

**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI  
2013-YL-059**

**‘SARILOP’ İNCİR (*Ficus carica* L.) ÇEŞİDİ YAPRAK  
SEGMENTLERİNDEN SOMATİK EMBRİYOGENESİS**

**Damla TURAN**

**Tez Danışmanı:  
Prof. Dr. Gonca GÜNVER DALKILIÇ**

**AYDIN**



**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Damla TURAN tarafından hazırlanan “Sarılop’ İncir (*Ficus carica* L.) Çeşidi Yaprak Segmentlerinden Somatik Embriyogenesis” başlıklı tez, 26.08.2013 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan : Prof. Dr. Gonca GÜNVER DALKILIÇ	ADÜ	.....
Üye : Prof. Dr. Serap AÇIKGÖZ	ADÜ	.....
Üye : Doç. Dr. Engin ERTAN	ADÜ	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... Sayılı kararıyla ..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cengiz ÖZARSLAN

Enstitü Müdürü



**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

...../...../.....

Damla TURAN



## ÖZET

### ‘SARİLOP’ İNCİR (*Ficus carica* L.) ÇEŞİDİ YAPRAK SEGMENTLERİNDEN SOMATİK EMBRİYOGENESİS

Damla TURAN

Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gonca GÜNVER DALKILIÇ

2013, 41 sayfa

Somatik embriyogenesis, incirde hızlı çoğaltım ve gen aktarım çalışmalarında önemli bir potansiyele sahiptir. Bu çalışmada, iyi kalitede sofralık ve kurutmalık bir incir çeşidi olan ‘Sarılop’ çeşidinin yaprak segmentleri kullanılarak direkt ve indirekt somatik embriyogenesis yoluyla somatik embriyo oluşumu amaçlanmıştır. Kasım ve Mart aylarında alınan incir tepe tomurcukları Murashige-Skoog (MS) besin ortamında sürdürülerek gelişen yapraklar çalışmada eksplant olarak kullanılmıştır. Bu yapraklardan indirekt somatik embriyo gelişimi için MS ortamı ilkbahar dönemi K-2 (2 mg/L 2,4-D + 0.2 mg/L kinetin) kombinasyonunda, % 66.66 oranında kallus oluşmuş, ancak somatik embriyo gelişimi elde edilememiştir. Direkt somatik embriyo oluşumu için ise yaprak eksplantları TDZ (Thidiazuron) ve 2İP (*N*<sup>6</sup>-2-isopentenyladenine) içeren MS ortamı kombinasyonlarında kültüre alınmış ve kallus oluşumu, eksplant uzaması, kök oluşumu ile embriyo oluşumu gözlenmiştir. Uzayan yaprak eksplantlarında en yüksek boy uzunluğu ilkbahar döneminde ortalama 3.09 cm olarak ölçülmüştür. En yüksek kök oluşum oranı (%42.76) ve en yüksek embriyo oluşum oranı (%20) ilkbahar döneminde DE-4 (MS + 2 mg/L TDZ + 8 mg/L 2İP) kombinasyonunda elde edilmiştir. Eksplant başına oluşan somatik embriyo sayısı 0.83’tür. DE-2 (MS + 2 mg/L TDZ + 4 mg/L 2İP) ortamında %83 oranında kallus gelişmesi de gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** İncir, ‘*Ficus carica* L.’ ‘Sarılop’, somatik embriyogenesis.





**ABSTRACT****SOMATIC EMBRYOGENESIS FROM LEAF SEGMENTS OF FIG  
(*Ficus carica* L. cv. ‘Sarilop’)**

Damla TURAN

M.Sc. Thesis, Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Gonca GÜNVER DALKILIÇ

2013, 41 pages

Somatic embryogenesis has a considerable potential of quick formation and genetic transformation studies of fig. In this study, multiple somatic embryo is targeted via direct and indirect somatic embryogenesis using leaf segments of “Sarilop” fig cultivar which has a good fresh and drying quality. The apical buds taken from “Sarilop” fig trees in November and March were proliferated in Murashige-Skoog (MS) nutrient medium, then developed leaves were used as explants. Callus (66.66%) were obtained on the leaves in spring K-2 combination (2 mg/L 2,4-D and 0.2 mg/L kinetin) of MS medium for indirect somatic embryogenesis, but somatic embryo growth was not acquired. For direct somatic embryo formation, leaf explants were cultivated in MS medium containing TDZ (Thidiazuron) and 2IP (*N*<sup>6</sup>-2-isopentenyladenine) combinations, and callus formation, explant augmentation, root formation and embryo formation were observed. In augmentation of leaf explants, the longest leaf length is measured as 3.09 cm on average in spring. The highest root formation ratio (42.76%) and the highest embryo formation ratio (20%) were obtained in spring regenerants of DE-4 (MS + 2 mg/L TDZ + 8 mg/L 2IP) combination. Somatic embryo per explant is 0.83. In DE-2 (MS + 2 mg/L TDZ + 4 mg/L 2IP) medium, 83% callus growth ratio was observed.

**Keywords:** Fig, *Ficus carica* L., ‘Sarilop’, somatic embryogenesis.



## ÖNSÖZ

İncir (*Ficus carica* L.) ülkemiz ve Aydın yöresi için, özellikle kurutmalık çeşitlerin ihracatı açısından ekonomik önemi yüksek meyve türlerinden birisidir. İncir yetiştiriciliğinde aşılama, çeliklerin köklendirilmesi ve daldırma gibi çeşitli vegetatif çoğaltım yöntemleri kullanılabildiği gibi bu yöntemlerin yanı sıra, daha seri, patojenlerden arı bir çoğaltım için farklı alternatifler söz konusudur. Bu nedenle klasik çoğaltım yöntemlerinin yanında doku kültürü ile çoğaltım önem kazanmaktadır. Bu çalışmada; iyi kalitede sofralık, çok iyi kalitede standart kurutmalık bir incir çeşidi olan ‘Sarılop’ çeşidinin yaprak segmentlerini kullanarak direkt ve indirekt somatik embriyogenesis yoluyla; somatik embriyo oluşumu için en uygun koşulların belirlenmesi hedeflenmiştir.

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesi, yürütülmesi ve yazım aşamasında yönlendirici katkılarıyla destek olan Danışman Hocam Prof. Dr. Gonca GÜNVER DALKILIÇ’a,

Tezimin laboratuvar çalışmaları ve yazımı süresince yardımlarıyla yanımda olan Araş. Gör. Burak Erdem ALGÜL’e,

Bitki materyali temininde Erbeyli İncir Araştırma İstasyonu Müdürlüğü’ne ve Ziraat Yük. Müh. Birgül ERTAN’a,

İstatistiki analiz safhasında yardımlarını ve tez çalışmam süresince manevi desteklerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ ve Dr. Gülsüm ALKAN’a,

Tezimi maddi olarak destekleyen Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı’na,

Tüm çalışmalarım süresince beni yalnız bırakmayan, maddi ve manevi destek olan CANIM AİLEME her zaman yanımda oldukları için çok teşekkür ederim.

Damla TURAN



## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI.....	v
ÖZET .....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ .....	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xix
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	9
2.1. İncirde Doku Kültürü İle İlgili Çalışmalar .....	9
2.2. Diğer Türlerle İlgili Somatik Embriyogenesis Çalışmaları.....	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM:.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.2. Yöntem.....	18
3.2.1. Eksplantların hazırlanması ve dezenfeksiyonu .....	18
3.2.2. Eksplant kaynağı <i>in vitro</i> sürgünlerin elde edilmesi.....	19
3.2.3. <i>In vitro</i> yaprak eksplantlarının hazırlanması.....	20
3.2.4. İncelenen özellikler.....	22
4. BULGULAR ve TARTIŞMA .....	23
4.1.İndirekt Somatik Embriyogenesis Çalışmaları .....	23
4.2.Direkt Somatik Embriyogenesis Çalışmaları.....	25
5. SONUÇ.....	33
KAYNAKLAR .....	35
ÖZGEÇMİŞ.....	41



**SİMGELER DİZİNİ**

BAP	Benzylaminopurin
BDM	Büyüme düzenleyici maddeleri
FAO	Food and Agriculture Organization
GA <sub>3</sub>	Giberellic acid
IBA	Indole-3-Butyric Acid
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar
MS	Murashige and Skoog
NAA	Naphtalene Asetic Acid
PG	Phloroglucinol
TDZ	Thidiazuron
2,4-D	2,4-dichlorophenoxyacetic acid
2-IP	N <sup>6</sup> - (2-isopentenyl) adenine





**ŞEKİLLER DİZİNİ**

- Şekil 4.1. Sürdürülmek üzere kültüre alınmış tepe tomurcukları (a) ile elde edilen yaprak eksplantları (b).....23
- Şekil 4.2 Yeni kültüre alınmış yaprak eksplantları (a) ile 2 eksplantlarda hafta sonrasında gerçekleşen boyca uzama (b).....25
- Şekil 4.3 Yaprak eksplantlarında kallus oluşumu (DE-1 ve DE-3) ve damar farklılaşması (DE-4).....27
- Şekil 4.4. Direkt somatik embriyo geliştirme ortamlarında (DE-4) 3.hafta kültürlerinde yaprak eksplantlarında kök gelişimi (aynı besinortamı içeren petriden farklı görüntüler).....29
- Şekil 4.5. Yaprak eksplantlarında oluşan embriyonik yapılar (aynı besin ortamı içeren petriden farklı görüntüler).....31



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünyada başlıca incir üreticisi ülkelerin yıllara göre üretim miktarları (Anonim, 2013a).....	3
Çizelge 1.2. Türkiye'nin bölgelere göre incir üretimi ve ağaç sayısı (2002-2011) (Anonim, 2012b).....	4
Çizelge 1.3 Türkiye'nin illere göre incir üretimi ve ağaç sayısı (2011 yılı) (Anonim, 2012b).....	5
Çizelge 3.1. MS temel besin ortamı içerikleri.....	20
Çizelge 3.2. Somatik embriyogenesis için hazırlanan MS ortamı kombinasyonları.....	21
Çizelge 4.1. Kallus oluşturma ortamlarında (K-1, K-2, K-3, K-4 ) farklı dönemlere göre kallus oluşturma ortalama değerleri (%) .....	24
Çizelge 4.2. Direkt embriyo geliştirme ortamlarında (DE-1, DE-2, DE-3, DE-4) farklı dönemlere göre yaprak eksplantında uzama miktarları (cm).....	26
Çizelge 4.3. Direkt embriyo geliştirme ortamlarında (DE-1, DE-2, DE-3, DE-4) farklı dönemlere göre kallus oluşturma ortalama değerleri (%).....	28
Çizelge 4.4. Direkt embriyogenesis geliştirme ortamlarına göre (DE-1, DE-2, DE-3, DE-4) kallus oluşturma (%), kök oluşturma (%) ve kök sayısı değerleri.....	30
Çizelge 4.5 DE-4 Direkt embriyogenesis geliştirme ortamı göre embriyo oluşturma (%) ve embriyo sayısı değerleri.....	32



## 1. GİRİŞ

İncir (*Ficus carica* L.) *Urticales* takımının *Moraceae* (Dutgiller) familyasından *Ficus* cinsine ait bir bitki türüdür.

İncirin anavatanı Anadolu'da Ege Bölgesi'dir. Subtropik ve ılıman iklim kuşağındaki ülkelerde yaygın olarak yetiştirilen meyve türlerindedir. İncir, Anadolu'dan Akdeniz havzasına, Suriye, Irak ve Arabistan'a, Güney Kafkasya ve Hazar Denizi'nin güneyine yayılmıştır. Türkiye'nin her yöresinde yaygın olmakla birlikte, Ege Bölgesi'nin Büyük ve Küçük Menderes havzalarındaki geniş bir alanda yoğun bir şekilde yetiştirilmektedir (Demiralay vd., 1998).

İncir varlığı yönünden Ege Bölgesi hatta yalnızca Aydın ve İzmir illeri ülkemizdeki incir ağaçlarının büyük çoğunluğunu (%70) bünyesinde barındırmaktadır. Bu bölgedeki plantasyonların çoğu üstün kuru meyve niteliklerine sahip 'Sarılöp' çeşidiyle kuruludur. Bölge, özellikle olgunlaşma ve güneşte yapılan kurutma dönemlerinde ekolojik koşulların elverişliliği nedeniyle kaliteli kuru incir elde etmeye uygundur. Bu havzalar dışında üretilen incirlerin tümü, yaş meyve olarak tüketilir (Özen vd., 2007).

Yaklaşık 800 kadar tür içinde ticari öneme sahip meyve veren tek bitki olan incir dioik bir tür olup, diğer meyve türlerinden farklı olarak çiçekleri meyve kılıfı (reseptakulum) içerisinde yer almaktadır. Bu nedenle meyve tutumu tozlayıcı (ilek) arıcılığı (*Blastophaga psenes* L.) ile gerçekleşmektedir. Erkek incirler, tüketimi genelde olmayan ancak dölleme gerektiren dişi çeşitle birlikte yetiştirilen çeşitlerdir. Hamza İlek, Mor Demirtaş, Ak İlek önemli dölleyici çeşitlerindedir (Özen vd., 2007).

Dişi incirler:

1- Kurutmalık incirler: Sarılöp, Sarı Zeybek, Bardacık, Halebi vb.

2- Taze (sofralık İncirler) grubu: Siyah Orak, Beyaz Orak, Yeşilgüz, Bursa Siyahı, Morgüz, Sultan Selim vb. şeklinde değerlendirilmiştir (Özen vd., 2007).

Türkiye, dünyanın en önemli taze incir üretici ülkesi olmasının verdiği bir avantajla, kuru incir üretiminde ve ihracatında da lider ülke konumundadır. Ülkemiz, dünya taze incir üretiminin % 23,5'ini ve kuru incir üretiminin de % 51,6'sını karşılamaktadır. Türkiye'de, 9,1 milyonu meyve veren yaşta olmak üzere, toplam 10,2 milyon adet incir ağacı bulunmaktadır. Bu ağaçlardan elde edilen taze incir miktarı yılda ortalama 230-270 bin ton arasında değişmekte ve bu miktarın yaklaşık % 15-20'si kuru incir olarak değerlendirilmektedir (Çalışkan, 2012).

Yüksek kalori değeri, mineral ve besin maddeleri içeriğiyle gıda maddeleri arasında özel bir yeri olan kuru incirin çok çeşitli tüketim alanları mevcuttur. Kuru incir uluslar arası pazarda çerezlik olarak tüketildiği gibi; pasta imalatında çeşitli yemeklerin yapımında, dilimlenmiş olarak ekmeğe, şekerli mamüller imalatında, meyve karışımlarında kullanılmaktadır. Kalitesi düşük olanlardan pekmez, hurda incirlerden de etil alkol üretilmektedir. Etil alkolün üretimi esnasında ortaya çıkan incir çekirdekleri de boya, kozmetik ve ilaç sanayinde değerlendirilmektedir. Türkiye'de ve dünyada kuru incir tüketiminde özellikle sağlıklı gıdalar pazarının hızlı gelişimine paralel olarak artan bir talep vardır. Yurt dışı pazarlarda Noel, yurtiçinde de Ramazan dönemlerinde kuru incir talebinde belirgin artışlar görülmektedir (Özden, 2008).

Dünyada başlıca incir üreticisi ülkeler ile yıllara göre üretim miktarları (ton) dikkate alındığında; Türkiye, Mısır, Cezayir, İran, Fas, ABD, Tunus ve İspanya'nın en önemli üretici ülkeler olduğu görülmektedir. Son yıllarda düşüş eğilimindeki miktarlara rağmen, FAO'nun 2011 yılı üretim miktarları rakamlarına göre, Türkiye Dünya incir üretiminin yaklaşık 260.000 tonunu karşılayarak ilk sırada yer almıştır (Çizelge 1.1). Bu üretimi yaklaşık 190.000 ton ile Mısır takip ederken, yaklaşık 100.000 ton ile Cezayir üçüncü sırada yer almaktadır.

Çizelge 1.1. Dünyada başlıca incir üreticisi ülkelerin yıllara göre üretim miktarları (ton) (Anonim, 2013a).

ÜLKELER	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Türkiye	285.000	290.151	270.830	244.351	254.830	260.578
Mısır	170.000	170.000	170.000	268.682	184.972	165.483
Cezayir	69.799	91.927	70.000	83.801	123.760	150.000
İran	87.522	87.520	88.000	76.414	75.414	75.927
Fas	82.600	77.000	77.000	70.000	74.301	74.371
Suriye	49.800	49.800	51.000	53.724	40.966	42.944
ABD	46.176	46.176	38.500	39.689	37.113	35.072
Tunus	25.000	25.000	22.000	24400	30260	28993
İspanya	35.295	37.000	38.000	28.000	26.000	26.000
<b>TOPLAM (dünya)</b>	<b>1.057.290</b>	<b>1.068.505</b>	<b>1.062.473</b>	<b>1.145.508</b>	<b>1.081.482</b>	<b>1.091.813</b>

Türkiye incir üretimi bölgelere göre değerlendirildiğinde, TÜİK'in 2011 yılı verilerine göre, Ege Bölgesi meyve veren ve vermeyen yaşta olmak üzere toplam 8.234.417 ağaç sayısı, 195.235 ton üretim ile toplam üretimin % 75'ini tek başına karşılamaktadır. Bu bölgeyi 22.074 ve 17.496 ton ile sırasıyla, Akdeniz ve Doğu Marmara bölgeleri takip etmektedir (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2. Türkiye'nin bölgelere göre incir üretimi ve ağaç sayısı (Anonim, 2013b).

Bölgeler	Meyve Veren Ağaç Sayısı (Adet)	Meyve Vermeyen Ağaç Sayısı (Adet)	Toplam Ağaç Sayısı	Verim ortalaması (kg/ağaç)	Üretim (ton)	Oranı (%)
Ege	7.535.915	689.502	8.234.417	26	195.235	74.94
Akdeniz	603.132	75.598	678.730	37	22.074	8.47
Doğu Marmara	346.769	67.561	414.330	50	17.496	6.72
Güneydoğu Anadolu	272.295	28.380	334.263	29	7.863	3.02
Batı Marmara	178.124	28.380	206.504	34	5.986	2.30
Batı Karadeniz	192.212	29.061	221.273	29	5.669	2.18
Doğu Karadeniz	206.609	17.053	223.662	23	4.679	1.80
Ortadoğu Anadolu	30.204	3.710	33.914	24	719	0.28
Batı Anadolu	16.340	1.060	17.400	38	620	0.24
İstanbul	6.150	900	7.050	20	124	0.05
Kuzeydoğu Anadolu	3.310	530	3.840	13	43	0.02
TOPLAM	9.391.060	984.323	10.375.383	28	260.508	100

Ülkemizde önemli incir üreticisi iller incelendiğinde ise Ege Bölgesi'nde yer alan Aydın ili 168.351 ton ile toplam incir üretiminin % 65'ni karşılarken, bunu 22.534 ton ile İzmir ili izlemektedir (Çizelge 1.3).



Çizelge 1.3. Türkiye'nin illere göre incir üretimi ve ağaç sayısı (2011 yılı)  
(Anonim, 2013b).

İller	Meyve veren ağaç sayısı	Meyve vermeyen ağaç sayısı	Toplam	Ortalama verim (kg/ağaç)	Üretim (ton)	Oran (%)
Aydın	5.983.745	613.461	6.597.206	28	168.351	64.62
İzmir	1.378.060	57.945	1.436.005	16	22.534	8.65
Bursa	281.310	64.780	346.090	56	15.886	6.10
Mersin	114.810	40.450	155.260	61	6.971	2.68
Hatay	217.510	2.385	219.895	29	6.336	2.43
Antalya	124.290	12.265	136.555	35	4.332	1.66
Balıkesir	117.757	15.845	133.602	36	4.268	1.64
Gaziantep	82.795	25.345	108.140	46	3.799	1.46
Samsun	70.635	13.255	83.890	39	2.728	1.05
Adana	66.953	13.432	80.385	32	2.117	0.81

İncir, genellikle çelikle çoğaltılan bir meyve türüdür. İncirin, daldırma veya dip sürgünleriyle çoğaltılması mümkündür. Ancak, bu yöntemlerle çoğaltılan ağaçlar, fazla dip sürgünü verme eğiliminde olduklarından ve bu dip sürgünlerini temizleme sorunu ek bir iş gücü gerektirdiğinden, pek tercih edilmemektedir. İncirin tohumla çoğaltılması ise oldukça güç ve zaman alıcı bir yöntemdir. Bu yöntem daha çok ıslah çalışmalarında yeni çeşit elde edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Dolayısıyla incirin en kolay ve en kısa sürede çoğaltılması, çelikle çoğaltma şeklinde olmaktadır (Özbek, 1978; Küden vd.,1993). Bununla birlikte, incirlerin çelikle çoğaltılmasında da bazı güçlüklerle karşılaşılabilen ve çoğaltmadaki başarı, birçok faktöre bağlı olarak farklılıklar gösterebilmektedir. Ancak; *in vitro* teknikler, daha kısa sürede bitki üretimine materyal teminiyle, başarılı ticari bahçelerin kurulmasına olanak sağlar. Bu teknik sayesinde hızlı ve büyük ölçekli bitki üretimi gerçekleştirilebilir.

Biyoteknoloji kavramı içerisinde ele alınan *in vitro* teknikler, bitkilerde çoğaltım ve ıslah başta olmak üzere birçok konuda klasik yöntemlerle çözümü güç ya da olanaksız olan sorunlara karşı bazen tek başına ve bazen de klasik yöntemler ile

birlikte kullanılan tekniklerdir. Bu teknikler ile bitki genotipleri kontrollü koşullarda yoğun ve çok hızlı bir şekilde klonal olarak çoğaltılabilmekte, virüslerden arındırılabilen, gen kaynakları dar alanlarda uzun süreli muhafaza edilebilmekte, somatik embriyolar, homozigot hatlar, taksonomik sınırlama olmaksızın farklı genetik kombinasyonlar elde edilebilmektedir. Ayrıca yaşama şansı düşük olan ya da bulunmayan zigotik embriyoların gelişimi ve çimlenmesi sağlanabilmekte, sekonder metabolitler üretilebilmekte, somaklonal varyasyonlar ve mutasyonlar ile genetik varyasyonlar yaratılabilmekte, stres koşullarına karşı genotiplerin dirençleri test edilebilmekte ve temel fizyolojik-biyolojik olayların seyri kontrollü olarak izlenebilmektedir (Sezgin ve Dumanoglu, 2009).

Son yıllarda Dünya’da *in vitro* doku kültürü teknikleri alanında yaşanan gelişmeler, ticari öneme sahip birçok süs bitkisi, tıbbi bitki ve meyve türlerinin mikroçoğaltımına olanak sağlamıştır. Doku kültürü ile üretim dünyanın birçok ülkesinde yapılmakta ve yılda yaklaşık olarak 600 milyon bitki üretimi gerçekleştirilmektedir (Altman ve Loberant, 2000).

*In vitro* vegetatif üretimin başlangıç aşamasında, eksplant alınacak bitkilerin seçilerek, bakımlarının gerçekleştirilmesi gereklidir. İyi gelişen, sağlıklı bitkilerle kültüre başlanması, başarı şansını arttırarak, temiz kültür elde edilmesini kolaylaştırmaktadır. Daha sonraki aşamada, meristem, tomurcuk veya sürgün ucu gibi eksplantların steril olarak izolasyonu gerçekleştirilir. Bir sonraki aşama ise, eksplantın rejenerasyon kabiliyetini kaybetmeden çoğaltılmanın gerçekleştiği sürdürme aşamasıdır (Hepaksoy, 2004).

*In vitro* çoğaltım yöntemlerinden biri olan somatik embriyogenesis, haploid ya da diploid yapıdaki somatik hücre ve dokulardan belirli embriyogenik aşamalar sonucunda embriyo oluşumunun sağlanmasıdır. Birçok bitki türünün hızlı ve klonal şekilde çoğaltılmasında büyük önem taşıyan bu teknik sayesinde tek bir eksplanttan sınırsız sayıda embriyo üretebilir. Anaç bitkiden alınan kısıtlı materyalle hazırlanan hücre süspansiyon teknikleri ile az işçilikle çok kısa sürede çok sayıda iyi gelişmiş embriyo elde etmek mümkündür. Bu sayede tohumla üretilen bitkilerin çoğaltımı için rekabet ortamı da yaratılmış olur (William ve Maheswaran, 1986).

Somatik embriyo gelişimi çeşitli faktörlere dayalı olarak iki farklı şekilde gerçekleşir. Ara bir kallus safhası olmadan eksplant doku üzerindeki tek bir hücre veya hücre gruplarından gelişim sağlanırsa buna direkt embriyogenesis adı verilir. Olgunlaşmamış somatik embriyolar bu yöntemde en fazla kullanılan eksplantlardır. Genellikle tozlanmadan 14-15 gün sonra izole edilen zigotik embriyolarda en yüksek oranda direkt somatik embriyoni gözlenmektedir. Eğer eksplant yüksek oranda oksin içeren besin ortamında kültüre alınırsa önce embriyonik kallus oluşumu gözlenir. Daha sonra bu kallus üzerinde pro-embriyolar oluşur. Bu kallus, oksin içermeyen ortama aktarıldığında bipolar (kök ve sürgün ucu meristemleri aynı anda gelişen sürgün eksenli) embriyolar gelişir ve bitkicikler elde edilir ve indirekt embriyogenesis gerçekleştirilmiş olur. Pro-embriyolar tek bir hücreden gelişebildiği gibi hücre gruplarından da gelişebilir (Pasqual ve Ferreira, 2007).

Somatik embriyoların en büyük avantajı, döllenme sonucunda gerçekleşen genetik açılmaların bu yöntemde olmamasıdır. Somatik hücrelerden geliştikleri için, eksplantın alındığı bitkinin genotipini muhafaza ederek klon oluştururlar. Klon olarak çoğaltım homojenite sağlaması nedeniyle ticari olarak da tercih edilmektedir. Bu yöntemin kullanıldığı bir başka alan da senetik tohum üretimidir. Bu yöntemle elde edilen ürün bir embriyodur ve tohum içerisinde bulunan embriyonun benzeridir. Başka bir deyişle tam bir bitki oluşturabilme kapasitesindedir. Bu nedenle, embriyolar kaplanarak sentetik tohum şeklinde de değerlendirilebilir. Zigotik embriyolardaki genetik açılmalar, somatik embriyolardan elde edilen sentetik tohumlarda görülmediğinden klonal çoğaltıma olanak sağlar. Somatik embriyo ile zigotik embriyo arasındaki en önemli fark, somatik embriyoların çimlenme sırasında besin kaynağı olarak kullanabileceği endosperm, depo kotiledonları ve tohum kabuğuna sahip olmamasıdır (Özcan vd., 2001).

Bitki biyoteknolojisinde kullanılan bir başka yöntem olan ve somatik embriyogenesisin de bir parçası olan kallus kültürü; *in vitro* çoğaltma, hücre bölünmeleri sonrasında ortaya çıkan somaklonal varyasyonlardan yararlanma, sekonder metabolitlerin elde edilmesi ve hücre kültürlerinin oluşturulması gibi amaçlarla kullanılmaktadır (William ve Maheswaran, 1986).

Biyoteknolojik yöntemlerin kullanımının giderek yaygınlaştığı bu dönemde yürütülen çalışmada, iyi kalitede sofralık, çok iyi kalitede standart kurutmalık bir incir çeşidi olan ‘Sarılop’ çeşidinin yaprak segmentleri kullanılarak, kısa zamanda büyük ölçekli ve klonal bir üretime olanak sağlayan direkt ve indirekt somatik embriyogenesis için en uygun koşulların belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. İncirde Doku Kültürü İle İlgili Yapılmış Çalışmalar

İncir (*Ficus carica* L.) çeşitlerinde doku kültürüyle üretim üzerine yapılan araştırmalarda, çoğunlukla meristem kültürü (Günver ve Ertan, 1998, Demiralay vd., 1998, Hepaksoy ve Aksoy, 2008) olmak üzere; sürgün çoğaltımı (Saiju vd.,1995; Özalp 1998, Kumar vd., 1998), enzim üretiminde kalus kültürü kullanımı (Nassar ve Newbury, 1987), uygulanan kültür koşulları ve kullanılan besin ortamlarının tip ve konsantrasyonu gibi faktörlerin etkilerinin incelendiği (Corrales vd.,1998; Mustafa ve Rania, 2012) çalışmalarla birlikte, gelişen teknolojik imkanlar dahilinde yaprak eksplantlarının kullanıldığı (Yakushiji vd., 2003; Soliman vd., 2010; Dhage vd., 2012) klonal üretime ve genetik aktarıma yönelik birçok araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalar kısaca özetlenmiştir.

Yetişkin incir (*Ficus carica* L.) ağaçlarından alınan sürgünlerde yapılan bir çalışmada, sürgün uçları %0.1'lik merkürük klorid solüsyonunda beş dakika sterilize edildikten sonra distile suyla yıkanmıştır. Hazırlanan eksplantlar 0.01mg/L naftalen asetik asit (NAA) ve %10'luk hindistan cevizi sütü içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. İnkübasyon işlemi, 25°C'de ve florasan tüplerle sağlanmış üç kilo lükslük ışıkta günde 16 saat yapılmıştır. Eksplantlar aynı ortamda 6 hafta daha tutulmuştur. Her 8 haftadan sonra eksplantlar 0.5 mg/L 6-benzil aminopurine (BAP) ve % 10'luk hindistan cevizi sütü içeren MS ortamında alt kültüre alınmıştır. Gelişen mikro sürgünler aklimatizasyon için köklendirmeden önce 2 hafta oda sıcaklığında tutulmuştur. Köklendirme işlemi sterilize edilmemiş kumda gerçekleştirilmiştir. Kumun %10'u suyla ıslatılarak 10 kutuya eşit miktarda konulmuştur. Mikro sürgünler 2.5-3 cm uzunluğunda kesilerek, 5 dakika 1 mg/L NAA solüsyonuna batırılmıştır. Kuma dikim işlemi yapılan sürgünler, politenle kaplanmıştır. Kutu; 30°C sıcaklık, %80 nem ve 825 kilo lüks güneş ışığı yoğunluğunda tutulmuştur. Köklenme 3 haftalık periyotta gerçekleşmiştir. Sürgünler, sağlıklı kök gelişimi amacıyla 2 hafta daha aynı kutuda bırakılmıştır. Bu şekilde incirin mikro üretimi ile başlayan çalışma, arazi dikimine hazır hale gelmesiyle son bulmuştur (Saiju vd.,1995).

Türkiye'de en önemli sofralık incir (*Ficus carica* L.) çeşitlerinden biri olan 'Bursa Siyahı' üzerine yapılan bir çalışmada, meristem kültürü yoluyla üretim imkanları araştırılmıştır. Meristemlerin; genetik stabilite göstermesi ve virüsten ari üretime

imkan vermesi gibi avantajları olduğunu belirten araştışıcılar; 10 yaşlı ağaçlardan izole edilen meristem uçlarını, 7 g/L agar, 30g/L sükroz, 100 mg/L myoinositol, 1.5 mg/L thiamine, 2 g/L pridoksin, 0.5 mg/L nikotinik asit ve 2 mg/L glisin içeren MS ortamında 1hafta boyunca oksidasyondan kaçınma amacıyla karanlıkta tutmuşlardır. Ortama 1 mg/L IBA ve 1mg/L NAA ilave edilerek ph 5.8'e ayarlanmıştır. 6 haftalık kültürden sonra ortama 3 mg/L GA eklenmiştir. Meristem gelişmesi olmasına rağmen sürgünlerde biri hariç gelişme olmamıştır (Günver ve Ertan, 1998).

zalp (1998), 'Sarılöp' incir çeşidi üzerinde yaptığı bir çalışmada *in vitro* koşullarda meristem ve sürgün ucu kültürü yöntemleri ile yetiştirilme olanaklarının ve yetişen bitkilerin dış koşullara adaptasyonunu ele almıştır. *In vitro*'da sürgün ucu ve meristem kültürleri ile yeterli materyal sağlanıp boğum kültürü ile çoğaltıldıktan sonra dört farklı köklendirme ortamında köklenme durumları incelenmiştir. Yetiştirme ortamı olarak Murashige-Skoog (MS) besin ortamı kullanılmıştır. Daha sonra köklü bitkicikler dış koşullara alişmaları için %100 Torf, %100 perlit, (1:1) oranında torf+perlit ve (1:1:1) oranında torf+perlit+bahçe toprağı karışımlarına dikilmiştir. Son olarak toprağa geçirilmiştir. Araştırma bulgularına göre, sürgün ucu kültürünün meristem kültürüne oranla daha avantajlı olduğu ve en iyi sonucun Haziran ayı dikimlerinden alındığı saptanmıştır. Ayrıca başlangıçta katı ve sıvı ortam birlikte denenirken daha sonra katı ortam enfeksiyonla mücadeledeki dezavantajı ve fazla kallus oluşturması nedeniyle bırakılmış; tamamen sıvı ortama geçilmiştir. Köklendirme aşamasında C ortamında (1/2 MS+1 ppm IBA) en fazla kök oluşmuş, A ortamında (MS + 1 ppm IBA) ise en uzun kökler elde edilmiştir.

'Bursa Siyahı' incir çeşidinin kullanıldığı bir başka çalışmada, gelişme dönemindeki bitki sürgünlerinden meristem izole edilmiştir. Linsmair- Skoog besin ortamında kültüre alınan meristemlerde sürgün verme, çoğalma ve köklenme safhaları incelenmiştir. En iyi gelişmenin gözlendiği besin ortamı, 4.43 bitkicik/bitki oranıyla 1.0 mg/L BAP içeren olurken, bunu 3.52 oranıyla 0.5 mg/L BAP içeren ortam izlemiştir (Demiralay vd., 1998).

Mozaik virüsü belirtileri gösteren 'Urdana', 'Napolitana', 'Tiberio' ve 'Villalba' incir çeşitlerine ait tepe tomurcukları MP katı besin ortamında (Pontikis ve Melas, 1986) kültüre alınmış; bir alternatif olarak eksplantlar, yüksek sıcaklık rejiminde 37°C'de 16 saat işıkta (5.000 lüks) ve 34°C'de 8 saat karanlık koşullar altında

tutulmuştur. *In vitro* koşullarda gerçekleşen bu üretimden sonra saksıya alınan ve serada yetiştirilen bitkilerde incir mozaik virüsüne dair belirtiyeye rastlanmamıştır. (Corrales vd.,1998).

Çoklu sürgün indüksiyonu ve genç bitki eldesinin hedeflendiği bir başka çalışmada Kumar vd. (1998), 2.0 mg/L BAP ve 0.2 mg/L NAA ile hazırlanmış Murashige Skoog (MS) besin ortamında 7 ve 8 yaşlı bitkilerden alınan tepe tomurcuklarını kullanmışlardır. Bu kombinasyonları içeren her alt kültürden % 90lık başarı sağlanmıştır. Alınan sürgünler 2.0mg/L IAA ve % 0.2 aktif karbon ilave edilmiş yarı konsantre MS ortamında köklendirilmiştir. Gelişen bitkiciklerin %68 başarıyla toprağa dikimi gerçekleşmiştir. Sadece %20-30 oranında zayıf köklenme gözlemlenmiştir.

Portekiz incir çeşitleri olan 'Berbera' (kuru incir) ve 'Lampa' (yaş incir) üzerine yapılan *in vitro* çalışmaya, yetişkin bitkilerde karşılaşılan kontaminasyon ve fenolik salgı çıkışı sorunlarına karşı önlem prosedürler geliştirilerek başlanmıştır. Bu aşamadan sonra yetişkin ağaçlardan (50-60 yaşlı) alınan tepe tomurcukları % 0.05 PVP içeren Muriithi besin ortamında kültüre alınmıştır. En yüksek çoklu üretim miktarı 5.3 adet sürgün olurken; eksplantlar 2.2µM BA içeren MP (Pontikis ve Melas, 1986) besin ortamında alt kültüre alınmıştır. En iyi köklenme (%96.9) ise 2.5 µM IBA içeren besin ortamında gerçekleşmiştir (Nobre ve Romano, 1998).

Bir diğer çalışmada, 01 İN 06 tipi ile 'Bursa Siyahı' incir çeşidinin virüsten arındırılarak çoğaltılması için meristem kültürü ve termoterapi uygulamaları yapılmıştır. Sonbaharda alınan sürgün uçlarından izole edilen meristemler 0.2-0.5 mg/L BA, 0.1-0.2 mg/L GA<sub>3</sub>, 0.1 mg/L IBA konsantrasyonları ile 2 mg/L aktif karbon içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Daha sonra *in vitro* koşullarda gelişen meristemler 1.0-2.0 mg/L IBA, 0.1-0.2 mg/L GA<sub>3</sub> ve 0.1 mg/L IBA konsantrasyonları ile 2mg/L aktif karbon içeren MS ortamına transfer edilmişlerdir. Köklenmeyi teşvik etmek amacıyla, sürgünler 0- 1.0 - 2.0 mg/L IBA, 0.1 mg/L GA<sub>3</sub>, 0.5 mg/L kinetin ve 2 mg/L aktif karbon içeren ortamlar ile büyüme düzenleyici içermeyen kontrol ortamına aktarılmışlardır. İki çeşidin karşılaştırıldığı çalışmada, sürgün oluşturan meristem oranı Bursa Siyahı çeşidinde %63.1, 01 İN 06 tipinde %59.2, köklenme oranı Bursa siyahı çeşidinde %55.6, 01 İN 06 tipinde %53.7 ve bitki başına düşen kök sayısı Bursa Siyahı çeşidinde 4.6 kök/bitki, 01 İN 06 tipinde 2.6 kök/bitki olarak bildirilmiştir (Çömlekçioğlu, 2003)

İncir'in (*Ficus carica* L.) 'Masui Dauphine' çeşidi üzerinde yapılan çalışmada, sürgünlerinden geliştirilen yaprak segmentleri, 2,4-D, TDZ ilave edilmiş farklı MS ortamlarında inoküle edilmiştir. 2,4-D ilavesi eksplantta kök oluşumuna neden olurken, phloroglusinol varlığı kök gelişimini önemli ölçüde arttırmıştır. 2, 4-D ve TDZ hormonlarının bir kombinasyonu phloroglusinol içeren MS besin ortamına aktarıldığında kenarlarda adventif sürgün oluşmaya başlamıştır. Ortama phloroglusinol ilavesi adventif sürgün gelişimini artırarak teşvik edici bir etken olmuştur. Gelişen sürgünler hormonsuz ve 1.0 mg/L IBA içeren MS besin ortamında başarılı bir şekilde köklendirilmiştir. Bitkicikler aklimatizasyondan kısa bir süre sonra toprağa aktarılmıştır (Yakushiji vd., 2003).

*Ficus carica* L.'ya ait 'Roxa de Valinhos' çeşidi üzerinde yapılan çalışmada; arazide yetiştirilmiş ağaçlardan alınan iki göz içeren sürgün eksplantları, farklı konsantrasyonlarda BA (benzyladenine), GA<sub>3</sub> (giberellik asit), kinetin ve aktif karbon içeren farklı WPM (Woody besin ortamı) ortamlarına transfer edilmiştir. 0.5 mg/L kinetin içeren WPM sürgün gelişimi açısından en iyi ortam olmuştur. Besin ortamına eklenen aktif karbon sürgün çoğalmasını tamamen durdurmuştur (Fraguas vd., 2004).

'Sarılop' çeşidine ait 3 farklı incir (*Ficus Carica* L.) klonunun seçildiği doku kültürü yoluyla gelişim için en uygun besin ortamının bulunmasına yönelik bir çalışmada; klon 37, klon 50 ve klon 82'ye göre daha iyi gelişme göstermiştir. En fazla gelişim 1 mg/L IBA, 1 mg/L GA<sub>3</sub> ve 5mg/L BA içeren MS ortamında gözlenmiştir (Hepaksoy ve Aksoy, 2006).

İncir (*Ficus carica* L.) türüne ait cv. 'Roxo de Valinhos' çeşidinde yapılan bir çalışmada 0.0, 1.0, 2.0, 4.0 ve 8.0 mg/L gibberellik asit (GA<sub>3</sub>) konsantrasyonlarının etkileri incelenmiştir. Deneme deseni 5x5lik 4 tekerrürden oluşmaktadır. 27 ±1°C, 35 µmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> ışıklandırma ve 16 saat fotoperiyot koşulları altında geçen 90 gün sonunda bitkicikler değerlendirmeye alınmıştır. 2 mg/L NAA ve 8 mg/L GA<sub>3</sub> birlikte kök uzunluğu ve kök kuru madde ağırlığı üzerinde pozitif etkilerde bulunmuştur. Köklenmenin öncelikli olduğu bu protokol oldukça faydalı olmuştur. Ancak, en iyi sürgün gelişiminin 8 mg/L GA<sub>3</sub> içerirken, NAA içermeyen ortamda gerçekleştiği bildirilmiştir (Ferreira vd., 2007).



Kim vd. (2007) yürüttükleri araştırmada incir (*Ficus carica* L.) yaprak parçalarından sürgün çoğaltımı ve bitki rejenerasyonu üzerine çalışmıştır. Yaralanmış yaprak eksplantları, TDZ eklenmiş MS besin ortamında kültüre alındığında; IBA ile kombine edilmiş ortamda, oksin ve sitokinin eklenmişlere nazaran daha fazla sürgün verdiği saptanmıştır. Örneğin, 2 mg/L IBA'nın, 0.5 veya 1.0 mg/L TDZ ile kullanılması sonucu eksplant başına sırasıyla 8.1 ya da 10.8 çoklu sürgün elde edilmiştir. Dokular, ışıklı ortama transfer edilmeden önce bir hafta süre ile karanlık altına alındıklarında daha iyi sürgün vermişlerdir. Yeni gelişen sürgünler, en iyi tam MS besin ortamında köklenmiştir. *In vitro*'da yeni gelişen bitkicikler başarıyla sera koşullarına transfer edilmiştir.

Soliman vd. (2010), yaptıkları çalışmada *Ficus indica* alt varyetesi olan 'Sultani' çeşidinde 7-8 yaşlı ağaçlardan aldıkları sürgünlerden meydana gelen yaprak eksplantlarından direkt ve indirekt somatik embriyogenesis yoluyla bitkicik elde etmişler ve bu bitkicikleri gen transferi için bitki materyali olarak kullanmışlardır. Yaprak segmentleri üzerinden kallus oluşumunu BA ve NAA ile 2,4-D ve kinetin farklı kombinasyonlarını içeren ortamlarda incelemişlerdir. Sonuçlara göre en iyi kallus oluşumu 2.0 mg/L 2,4-D ve 0,2 mg/L kinetin ile kombine edilen besin ortamında elde edilmiştir (%83 ve %79'luk rejenerasyon). Diğer yandan kallustan organogenesis oluşumu için BA ve kinetin farklı dozlarının kullanıldığı ortamlarda gözlemler yapılmıştır. En fazla sürgün oluşumu %89 ile 2 mg/L TDZ ve 4mg/L 2İP kullanılan besin ortamında gerçekleşmiştir. En yüksek köklenme yüzdesi %95 ile 1.0 mg/L IBA ilave edilmiş MS besin ortamında olmuştur.

Brown Turkey, Conadria, Deanna ve Poona Fig isimli dört farklı incir çeşidinin *in vitro*'da geliştirilmiş sürgünlerinden elde edilen yaprak eksplantlarında bitki rejenerasyonu üzerine çalışılmıştır. En iyi kallus 2.0 mg/L TDZ (thidiazuron) ve 4.0 mg/L 2İP (2-izo-pentenyl adenine) ilave edilen MS ortamında elde edilmiştir. 'Brown Turkey' çeşitler arasında %85.8 kallus geliştirme oranıyla en yüksek cevabı verirken, aynı ortamda sürgün de vermiştir. En erken kallus oluşumu 2.0 mg/L TDZ ve 2.0 mg/L IBA(Indole-3- butyric acid) ilave edilmiş MS ortamında görülmüştür. Kallustan sürgün eldesi 0.5 mg/l  $\alpha$ -naphthalene asetic asit (NAA) ve 7.0 mg/L TDZ içeren MS ortamında gerçekleşmiştir. Sürgünler, 1.0 mg/L IBA ve 2 g/L aktif karbon içeren yarı konsantrasyonlu MS ortamına transfer edilerek köklenme sağlanmıştır (Dhage vd., 2012).

İncir (*Ficus carica* L.)’de yapılan çalışmada, sürgün ucu ve termoterapi yöntemleri ile sağlıklı ‘Sarılop’ ve ‘Bursa siyahı’ incir materyalleri elde edilmiştir. Hızlı ve güvenilir bir yöntem olan RT-PCR ile *in vitro* koşullarda elde edilen ‘Sarılop’ ve ‘Bursa Siyahı’ incir fidanlarının FMV ve FMaV-1 viral etmenleri yönünden temiz oldukları belirlenmiştir. Başlangıç kültüründe *Ficus carica* L.’ye ait sürgünlerden alınan 0.5- 1.0 mm uzunluğundaki meristemler, IBA, NAA, BA, ve GA ile zenginleştirilmiş MS ortamında kültüre alınmışlar ve sürgün gelişimleri gerçekleştirilmiştir (Edremit vd., 2013).

İncirde yeni sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, yaş ağırlık ve kuru ağırlık üzerine etkili bir *in vitro* üretim geliştirilmesi amacıyla, farklı konsantrasyonlardaki karbon kaynakları, tuzluluk ve katılaştırıcı madde oranlarını içeren üç farklı deneme kurulmuştur. Sonuçlar, 3 farklı karbon kaynağının yeni sürgün oluşum sayısı ve uzunlukları üzerine önemli bir farklılık yaratmadığını göstermiştir. Ancak, yaş ve kuru ağırlıklara göre farklılık vardır. Diğer bir taraftan, tuz konsantrasyonunun artırılması sürgün sayısını ve uzunluklarını azaltmıştır. Üç katılaştırıcı maddenin kullanıldığı ortamlarla karşılaştırıldığında sıvı kültürün daha çok sürgün ürettiği belirtilmiştir. Fakat, kullanılan katılaştırıcıların konsantrasyonları arasında önemli farklılıklar vardır (Qrunfleh vd., 2013).

## 2.2. Somatik Embriyogenesis İle İlgili Çalışmalar

Uzun yıllar birçok araştırmacının ilgisini çeken somatik embriyogenesis çalışmaları; odunsu ve otsu birçok bitki çeşidinin; yaprak (Soliman vd., 2010), gövde, hipokotil (Aboshama, 2011), olgunlaşmamış zigotik embriyo (Vieitez vd., 1990) gibi eksplantları üzerinde klonal rejenerasyon, genetik aktarım, sentetik tohum eldesi gibi amaçlarla yürütülmüştür. İlk kez havuç (*Daucus carota*) bitkisinde başlayan çalışmalar günümüzde de gelişerek devam etmektedir (Özcan vd., 2001).

Havuç süspansiyon kültürlerinde, embriyoların globulardan torpedo safhasına geçişindeki gelişimlerinde besin ortamı değişiminin etkileri incelenmiştir. Ortamın, yüksek embriyo yoğunluğunda kısmi değişimi, tamamen veya hiç değişmemesinden daha etkili olmuştur. Yüksek embriyo yoğunluğunda (500 globular embriyo/ml) somatik embriyogenesis frekansı (globulardan torpedo safhasına geçişteki embriyo gelişimi); ortam değişimi %36.8 iken kısmi ortam değişiminde oran %53.1’e yükselmiştir. Kısmi besin ortamı ortam değişikliğinin

somatik embriyoların toplu üretimi için yararlı basit bir metot olduğu kanıtlanmıştır (Osuga vd., 1997).

Onay (1998)'ın yaptığı çalışmada, 100 mg/L hidrolize-kazein, 100 mg/L askorbik asit ve benzilaminopurin ile desteklenen sıvı Murashige ve Skoog (MS) besi ortamında kültüre alınan *Pistacia atlantica*'nın tohumlarından embriyogenik doku rejenere edilmiştir. Embriyogenik dokular sıvı besi ortamında benzilaminopurin (0.5-4 mg/L) ile kültüre alındıktan 3 hafta sonra tohum eksplantlarından direkt olarak farklılaşmışlardır. Rejenere olan dokular benzilaminopurin ile aynı besi ortamında birkaç kez alt kültürü yapıldıktan sonra somatik embriyolar üretilmiştir. Olgunlaşmamış somatik embriyo grupları olgunlaşma için agarla katılaştırılmış MS besi ortamına transfer edilmiştir. Olgunlaşmış somatik embriyolar bitki büyüme düzenleyicisi olmayan besi ortamında çimlendirilerek fideler elde edilmiştir.

Tropik kuşak meyvesi olan mango (*Mangifera indica* L.)'nun 'Amrapali' çeşidinde yürütülen bir çalışmada, somatik embriyo oluşumu için nusellar dokuları kaynak olarak kullanmışlardır. Somatik embriyo gelişiminin; giberellik asit ve BAP eklenip, sükroz konsantrasyonunun azaltılmasıyla artış gösterdiği gözlemlenmiştir (Laxmi vd. 1999).

Amerikan kestanesinde (*C. dentata* (Marsh.) Borkh.) ovul ve olgunlaşmamış embriyoları kullanarak somatik embriyogenesis gerçekleştirilen farklı bir çalışmada 0.25 mg/L BA + 6 mg/L NAA ya da 4 mg/L 2,4-D ilave edilmiş WPM temel besin ortamı kullanılmıştır. Bu ortamda 1 veya 2 hafta inkübasyondan sonra 0.25 mg/L BA içeren ya da içermeyen ortama eksplantlar transfer edilmiştir. Ayrıca eksplantların bir kısmı başlangıç ortamında alt kültüre alınmıştır. Çiçeklenmeden 6-7 hafta sonra kültüre alınan ovuller, 1-2 hafta bitki büyüme düzenleyici maddesi içeren ortamda tutulduktan sonra oksinsiz ortama alındığında radikula direkt somatik embriyogenesis meydana geldiği belirtilmiştir (Merkle vd., 1991).

Bir başka çalışmada, farklı kestane hibritlerinin (*C. sativa* x *C. crenata*) olgun ve olgunlaşmamış zigotik embriyoları kültüre alınarak somatik embriyo üretimi gerçekleştirilmiştir. Sonuçta; 0.5-1 mg/L 2,4-D, 1 mg/L zeatin, 0.1 mg/L 2,4-D ve 1-2 mg/L BA içeren ya da BA içermeyen MS temel besin ortamında embriyogenik kallus düşük oranda (%6-8) elde edilmiş ve embriyonik kalluslar

2,4-D içermeyen MS ortamına transfer edilmiştir. Çalışmada globular ve kalp şekilli somatik embriyolar elde edilmiş, bu embriyolar WPM ortamında olgunlaştırılmış, ancak çimlenme olmamıştır (Vieitez vd., 1990).

*Citrus macroptera*' da yapılan bir çalışmada, olgunlaşmamış meyvelerinin gelişmemiş ovullarından alınan nusellusta kallus kültürüyle somatik embriyogeni ve bitkicik elde etmişlerdir. Hazırlanan dört farklı modifiye MS ortamında yürütülen çalışmada en iyi sonuç malt eklenmiş ortamda gözlemlenmiştir. Yine aynı ortamda doğal olarak oluşan embriyogenik kallus hormonsuz MS ortamına aktarılarak somatik embriyo gelişimi sağlanmıştır. Aynı ortamın alt kültürlerinden gelişen somatik embriyolar beş hafta sonunda toprak ve çiftlik gübresiyle karıştırılmış ortama taşınarak bitkicikler halini almışlar ve gelişmelerine devam etmişlerdir (Miah vd., 2002).

İncir (*Ficus carica* L.) ile aynı familyada (*Moraceae*) yer alan beyaz dut (*Morus alba*) türünde ikincil somatik embriyo gelişimi ve gerekli olan en uygun koşullar araştırılmıştır. En iyi sonuçlar 0.05 mg 2,4-D + 0.1 mg/L BAP ve %6 sükröz içeren MS besin ortamında elde edilmiştir. Bu ortamda sekonder embriyogenesis oranı % 98.93 olup bu embriyoların %17'si iyi gelişmiş kotiledon safhasındaki embriyolardır (Agarwal vd., 2004).

Ascencio-Cabral vd. (2008), *C. papaya* L. var. Maradol çeşidinde, vitaminlerle geliştirilmiş yarı konsantrasyonda MS besin ortamındaki kültürlerin farklı ışık, katılaştırıcı jel ve phloridzin etkisi altında somatik embriyo oluşumunu incelemişlerdir. Bitkide somatik embriyolar kök eksplantlarından gelişim göstermiştir.

Avrupa kestanesinde somatik embriyogenesis üzerine yapılan bir çalışmada somatik embriyolarda çimlenme düzeyinin artırılması amacıyla farklı uygulamalar yapılmıştır. Somatik embriyolar önce büyüme düzenleyici madde içermeyen MS ortamında (makro elementleri  $\frac{1}{2}$  düzeyinde, %3 maltoz ve %0.7 agar ilave edilmiş) (olgunlaştırma ortamı) 4 hafta süreyle kültüre alınmış ve daha sonra çimlendirme ortamlarına transfer edilerek 4°C'de 2 ay soğuklatılmıştır. Çimlendirme uygulamaları: 1) kısmi olarak yavaş ya da hızlı kurutma, 2) çimlenme ortamına büyüme düzenleyici maddeleri (BA, NAA ya da IBA) veya glutamin ilavesi olacak şekilde yapılmıştır. En iyi sonuç somatik embriyoların laminar hava akışlı kabin içerisinde 2 saat süreyle hızlı kurutma yapılması ile elde

edilmiştir. Embriyolarda nem kapsamı %57-58'dir. Çimlenme ortamına (%16-19) 0.44 µM BA ve 200-438 mg/L glutamin ilavesi rejenerasyonu artırmıştır. Bitki kalitesi için BA'nın yanında 0.49 µM IBA'nın olumlu etkisi olduğu belirtilmiştir. (Corredoira vd., 2008).

Şan vd., (2007) tarafından yapılan çalışmada; dört Avrupa kestane (*Castanea sativa* Mill) çeşidinde (Hacıbiş, Karamehmet, Osmanoğlu ve Sariaşlama) tam çiçeklenmeden 5, 6, 7 ve 8 hafta sonra toplanan, serbest tozlanmış tohumların olgunlaşmamış kotiledonlarında somatik embriyogenesis belirlenmiştir.

Yüksek frekanslı üretim için iki farklı biber (*Capsicum annuum* L.) genotipinde yapılan çalışmada, hipokotil eksplantlarından direkt embriyogenesis (başlangıç kallusu içermeyen) protokolü geliştirmiştir. Thidiazuron (TDZ) veya 2,4-D'nin farklı konsantrasyonlarıyla modifiye edilmiş Murashige -Skoog (MS) besin ortamı kullanılmıştır. Direkt somatik embriyogenesis için, iki farklı besin ortamı Woody plant medium (WPM) ve MS ve farklı şeker konsantrasyonları da incelenmiştir. WPM (9.30), somatik embriyo sayısı açısından MS (7.22) ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha etkili bulunmuştur. En yüksek sayıdaki embriyo (14.60) 80 g/L sükroz içeren WPM kullanılarak elde edilmiştir. 1.0 mg/L AgNO<sub>3</sub> ilavesi direkt embriyogenesis başlangıcında; hem eksplantların somatik embriyo oluşum yüzdesi hem de eksplant başına düşen somatik embriyo sayısını artırırken; yüksek dozları (1.5 ile 2.0 mg/L) rejenerasyon kapasitesini negatif etkilemiştir. 30 g/L sakaroz içeren yarı konsantrasyonlu MS, somatik embriyoya dönüşüm ve normal bitkilerin üretiminde çok daha etkili olmuştur. Ancak, sakkaroz konsantrasyonunun artırılması somatik embriyoların normal çimlendirilmesinde negatif etkisi olmuştur. Sonuç olarak, bitkiler eşit oranda torf ve vermikulit karışımına transfer edilmiş; 21 gün sonunda morfolojik ve büyüme karakterleriyle ilgili olarak %54 canlılık oranına sahip olmuştur (Aboshama, 2011).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma Kasım 2011-Temmuz 2013 yılları arasında Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Doku Kültürü Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

#### 3.1. Materyal

Çalışmada materyal olarak, Erbeyli İncir Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Koleksiyon Bahçesi'nde bulunan 10 yaşlı 'Sarılop' incir çeşidi ağaçlarından alınan tepe tomurcukları kullanılmıştır.

'Sarılop', üretimi en fazla yapılan kurutmalık incir çeşididir. Ağaç 7-8 m yükseklikte, yayvan seyrek taç oluşturur. Eğimli büyüyen dalların daha sonra kıvrılarak sarkması bu çeşidin tipik özelliğidir. Yaprakları iri ve yumuşak dokulu, çok derin dilimli, genellikle beş lopludur. Az sayıda oluşan birinci ürün (yellop) meyveleri genellikle dökülür. Asıl ekonomik olan yaz ürünü meyveleridir. Meyveleri orta irilikte, basık, kabuğu ince ve sarı renklidir. Meyve içi boşluğu yoktur. Meyveler Ağustos ayı içinde olgunlaşmaya başlar, Eylül ayında da devam eder (Gerçekçioğlu vd., 2008).

#### 3.2. Yöntem

Sonbahar (Kasım 2011-2012) ve ilkbahar (Mart 2012-2013) aylarında olmak üzere 2 kez tekrarlanan denemenin her birinde, tek bir ağaçtan 100 adet tepe tomurcuğu alınmıştır.

##### 3.2.1. Eksplantların hazırlanması ve dezenfeksiyonu

Çalışmada kullanılacak yaprak eksplantlarını elde etmek amacıyla 10 yaşlı 'Sarılop' incir çeşidi ağaçlarından tepe tomurcuğu içeren 2-3 cm uzunluğundaki sürgün uçları alınmış ve akan çeşme suyu altında 20 dakika yıkanmaya bırakılmıştır. Daha sonra yüzey sterilizasyonu için önce %70'lik etil alkolde 1 dakika tutulan tomurcuklar, 1-2 damla Tween 80 içeren %40'luk ticari sodyum hipoklorid solüsyonunda 20 dakika kadar bekletilmiş ve 3 defa 5'er dakika steril saf su ile durulanmıştır (Hepaksoy ve Aksoy, 2008).

Kasım (2011) ayı sonbahar denemesinde alınan çelikler, yüzey sterilizasyonundan önce tepe tomurcuğunu kolayca sürdürmek için sürdürme (forcing) çözeltilinde bekletilmiştir (Reid vd., 1983; Gökbunar, 2007). Bu işlem sadece bu dönemde kullanılmıştır. Bu amaçla alınan çelikler, akan çeşme suyu altında yıkandıktan sonra, %30'luk klorak ve litreye 10 damla tween-80'den oluşan 3 litrelik çözeltide 10 dakika bekletilmiş ve durulanmıştır. Çelikler, diplerinden meyilli olarak 0.5-1 cm kesilmiş, fenolik madde salgısını uzaklaştırmak ve tomurcukların sürmesini kolaylaştırmak için 10mg/L GA<sub>3</sub>, 50mg/L AgNO<sub>3</sub> ve 20mg/L şeker içeren sürdürme (forcing) çözeltiline konularak 4 gün bekletilmiştir. Bu süre zarfında fenolik madde çıkışı nedeniyle solüsyonun renginde koyulaşma görülmüştür. Çelikler, 3 defa bu işlemde geçirilerek salgının azalması sağlanmıştır. Çeliklerden alınan tepe tomurcukları %5-10'luk sıvı sabun içeren çeşme suyuyla 2-3 dakika yıkandıktan sonra yüzey sterilizasyonu yapılmıştır.

### 3.2.2. Eksplant Kaynağı *in vitro* sürgünlerin elde edilmesi

Denemelerde kullanılacak yaprak eksplantlarının eldesi için MS besin ortamı kullanılmıştır (Murashige ve Skoog, 1962). Çalışmada kullanılan MS ortamı içeriği Çizelge 3.1'de verilmiştir (Anonim, 2012).

Besin ortamlarının hazırlık aşaması, stok solüsyonlardan gerekli miktarlarda pipet yardımıyla sıvı çekilerek bir erlenmayer içerisinde steril saf su ile belirli miktara tamamlanması şeklinde gerçekleştirilmiştir. Tomurcuk sürdürme ortamı; MS ortamına 0.1 mg/L GA<sub>3</sub> (giberellic acid), 0.1 mg/L IBA (indole-3-butyric acid) ve 5mg/L BAP (benzylaminopurin) ilave edilerek hazırlanmıştır. Ortama ayrıca 30 mg/L sakkaroz ve katılaştırıcı olarak 2.5 g/L gelrite ve 89 mg/L PG (phloroglisinol) katılarak ortam pH değeri 5.7'ye ayarlanmıştır (Hepaksoy ve Aksoy, 2006).

Hazırlanan besin ortamı, 121 C'de 1.2 kg/cm<sup>2</sup> basınç altında 35 dk (500 mL için) otoklavda (Hirayama 25 L) tutularak sterilizasyonu gerçekleştirilmiş ve besin ortamı steril kabin içerisinde steril petri ve kavanozlara dökülerek soğutulmaya bırakılmıştır. Yüzey sterilizasyonundan sonra 3-5 mm büyüklüğünde tepe tomurcukları izole edilerek hazırlanan sürgün geliştirme ortamında her deneme başlangıcında (sonbahar ve ilkbahar dönemleri) kültüre alınmıştır. Tüm kültürler 16 saat fotoperiyotta, 30 µmol m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> ışık şiddetinde ve 25 °C sıcaklıkta iklim odasında tutulmuştur.

Çizelge 3.1. MS temel besin ortamı içerikleri

<b>Besin ortamı</b>	<b>MS ortamı (mg/L)</b>
<b>Kimyasal madde</b>	
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
KNO <sub>3</sub>	1900
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	16.9
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8.6
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2
KI	0.83
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.25
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.025
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.025
Na <sub>2</sub> -EDTA	37.3
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27.8
Mezo-inositol	100
Glycine	2.0
Thiamine HCl	1.0
Pyridoxine HCl	1.0
Nicotinic Asit	1.0

### 3.2.3. *In vitro* yaprak eksplantlarının hazırlanması

Süren tomurcuklardan elde edilen yapraklar 1cm<sup>2</sup> büyüklüğünde kesilerek, çizelge 3.2’de verilen farklı hormon kombinasyonları içeren (Soliman vd., 2010) MS besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Her bir uygulama için 6 eksplant içeren 5 petri kullanılmıştır. Eksplantlar 3 ay boyunca 4 haftada bir taze ortamda alt kültüre alınmıştır.



Çizelge 3.2. Somatik embriyogenesis için hazırlanan MS ortamı kombinasyonları

Besin ortamı kombinasyonları		Büyüme düzenleyici içeriği
Kallus geliştirme ortamı	K-1	MS+ 2 mg/L 2,4-D
	K-2	MS+ 2 mg/L 2,4-D ve 0.2 mg/L kinetin
	K-3	MS+ 4 mg/L 2,4-D
	K-4	MS+ 4 mg/L 2,4-D ve 0.4 mg/L kinetin
İndirekt embriyo geliştirme ortamı	İE-1	MS+ 20 mg/L 2İP
	İE-2	MS+ 30 mg/L 2İP
	İE-3	MS+ 0.25 mg/L NAA ve 7 mg/L TDZ
	İE-4	MS+ 0.50 mg/L NAA ve 7 mg/L TDZ
Direkt somatik embriyo teşvik ortamı-1*	DE-1	MS+ 2 mg/L TDZ + 2 mg/L 2İP
	DE-2	MS+ 2 mg/L TDZ + 4 mg/L 2İP
	DE-3	MS+ 2 mg/L TDZ + 6 mg/L 2İP
	DE-4	MS + 2 mg/L TDZ + 8 mg/L 2İP
Direkt Somatik embriyo teşvik ortamı-2**	DE-5	MS +10 mg/L NAA
Somatik embriyo geliştirme ortamı	DE-0	MS

\* : DE ortamında 30 gün kültüre alma

\*\* : DE ortamında 20 gün, MS+NAA ortamında 10 gün kültüre alma.

### 3.2.4. İncelenen Özellikler

*In vitro* şartlar altında elde edilerek kültüre alınan yaprak eksplantlarında, aşağıdaki gelişmeler gözlenmiştir.

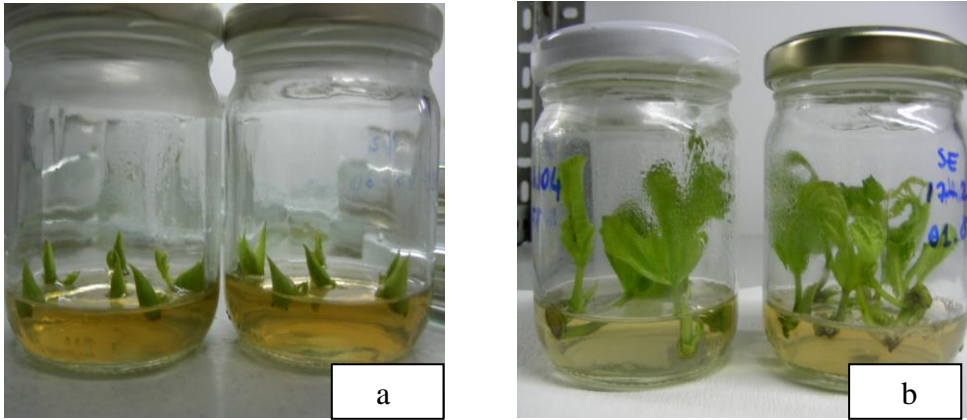
- 1. Eksplantların kallus oluşturma oranı (%):** Kallus oluşturan eksplant sayısının toplam eksplant sayısına oranının 100 ile çarpımıyla bulunmuştur.
- 2. Eksplantların kök oluşturma oranı (%):** Kök oluşturan eksplant sayısının toplam eksplant sayısına oranının 100 ile çarpımıdır.
- 3. Eksplant başına kök sayısı:** Toplam kök sayısının, kök oluşturan eksplant sayısına oranını ifade eder.
- 4. Eksplantların somatik embriyo oluşturma oranı (%):** Somatik embriyo oluşturan eksplant sayısının toplam eksplant sayısına oranının 100 ile çarpımıdır.
- 5. Eksplant başına somatik embriyo sayısı:** Toplam somatik embriyo sayısının somatik embriyo oluşturan eksplant sayısına oranıdır.

Deneme 5 tekerrürlü ve her tekerrürde 6 eksplant olacak şekilde tesadüf parselleri deneme deseninde kurulmuştur. Veriler TARİST istatistiki analiz programında varyans analizi ile değerlendirilerek LSD çoklu testi ile ortalamalar arası farklılıklar belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. İndirekt Somatik Embriyogenesis Çalışmaları

2011 yılı Kasım ayı başında sonbahar denemesi için tepe tomurcukları, yüzey sterilizasyonu işleminden sonra sürgün gelişimi ve yaprak eldesi amacıyla MS ortamında kültüre alınmıştır (Şekil 4.1). Sürgün uçlarının büyük bir kısmı bakteriyel ve mantari enfeksiyonlar nedeniyle kaybedilmiştir.



Şekil 4.1. Sürdürülmek üzere kültüre alınmış tepe tomurcukları (a) ile elde edilen yaprak eksplantları (b).

Kasım ayı sonunda alınan yeni sürgünlerle deneme yinelenmiş tepe tomurcukları MS ortamında kültüre alınmıştır. 4 hafta sonunda gelişen yaprak eksplantları 1cm<sup>2</sup> büyüklüğünde kesilerek kallus geliştirme (K-1, K-2, K-3, K-4) ortamında kültüre alınmıştır. İki hafta sonra başlayan kallus gelişiminin kesim yerleri ve damarlar üzerinde daha yoğun olduğu gözlenmiştir. Ayrıca yapraklarda hücre bölünmelerine bağlı olarak kıvrılmalar olmuştur. Kültürün 4. haftasından sonra tekerrürlerde meydana gelen enfeksiyon ve fenolik madde salgısı nedeniyle artan kararma sonucu kültürler kaybedilmiş ve indirekt embriyo geliştirme ortamına (İE) geçilememiştir.

2012 yılı Mart ayının 2.haftasında, ilkbahar dönemi denemesinde kültürün 2 hafta sonrasında kallus oluşumu başlamıştır.

Sonbahar (Kasım-2011) ve ilkbahar (Mart-2012) dönemlerinde kallus geliştirme ortamlarında 4 hafta süreyle kalan yaprak eksplantlarındaki kallus oluşma yüzdeleri, Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Kallus oluşturma ortamlarında (K-1, K-2, K-3, K-4) farklı dönemlere göre kallus oluşturma ortalama değerleri (%)

Ortam	Kalluslanma Oranı (%)		Ortam ort.
	Sonbahar Dönemi (2011)	İlkbahar Dönemi (2012)	
<b>K-1</b>	46.67 (43.97)	56.66 (48.89)	51.66 (45.97) a
<b>K-2</b>	53.33 (46.94)	80.00 (66.254)	66.66 (56.60) a
<b>K-3</b>	16.66 (18.92)	36.66 (37.21)	26.66 (28.06) b
<b>K-4</b>	53.33 (46.94)	70.00 (57.25)	61.66 (52.09) a
<b>LSD (0.05)</b>	ö.d		17.285*
<b>Dönem ort.</b>	42.50 (38.97) b	60.83 (52.40) a	
<b>LSD (0.05)</b>	12.223*		

ö.d: Önemli değil      \*: p=0.05’e göre önemli      \*\*: p=0.01’e göre önemli

Parantez içerisindeki değerler logaritmik olarak transforme edilmiş halidir.

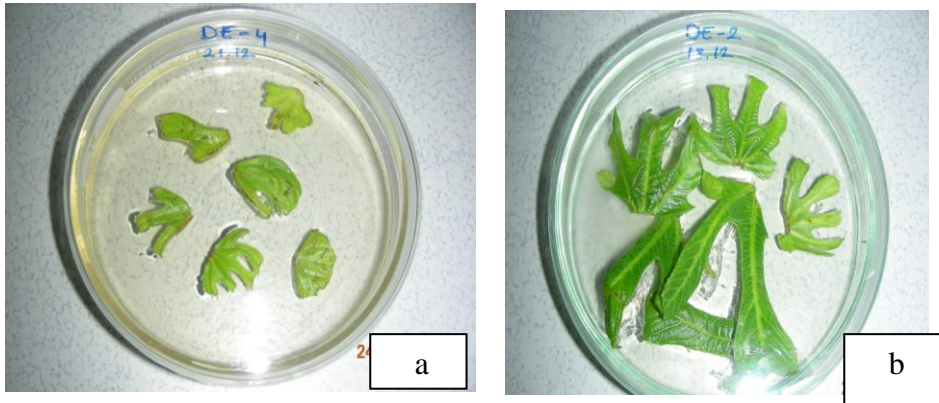
Ortam ve dönem ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak 0.05 seviyesinde önemli bulunmuştur. Sonbahar dönem ortalaması %42.50 iken ilkbahar ortalaması %60.83 değerlerini almıştır. Kallus geliştirme ortamları incelendiğinde %66.66 ile en yüksek değeri gösteren K-2 (MS + 2 mg/L 2,4-D + 0.2 mg/L kinetin) ortamı, %51.66 değerini veren K-1 (MS + 2 mg/L 2,4-D) ve %61.66 değerindeki K-4 (MS + 4 mg/L 2,4-D + 0,4 mg/L kinetin) ortamıyla aynı grupta yer almıştır. K-3(MS + 4 mg/L 2,4-D) ortamı %26.66 ile en düşük ortalamayı vermiştir. Soliman vd, (2010)’ın ‘Sultani’ incir çeşidinin yaprak eksplantlarında yaptıkları çalışmada da en iyi kallus oluşumu, 2.0 mg/L 2,4-D ve 0.2 mg/L kinetin ile kombine edilen MS besin ortamında (%83) elde edilmiştir.

Eksplantlar denemenin devamı için taze ortamda 2 haftada bir alt kültürlerine alınmıştır. Ancak, kalluslarda ortaya çıkan enfeksiyon ve sararmayla başlayan

bozulmalar rengin giderek koyulaşması ve eksplantların kararmasıyla devam etmiş; denemede bir sonraki aşamaya geçilememiştir.

#### 4.2. Direkt Somatik Embriyogenesis Çalışmaları

Yeterli sayıda yaprak elde edilemediği için sonbahar dönemi direkt somatik embriyogenesis çalışmalarına, 2012 yılı Kasım ayında başlanmıştır. Kasım ayı sonunda dikilen tepe tomurcuklarından gelişen yapraklardan 1 cm<sup>2</sup> büyüklüğünde kesilen yaprak segmentleri, direkt somatik embriyogeneze geliştirme ortamında (DE-1, DE-2, DE-3, DE-4) kültüre alınmıştır. Kültürün ilk haftasında eksplantlarda gözle görülür oranda boyca uzamalar gerçekleşmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Yeni kültüre alınmış yaprak eksplantları (a) ile 2 eksplantlarda hafta sonrasında gerçekleşen boyca uzama (b)

Yaprak eksplantlarında gerçekleşen boyca uzama miktarlarının sonbahar ve ilkbahar dönemlerine göre karşılaştırılması Çizelge 4.2’de verilmiştir.

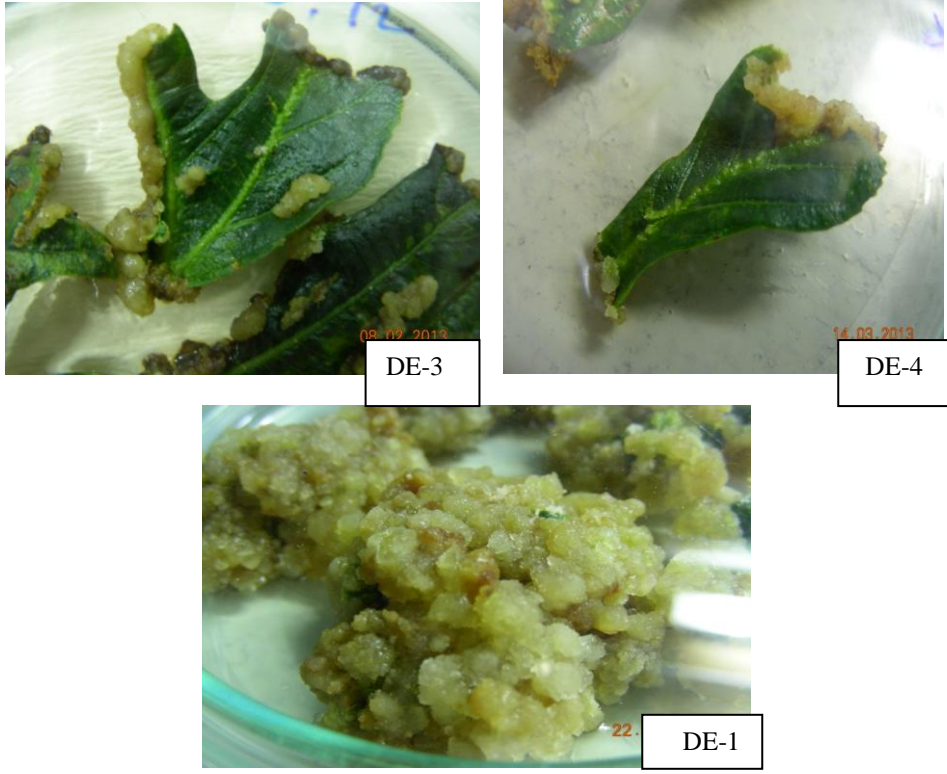
Çizelge 4.2. Direkt embriyo geliştirme ortamlarında (DE-1, DE-2, DE-3, DE-4) farklı dönemlere göre yaprak eksplantında uzama miktarları (cm).

Ortam	Yaprak eksplantlarında boyca uzama (cm)		Ortam ort.
	Sonbahar Dönemi (2012)	İlkbahar Dönemi (2013)	
<b>DE-1</b>	2.324	3.396	2.860
<b>DE-2</b>	2.528	3.298	2.913
<b>DE-3</b>	2.462	2.912	2.687
<b>DE-4</b>	2.372	2.764	2.568
<b>LSD (0.05)</b>	ö.d		ö.d
<b>Dönem ort.</b>	2.422 b	3.093 a	
<b>LSD (0.05)</b>	0.492*		

ö.d: Önemli değil      \*: p=0.05'e göre önemli      \*\*: p=0.01'e göre önemli

Buna göre, dönem ortalamaları arasındaki farklar 0.05'e göre önemli çıkmıştır. 3.093 cm ortalamasıyla ilkbahar döneminde, 2.422 cm ortalaması veren sonbahar dönemine göre daha fazla uzama olmuştur. Ortamlar ise yaprak uzama miktarına etkisi bakımından önemsiz olmuştur.

Yapılan gözlemlerde, kallusların genellikle yaprak sapı ve kenarlarında, yaprak ayasında kısmen yaralanmış bölgelerde ortaya çıktığı; yapraklarda açık yeşil kabarcıklar şeklinde damar farklılaşması gerçekleştiği görülmüştür (Şekil 4.3). Ancak bu denemede beklenen embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir.



Şekil 4.3 Yaprak eksplantlarında kallus oluşumu (DE-1 ve DE-3) ve damar farklılaşması (DE-4).

Farklı dönem ve farklı ortamlara göre değişkenlik gösteren kalluslanma oranlarının varyans analiz sonuçlarına göre ortalamalarının karşılaştırmaları çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Direkt embriyo geliştirme ortamlarında (DE-1, DE-2, DE-3, DE-4) farklı dönemlere göre kallus oluşturma ortalama değerleri (%)

Ortam	Dönem		Ortam ort.
	Sonbahar (2012)	İlkbahar (2013)	
<b>DE-1</b>	66.66 (55.59)	90.00 (81.00)	78.33 (68.29) a
<b>DE-2</b>	86.00 (75.68)	80.00 (72.00)	83.00 (73.84) a
<b>DE-3</b>	76.66 (61.43)	70.00 (63.00)	73.33( 62.21) ab
<b>DE-4</b>	56.66 (52.05)	30.00 (33.02)	43.33 (42.54) b
<b>LSD (0.05)</b>	ö.d		19.99*
<b>Dönem ort.</b>	71.49 (61.19)	67.49 (62.25)	
<b>LSD (0.05)</b>	ö.d		

ö.d: Önemli değil      \*: p=0.05'e göre önemli      \*\*: p=0.01'e göre önemli

Parantez içerisindeki değerler logaritmik olarak transforme edilmiş halidir.

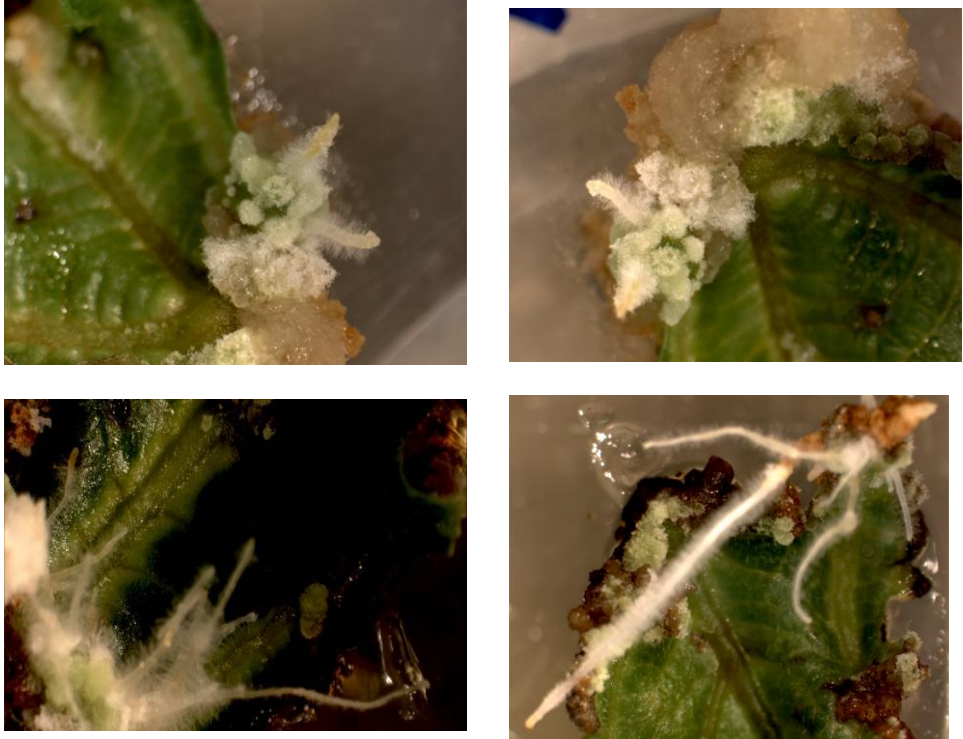
Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi, ilkbahar ve sonbahar dönemlerinde direkt somatik embriyogenesis geliştirme ortamlarında meydana gelen kallus miktarı dönemlere göre farklı bulunmamıştır. Ortamlar ise 0.05 seviyesinde önemli olup, DE-2 (MS + 2 mg/L TDZ + 4 mg/L 2İP) ortamı %83 ile en iyi kallus geliştiren ortam olurken onu, %78.33 ile DE-1, % 73.33 ile DE-3 takip etmiş, en az kallus oluşumu ise %43.33 ile DE-4 ortamında gerçekleşmiştir. Bu sonuçlara benzer şekilde, Dhage vd., (2012) de dört farklı incir çeşidinde yaptıkları çalışmada, en iyi kallus oluşumunu (%85.9) Brown Turkey çeşidinde 2.0 mg/L TDZ ve 4.0 mg/L 2 İP içeren MS ortamında elde etmişlerdir.

Nisan (2013) ayında alınan sürgünler (4. Dönem) yüzeysel sterilizasyon aşamasından sonra bakteriyel enfeksiyon riskine karşı 1mg/L amphyicilin içeren MS sürgün geliştirme ortamında kültüre alınmıştır. 2 hafta sonra kullanılabilir büyüklüğe gelen yaprak eksplantları 1cm<sup>2</sup> büyüklüğünde kesilerek direkt somatik



embriyo geliştirme ortamı tekerrürlerinde (DE-1, DE-2, DE-3, DE-4) kültüre alınmıştır.

Kültürün ikinci haftasında boyları iki katına ulaşan eksplantların yarısı kesilerek 10 gün kalmak üzere somatik embriyo teşvik ortamına konulurken (DE-5); diğer yarısı aynı direkt somatik embriyo geliştirme ortamında alt kültüre alınmıştır. 10 gün sonra her iki tekerrür de hormon içermeyen somatik embriyo geliştirme ortamında (DE-0) alt kültüre alınmıştır. İki hafta sonra yapılan gözlemlerde, 10 gün somatik embriyo teşvik ortamında (DE-5) kalan eksplantlarda organogenesis yoluyla kök oluşumlarına rastlanmıştır. İlerleyen haftalarda köklerde uzama ve dallanma şeklinde gelişme gerçekleşmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Direkt somatik embriyo geliştirme ortamlarında (DE-4) 3.hafta kültürlerinde yaprak eksplantlarında kök gelişimi (aynı besinortamı içeren petriden farklı görüntüler)

Direkt somatik embriyogenesis geliştirme ortam içeriklerine göre kallus ve kök oluşturma yüzde değerleri ile kök sayıları varyans analizi yapılarak istatistiki açıdan incelenmesi Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Direkt embriyogenesis geliştirme ortamlarına göre (DE-1, DE-2, DE-3, DE-4) kallus oluşturma (%), kök oluşturma (%) ve kök sayısı değerleri

Ortam	Kallus oluşturma (%)	Kök oluşturma (%)	Kök sayısı
DE-1	60.00 (54.00)	6.67 (7.05) b	0.40
DE-2	60.00 (54.00)	6.67 (7.05) b	0.50
DE-3	80.00 (72.00)	20.00 (20.87) ab	1.70
DE-4	70.00 (63.00)	46.66 (42.763) a	3.86
LSD (0.05)	ö.d	22.137*	ö.d

ö.d: Önemli değil      \*: p=0.05'e göre önemli      \*\*: p=0.01'e göre önemli

Parantez içerisindeki değerler logaritmik olarak transforme edilmiş halidir.

Buna göre en çok kalluslanma %80 ile DE-3 (MS + 2 mg/L TDZ + 6 mg/L 2İP) ortamında gerçekleşmiş, %70 ile DE-4 ortamı ikinci sırada yer alırken, DE-1 ve DE-2 %60 ile en düşük değerleri vermişlerdir. Yapılan varyans analizine göre ortalamalar önemli çıkmamıştır. Ortamların kök oluşturma yüzdeleri arasında yapılan analiz sonucu 0.05'e göre önemli bulunurken; en fazla köklenme %42.76 ile DE-4 (MS + 2 mg/L TDZ + 8 mg/L 2İP) ortamında kaydedilmiştir. % 20.87 kök oluşturma değeriyle DE-3 ikinci sırada yer alırken; DE-1 ve DE-2 % 7.05 ile en az kök oluşturan ortamlar olmuşlardır.

Eksplantların ortamlara göre oluşturdukları kök sayıları istatistiksel olarak incelendiğinde, DE-4 ortamı eksplant başına 3.86 ile en fazla kök oluşturan ortam olmuştur. Kök sayısı bakımından ortamlar arasındaki farklılık önemsiz olmuştur. Yakushiji vd., (2003) İncir'in (*Ficus carica* L.) 'Masui Dauphine' çeşidi üzerinde yaptıkları çalışmada 2,4-D ve TDZ kombinasyonunun phloroglisinol içeren MS ortamında kök oluşumunu teşvik ettiğini bildirmişlerdir. Ferreira vd., (2007), Woody plant medium (WPM) ortamına ilave edilen 2mg/L NAA ve 8 mg/L GA<sub>3</sub> birlikte kullanıldığında, kök uzunluğu ve kök kuru madde ağırlığı üzerinde pozitif etkilerde bulunduğunu bildirmiştir.

Direkt embriyo geliştirme ortamından (DE-1, DE-2, DE-3, DE-4) hormonsuz ortama (DE-0) aktarılan 2 haftalık kültürlerde yapılan gözlemlerde somatik embriyo benzeri yapılar görülmüştür (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Yaprak eksplantlarında oluşan embriyonik yapılar (aynı besin ortamı içeren petriden farklı görüntüler)

Direkt embriyo geliştirme ortamlarına göre gerçekleşen embriyo oluşumu ve sayıları Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5 DE-4 Direkt embriyogenesis geliştirme ortamında embriyo oluşturma (%) ve embriyo sayısı değerleri

DE-4 Ortamı	Embriyo gelişimi (%)	Eksplant başına embriyo sayısı
1	0.00	0.00
2	33.33	1.00
3	0.00	0.00
4	66.66	4.00
5	0.00	0.00
<b>Ortalama (%)</b>	20.00	0.83

DE-4 (MS + 2 mg/L TDZ + 8 mg/L 2İP) ortamının 5 farklı tekrarı incelendiğinde bu kombinasyon, % 30'luk ortalamasıyla en az kallus gelişiminin olduğu ortam olurken; ortalama % 20 ve eksplant başına düşen 0.83 adet embriyo ile embriyonal gelişimin görüldüğü tek ortam olma özelliğini göstermektedir. Buna karşılık, Agarwal vd., (2004), beyaz dutta en iyi somatik embriyogenesis sonuçlarını 0.05 mg 2,4-D + 0.1 mg/L BAP ve %6 sükröz içeren MS besin ortamı kullanarak yaptığı çalışmada elde ederken, somatik embriyogenesis oranının % 98.93 olup bu embriyoların %17'sinin iyi gelişmiş kotiledon safhasındaki embriyolar olduğunu bildirmiştir.

## 5. SONUÇ

Türkiye’de özellikle Ege Bölgesinde Aydın yöresinde yetiştirilen, çok iyi kalitede standart kurutmalık bir incir çeşidi olan ‘Sarılop’ çeşidinde yapılan bu çalışmada, tepe tomurcukları bitki materyali olarak kullanılmış, deneme Kasım-2011 ve Temmuz-2013 yılları arasında, sonbahar ve ilkbahar dönemleri olmak üzere 2 dönemde yapılmıştır.

Çalışmada, ‘Sarılop’ çeşidi tepe tomurcukları *in vitro*’da sürdürülerek elde edilen yapraklar kullanılarak direkt ve indirekt somatik embriyogenesis yoluyla; somatik embriyo oluşumu için en uygun koşulların belirlenmesi amaçlanmıştır.

Kasım-2011 ve Mart-2012’de alınan tomurcuklarla sonbahar ve ilkbahar dönemlerinde yapılan kallus geliştirme denemelerinde ortam ve dönem ortalamaları arasındaki fark önemli bulunmuş ve sonbahar dönemi kallus oranı ortalama %42.50 iken ilkbahar ortalaması %60.83 olmuştur. Kallus geliştirme ortamları incelendiğinde K-2 (MS+ 2 mg/L 2,4-D ve 0.2 mg/L kinetin) ortamı, %66.66 ile en yüksek kallus gelişmesini gösterirken; K-3 (MS +4 mg/L 2,4-D) ortamı %26.66 ile en düşük ortalamayı vermiştir. Oluşan kalluslar karar ve enfeksiyon nedeniyle kaybedilerek indirekt embriyo oluşturma aşamasına geçilememiştir.

Kasım-2012 ve Mart-2013 dönemlerinde alınan tomurcuklarla yapılan direkt embriyogenesis denemelerinde kallus oluşumu, yaprak uzaması, kök oluşumu ve embriyo gelişimi gözlenmiştir.

Kallus oluşumunun sonbahar ve ilkbahar dönemleri ile farklı ortam kombinasyonlarına göre ele alındığı değerlendirilmede dönemler arasında farklılık bulunmamıştır. Ortam arasındaki fark önemli olup, DE-2 (MS + 2 mg/L TDZ + 4 mg/L 2İP) ortamı %83 ile en iyi kallus geliştiren ortam olurken en az kallus oluşumu ise %43.33 ile DE-4 (MS + 2 mg/L TDZ + 8 mg/L 2İP) ortamında gerçekleşmiştir.

Yaprak uzaması miktarları dönem ortalamalarına göre değerlendirildiğinde dönemler arası farklar önemli çıkmış, eksplant başına 3.09 cm uzama ortalamasıyla ilkbahar dönemi, 2.42 cm ortalama veren sonbahar dönemine göre daha iyi bir performans göstermiştir. Ortamların yaprak uzama miktarına etkisi önemsiz bulunmuştur.

Kök oluşturma yüzdelerinin ortamlar bazında incelenmesi sonucu ortamlar arasındaki fark önemli olurken; en fazla köklenme %42.76 ile DE-4 (MS + 2 mg/L TDZ + 8 mg/L 2İP) ortamında, en az kök oluşumu ise % 7.05 ile DE-2 ortamında olmuştur. Eksplantların ortamlara göre oluşturdukları kök sayıları istatistiksel olarak incelendiğinde, yine DE-4 ortamı eksplant başına 3.86 ile en fazla kök oluşturan ortam olma özelliği göstermiştir. Kallus oluşumu ile kök oluşumu arasında ters orantı görülmektedir.

Embriyonal gelişim ve eksplant başına embriyo sayısı ele alındığında, DE-4 (MS + 2 mg/L TDZ + 8 mg/L 2İP) besin ortamı ortalama % 20 embriyonal gelişim ve eksplant başına düşen 0.83 adet embriyo ile en iyi sonuçların alındığı ortam olma özelliğini göstermektedir. Bu çalışmada DE-4 besin ortamında 2İP' in dozunun artması kök ve somatik embriyo oluşumunu diğer kullanılan ortamlara göre artırmıştır.

İncirde yapılan çalışma sayısı oldukça az olan ve 'Sarılöp' incir çeşidinde de ilk kez yapılan bu somatik embriyogenesis çalışması, genel olarak değerlendirildiğinde, besin ortamı kombinasyonlarının yanı sıra dönemsel özelliklerin de sonuçları etkilediği ve en iyi sonuçların ilkbahar döneminden alındığı görülmektedir. Deneme, somatik embriyo oluşumundan sonraki klonal bitki eldesi, genetik transformasyondan sonra gerekli genetik materyali taşıyan bitkilerin hızlı ve çoklu üretimi gibi çalışmalara zemin oluşturma niteliğindedir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda somatik embriyo sayısının artırılması ve embriyo gelişmesinin ilerletilebilmesi için ilkbahar aktif büyüme döneminde yapılacak denemelerde besin ortamlarında büyüme düzenleyicileri ve karbonhidrat kaynaklarında değişimler yapılması uygun olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Anonim, 2013a <http://www.fao.org>. Dünya incir üretim miktarları kayıtları, Erişim Tarihi: 03.07.2013.
- Anonim, 2013b <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>. Erişim tarihi:10.06.2013.
- Anonim, 2012. Sigma BioSciences Pflanzenzellkultur Katalog. Erişim Tarihi: 25.02.2012.
- Aboshama, H. M. S. 2011. Direct somatic embryogenesis of pepper (*Capsicum annuum* L.). **World Journal of Agricultural Sciences**, 7 (6): 755-762.
- Agarwal, S., Kanvar, K., Sharma, D. R. 2004. Factors affecting secondary somatic embryogenesis and embryo maturation in *Morus alba* L. **Scientia Horticulturae**, 102 (2004) 359–368.
- Altman, A., Loberant, B. 2000. Micropropagation of plants, principles and practices. In: Spier, (R.E. Griffiths, B. And Scragg, A.H., Eds.), The Encyclopaedia of Cell Technology, ISBN: 0-471-16123-3, John Wiley and Sons, Inc., pp: 916-929, New York.
- Ascencio-Cabral, A., Gutie´rrez-Pulido, H., Rodrı´guez-Garay, B., Gutie´rrez-Mora, A. 2008. Plant regeneration of *Carica papaya* L. through somatic embryogenesis in response to light quality, gelling agent and phloridzin. **Scientia Horticulturae**, 118: 155–160.
- Corrales-Lopez, M., Gella, R., Marin, J. A., Toribio, F. 1998. Elimination of fig mosaic from fig shoot-tip cultures by thermotherapy. **Acta Horticulturae**, 480: 173-178.
- Corredoira, E., Ballester, A., Vieitez, A. M. 2008. Thidiazuron-induced highfrequency plant regeneration from leaf explants of *Paulownia tomentosa* mature trees. **Plant Cell Tissue Organ Cult.** 95: 197-208.
- Çalışkan, O. 2012. Türkiye’de sofralık incir yetiştiriciliğinin mevcut durumu ve geleceği. **U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi**, cilt 26, sayı 2: 71-87.

- Çömlekçioğlu, S. 2003. Bazı İncir ( *Ficus carica* L.) Genotiplerinin Meristem Kültürü Yolu ile Çoğaltılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi (Basılmamış), Adana.
- Demiralay, A., Yalcin Mendi, Y., Aka Kacar, S. Y., Cetiner, S. 1998. *In vitro* propagation of *Ficus carica* L. var. Bursa siyahı through meristem culture. **Acta Horticulturae**, 480:165-7.
- Dhage, S. S., Pawar, B. D., Chimote, V. P., Jadhav, A. S. Andkale, A. A. 2012. *In vitro* callus induction and plantlet regeneration in fig (*Ficus carica* L.). **Journal of Cell and Tissue Research** vol. 12(3) 3395-3400.
- Edremit, N. F., Açıkgöz, S., Gurel, A., Hayta, Ş. 2012. Production of virus-free fig plantlets by shoot tip culture and thermoterapy and virus detection of in vitro plantlets through RT-PCR. **Uluslararası Gıda Tarım ve Gastronomi Kongresi**, (15-19 Şubat 2012), Antalya.
- Fraguas, B. C., Pasqual, M., Dutra, F. L. , Cazerra, O. J., 2004. Micropropagation of fig (*Ficus carica* L.) ‘Roxo de Valinhos’ plants. **In Vitro Cell. Dev. Biological-Plant**, 40: 471–474.
- Ferreira, E. A., Pasqual, M., Rezende, J.C. 2007. 2,4-D and kinetin in callogenesis of *Ficus carica* L. Fruit Crops & Trop. Species (R.E. Litz and R. Scorza Eds.). **Acta Horticulturae**, 738.
- Gerçekçioğlu, R., Bilgener, Ş. ve Soylu, A. 2008. Genel Meyvecilik. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- Gökbunar, L. 2007. Alıç (*Crataegus* sp.)’ın *In vitro* Mikroçoğaltımı. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş.
- Günver, G., Ertan, E. 1998. A study on the propagation of figs by the tissue culture techniques. **Acta Horticulturae**, 480: 169-172.
- Hepaksoy, S. 2004. Bazı kiraz anaçlarının mikroçoğaltımı üzerinde araştırmalar. **Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 41 (3):11-22.



- Hepaksoy, S. Aksoy, U. 2006. Propagation of *Ficus carica* L. clones by *in vitro* culture. **Biologia Plantarum**, 50 (3): 433-436.
- Hepaksoy, S., Aksoy, U. 2008. *In vitro* propagation of *Ficus carica* cv. Sarilop clone selected for its high performance. **Acta Horticulturae** 798: 199-204.
- Kim, K., Kim, M. Y., Yun, P. Y., Chandrasekhar, T., Lee, H., Song, P. 2007. Production of multiple shoots and plant regeneration from leaf segments of fig tree (*Ficus carica* L.). **Journal of Plant Biology**, 50(4): 440-446.
- Kumar, A., Radha, S., Kumar, C. 1998. *In vitro* plant regeneration of fig (*Ficus carica* L. cv. Gular) using apical buds from mature trees. **Plant Cell Rep.**, 17: 717-20.
- Küden, A. B., Kaska, N., Yılmaz, M., Küden, A. 1993. Bursa siyahi ve 01-IN-10 incir çeşitlerinde farklı çelik alma zamanları ile köklendirme ortamları ve IBA uygulamalarının karşılaştırılması. **Ç. Ü. Z. F. Dergisi**, 8(4):181-188.
- Laxmi, D. V., Sharma, H. C., Kirti, P. B., Mohan, M. L. 1999. Somatic embryogenesis in mango (*Mangifera indica* L.) cv. Amrapali. Division of Fruits and Horticultural Technology, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi 110 012, India.
- Merkle, S.A., Wiecko, A.T., Watson-Pauley, B.A., 1991. Somatic embryogenesis in American chestnut. **Canada Journal Forest Research**, 21: 1698-1701.
- Miah, M. N., Islam, S., Hadiuzzaman, S. 2002. Regeneration of plantlets through somatic embryogenesis from nucellar tissue of *Citrus macroptera* Mont. var. *anammensis* ('Sat Kara'). **Plant Tissue Culture**, 12(2) : 167-172, 02.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant**, 15: 473-497.
- Mustafa, N.S., Rania, A. T. 2012. Influence of plant growth regulators and subculturing on *in vitro* multiplication of some fig (*Ficus Carica*) cultivars. **Journal of Applied Sciences Research**, 8(8): 4038-4044.
- Nassar, A. H., Newbury, H. J. 1987. Ficin production by callus cultures of *Ficus Carica* L. **Journal of Plant Physiology**, vol:131 issues 3-4, pp: 171-179.

- Nobre, J., Romano, A. 1998. *In vitro* cloning of *Ficus carica* L. adult trees. **Acta Horticulturae**, 480: 161-172.
- Onay, 1998. Somatic embryogenesis from mature seed cultures of *Pistacia atlantica*. **Turk Journal Agriculture**, 24 (2000) 465–473.
- Osuga, K., Kamada, H., Komamine, A. 1997. Frequency improvement of somatic embryogenesis at high embryo density by partial replacement of medium in carrot suspension cultures. **Journal of Fermentation and Bioengineering** vol. 84, 275-278.
- Özalp, S. 1998. Sarılop İncir Çeşidinin Doku Kültürü Yolu İle Üretilmesi Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi (Basılmamış), İzmir.
- Özbek, S. 1978. Özel Meyvecilik. Ç.Ü.Z.F. Yayınları, 128. Ders Kitabı: 11, s:485.
- Özcan, S., Babaoğlu, M., Sancak, C. 2001. Somatik Embriyogenesis. Bitki Biyoteknolojisi-Doku Kültürü ve Uygulamaları (Babaoğlu M., Gürel E., Özcan S., Eds), Selçuk Üniversitesi Basımevi, pp. 71-88, Konya.
- Özen, M., Çobanoğlu, F., Koçataş, H., Tan, N., Ertan, B., Şahin, B., Konak, R., Doğan, Ö., Tutmuş, E., Kösoğlu, İ., Şahin, N., Özkan, R. 2007. İncir Yetiştiriciliği, T.C. Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Aydın.
- Özden, Ç. 2008. Kuru incir. IGEME İhracatı Geliştirme Etüt Merkezi. T.C Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı.
- Qrunfleh, I. M., Shatnawi, M. M., Zakaria, I., Al-Ajlouni, Z. I. 2013. Effect of different concentrations of carbon source, salinity and gelling agent on *in vitro* growth of fig (*Ficus carica* L.). **African Journal of Biotechnology** vol. 12(9), pp. 936-940.
- Pasqual, M., Ferreira, E. A. 2007. Micropropagation of fig tree (*Ficus carica* L.). Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits (Jain S.M., H. Häggman H., Eds.), **Springer** 409–416.

- Pontikis, C. A., Melas, P. 1986. Micropropagation of *Ficus carica* L. **HortScience**, 21, 153–154.
- Reid, M. S., Kofranak, A. M., Besemer, S. T. 1983. Postharvest handling of carnations. **ISHS Acta Horticulturae** 141.
- Saiju, H. K., Malla, S. B., Rajbhandary, S. B. 1995. Tissue culture of *Ficus carica* L. and rooting of microshoots in sand, **IUFRO XX. World Congress**, 6-12 August 1995. Tampere, Finland p:59.
- Sezgin, M., Dumanoglu, H. 2009. Avrupa kestanesinde (*castanea sativa* mill.) olgunlaşmamış kotiledonlardan somatik embriyogenesis ve bitki rejenerasyonu. **Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi** A(2): 147-159.
- Soliman, I. H., Gabr, M., Abdallah, N. 2010. Efficient transformation and regeneration of fig (*Ficus carica* L.) via somatic embryogenesis. **Landes Bioscience** 1:1, 47-58.
- Şan, B., Sezgin, M., Dumanoglu, H., Köksal, A. İ. 2007. Somatic embriyogenesis from immature cotyledons of some european chestnut (*Castanea sativa* Mill) cultivars. **Turk Journal Agriculture Forestry**. 31 175-179 TUBİTAK.
- Yakushiji, H., Mase, N., Sato, Y., 2003. Adventitious bud formation and plantlet regeneration from leaves of fig (*Ficus carica* L.). **Journal of Horticultural Science and Biotechnology** 78, 874–879.
- William, E.G., Maheswaran, G. 1986. Somatic embryogenesis factors influencing coordinated behaviour of cells as an embryogenic group. **Annals of Botany**, 57, 443-462.
- Vieitez, F.J., San Jose, M. C., Ballester, A., Vieitez, A.M. 1990. Somatic embriyogenesis in cultured immature zygotic embryos in chestnut. **Journal of Plant Physiology**, 136: 253-256.



**ÖZGEÇMİŞ****KİŞİSEL BİLGİLER**

Adı Soyadı : Damla TURAN

Doğum Yeri ve Tarihi : Mersin / 28.07.1986

**EĞİTİM DURUMU**

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi

Bahçe Bitkileri Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri

Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

**İŞ DENEYİMİ**

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl :Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi

Bahçe Bitkileri Bölümü / Eylül-2013

**İLETİŞİM**

E-posta Adresi : zmdamlaturan@hotmail.com

Tarih :