O. (2019). Dünya bitki türleri: Küresel veriler ve analizler. Türkiye İstatistik Kurumu Yayınları. Ankara.
- Çürük, P. (2013). Adana ve çevresinde doğal olarak yetişen siklamen türlerinin morfolojik ve moleküler karakterizasyonu (Doktora Tezi). Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Davis, P. H. (1978). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Book Flora of Turkey, University Press of Edinburgh. 682-683. Edinburgh.
- Dünya Süs Bitkileri Sektörü Raporu (2023). <http://www.susbitkileri.org.tr/images/d/library/c996523c-2367-42e9-9b91-b0e5d48e4a60.pdf> Erişim Tarihi: 24.12.2024.
- Etienne, H., & Berthouly, M. (2002). Temporary immersion systems in plant micropropagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 69(3), 215–231. <https://doi.org/10.1023/A:1015668610465>
- Güneş, A. B., & Kaya, E. (2017). Mikroçoğaltım teknolojilerindeki güncel gelişmeler. Biyoteknoloji Üzerine Araştırmalar, 6(4), 256-269.
- Hohe, A., Winkelman, T., & Schwenkel, H.-G. (1999). CO₂ accumulation in bioreactor suspension cultures of *Cyclamen persicum* Mill. and its effect on cell growth and regeneration of somatic embryos. Plant Cell Reports, 18, 863–867.

- Hvoslef-Eide, A. K., & Munster, C. (1998). Somatic embryogenesis in *Cyclamen persicum* Mill. through the use of bioreactors. Combined Proceedings of the International Plant Propagators' Society, 47, 377–382.
- Hvoslef-Eide, A. K., Olsen, O. A. S., Lyngved, R., Munster, C., & Heyerdahl, P. H. (2005). Bioreactor design for propagation of somatic embryos. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 81, 265–276.
- Jalali, N., Naderi, R., Shahi-Gharahlar, A., & Teixeira da Silva, J. A. (2012). Tissue culture of *Cyclamen* spp. Scientia Horticulturae, 137, 11-19
- Karag zel, O., Korkut, A. B.,  zkan, B.,  elikel, F. G., & Titiz, S. (2010). S s bitkileri üretiminin bugünkü durumu, geliştirilme olanakları ve hedefler. Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, Ankara, Bildiriler Kitabı 1-2.
- Kaya, E., & Yılmaz Gökdoğan, E. (2015). Thymus cariensis'in biyoreaktör destekli çoğaltımı ve kriyoprezervasyonu. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 3(1), 58–66.
- Kiviharju, E., Moisander, S., & Pehu, E. (1991). Somatic embryogenesis and plant regeneration from callus cultures of *Cyclamen persicum* Mill. Plant Cell Reports, 10(6-7), 273–277. <https://doi.org/10.1007/BF00232131>
- Koçak, M. (2012). *Cyclamen persicum*'da somatik embriyogenezin optimizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Koçak, M.,  zg , T., Sevindik, B., Tütüncü, M.,   r k, P.,  im ek,  ., Aka Kacar, Y., Teixeira da Silva, J. A., & Yalçın Mendi, Y. (2014). Somatic embryogenesis of Turkish *Cyclamen persicum* Mill. Scientia Horticulturae, 172, 26–33
- Kreuger, M., Postma, E., Brouwer, Y., & van Holst, G. J. (1995). Somatic embryogenesis of *Cyclamen persicum* Mill. in liquid medium. Physiologia Plantarum, 94, 605–612.
- Lyngved, R. (2008). Somatic embryogenesis in *Cyclamen persicum*: Biological investigations and educational aspects of cloning (Doctoral dissertation, Norwegian University of Science and Technology, Trondheim).
- Mendi, N. Y., &   r k, P. (2016). Türkiye florası siklamenleri (s. 3). Adana: Giri  Matbaa.
- Othmani, A., Bayoudh, C., Sellemi, A., & Drira, N. (2017). Plantform bioreactor for mass micropropagation of date palm (*Phoenix dactylifera*). In J. M. Loyola-Vargas & N. Ochoa-Alejo (Eds.), Plant Cell Culture Protocols (pp. 239–249). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7156-5_20
- Prange, A. N. S., Bartsch, M., Serek, M., & Winkelmann, T. (2010). Regeneration of different *Cyclamen* species via somatic embryogenesis from callus, suspension cultures and protoplasts. Scientia Horticulturae, 125(4), 442–450

- Pestana, M., Correia, P. J., de Varennes, A., & Abadía, J. (2005). SPAD as an indicator of nitrogen status in citrus. *Scientia Horticulturae*, 103(3), 295–302.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2004.06.003>
- Pueschel, D., & Diem, H. G. (2003). Somatic embryogenesis and plant regeneration from callus cultures of *Cyclamen persicum* Mill. *Plant Cell Reports*, 21(7), 684–690.
<https://doi.org/10.1007/s00299-002-0575-2>
- Rico, S., Garrido, J., Sánchez, C., Ferreira-Vera, C., Codesido, V., & Vidal, N. (2022). A temporary immersion system to improve *Cannabis sativa* micropropagation. *Frontiers in Plant Science*, 13, 895971. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.895971>
- Rode, C., Lindhorst, K., Braun, H. P., & Winkelmann, T. (2012). From callus to embryo: A proteomic view on the development and maturation of somatic embryos in *Cyclamen persicum*. *Planta*, 235(5), 995–1011.
- Sezgin, M., & Kapdan, E. (2019). Propagation of some medicinal and aromatic plants in Turkey by biotechnological methods. *Comm. J. Biol.*, 3(2), 124–131.
- Tanker, N., & Türköz, S. (1984). *Cyclamen cilicium* Boiss. Et Heldr. var. *intaminatum* Meikle üzerinde morfolojik ve anatomik araştırmalar. *Gazi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 1, 79-85.
- Topcu, H., & Çölgeçen, H. (2015). Biyoreaktörlerde sekonder metabolit üretimi: Bitki biyoteknolojisi uygulamaları. *Biyoteknoloji Bülteni*, 4(2), 33–41.
- Tütüncü, M. (2020). Siklamende (*Cyclamen persicum* L.) ışınlanmış polen yöntemiyle partenogenezis'in *in vitro* ve histolojik teknikler kullanılarak araştırılması (Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Uğur, S. (2019). Türkiye’de doğal yayılış gösteren bazı eğrelti türlerinde gametofit evreden sporofit evreye geçiş sürecinin doku kültürü ve yeni nesil biyoreaktör sistemi ile araştırılması, Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
- Uğur, S. (2024). *Cyclamen persicum* çeşitlerinde fiziksel mutagen (60Co ve 137Cs) etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Winkelmann, T., & Serek, M. (2005). Genotypic differences in callus formation and regeneration of somatic embryos in *Cyclamen persicum* Mill. *Euphytica*, 144(1), 109–117.
- You, C. R., Fan, T. J., Gong, X. Q., Bian, F. H., Liang, L. K., & Qu, F. N. (2011). A high-frequency cyclic secondary somatic embryogenesis system for *Cyclamen persicum* Mill. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 107(2), 233–242

ÖZGEÇMİŞ

Dilek TİRYAKİ, İlköğretim, Ortaöğretim ve Lise eğitimini Gaziantep’de tamamladı. Lisans eğitimini Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde tamamladı.2010 yılında Lisans eğitimini tamamladıktan sonra öğretmenlik mesleğine başladı.2022 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Bölümünde Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ danışmanlığında Yüksek Lisans eğitimine başladı. Halen öğretmeye ve öğrenmeye devam etmektedir.

