

## DERLEME

# BİTKİLERDE 3D TEKNOLOJİSİ UYGULAMALARINA GENEL BAKIŞ: FENOMİK, ROBOTİK SİSTEMLER İLE HARİTALANDIRMA, MİMARİ TASARIMLAR, BİTKİ VE HAYVAN DOKU KÜLTÜRÜ YAKLAŞIMLARI

Begüm GÜLER<sup>1,\*</sup>, Pelin SAĞLAM METİNER<sup>1</sup>, Sultan GÜLÇE İZ<sup>2</sup>, Aynur GÜREL<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup> Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye

## ÖZET

İki boyutlu çalışmaların karmaşık bitkisel formlar hakkında yetersiz kalması ve gelişen teknolojilerin daha ayrıntılı veriler toplanmasına izin vermesi, araştırmacıları yeni alternatifler arama yoluna itmiştir. Bitki biyoteknolojisi ile ilgili gelişmeler, son yirmi yılda mikroskopi, yapısal ve fonksiyonel bitki modellemeleri, fenotiplendirme ve genomik çalışmaları gibi teknolojilerdeki ilerlemelere bağlı olarak hızlı bir şekilde değişim göstermiştir. Özellikle “fenomik” adı verilen ve fenotiplendirme ile bitkilerin incelendiği çalışmalar, araştırmacıların ilgisini çeken son yılların popüler konularından biri durumundadır. Günümüzde tarımsal alanda gerçekleştirilen bilimsel araştırmalar ve üretim teknikleri, dijital ve görsel olarak daha yüksek kararlılıkta gerçekleştirilir hale gelmiştir. Robot ve sensör sistemlerindeki hızlı gelişmeler; tarımsal araştırmalarla bir araya gelerek tarımsal biyoteknolojide yeni ufuklar açmış, birçok araştırmacı için mükemmel bir model olan bitki mimarisinin ve hatta bitkisel dokuların da belirlenmesi sağlanmıştır. Üç boyutlu biyoteknoloji, tarımsal araştırmalarda fenotiplendirme çalışmalarının yanı sıra, robotik sistemlerle algılama ve haritalandırma alanlarında da sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca bitkilerin 3D yapılarını veren bilgisayar algoritmaları aracılığıyla mimari tasarımlar yapılabildiği gibi, çeşitli ürün ve sanat eserleri de üretilmektedir.

Bitkisel dokuların yapı ve fonksiyonlarının belirlenmesi ve bitki doku kültürü tekniklerinde yeni kültür sistemlerinin geliştirilmesi için 3D baskılama teknolojilerinden yararlanılması önemli bir yaklaşım haline gelmeye başlamıştır. Son zamanlarda, hayvan doku mühendisliğindeki mikro benzerliklerden dolayı, bitki formlarının ve bitkilerden elde edilen çeşitli ürünlerin doku iskelesi üretiminde kullanım potansiyelleri araştırılmaktadır. Çoğunlukla hayvan hücre kültürü tekniklerinde kullanılan mikroakışkan sistemler, bitkisel hücrelerle ilişkili araştırmalarda da yoğun şekilde ele alınmaktadır. Bahsedilen tüm bu teknikler ile elde edilen veriler, tarımda zararlılarla mücadelede, tıpta yapay organların tasarlanmasına, bilgisayar oyunlarının programlanmasından ormancılığa kadar pek çok alanda kullanılmaktadır. Bu makalede, bitkisel sistemlerde 3D teknolojisi ile gerçekleştirilen çalışmalar özetlenmeye çalışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Bitki doku kültürü, 3D teknolojisi, Hayvan doku mühendisliği, Doku iskelesi, Mikroakışkan

## OVERVIEW OF 3D TECHNOLOGY APPLICATIONS IN PLANTS: PHENOMIC, MAPPING WITH ROBOTIC SYSTEMS, ARCHITECTURAL DESIGNS, PLANT AND ANIMAL TISSUE CULTURE APPROACHES

## ABSTRACT

The fact that two-dimensional studies are insufficient about complex plant forms and allowing emerging technologies to give more detailed data leads researchers to search for new alternatives. The developments in plant biotechnology have changed rapidly over the past two decades, depending on the technological progresses such as microscopy, structural and functional plant modelling, phenotyping and genomic studies. Especially the studies which is called “phenomic” and plant researches working with phenotyping, are the popular research areas which interest to the researchers on recent years. Nowadays scientific researches and production techniques in agriculture, have been carried out more stability as digitally and visually. Fast improvements on robotic and sensor technologies come together with agricultural research have been opened up new horizons on agricultural biotechnology, for the plant architecture and even for plant tissues which is an excellent model for many

\*Sorumlu Yazar: [begumakyol.ege@gmail.com](mailto:begumakyol.ege@gmail.com)

Geliş Tarihi: 13 Ocak 2018 Yayın Tarihi: 17 Ağustos 2018

researchers. Along with the phenotyping research on agricultural research, three-dimensional biotechnology is used on detection with robotic sensors and mapping. Also through computer algorithms which gave 3D structure of plant architectural designs, different products and artworks can be produced.

The usage of 3D printing technologies to identify the plant tissues structure and function and for improvement of new culture systems to use at plant tissue culture techniques has been an important approach nowadays. Recently, potential of plant forms to be use in scaffold production have been studied because of the micro similarity of plant tissues with animal tissues in animal tissue engineering. Microfluidic systems, mostly used in animal cell culture techniques, are also intensively studied in research related to plant cells. The data obtained by all these techniques are used in many fields ranging from pest control on agriculture to the design of artificial organs on medicine, from the programming of computer games to forestry. In this article, we had tried to summarize studies about 3D technology on plant systems.

**Keywords:** Plant tissue culture, 3D technology, Animal tissue engineering, Scaffold, Microfluidic

## 1. GİRİŞ

İnsanlar çok uzun yıllardır organizmaların yapılarını çıplak gözle görebilmek için araştırmalar gerçekleştirmiş, mikroskobun keşfiyle birlikte bu araştırmalar daha anlamlı hale gelmiştir. Nehemiah Grew (1682) ve Marcello Malpighi (1686) bitkisel yapıların belirlenmesi ile ilgili araştırmalara öncülük etmişler, Grew bitkisel dokulardaki mikroskobik yapıların buldukları düzlemsel boyutla sıkı ilişkide olduğunu ve bu sebeple üç-boyut (3D) tanımlanmasının yapılması gerektiğini belirtmiştir. İki-boyutlu (2D) sistemlerin yetersiz kalması, bitkisel araştırmalarda 3D sistemlerin daha popüler hale gelmesine neden olmuştur. Günümüzde 3D analiz sistemleri ile bitki anatomisinin belirlenmesinde karşılaşılan birçok sorun çözülebilir durumdadır [1, 2].

Günümüz tarımında bilimsel çalışmalar ve üretim teknikleri hızlı gelişme göstererek dijital, görsel ve yüksek verimlilik sağlayan bir aşamaya geçmiştir [3]. Bitki formlarının bilgisayar ortamında grafikler şeklinde gösterilmesi, araştırmacıların uzun yıllardır ilgisini çeken konular içerisinde olmuştur. Bu sorunun aşılması için farklı görüntüleme sistemleri ile çeşitli yazılım ve algoritmalar geliştirilmiştir [4]. Hızlı ve düşük maliyetli 3D teknolojisinin devreye girmesi ile karmaşık geometrik formlu yapıların üretimlerinde klasik fabrikasyon teknikleri sınırlı kalmamakta ve seçici lazer sinterleme, stereolitografi gibi 3D baskı teknikleri ile yenilikler sunmaktadır. Bu teknolojiler sayesinde artık günümüzde karmaşık yapıları anlamak çok daha kolaylaşmış, özellikle yapısal analizlerin gerçekleştirilmesi daha hızlı ve daha düşük maliyetli hale gelmiştir [3, 5]. Son yıllarda bitki geometrisinin 3D görüntülenmesi ile fenetiplendirme ve bitki ıslahı uygulamalarında belirgin artışlar sağlanmıştır [6].

3D görüntüleme sistemleri; temel olarak aktif ve pasif görüntüleme başlıkları altında toplanabilmektedir. *Pasif görüntüleme*, stereovizyon ve shape-from-x (x; odak, gölgelendirme, doku gibi çeşitli parametreler olabilmektedir) algoritmalarını içermektedir. Birçok bilimsel ve endüstriyel uygulamada kullanılan stereovizyon, perspektif bakış açısından ve bir cismin iki ya da daha fazla farklı bakış açılarında çekilmiş görüntülerine dayanılarak elde edilmektedir. Ancak bitkilerin yaprak şeklinin karmaşıklığı gibi karışık yapısal durumlar, bu sistemin dezavantajını oluşturmaktadır. Bu sorunu aşmak için farklı sensörler kullanılsa da, yeterli derecede ayrıntılı görüntü elde edilmesinde problemler yaşanmaktadır. Aktif yöntemlerde ise elektromanyetik bir alana ait dalga boyları ile ölçüm gerçekleştirildiği için pasif yöntemdeki gibi yüzeye bağlılık söz konusu değildir. Bu yöntemler, büyük ölçek araştırmalar için uygun olmakla birlikte, analizler sırasında doğadan gelen diğer dalgalarla kirliliklerin oluşması ve hatalı sonuç alma oranının artması gibi nedenlerle, belirli dar alanlarda gerçekleştirilen ölçümlerde kullanılmakta ve bitkinin 3D yapısı tam olarak görüntülenememektedir [7]. Günümüzde aktif lazer sistemlerden olan ışık algılama ve ölçme (light detection and ranging- 3D-LIDAR) en çok kullanılan sistemlerden birisidir. Statik ve mobil uygulamaları bulunan bu sistem, farklı açılardan objelerin mesafelerini belirlemek için yansıyan ışığı kullanan bir uzaktan algılama teknolojisidir [7, 8, 9].

Bitkilerde 3D teknolojisinin ele alındığı bu makale kapsamında; bilgisayar algoritmaları ve sensör kameraları ile bitkilerin fenotiplendirilmeleri, tarımsal robot sensörleri ile bitki algılama ve haritalandırma çalışmaları, bitkisel dokuların yapı ve fonksiyonlarının 3D görüntüleme sistemleri ile belirlenmesi, mimari ve çevre düzenleme çalışmaları için 3D bitki üretimi, 3D baskılama teknolojisi ile bitki doku kültürü sistemlerinin geliştirilmesi, 3D doku iskeleleri ve mikroakışkan sistemlerde bitki tek hücrelerinin üretimi, bitkisel dokuların ve ürünlerinin hayvan doku kültürleri için 3D doku iskelesi olarak kullanımlarına yönelik çalışmalar derlenmiştir.

## **2. BİLGİSAYAR ALGORİTMALARI VE SENSÖR KAMERALAR İLE BİTKİLERİN FENOTİPLENDİRİLMELERİ**

Uzun yıllar boyunca, botanikçiler bitkilerin yapısını gözlemlemişler ve bitki kısımlarını tanımlamak için birçok model önermişlerdir. Bazı modeller genel yapıyı açıklarken, bazıları ise bitkinin özel kısımlarını açıklamıştır [10]. Bitkilerin ana yapılarının ve yaprak formlarının 3 boyutlu olarak belirlenmesi, fotosentez ve transpirasyon gibi bitki fonksiyonlarının anlaşılmasında büyük önem arz etmektedir [7]. Bitkilerde fenotiplendirme; araziden kanopiye, tam bitki, organ, doku ve hücresele seviyelere kadar farklı organizasyon seviyelerinde gerçekleştirilmekte, elde edilen bu veriler de fizyolojik, yapısal veya performansa bağlı olmak üzere gruplandırılmaktadır [11].

Doğru şekilde fenotiplendirilme ile bitkilerin farklı çevresel koşullara verebilecekleri cevapların tahmin edilmesi sağlanmaktadır. Bu amaçla kullanılan klasik yöntemlerde araştırmacılar manuel teknikleri kullanmışlardır. Özellikle bitkilerin fenotiplendirilmesine yönelik çalışmalar sırasında bitkilere zarar verilmesi nedeniyle yaşam döngüsü içerisinde bitkinin incelenmesi kısıtlanmaktadır. Düşük verimlilik ve tutarsız sonuçlara neden olan bu sorunlar, otomasyon sistemlerine geçilmesine ihtiyaç duyulduğunu göstermiştir [2].

Gelişen teknolojilerle birlikte bilgisayar grafik sistemleri kullanılarak bitki modellemeleri yapılabilmüş, 2D görüntüleme sistemleri ile yaprak ve rozetlerin sirkadiyan ritmini gösteren nastik hareketlerle ilgili zaman serisi verilerinin tahmini gibi yararlı fenotipik bilgiler elde edilebilmiştir. Ancak bu sistem belirli noktalarda yetersiz kalmış, 3D görüntüleme sistemlerine olan ihtiyaç ortaya çıkmıştır. Fenotiplerin belirlenmesi proseslerinde 3D lazer tarama teknikleri, RGB (kırmızı yeşil mavi- red green blue)-kamera, hiperspektral ve termal kameralar ya da klorofil floresan görüntüleme gibi tekniklerden faydalanılmıştır. 2005 yılında çiçek salkımlarının 3D simülasyonu geliştirilmiş, 2008 yılında bitki yapısının 3D modellenmesi yapılmış ve 2010 yılında çiçeklenme 3D modeli önerilmiştir [6,10,12]. Bitkilerin görüntülenmesi, sürgün ve kök sistemi gibi dinamik yapılar da dahil olmak üzere morfolojik özelliklerin zarar vermeden gözlenmesine olanak sağladığı için bitkilerin fenotiplendirilmesi çalışmalarında devrim yaratan bir adım olmuştur [11].

Bitki fenotiplerinin belirlenmesinde, bitkinin üç boyutlu formunun, diğer bir ifade ile bitki mimarisinin ortaya çıkarılması ve büyüme analizinin gerçekleştirilmesi son derece önemlidir [2,13]. Bitkilerde fenotiplerin belirlenmesi amacıyla bitki boyu, kök yarıçapı, yaprak yüzey alanı ve yaprak açısı gibi farklı parametreler incelenmektedir [14]. Bu bilgiler sonucunda elde edilen 3D yapı; bitkinin güneş yoğunluğu, rüzgar ve su kullanımı gibi çevresel koşullara adaptasyonunun yanı sıra, vejetatif aşamadaki gelişim veya meyve verme potansiyeli gibi verimi etkileyen parametreler hakkında da bilgi sağlar niteliktedir [6]. Bu yolla bitkilerle ilişkili parametrelerin zaman içerisindeki değişimleri izlenebilmektedir. Günlük büyüme bilgileri ile elde edilen algoritmalar, farklı koşullarda farklı bitkiler için de güvenilerek uygulanabilmektedir [2]. Günümüzde birçok araştırmacı, bitkilerin doğada yetiştirme şekillerini daha iyi anlamak için geometrik gelişimi gösteren grafik ve simülasyonları sıklıkla kullanmaktadırlar. Çoğu sanatçı ve tasarımcı, bu algoritmaları ve 3D yazıcı teknolojisini kullanarak heykeller yapmaktadırlar [5].

Bitkilerin ve ağaçların modellenmesi temel olarak iki şekilde gerçekleşmektedir. Bu yöntemlerden birincisi; kurala bağlı yöntemlerdir, diğer bir ifade ile bu yöntemler model oluşturulmasında çeşitli

kurallara sahip teknikleri içermektedir. Örneğin; Weber ve Penn (1995), gerçek görünümlü ağaçlar için çeşitli geometrik kurallar belirlemişlerdir. Bu kurallar ve parametrelerin uzman olmayan kişilerce uygulanması zordur. Ayrıca bitkiler şekillerini doğal yollarla (kalıtsal) alabilecekleri gibi, çeşitli dış biyolojik faktörlerin (hastalık gibi), insan aktivitelerinin (budama gibi) ve diğer dış faktörlerin (yangın, sel ve yakında bulunan diğer bitkiler gibi) etkileriyle de almaktadır. Bu sebeple kurallarla bitkilerin modellerini belirleme yaklaşımında çeşitli sorunlar bulunmaktadır. Diğer bir modelleme yöntemi ise görüntüye dayalı yöntemdir. Bitkiden doğrudan alınan görüntülerle gerçekleştirilen bu yöntemde, öncelikli olarak bitkinin dış formu elde edilir. Dalların bu hacim üzerine daha sonra yerleştirilir [15].

Bitkilerin 3D modellenmesi, Fonsiyonel-Yapısal-Bitki-Modelleme (FSPM) Dijital Bitki araştırmalarının temelini oluşturmaktadır, ayrıca bitki fenomik araştırmalarında (bitki genetik düzenlemelerinin fenotip-görünür özellikler- üzerindeki etkisinin belirlenmesi) ve bitki germplazm kaynaklarının korunmasında da önemli rol oynamaktadır. Bu araştırmaların ve uygulamaların gerçekleştirilebilmesi için tam agronomik bilgiye sahip, yüksek doğrulukta 3D modellerin kullanımı için oluşturan bir veri tabanı ile farklı türlerin ve çeşitlerin çok sayıdaki bitki modelleri ve detaylı agronomik parametrelerle birlikte çoklu büyüme dönemlerinin ele alınabilmesi mümkün olabilmektedir. Böyle bir veri tabanının oluşturulması ise dijital bitkinin tarımsal araştırma ve üretim üzerinde daha büyük rol oynamasına yardımcı olabilecektir [3].

Bitkilerin büyüme süresince değişen morfolojilerinin belirlenmesi ile hastalık ve böcek istilası, genotip ve diğer tarımsal uygulamalara dayalı çalışmalarda 3D yeniden yapılandırma yöntemleri kullanılarak ihtiyaç duyulan bilgiye ulaşılması mümkün olabilecektir [16]. Gelişen teknolojiler ile bitki germplazmalarının 3D teknolojileri ile muhafazası da söz konusudur. Bitkiye ait 3D olarak elde edilen görüntüler ve coğrafik veriler ile bitkinin kısa ve öz bir tanımı gerçekleştirilir. Bitkilerin uzaysal düzlemdeki yapısı, çevresel koşullara göre morfolojik farklılıkları ve farklı organların bitki üzerindeki konumlarının belirlenmesi ile, gelecekte soyu tükenme tehlikesi altında olan bitkilerin germplazm muhafazası için bir veritabanı oluşturulabilmektedir [3].

Bitkilerde morfolojik değişimlerin tanımlanması, algoritmalar ve grafikler ile ifade edilebilmesi için geliştirilen sistemlerden birisi de *in vitro* büyüme görüntüleme sistemi (*in vitro* growth imaging system-IGIS)'dir. Bu sistemde bitkiler petripler içerisinde döner bir plaka üzerine yerleştirilir. Near-IR light-emittind diode (LED)'lar ve single-lens reflex (SLR) kamera gibi görüntüleme sistemleri kullanılarak, bitkiler gün/gece büyüme döngüsü içerisinde bir saatlik periyotlarla görüntülenirler. Çeşitli yazılımlar ile bitkiler arka plan görüntülerinden ayrılır ve geriye bitkinin şekil ve büyüklüğü kalır. Elde edilen verilerin bireysel zaman verileriyle bir araya getirilmesiyle, geçici büyüme modeli oluşturulur. Toprakta gerçekleştirilen çalışmalarda tek bir analiz ile 200-700 adet bitki fenotiplendirilirken, IGIS ile 120 bitki ile çalışılabilmektedir. Bu durum verimsel olarak düşük gözükmese de, çoklu stres tepki ekranı ile tek denemede on farklı çevre koşulunun etkisini görmeyi sağlaması nedeniyle son derece önemli bir tekniktir. Diğer sistemlere göre IGIS, daha kompakt bir sistemdir ve soğuk hava uygulaması olan klasik bir büyüme odasına kolaylıkla taşınabilir niteliktedir [17].

*In vitro* gelişen bitkilerde, belirli organlara özgü büyüme dinamiklerini çıkarmak için kullanılan bazı programlar bulunmaktadır. HYPOTrace ve HyDE yazılımları, fotomorfogenez ve gölgeden kaçınma olayı sırasında hipokotillerdeki büyümeyi belirlemek amacıyla geliştirilmişlerdir. RootLM, RootTrace ve EZ-Rhizo ise petriplerde gelişen bitkilerde kök gelişimi ve bitki mimarisi amacıyla kullanılan yazılımlardır [17].

## 2.1. Yaprakta Gerçekleştirilen Fenotiplendirme Çalışmaları

Yaprak morfolojisinin belirlenmesi, bitki performansının tespit edilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Yaprak boyu ve şekli; genellikle fotosentez, stomatal geçirgenlik ve transpirasyon etkinliği hakkında bilgi vermektedir [12]. Özellikle ağaç ekofizyolojisine yönelik çalışmalarda, ağacın hava

kökenli kaynaklardan faydalanabilme durumu hakkında bilgi sağladığı için yaprak yüzeyi önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir [18]. Bugüne kadar bu amaçla gerçekleştirilen çalışmalarda 2D sistemler kullanılmış, yüksek işçilik gerektirmesi, çok sayıda örneğe ihtiyaç olması ve bu örneklerin bitkiden koparılmasının gerekmesi gibi çok fazla dezavantajı nedeniyle alternatifler aranmıştır. 3D sistemlerin kullanılması ile bu sorunlar çözülmüş, daha ayrıntılı görüntüler ve algoritmalar elde edilmiştir [12]. Peele, gerçekleştirdiği çalışmasında yaprak ve damar gelişimi ile oksinin bulunduğu yeri gösteren algoritmaları esas alarak, yaprakta damar düzenini gösteren bir simülasyon oluşturmuş ve 3D yazıcı ile bu yaprağı elde etmeyi başarmıştır [5].

Model bir bitki türü olan *Arabidopsis thaliana* için bilgisayar algoritmaları ile yapılan fotogrametri ve 3D modelleme tekniği kullanılarak yüksek verimlilikte fenotiplendirme çalışması gerçekleştirilmiştir. Bitki nastik hareketlerini analiz etmek için 10 günlük ölçümle 2D yaprak alanları kullanılmış, zamana bağlı büyümeyle değişen yaprak alanlarının eşzamanlı olarak algılanması için de 3D yaprak alanları modellenmesi yapılmıştır. Optimize edilen algoritmalar ile, ardışık verilerin çok sayıda bitkinin görüntülenmesine olanak sağladığı belirtilmiştir [12].

Tütün bitkilerinde yaprakların gelişimi için 12.5 gün süreli analizler gerçekleştirilmiştir. Yaprakların kenar hatları saptanarak, her bir yaprak için ikinci dereceden polinomal model belirlenmiştir. Elde edilen algoritma ile oluşturulan grafik yaprağın zaman içerisindeki gelişiminin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır [19].

*Brassica napus* L. bitkisinde sıcaklığın büyüme üzerine olan etkisini görmek üzere farklı seviyelerdeki yaprak morfolojileri incelenmiştir. Çalışmada elde edilen veriler; yaprakta fotosentez, respirasyon, biyokütle üretimi ve yerleşim hakkında bilgi veren FSPM ile birlikte değerlendirilmiştir. FSPM, bitki büyüme ve gelişimi için bilgi sağlayan, belirli bir bitki türü için olmayıp C3 fotosentezinin gerçekleştiği bütün bitkilere uygulanabilen bir model yaklaşımdır. Çalışma sonucunda elde edilen 3D yapılar ile organogenetik ve morfogenetik yapı arasındaki ilişkiler açığa çıkarılmıştır [20].

*Arabidopsis thaliana* bitkisinin yapraklarının basit ışık mikroskobu ile 3D modelinin oluşturulmasına yönelik bir çalışmada, mikroskopta sıralı odaklanmalar gerçekleştirilmiş ve her odaklanmada görüntü alınmıştır. Gözlem bittiğinde elde edilen yığın görüntüler Sobel dönüşümü yardımıyla başarılı bir 3D görüntü oluşturulmuştur [21].

## 2.2. Kökte Gerçekleştirilen Fenotiplendirme Çalışmaları

2D görüntülerin çoğaltılması ile bitki kök yapılarının 3D yeniden yapılandırılması için 40'dan fazla bitki ile gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda tarımsal kök sistemlerinde kullanım açısından uygun bir yazılım elde edilmiştir [22].

Kök yapıları, bitkilerde verimliliği ve ürün verimini etkileyen faktörlerden oldukları için araştırmacıların ilgisini çeken konular olmuşlardır [23]. Kök sistem mimarisi (root system architecture-RSA), su alımı ve besin absorpsiyonu üzerinde önemli etkiye sahiptir. Tarımsal bitkilerin RSA analizlerinin 2D fraktal analiz yöntemi ile sınırlı kalması nedeniyle, araştırmacılar 3D analizlerine yönelmişlerdir. Günümüzde görsel veriler ve yazılımların entegrasyonunun sağlandığı sistemler ile RSA'lar hakkında kesin bilgi elde edilmesi mümkün hale gelebilmiştir. Bu yazılımların yardımı ile elde edilen sanal kökler, tarla ürün RSA'larının uzay-zamansal dinamiklerini, kök-toprak ilişkisini ve toprak işleme sistemini yeniden düzenlemeye izin vermektedir [24].

RSA yapısının belirlenmesi önemli olsa da, bu işlemin arazi koşullarında gerçekleştirilmesi, toprak ve RSA arasındaki ilişkinin doğru şekilde anlaşılması açısından önem taşımaktadır. Arazi koşullarında RSA'ya ulaşmak, tanımlamak ve belirlemek oldukça zordur. Bu sebeple araştırmacılar bu işlemleri kolaylaştıracak yöntemlere yönelmişlerdir [23]. Kök sisteminin yapısı ve bu sistemin uzaysal olarak

yerleşimi, bitkinin topraktan su ve mineral maddeleri alım kalitesini etkilemektedir. Bu nedenle, verimin artırılmasında kökler yüksek öneme sahiptirler [25]. Ayrıca bitkinin toprakta heterojen şekilde dağılmış bulunan edafik (toprakla ilgili olan) komponentlere ulaşabilme yetisi hakkında bilgi sahibi olmak için de RSA'ların belirlenmesi gerekmektedir [26].

14 günlük periyodik gözlemlerle, buğday RSA yapısının 3D topolojisinin araştırıldığı çalışmada, toprak derinliği ve kök açısındaki değişimler uzaysal dağılımları ile mm ölçeğinde belirlenerek RSA ile toprak yapısı arasındaki ilişki ortaya çıkarılmıştır [23]. Deprem sonrası toprak kaymasının belirlenmesi için kullanılan geoteknik santrifüj modelinin araştırılmasında 1:10 küçültmeli (150 m'ye kadar olan köklerin laboratuvar ölçeğindeki prototipi) ağaç kök yığın yapısının 3D baskı ürünü kullanarak, toprak yapısı ve kök dayanıklılığı ile ilgili veriler elde edilmiştir. Ayrıca Akronitril Bütadiyen Sitren (ABS)'in kök yapısının plastik taklidi için en uygun malzeme olduğu belirlenmiştir [27].

Toprak, kök gelişiminin incelenmesinde bir engel olduğu için, çeşitli sera ve laboratuvar uygulamalarıyla bu sorunun üstesinden de gelinmeye çalışılmıştır. Örneğin, toprak ya da kum doldurulmuş saksı ya da PVC (polivinil klorür-polyvinyl chloride ) tüpler ile mesocosm'lar (kontrollü koşullarda doğal çevrenin incelendiği deneysel sistemler) oluşturulmuş ya da bitkilerin agar, petri veya su ile karıştırılmış toprak ile bitkilerin geliştirilmesi gerçekleştirilmiştir. Tüm bu sera ve laboratuvar teknikleri basit ve zarar vermeyen uygulamalar gibi görünseler de RSA-toprak ilişkisinin 3D doğasını henüz tam olarak açıklayamamaktadır [28].

### 2.3. Meyvede Gerçekleştirilen Fenotiplendirme Çalışmaları

Biyolojik objelerin şekilleri çok farklılıklar göstermekte ve küre, küp gibi düzenli katı biçimlerle açıklanamamaktadır. Meyveler gibi düzensiz şekilli nesnelere üç temel düzlemde ifade etmek kolay değildir. Bu sebeple meyve, sebze ya da tohum gibi geometrik şekiller bilgisayar simülasyonları ile ifade edilmektedir [29].

Araştırmacılar meyve gelişiminin belirlenmesinde ve sınıflandırılmasında görsel sistemler ile ortaya çıkarılan şeklin önemli olduğunu belirtmişlerdir. Bu yöntemlerle elde edilen algoritmalar dış geometrik yapı hakkında bilgi vermektedir [30]. Ayrıca meyvelerin depo ömürleri gaz değişim özelliklerine dayandığı için meyvelerin 3D modellenmeleri gaz değişimi ile ilgili bilgilerin öğrenilmesi açısından önem taşımaktadır [31].

Meyvelerle ilgili geliştirilen modeller, meyve ve çevre koşulları arasında ısı ve kütle transfer prosesine dayanmaktadır. Bugüne kadar geliştirilen modeller, meyveyi bir bütün olarak kabul etmiştir, ancak meyve, mikroyapısı bulunan kompleks bir materyal olduğu için bu durum matematik modellemesinin daha da zorlaşmasına yol açmaktadır. Gaz değişimi, hücre ve intraselüler çevre arasındaki ilişkiye de bağlı olduğu için, 3D doku mikroyapı geometrisinin anlaşılması gerekmektedir [31].

Elma meyvesinin 3D görüntüsünü intraselüler boşluklarla birlikte bitki hücresinin biyomekanizmasına dayanarak başarılı bir şekilde çıkartıldığı bir çalışmada, ayrıca farklı tür ve çeşitlere ait meyvelerin de hücre büyüklükleri ve meyve şekilleri de belirlenmiştir [31]. Geometrik görüntü analizleri, renk ve fraktal gibi farklı fiziksel özellikler meyve kalitesinin belirlenmesi için kullanılmaktadır [30,32].

## 3. TARIMSAL ROBOT SENSÖRLERİ İLE BİTKİ ALGILAMA VE HARİTALAMA ÇALIŞMALARI

Hassas tarım, her bitki için uygun olan alanda, uygun zamanda ve doğru işlemler ile gerçekleştirilmelidir. Bu doğru kararı verebilmek için, bitki hakkında doğru bilgileri toplamak gerekmektedir. Bunun için gerek duyulan iş gücü ve zamanın fazla olması, üreticileri alternatif yöntemler bulmaya itmiştir [33,34]. Bitkilerde 3D modellerle morfolojik ve habitatları hakkında daha

doğru veriler toplanarak, ekofizyolojik çalışmalarda zararlı ve değişken çevre koşullarına dayanıklı, yüksek verimli bitkilerin eldesi sağlanabilir [35]. 3D görüntülemelerle ilgili çalışmalar, sera ortamında gerçekleştiriliyor olsa da arazi koşullarına geçildiğinde ekstra düzenlemelere gerek duyulmaktadır. Tarımsal robotların kullanımı bunlardan biridir [14]. Robotik teknolojilerde meydana gelen gelişmeler ile, günümüzde birçok iç ve dış mekan tarımsal faaliyette robotların kullanımı artmıştır. Bu otomatik robotların kullanımı maliyetleri düşürmekte, iş gücü gereksinimini azaltmakta ve üretimi arttırmaktadır. Sensör ve bilgisayar teknolojilerinde gerçekleşen gelişmeler ile de bu sistemlerin popülerlikleri büyük ivme kazanmıştır [2,36]. Otomatik sistemler; zaman alan ve tekrarlı manuel uygulamalar gerektiren durumlarda (1) zararsız sensörler, (2) ilgilenilen fenotipik özellik için otomatik veri işleme, (3) robotize şekilde bitki sensör eşleşmesinin sağlanması, (4) robotize bitki kültürleri, (5) veri işleme hattında verilerin otomatik olarak işlenmesi gibi özellikleri ile önemli avantajlar sağlamaktadır [11].

Tarımsal çalışmalarda bitki performansının artırılması, farklı üretim koşulları altında farklı genotiplerin çevre ile ilişkilerini anlamak ile mümkün olmaktadır. Bu amaçla da, kanopinin ışık, su ve mineral madde gibi temel ihtiyaçlarını etkili şekilde dağıtacak düzende planlanması önemlidir [37]. Toprakta gelişen bitkilerin analizlerinin gerçekleştirilmesinde, çeşitli robotik sistemler kullanılmakta ve görüntüler elde edilmektedir. Ayrıca toprakta yetişen bitkilerin analizi doğal koşullara daha yakın olsa da, *in vitro* kültür bitkileri de, yüksek tuzluluk, oksidatif ya da ozmotik stres gibi çeşitli streslerin bitki büyüme üzerindeki etkisini değerlendirmek için yaygın şekilde kullanılmaktadır. *In vitro* bitki kültürlerinde çevresel koşullar daha kontrollü olduğu için gelişmede çeşitliliğin görülmesi azalmaktadır [17].

Bitkilerden farklı açılardan yapılan görüntülemeler yardımı ile 2D görüntülemeler elde edilebilmektedir. Ancak arazi denemelerinde, bitki kanopisinin farklı kademelerdeki yüksekliklerinde ışıklandırma farklılığından kaynaklanan sorunlar nedeniyle, yüksek nitelikli bilgi elde etmek sorun olmaktadır. Ayrıca rüzgar faktöründen dolayı elde edilen yapı görüntülerinin 2D'den 3D'ye geçişinde de bazı sıkıntılar yaşanabilmektedir [14].

Kanopinin, uydu sistemleri ya da hava taşıtlarıyla belirlenmesi, bitki örtüsünün zamansal ve mekansal olarak değişkenliğinin saptanmasında önemlidir [37]. Arazi koşullarında gerçekleştirilen bu denemelerde sistem genellikle iki temel bileşenden meydana gelmektedir: GPS (Küresel Konumlama Sistemi-Global Positioning System) lokalizasyonu ve 3D çevre algılama sistemi [33]. Bu amaçla en çok 3D LIDAR sistemleri kullanılmaktadır. Bu sistemler; alt bitki örtüsünün tüm yapısının belirlenebildiği bir ormanın haritalanmasından, bazı türlerin kanopilerinin belirlenmesine kadar çok farklı amaçlarla kullanılmaktadır [8].

Bu görüntüleme çalışmaları son derece değerlidir. Çünkü elde edilen bilgiler ile tarımsal faaliyetin başarısının artırılmasına yönelik önemli kararlar alınmaktadır. Örneğin; ağaçlık alanlarda kanopi hacmi hesaplanarak pestisit ya da gübre gibi bitki sağlığı açısından önemli ürünlerin spreyleme uygulamalarında maliyet azaltılarak, çevrenin korunumu sağlanabilmektedir. Biyokütlenin görüntülenmesi ve haritalanması, kuraklık ya da fırtına gibi bitkilere zarar veren durumlarda plantasyonda meydana gelebilecek zararların öngörülmesi için avantajlar sunmaktadır [38].

3D görüntüleme sistemleri ile belirlenen alanlarda, uygun pestisit ve gübre uygulamaları da gerçekleştirilmektedir. Elde edilen bilgilerin ışığında oluşturulan matematiksel ve fiziksel modellerle, meyve ağaçlarına uygulanan pestisit dozu azaltılabileceği gibi farklı spre tekniklerinin gerekli olup olmadığına da kolaylıkla karar verilebilmektedir. Bu şekilde gerçekleştirilen optimizasyonlar ile üreticilerin bilinçli uygulamalar yapması sağlanarak, örneğin, kullanılan kimyasalların azaltılması sonucu ekonomik ve çevresel yararlar elde edilmektedir [39, 40].

Bitki büyüme parametrelerinin ölçümü; ürün büyümesinin izlenmesi, ürün verim tahmini ve yabancı otların tespitinde önemlidir. Yapay ölçümlerin her zaman yetersiz kalması ve hatalı olabilmelerinden dolayı daha gelişmiş bir otomatik ölçüm tekniği gerekmektedir. Bu açıdan 3D yeniden yapılandırma,

bitkilerin büyüme parametrelerinde önemli bir rol oynayan stereovizyon tekniklerine dayalı olarak görünüm içindeki hedefin gerçek uzamsal konumunu bulabilmede yardımcı olacaktır [41].

Sağlanan verilerle, 3D bilgilerini kullanan ilk disiplin ormancılık olmuştur. 1933 yılından beri, stereofotogrametri, sadece büyük orman alanlarının değerlendirilmesi, haritalandırılması ve yeni alanların oluşturulmasına karar verilmesi için değil, aynı zamanda bireysel olarak ağaçların kanopisi, yarıçapı, ağaç yüksekliği gibi özelliklerinin belirlenmesinde de kullanılmıştır [42]. Bitkinin kanopisi, çeşitli maddelerin ve enerjinin bitki içerisindeki döngüsü üzerinde etkili olduğu için, fotosentez ya da transpirasyon gibi hayati fonksiyonların gerçekleştirilmesinde önemlidir. Bitkinin dikey formunun belirlenmesi ile açığa çıkan 3D yapı, bu fonksiyonel rollerin anlaşılmasında kullanılmaktadır [43].

#### **4. BİTKİSEL DOKULARIN YAPI VE FONKSİYONLARININ 3D GÖRÜNTÜLEME SİSTEMLERİ İLE BELİRLENMESİ**

Geçmiş yıllarda araştırmacılar, bilgisayar modellemeleri ile bitki fonksiyonları ve büyüme parametrelerinin araştırılması üzerine çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Yapılan araştırmalar, bitki yapısı ile fiziksel ve biyolojik prosesler arasında ilişki olduğunu göstermiştir [44]. Bitki gelişimi boyunca hücreler, buldukları konuma göre farklılaşarak özel fonksiyonlara sahip çeşitli hücre tipleri ile birlikte çok hücreli bitkileri oluşturmaktadır. Bitki büyümesinin temelini belirlenebilmesi için bu yapıların ayrıntılı olarak görüntülenmesi gerekmektedir [45]. Bu açıdan mikroskopik görüntüler değerlendirildiğinde, 2D olan görüntüler yeterli derinliği verememeleri sebebiyle bilgi verici olamamıştır ve bu nedenle 3D görüntülemenin yapılmasına ihtiyaç duyulmuştur [46].

Yapraklarda şekil ve büyüklüğün belirlenmesinin yanı sıra, hidrolik yapının aydınlatılmasında kullanılmak üzere yaprak damar yapısının da 3D görüntülenmesiyle ilgili çalışmalar mevcuttur. Ayrıca yapraklarda gaz değişimi ve fotosentez gibi mekanizmaların incelenmesinde epidermis, stoma, mezofil ve damar yapısının 3D görüntülerinden de yararlanılmaktadır [11].

Bugüne kadar bitkisel dokuların yapı ve fonksiyonlarının 3D görüntüleme sistemleri ile belirlenmesi amacıyla Fotosistem II Süperkompleksi (Photosystem II supercomplex-PSII)'nin 3D yapısı krayoelektron mikroskobu ile belirlenmiş [47], odunsu bitki yapıların gözlenmesi amacıyla X-ray mikrotomografi cihazı (SilviScan) kullanılarak 3D yapı açığa çıkartılmış [48], tütün polen tüpü duvarlarının poroziteleri çevre ile ilişkilerde bariyer olup olmamaları açısından değerlendirmek üzere 3D yapılandırma yöntemi ile tespit edilmiş [49], tohum gelişiminin incelenmesi için çimlendirilen soya fasulyesinde farklı gelişim aşamalarında 3D görüntülemeler [50] gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bitki hücre büyüme modeli kullanılarak meristematik dokunun modellenmesi de gerçekleştirilmiştir [31].

#### **5. MİMARİ VE ÇEVRE DÜZENLEME ÇALIŞMALARI İÇİN 3D BİTKİ ÜRETİMİ**

Bitkiler, kompleks geometrileri ve çok çeşitli görünüşleri ile modellenmesi zor olan objelerdir [15]. 3D baskı teknolojisinin geldiği son noktada tasarımcılar fabrikasyonu kolay belirli geometrik şekillerle sınırlanmamakta, farklı tarama yöntemlerini kullanarak daha kompleks yapıların üretimi için çalışmaktadırlar [5]. Bitkilerin büyümelerine bağlı olarak saksılar tasarlanmış ve 3D baskı teknolojisi ile bu bitkilerin yetiştiriciliği gerçekleştirilmiştir. Bu tasarımlar arasında patates bitkisi gibi fide büyüdükçe toprak eklenmesi gereken kök bitkileri için z ekseninde modüller eklenerek uzayabilen saksı modelleri; suyu doğrudan toprağa vermek yerine çift cidarlı tasarımlarla bir su haznesi katmanının oluşturulduğu yapılar; sarılıcı bitkiler için sırtık mantığının saksıyla bütünleşik olarak üretildiği örnekler; güneşe doğru yönelme ya da güneşten korunma için ek parçalar içeren tasarımlar bir ürün olarak saksının bitkilerin büyüme performanslarına göre nasıl çeşitlenebileceğini göstermiştir [51].



## 6. 3D BASKILAMA TEKNOLOJİSİ İLE BİTKİ DOKU KÜLTÜRÜ SİSTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Bitki doku kültürü, kontrollü koşullar altında bitki hücre, doku, organları ya da tam bitki kısımlarının kültürlerinin gerçekleştirilerek, büyüme ve gelişmelerinin sağlanmasıdır. Bitki doku kültürlerinde etkili çok farklı parametreler bulunması rağmen, bu parametrelerin içerisinde en önemlilerinden birisi ışıktır [52]. Geçmişte doku kültürü laboratuvarlarında aydınlatma floresan lambalar ile sağlanmasına rağmen, yüksek maliyet ve ışık etkinliğinin azlığı gibi çok çeşitli sebeplerle alternatifler aranmış ve LED aydınlatma sistemleri tercih edilmeye başlanmıştır [53]. Bu sistemlerde de etkinliği arttırabilmek için LED lambaların kültür kabının kapağının altına yerleştirilmesi fikri, alternatif kültür kabı tasarımlarına gereksinim olduğunu göstermiştir. Yeterli ışık yoğunluğunu sağlamak üzere tasarlanan bu sistemlerin klasik yöntemlerle üretilmeleri zordur. Bunun için uygun algoritmalar ve yazılımlar ile 3D baskılama sistemleri kullanılarak, bireysel ışık kontrol sistemi bulunan, büyük ölçek üretimler için uygun, düşük maliyetli kültür kaplarının üretimine başlanmıştır [54].

3D baskılama; plastik, metal, seramik, toz, sıvı veya canlı hücre gibi çeşitli malzemelerin katmanlar halinde bir araya getirilmesi ile bir 3D nesne üretilmesine yönelik geliştirilmiş bir tekniktir. Eklemeli üretim (Additive Manufacturing-AM), hızlı prototiplendirme (Rapid Prototyping-RP) ve katı formsuz teknoloji (Solid Free-Form technology-SFF) olarak da adlandırılan bu teknik, ilk kez Charles Hull tarafından sterolitografi adıyla 1980'lerin başında icat edilmiştir. 3D baskılama; organ, implant ve ilaç taşıma sistemleri üretimi gibi medikal alanların yanı sıra, mimari ve ticari üretim öncesi prototip geliştirmek amacıyla da birçok farklı sektörde kullanılmaktadır [55]. Günümüzde genellikle büyük ölçekli imalatlar için uygun olmayan bu teknik, hızlı prototiplendirme ve özelleştirilmiş parçaların küçük ölçekli üretimine izin vermekte, böylelikle araştırmacıların ilgilendikleri problemlere özel çözümler geliştirmelerine yardımcı olmaktadır [54,55].

Shukla ve ark., (2017) tarafından ilk kez gerçekleştirilen çalışmada, bir kültür kabının prototipi tasarlanmış, *Nicotiana tabacum* ve *Artemisia annua* bitkilerinde bağımsız farklı ışık spektrumlarında büyüme karakteristikleri incelenmiştir. Sonuç olarak, bu tasarımın yarı katı ve sıvı kültür sistemleri ile uyumlu olduğu saptanmıştır [54].

## 7. 3D DOKU İSKELELERİ VE MİKROAKIŞKAN SİSTEMLERDE BİTKİ TEK HÜCRELERİNİN ÜRETİMİ

Bitki hücre kültürü teknikleri, bitkilerde hücreler ve bu hücrelerin içsel prosesleri hakkında bilgi verseler de, hücre popülasyonları ve doku ile tüm bitki arasındaki sinyal cevaplarının incelenmesi çalışmalarında yetersiz kalmaktadır. Ancak tek bitki hücreleri ile 3D çevreleri arasındaki spatiotemporal (hem zaman, hem mekana bağlı) ilişkinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır [56].

Hayvan doku kültürü uygulamalarında *in vitro* koşullarda hücre dışı matriksin 3D mikroçevresinin taklit edilmesi ve *in vivo* şartlara benzer kontrollü ortam sağlanması için 3D doku iskeleleri kullanılmaktadır. Doku iskelesi; doku mühendisliğinde hücrelerin organize olarak işlevsel bir dokuya dönüşmesinde kullanılan, hücreler için uygun tutunma yüzeyi ve mekanik dayanım sağlayarak biyomimetik bir kültür ortamı yaratan, fizyolojik ve biyolojik değişikliklere cevap vermek için çevre doku ile etkileşimin kurulmasına yardımcı olan ve gerçek hücre dışı matriksin yeniden oluşumuna katkıda bulunan destek yapısıdır. Günümüzde araştırmacıların tüm özel isteklerini karşılayabilen yüksek avantaja sahip 3D baskılama teknolojisinin de yer aldığı çok çeşitli doku iskelesi üretim yöntemi mevcuttur [55,56,57].

Hayvan hücrelerinde kullanılan 3D nano- ve fiber- yapıları doku iskelelerinin [UV ile steril edilerek hazırlanan PET (polietilen terapitalat-mikrofiber):PLA (polilaktit-nanofiber) temelli] *Arabidopsis thaliana* hücrelerinin gelişimlerinin gözlemlenmesinde uygun bir 3D yaklaşım sunduğu belirlenmiştir.

Bu yaklaşım ile hayvan doku mühendisliğinde yararlanılan biyoyumlu doku iskelelerinin, 3D bitkisel dokuların üretiminde bitki dokusu ortamını taklit etmek amacıyla kullanımı mümkün olabilecektir [56].

Bir başka çalışmada “*yeşil biyobaskı-green bioprinting*” ile üretilen hidrojel, bitki hücre kültürü tekniklerinde immobilizasyon amacıyla kullanılmışlardır. Bu yöntem ilk kez, insan hücreleriyle çalışmak üzere üretilen hidrojel iskelelerin, fotosentetik mikroalglerin üretiminde kullanılması sonucunda Lode ve ark. (2015) tarafından adlandırılmıştır. Seidel ve ark. (2017), bu kapsamda gerçekleştirdikleri bir başka çalışmada, alginat temelli hidrojel ile 3D olarak üretilen iskeleyi fesleğen (*Ocimum basilicum L. var. purpurascens* Benth. ‘Cinnamon Basil’) hücre kültürlerinin üretiminde kullanmışlar ve başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Çalışmada sonuç olarak biyobaskı 3D hücre kültürlerinin çevresel koşullara bitki hücresinin tepkisini belirleme çalışmalarında yardımcı olabileceği ve endüstriyel uygulamalarda, biyobaskı teknolojilerinin immobilize hücreler ile tasarımlar konusunda yeni kapılar açtığı belirtilmiştir [58].

Bunların haricinde bitki dokusu mikroçevresini taklit etmek için kullanılan mikroakışkan teknikler, bitki hücrelerinin davranışlarının anlaşılmasında daha az alanda ve daha kısa sürede cevap vermesi gibi özellikleri nedeniyle iyi bir alternatif olmuştur. Bu amaçla tasarlanan *RootChip*, *RootArray*, *TipChip*, ve *PlantChip* gibi mikroçipler ile çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmektedir [59]. Kapalı bir mikroçevrede, doku ve hücrelerin incelenmesinde kullanılan mikroakışkan sistemler, bitkisel araştırmalarda *in vivo* bitki dokusu ortamına benzer, sınırlı ve iyi kontrol edilen bir çevre sağlamaktadır ancak, doku benzeri ve fibröz ekstraselüler yapıyı taklit etmede gösterdikleri eksikliklerden dolayı bir doku ortamının yapısal gelişmişliğinden yoksundurlar. Bu açıdan 3D doku kültürlerinin kullanımı, izole edilmiş bitki hücrelerinin dış yapı ve çevre ile etkileşimlerinin incelenmesinde önemli problemlerin aşılmasını sağlayabilecek niteliktedir. Geleceğe yönelik çalışmalarda 3D doku iskeleleri ve mikroakışkan sistemlerin bir arada kullanıldığı ve biyolojik çevreyi daha iyi taklit eden sistemlerin elde edilmesi ile araştırmacılara yeni olanaklar sağlanacaktır [56,59,60,61]. Mikroçevre ortamında tek bitki hücrelerinin büyüme davranışlarının incelenmesi için tasarlanan mikroakışkan sistemler, deneysel koşulların yüksek tekrarlanabilirliği nedeniyle enzim, toksik bileşik ve büyüme teşvik edici maddelerin saptanmasında oldukça yararlıdır [61].

## 8. BİTKİ DOKU VE ÜRÜNLERİNİN HAYVAN DOKU KÜLTÜRLERİ İÇİN 3D DOKU İSKELESİ OLARAK KULLANILMASI

### 8.1. Bitki Dokularının Kullanımı

Bitki ve hayvan sistemleri arasındaki ara yüzleri çalışarak, rejeneratif tıp gibi çok çeşitli disiplinler için etkili yeni çözümler üretilebilmektedir. Örneğin, doku mühendisliğinin klinik çevresini etkileyen başlıca sınırlayıcı faktör, mühendislik dokularında canlı damar ağlarının olmamasıdır. 3D baskı gibi güncel üretim teknikleri, kılcal damarlarda görüldüğü gibi mikrodamar sistemini doğru ve etkili bir şekilde oluşturamamaktadır. Tüm bunları göz önünde bulundurarak, bitkiler aleminden ilham kaynakları aranmaktadır. Memeli vaskülarizasyonu gibi bitki yaprağındaki damar sistemi, sıvı akışını ve önemli biyomoleküllerin taşınmasını desteklemektedir. Bu taşınma mekanizması, bitki ve memeli damarlarında farklı şekilde gerçekleştirilse de, özellikle mikrovasküler yapı gibi temel fonksiyonel yapılar benzerlik gösterir. Doku mühendisliği için biyomühendislik temelli iskelelerin üretimindeki önemli gelişmelere rağmen, kompleks mühendislik ürünü insan dokularında besin maddelerinin verilmesi hala araştırılması gereken bir alandır. Bitki ve hayvan dokularının vasküler yapısındaki benzerliklerden yararlanarak, doku mühendisliği uygulamaları için prevaskülarize edilmiş bir iskele olarak hücreleştirilmiş (desellülerizasyon) bitki dokularının geliştirilmesi yenilikçi yaklaşımlardandır. Perfüzyona dayalı hücreleştirme çalışmaları ile sağlanan farklı iskele geometrileri sağlayarak bitki türleri için modifiye edilebilmektedir. Ayrıca çoğu bitkisel malzemenin (selüloz, pektin, ipek vs) hali hazırda doku iskelesi üretiminde kullanılıyor olması da bitki doku iskelelerinin çalışılmasını desteklemektedir [62,63,64].

İnsan mikrovasküler sisteminin taklit edilmesi için bitki yapraklarının hücreleştirilme çalışmasının ardından, insan damar ağında yer alan hücrelerin bu iskelede üretilmesi amaçlanmıştır. Ispanak, maydanoz ve *Artemisia annua* yaprakları ile fıstık köküne perfüzyon desellülerizasyon tekniği optimizasyonu yapılarak hücreleştirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler ışığında, desellülerize bitkilerin, doku mühendisliği yardımı ile büyük hacimli vaskularize doku kütlesi üretiminde düşük maliyetli ve "yeşil" bir teknoloji sağlayabilen iskeleler olarak kullanım potansiyeline sahip olduğu ortaya çıkmıştır [64].

Biyomedikal uygulamalarda genellikle 3D hücre gelişimini sağlamak üzere doku iskelesi olarak kullanılan biyomateryallerin üretiminde çok sayıda ve farklı materyaller kullanılıyor olsa da, yeni materyallerin belirlenmesi ile ilgili çalışmalar yoğun şekilde devam etmektedir. İlginç bir şekilde bitkiler, yapı ve fonksiyonları açısından biyomateryal olarak kullanılmak üzere son derece iyi bir alternatif sunarlar. Bitki dokuları, sert ve yumuşak komponentleri hiyerarşik bir yapı içerisinde kompleks olarak barındıran kompozit materyallerdir. Örneğin, hücre duvarında bulunan selüloz fiberleri, esnek ve yüksek hidrofilik hemiselüloz matrisi ile pektin ve lignini bir arada içermektedir. Ayrıca bitkilerin küçük damarların geniş yayılımlarıyla sahip oldukları hidrolik yapı önemli bir transport özelliği de taşımaktadır [65].

Nanoyapılı ve nanokompozit ürünler, günümüzün en önemli çalışma konularıdır. Bu ürünlerin üretimleri için alternatif yollar bulunsa da, bu yöntemler pahalı ve kompleks teknolojilere dayanmaktadır. Bu sebeple araştırmacılar, yeni alternatifler arama yoluna girmişler ve cevabı doğada bulmuşlardır. Çok farklı biyolojik materyaller kullanılabilir de, yapraklar ucuz olmaları, yeniden üretilebilmeleri ve yüksek miktarda bulunmaları nedeniyle tercih edilmişlerdir. 3D yaprak formu kullanılarak kobalt oksit ( $\text{Co}_3\text{O}_4$ ), titanyum dioksit ( $\text{TiO}_2$ ), magnezyum oksit ( $\text{MgO}$ ), platinyum ( $\text{Pt}$ ) ve gümüş ( $\text{Ag}$ ) mikro/nanomateryallerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda yapraklar uygun çözücü içerisinde bekletilip damarları ortadan kaldırılmakta, daha sonra materyali oluşturacak çözelti içerisinde tutularak 3D poroz yapının damar formunda oluşması beklenmektedir. Bundan sonra kalıp olarak kullanılan yaprak ortadan kaldırılmakta geriye nanomateryal kalmaktadır. Elde edilen bu nanomateryaller organizmada üretilen çeşitli metabolitlerin (kan şekeri vb.) teşhisi için biyosensör olarak işlem görebilmektedir [66].

## 8.2. Bitkisel Ürünlerin Kullanımı

Biyopolimerler; mikroorganizmalar ya da bitkilerden doğal yollarla üretilen, bunun yanı sıra temel biyolojik sistemlerden kimyasal olarak da sentezlenebilen maddelerdir. Biyouyumlu, biyobozunur ve sitotoksik olmama gibi özellikleri ile biyopolimerler, medikal çalışmaların ön plana çıktığı geniş bir uygulama yelpazesine sahip umut verici bir malzeme sınıfı olarak kabul edilirler. Bu polimerlerle üretilen malzemeler, vücut bölümünü taklit etmek ve normal vücut fonksiyonunu sürdürmek üzere hasar görmüş organ veya yapıyı değiştirmek amacıyla implante edilebilme özelliğine sahiptirler. En çok kullanılan tıbbi biyomalzemelerin bazıları; kalp, kemik, göz, kulak, diz, göğüs, kalça ve kardiyovasküler sistem implantlarından oluşmaktadır. Biyopolimerler tıbbi malzeme olmanın dışında, ambalaj, kozmetik, gıda katkı maddeleri, giyim kumaşları, su arıtma kimyasalları, endüstriyel plastik maddeler, emici maddeler, biyosensörler ve hatta veri depolama elemanları olarak kullanılmak üzere geliştirilmiştir [67].

Parçalanma ürünleri immünojenik olmayan biyopolimerler; geçici protezler, doku mühendisliği için iskele olarak 3D gözenekli yapılar ve kontrollü/süreklili salınan ilaç dağıtım araçları ve uygulamaları gibi terapötik cihazların geliştirilmesinde kullanılmak için büyük bir potansiyele sahiptirler ve temelde üç ana grupta incelenirler; polisakaritler (selüloz, kitosan, nişasta, aljinat, pektin vb), proteinler (kollajen, jelatin, ipek, soya vb) ve polinükleotitler [67, 68].

Selüloz, doğada en bol bulunan ve bitkilerde kütlece en fazla olan bileşiktir, b-(1/4)-bağlı D-anhidroglukopiranoz parçalarının tekrarlanan birimlerini içeren uzun zincirli, doğrusal bir karbonhidrat polimeridir. Şeker monomerlerinden oluşmakta ve dolayısıyla bir polisakkarit yapıdadır. Selüloz bileşikleri, çoğunlukla bitkilerden ve bakterilerden elde edilmektedir; biyoyuumluluk, mekanik kuvvet, yüzey yükleri ve sitotoksik olmama özellikleri sayesinde medikal alanda sıklıkla tercih edilmekte; doku iskelesi, ilaç taşınımı, hücre üreme yüzeyi, doku tamiri malzemesi ve mikrotaşırıyıcı olarak da kullanılmaktadır [62, 63, 69, 70].

Şeker kamışından elde edilen selüloz nanokristalleri (Cellulose NanoCrystal-CNC), polivinil alkol (PVA) ile birleştirilerek insan deri hücrelerinin üretimi amacıyla kullanılacak nanokompozit doku iskelesinin üretimi gerçekleştirilmiştir. Hücreler üzerinde sitotoksikite testleri, taramalı elektron mikroskopisinde yüzey ve poroz özellikleri belirlenmiş, sonuç olarak CNC/PVA temelli doku iskelesi üzerinde deri fibroblastlarının üretilmesiyle biyomedikal uygulamalarda *in vivo* çalışmalara alternatif 3D doku çalışmalarının yapılabileceği saptanmıştır [69].

Nişasta; biyobozunabilir özelliği, doğada bol miktarda bulunması, erişilebilirliği, ucuzluğu ve yenilenebilirliği sayesinde farklı sektörlerdeki araştırmalar için en umut veren biyopolimerlerden birisidir. Bitkiler tarafından temel gıda rezervi olarak sentezlenmekte ve glikan karışımları olarak kloroplastlarda depolanmaktadır. Nişasta temelli biyoyumlu malzemelerin (kitosan, etilen vinil alkol, polilaktik asit, selüloz asetat ve polikaprolakton gibi farklı sentetik polimerlerle nişastanın harmanlanması); biyomedikal çalışmalarda ilaç taşınımı, kanser terapisi ve doku mühendisliği uygulamaları için etkinliği yüksek olan doku iskelesi üretimlerinde kullanılabilirliği mevcuttur [68, 71].

Farklı miktarda nişasta ve kitosan karışımıyla elde edilen karboksillendirilmiş biyoaktif kompozit yapıdaki doku iskelelerinde kemik dokusu rejenerasyonunu taklit etmek için osteoblast benzeri hücreler (MG63) üretilmiştir. Yeni oluşturulan bu kompozit yapının, morfoloji, mukavemet ve apatit mineralizasyonu bakımından farklılığı saf kitosan iskeleye kıyasla incelendiğinde, kompozit yapıdaki iskelenin nişasta içeriği arttırıldıkça, küçük gözenekliliğe rağmen, mekanik özelliklerin, hücre çoğaltımının, hücreler arası bağlantı ve tabaka oluşumunun ve buna bağlı olarak da apatit mineralizasyonunun artmasının kemik rejenerasyonu için daha uygun olduğu belirlenmiştir [71].

## 9. SONUÇ

İnsanın keşfetmeye olan merakı, göremeyeceği ölçüde küçük ya da kompleks yapıda olan materyalleri bulmasını sağlamıştır. Özellikle biyolojik canlıların sahip olduğu muazzam yapılar ve bu yapıların birbirleri ile ilişkileri insanları yüzyıllar boyunca cezbetmiştir. Öncelikle 2D olarak elde edilen görüntüler, tatmin edici olmamış ve daha ayrıntılı yapılara ihtiyaç duyulmuştur. Günümüzde teknoloji hızla gelişmekte ve her yeni gün araştırmacılar için yeni fırsatlar sunmaktadır. 3D teknolojisi kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalar hızla devam ederken, karşılaşılan sorunların aşılması için yeni alternatifler ortaya çıkmaktadır. Hatta Bassel ve Smith (2016) gerçekleştirdikleri bir araştırmada 3D teknolojisinin zaman alıcı bir teknik olduğunu ve buna alternatif olarak 4D teknolojilerin kullanılması gerektiğini ileri sürmüşlerdir. Bu teknoloji, bitkide meydana gelen şekilsel değişiklikler ve genetik düzenlemeler arasındaki ilişkiye dayanarak algoritmaların belirlenmesine dayanmaktadır [72].

3D teknolojisi, doğada canlılar arası etkileşimi de ortaya çıkarmış, disiplinler arası bağ kurarak farklı çalışma konularının bir arada kullanılması gerektiğini de göstermiştir. Biyoloji, biyomühendislik, tıp, bitki ve hayvan doku kültürü teknolojisi, tarımsal teknolojiler ve bunların uygulamaları gibi çeşitli çalışma alanları ile matematik, bilgisayar mühendisliği, mimari ve peyzaj çalışmaları ortak bir paydada buluşmuştur.

## **KAYNAKLAR**

- [1] Brodersen CR, Rodd AB. New frontiers in the three-dimensional visualization of plant structure and function. *American Journal of Botany* 2015; 103 (2): 184-188.
- [2] Chaudhury A, Ward C, Talasaz A, Ivanov AG, Brophy M, Grodzinski B, Hüner NPA, Patel RV and Barroni, J.L. 2017. Machine Vision System for 3D Plant Phenotyping. <https://arxiv.org/abs/1705.00540>
- [3] Wen W, Guo X, Wang Y, Zhao C, Liao W. Constructing a three-dimensional resource database of plants using situ-measured morphological data. 2016 ASABE Annual International Meeting, Orlando, Florida July 17-20, 2016. Paper Number: 162449020.
- [4] Pradal C, Boudon F, Nouguier C, Chopard J, Godin C. PlantGL: a Python-based geometric library for 3D plant modeling at different scales. *Graphical Models* 2009; 71: 1–21.
- [5] Peele B N. CS5643 Final Project: Modeling leaf venation patterns for use in 3D printing. Mechanical Engineering, Cornell University 2012.
- [6] Paulus S, Behmann J, Mahlein A K, Plümer L, Kuhlmann H. Low-Cost 3D Systems: Suitable Tools for Plant Phenotyping. *Sensors* 2014; 14: 3001-3018.
- [7] Omasa K, Hosoi F, Konishi A. 3D lidar imaging for detecting and understanding plant responses and canopy structure. *Journal of Experimental Botany* 2007; 58(4): 881–898.
- [8] Lin Y. LiDAR: An important tool for next-generation phenotyping technology of high potential for plant phenomics? *Computers and Electronics in Agriculture* 2015;119: 61–73.
- [9] Bietresato M, Carabin G, Vidoni R, Gasparetta A, Mazzetto F. Evaluation of a LiDAR-based 3D-stereoscopic vision system for crop-monitoring applications. *Computers and Electronics in Agriculture* 2016; 124: 1–13.
- [10] Chaivivatrakul S, Tang L, Dailey M N, Namarmi AD. Automatic morphological trait characterization for corn plants via 3D holographic reconstruction. *Computers and Electronics in Agriculture* 2014; 109: 109-123.
- [11] Dhondt S, Wuyts N, Inzé D. Cell to whole-plant phenotyping: the best is yet to come. *Trends in Plant Science* 2013; 18 (8): 1360-1385.
- [12] An N, Welch SM, Markelz RJC, Baker RL, Palmer CM, Ta J, Maloof JN, Weinig, C. Quantifying time-series of leaf morphology using 2D and 3D photogrammetry methods for high-throughput plant phenotyping. *Computers and Electronics in Agriculture* 2017; 135: 222-232.
- [13] Chéné Y, Rousseau D, Lucidarme P, Bertheloot J, Caffier V, Morel P, Belin É, Chapeau-Blondeau F. On the use of depth camera for 3D phenotyping of entire plants. *Computers and Electronics in Agriculture* 2012; 82: 122–127.
- [14] Sodhi P, Vijayarangan S, Wettergreen D. In-field Segmentation and Identification of Plant Structures using 3D Imaging. Conference Paper, IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems 24-28 September 2017, Vancouver, Canada. IEEE. pp. 5180-5187
- [15] Quan L, Tan P, Zeng G, Yuan L, Wang J, Kang S B. Image-based Plant Modeling. *ACM Trans. on Graphics (SIGGRAPH)* 2006; 25 (3): 772–778.

- [16] Zhang Y, Zhuang Z, Xiao Y, He Y. Rape plant NDVI 3D distribution based on structure from motion. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* 2015; 31 (17): 207-214.
- [17] Dhondt S, Gonzales N, Blomme J, Milde L, Daele T V, Akoleyen D V, Storme V, Coppens F, Beemster G T S, Inze D. High-resolution time-resolved imaging of in vitro *Arabidopsis* rosette growth. *The Plant Journal* 2014; 80:172-184.
- [18] Phattaralerphong J, Sathornkitch J, Sinoquet H. A photographic gap fraction method for estimating leaf area of isolated trees: assessment with 3D digitized plants. *Tree Physiology* 2006; 20:1123-1136.
- [19] Dellen B, Scharr H, Torras C. Growth signatures of rosette plants from time-lapse video. *IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics* 2015;12 (6): 1470–1478.
- [20] Tian T, Wu L, Henke M, Ali B, Zhou W, Buck-Sorlin G. Modeling Allometric Relationships in Leaves of Young Rapeseed (*Brassica napus* L.) Grown at Different Temperature Treatments. *Front. Plant Sci.* 2017; 8(313): 1-12.
- [21] Failmezger H, Jeagle B, Schrader A, Hülkamp M, Tresch A. Semi-automated 3D Leaf Reconstruction and Analysis of Trichome Patterning from Light Microscopic Images. *PLoS Comput Biol.* 2013; 9(4): 1-10.
- [22] Zheng Y, Gu S, Edelsbrunner H, Tomasi C, Benfey P. Detailed Reconstruction of 3D Plant Root Shape. *2011 IEEE International Conference on Computer Vision* 2011; 11: 2026-2033.
- [23] Chen X, Ding Q, Blaszkiewicz Z, Sun J, Sun Q, He R, Li Y. Phenotyping for the Dynamics of field wheat root system architecture. *Scientific Reports* 2017; 7 (37649): 1-11.
- [24] Chen X, Ding Q, Li Y, Xue J, He R. Three Dimensional Fractal Characteristics of Wheat Root System for Rice-Wheat Rotation in Southern China. *Scientia Agricultura Sinica* 2017; 50(3): 451-460.
- [25] Xu H, Maenhout P, Swanckaert J, Vandecasteele B, Sleutel S. Larger field than variety effect on belowground maize biomass and root system architecture. *Day of Young Soil Scientist* 2017.
- [26] Dorlodot S, Forster B, Pagès L, Price A, Tuberosa R, Draye X. Root system architecture: opportunities and constraints for genetic improvement of crops. *TRENDS in Plant Science* 2007; 12.
- [27] Liang T, Knappett J A, Bengough A G, Ke Y X. Small-scale modelling of plant root systems using 3D printing, with applications to investigate the role of vegetation on earthquake-induced landslides. *Landslides* 2017; 14: 1747–1765.
- [28] Zhu J, Ingram P A, Benfey P N, Elich T. From lab to field, new approaches to phenotyping root system architecture. *Current Opinion in Plant Biology* 2011; 14: 310–317.
- [29] Mieszkalski L. The method of 3D reconstruction of apple shape. Part 2. Geometric 3D model of an apple using Bézier curves. *Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Agriculture No 69 (Agricultural and Forest Engineering)* 2017; 69: 33-41.
- [30] Mieszkalski L. The method of 3D reconstruction of apple shape. Part 1. Apple shape mathematical modeling method. *Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Agriculture No 69 (Agricultural and Forest Engineering)* 2017; 69: 23-32.

- [31] Abera MK, Verboven P, Herremans E, Defraeye T, Fanta S W, Ho Q T, Carmelist J, Nicolai BM. 3D Virtual Pome Fruit Tissue Generation Based on Cell Growth Modeling. *Food Bioprocess Technology* 2014; 7: 542-555.
- [32] Pandey VP, Singh S, Jaiswel N, Awasthi M, Pandey B, Dwivedi UN. Papaya fruit ripening: ROS metabolism, gene cloning, characterization and molecular docking of peroxidase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2013; 98: 98–105
- [33] Weiss B, Biber P. Plant detection and mapping for agricultural robots using a 3D LIDAR sensor. *Robotics and Autonomous Systems* 2011; 59: 265–273.
- [34] Martinez-Guanter J, Garrido-Izard M, Valero C, Slaughter D C, Perez-Ruiz M. Optical Sensing to Determine Tomato Plant Spacing for Precise Agrochemical Application: Two Scenarios. *Sensors* 2017; 17: 1096.
- [35] Gibbs JA, Pound M, Wells DM, Murchie E, French A, Pridmorei T. Three-Dimensional Reconstruction of Plant Shoots from Multiple Images using an Active Vision System, Conference: Proceedings of the IROS Workshop on Agri-Food Robotics-Hamburg 2016; 1-7.
- [36] Shalal N, Lowi T, McCarthy C, Hancock N. Orchard mapping and mobile robot localisation using on-board camera and laser scanner data fusion – Part B: Mapping and localisation. *Computers and Electronics in Agriculture* 2015; 119: 267–278.
- [37] Makdessi N A, Jean P A, Ecartot M, Gorreta N, Rabatel G, Rournet P. How plant structure impacts the biochemical leaf traits assessment from in-field hyperspectral images: A simulation study based on light propagation modeling in 3D virtual wheat scenes. *Field Crops Research* 2017; 205: 95-105.
- [38] Yandun F, Reina G, Torres-Torriti M, Kantor G, Cheein F A. A Survey of Ranging and Imaging Techniques for Precision Agriculture Phenotyping. *IEEE/ASME Transactions on Mechatronics* 2017; 1-11.
- [39] Palleja T, Tresanchez M, Teixido M, Sanz R, Rosell JR, Palacin J. Sensitivity of tree volume measurement to trajectory errors from a terrestrial LIDAR scanner. *Agricultural and Forest Meteorology* 2010; 150: 1420–1427.
- [40] Massinon M, Dumont B, De Cock N, Salah S O T, Lebeau F. Study of retention variability on an early growth stage herbaceous plant using a 3D virtual spraying model. *Crop Protection* 2015; 78: 63-71.
- [41] Zhai Z, Du Y, Zhu Z, Lang J, Mao E. Three-dimensional reconstruction method of farmland scene based on rank transformation. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* 2015; 31(20): 157-164.
- [42] Rosell JR, Llorens J, Sanz R, Arnó J, Ribes-Dasi M, Masip J, Escolá A, Camp F, Solanelles F, Gràcia F, Gil E, Val L, Planas S, Palacín J. Obtaining the three-dimensional structure of tree orchards from remote 2D terrestrial LIDAR scanning. *Agricultural and Forest Meteorology* 2009; 149: 1505–1515
- [43] Hosoi F, Omasa K. Estimating vertical plant area density profile and growth parameters of a wheat canopy at different growth stages using three-dimensional portable lidar imaging. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing* 2009; 64: 151–158.

- [44] Godin C, Sinoquet H. Functional-structural plant modelling. *New Phytologist* 2005; 166: 705-708.
- [45] Tuernit E, Bauby H, Dubreucq B, Grandjean O, Runions J, Barthélémy J, Palauqui JC. High-Resolution Whole-Mount Imaging of Three-Dimensional Tissue Organization and Gene Expression Enables the Study of Phloem Development and Structure in Arabidopsis. *The Plant Cell*. 2008; 20: 1494-1503.
- [46] Huk Y. Who benefits from learning with 3D models? The case of spatial ability. *Journal of Computer Assisted Learning* 2006; 22: 392–404.
- [47] Nield J, Orlova EV, Morris E P, Gowen B, Heel M, Barber J. 3D map of the plant photosystem II supercomplex obtained by cryoelectron microscopy and single particle analysis. *Nature Structural Biology* 2000; 7(1): 44-47.
- [48] Mayo S C, Chen F, Evans R. Micron-scale 3D imaging of wood and plant microstructure using high-resolution X-ray phase-contrast microtomography. *Journal of Structural Biology* 2010; 171:182-188.
- [49] Derksen J, Janssen GJ, Wolters-Arts M, Lichtscheidl I, Adlassnig W, Ovecka M, Doris F, Steer M. Wall architecture with high porosity is established at the tip and maintained in growing pollen tubes of *Nicotiana tabacum*. *The Plant Journal* 2011; 68: 495-506.
- [50] Souza NM, Topham AT, Bassel GW. Quantitative analysis of the 3D cell shape changes driving soybean germination. *Journal of Experimental Botany* 2017; 68 (7): 1531–1537.
- [51] Özsel Akipek F, Yazar T. Growing an Architectural System: Bir Mimari Sistem Büyütmek, Performansa Dayalı Sayısal Tasarım Araştırmaları için Prototipler. *İmkansız Mekanlar/Olanaksızın Olanığı-MSTAS* 2017; 162-170.
- [52] Ferreira LT, Silva MMA, Ulisses C, Camara TR, Willadino L. Using LED lighting in somatic embryogenesis and micropropagation of an elite sugarcane variety and its effect on redox metabolism during acclimatization. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 2017; 128: 211–221.
- [53] Takeui B, Ansante NF, Rossi ML, Calaboni C, Hercilio P, Rodrigues V. In vitro culture of heliconia in different light sources. *Plant Cell Culture & Micropropagation* 2016; 12(2): 39-45.
- [54] Shukla MR, Singh AS, Piunno K, Saxena PK, Jones AMP. Application of 3D printing to prototype and develop novel plant tissue culture systems. *Plant Method* 2017; 13(6): 1-10.
- [55] Ventola CL. Medical applications for 3D printing: Current and projected uses. *Pharmacy and Therapeutics* 2014; 39(10): 704-711.
- [56] Luo C, Wightman R, Meyerowitz E, Smukoz SK. A 3-dimensional fibre scaffold as an investigative tool for studying the morphogenesis of isolated plant cells. *BMC Plant Biology* 2015;15(211): 1-15.
- [57] Szojka A, Lalh K, Andrews SHJ, Jomha NM, Osswald M, Adesida A B. Biomimetic 3D printed scaffolds for meniscus tissue engineering. *Bioprinting* 2017; 8:1-7.
- [58] Seidel J, Ahlfeld T, Adolph M, Kümmeritz S, Steingroewer J, Krujatz F, Bley T, Gelinsky M, Lode A. Green bioprinting: extrusion-based fabrication of plant cell-laden biopolymer hydrogel scaffolds. *Biofabrication* 2017; 9: 1-11.



- [59] Nezhad AS. Microfluidic platforms for plant cells studies: Lab on a Chip 2014; 14: 3262-3274 .
- [60] Allazetta S, Hausherr TC, Lutolf P. Microfluidic Synthesis of Cell-Type-Specific Artificial Extracellular Matrix Hydrogels. *Biomacromolecules* 2013; 14: 1122-1131.
- [61] Nezhad AS, Ghanbari M, Agudelo CG, Naghavi M, Packirisamy M, Bhat RB, Geitmann A. Optimization of flow assisted entrapment of pollen grains in a microfluidic platform for tip growth analysis. *Biomed Microdevices* 2014; 16: 23-33.
- [62] Junior AMA, Braido G, Saska S, Barud HS, Franchi P, Assunção RMN, Scarel-Caminaga RM, Capote TSO, Messaddeq Y, Ribeiro SJL. Regenerated cellulose scaffolds: Preparation, characterization and toxicological evaluation. *Carbohydrate Polymers* 2016; 136: 892-898.
- [63] Ko S W, Sariano JPE, Lee JY, Unnithan AR, Park CH, Kim CS. 2017. Nature derived scaffolds for tissue engineering applications: Design and fabrication of a composite scaffold incorporating chitosan-g-d,l-lactic acid and cellulose nanocrystals from *Lactuca sativa* L. cv green leaf. *International Journal of Biological Macromolecules* 2017 Oct 18.
- [64] Gershlak JR, Hernandez S, Fontana G, Perreault LR, Hansen KJ, Larson SA, Binder BYK, Dolivo D M, Yang T, Dominko T, Rolle MW, Weathers PJ, Medina-Bolivar F, Cramer CL, Murphy WL, Gaudette G R. Crossing kingdoms: Using decellularized plants as perfusable tissue engineering scaffolds. *Biomaterials* 2017; 125: 13-22.
- [65] Fontana G, Gershlak J, Adamski M, Lee J S, Matsumoto S, Le HD, Binder B, Wirth J, Gaudette G, Murphy WL. Biofunctionalized Plants as Diverse Biomaterials for Human Cell Culture. *Advanced Healthcare Mater* 2017; 6 (1601225): 1-9.
- [66] Han L, Yang DP, Liu A. Leaf-templated synthesis of 3D hierarchical porous cobalt oxide nanostructure as direct electrochemical biosensing interface with enhanced electrocatalysis. *Biosensors and Bioelectronics* 2015; 63: 145–152.
- [67] Rebelo R, Fernandes M, Figueiro R. Biopolymers in Medical Implants: A Brief Review. *Procedia Engineering*. 2017; 200: 236-243.
- [68] Malafaya PB, Silva GA, Reis RL. Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. *Advanced Drug Delivery Review* 2007; 59: 207-233.
- [69] Lam NT, Chollakup R, Smitthipong W, Nimchua T, Sukyai P. Utilizing cellulose from sugarcane bagasse mixed with poly(vinyl alcohol) for tissue engineering scaffold fabrication. *Industrial Crops and Products* 2017; 100: 183-197.
- [70] Sultan S, Siqueira G, Zimmermann T, Mathew AP. 3D printing of nano-cellulosic biomaterials for medical applications. *Current Opinion in Biomedical Engineering* 2017; 2: 29-34.
- [71] Shahriarpanah S, Nourmohammadi J, Amoabediny G. Fabrication and characterization of carboxylated starch-chitosan bioactive scaffold for bone regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules* 2016; 93: 1069-1078.
- [72] Bassel GW, Smith RS. Quantifying morphogenesis in plants in 4D. *Current Opinion in Plant Biology* 2016; 29: 87–94.