

Sarılop İncir (*Ficus carica* L.) Çeşidi Yaprak Segmentlerinden Somatik Embriyogenesis Oluşumu

Damla TURAN BÜYÜKDİNÇ ^{*1}, **Gonca GÜNVER DALKILIÇ** ²

¹ *Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Pazar/RİZE*

² *Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Güney kampüsü Çakmar Köyü/AYDIN*

Öz: 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. Çalışmada eksplant olarak; 2011-2013 yıllarında Kasım ve Nisan aylarında alınan incir tepe tomurcuklarından Murashige-Skoog (MS) besin ortamında geliştirilen yapraklar kullanılmıştır. Bu yaprak eksplantları, indirekt somatik embriyo gelişimi için ilkbahar döneminde K-2 (2 mg/L 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic asit) + 0.2 mg/L kinetin) ortam kombinasyonunda kültüre alınmıştır. Bu ortam kombinasyonunda %66.66 oranında kallus elde edilmiştir; ancak somatik embriyo gelişimi elde edilememiştir. Direkt somatik embriyo oluşumu için ise yaprak eksplantları TDZ (Thidiazuron) ve 2IP'in (N6-2-isopentenyladenine) farklı kombinasyonlarını içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Eksplantlar kültüre; kallus oluşumu, eksplant uzaması, kök oluşumu ile embriyo oluşumu şeklinde cevap vermiştir. En yüksek oranda kök oluşum oranı (%42.76) ve en yüksek embriyo oluşum oranı (%20) ilkbahar döneminde DE-4 (MS + 2 mg/L TDZ + 8 mg/L 2IP) kombinasyonunda elde edilmiştir. Eksplant başına oluşan somatik embriyo sayısı 0.83'tür. DE-2 (MS + 2 mg/L TDZ + 4 mg/L 2IP) ortamında %83 oranında kallus gelişmesi de gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: İncir, *Ficus carica* L., Sarılop, somatik embriyogenesis, in vitro.

Formation of Somatic Embryogenesis from Leaf Segments of Sarılop Fig (*Ficus carica* L.)

Abstract: In this study, it was aimed to form somatic embryos by direct and indirect somatic embryogenesis by using leaf segments of Sarılop variety, a good quality table and dried fig variety. As an explant in the study; leaves developed in Murashige-Skoog (MS) nutrient medium from fig top buds taken in November and April in 2011-2013 were used. These leaf explants were cultured in a combination of K-2 (2 mg/L 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) + 0.2 mg/L kinetin) medium in the spring for indirect somatic embryo development. In this medium combination, 66.66% callus was obtained; however, somatic embryo development could not be obtained. For direct somatic embryo formation, leaf explants were cultured in MS medium containing different combinations of TDZ (Thidiazuron) and 2IP (N6-2-isopentenyladenine). The explants were cultured; Callus formation, explant elongation, root formation and embryo formation. The highest root formation rate (42.76%) and the highest embryo formation rate (20%) were obtained in the spring period in the combination of DE-4 (MS + 2 mg/L TDZ + 8 mg/L 2IP). The number of somatic embryos formed per explant is 0.83. 83% callus development was also observed in DE-2 (MS + 2 mg/L TDZ + 4 mg/L 2IP) medium.

Keywords: Fig, *Ficus carica* L., Sarılop, somatic embryogenesis, in vitro

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 ve ark., 1998, Tanrıver, 2019). 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. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO)'nın 2019 yılı üretim miktarları rakamlarına göre, Türkiye Dünya incir üretiminin yaklaşık 310,000 tonunu karşılayarak ilk sırada yer almıştır. Bu üretimi yaklaşık 177,000 ton ile Mısır takip ederken, yaklaşık 130,000 ton ile Fas üçüncü sırada yer almaktadır (Anonim, 2019).

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. Kuru incir (çoğunlukla Sarılop çeşidi) Ege'nin Aydın ilinden, taze incir ise Marmara ve Akdeniz bölgelerinden elde edilmektedir (Çalışkan, 2012). Sarılop, üretimi en fazla yapılan kurutmalık incir çeşididir. Ağaç 7-8 m yükseklikte, yayvan seyrek taç oluşturur. Eğimli büyüyen

***Sorumlu Yazar:** damla.turan@erdoqan.edu.tr Bu çalışma yüksek lisans tez ürünüdür ve Aydın ADÜ BAP birimi tarafından desteklenen ZRF-12035 numaralı yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Geliş Tarihi: 19 Ekim 2021

Kabul Tarihi: 08 Haziran 2022

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 ve ark., 2008).

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 üretilebilmektedir. 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 and Maheswaran, 1986, Horstman et al., 2017).

İncir çeşitlerinde doku kültürüyle üretim üzerine yapılan araştırmalarda, çoğunlukla meristem kültürü (Günver ve Ertan, 1998, Demiralay ve ark., 1998, Çömlekçioğlu, 2003, Hepaksoy ve Aksoy, 2008) olmak üzere; sürgün ucu kültürü ve mikro çoğaltım (Saiju et al., 1995; Özalp, 1998, Kumar et al., 1998, Nobre and Romano, 1998, Fraguas et al., 2004, Pasqual and Ferreira, 2007, Edremit ve ark., 2012, Taha ve ark., 2013, El-Dessoky et al., 2016, Shahcheraghi and Shekafandeh, 2016) çalışmaları yapılmıştır. Bununla birlikte; enzim üretimi ve kallus kültürü (Nassar and Newbury, 1987, Ferreira et al., 2007), uygulanan kültür koşulları ve kullanılan besin ortamlarının tip ve konsantrasyonu gibi faktörlerin etkilerinin incelendiği (Corrales et al., 1998; Mustafa and Rania, 2012, Qrunfleh et al., 2013) araştırmalar da yapılmıştır. Gelişen teknolojik imkanlar dahilinde incirde yaprak eksplantlarının kullanıldığı (Yakushiji et al., 2003; Kim et al., 2007, Soliman et al., 2010; Dhage et al., 2012, Mitrofanova et al., 2019) klonal üretime ve genetik aktarıma yönelik birçok çalışma göze çarpmaktadır.

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.

MATERYAL ve METOT

2011-2013 yılları arasında yürütülen çalışmada materyal olarak, Aydın Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Koleksiyon Bahçesinde bulunan 10 yaşlı Sarılop incir çeşidi

ağaçlarından alınan tepe tomurcukları kullanılmıştır. Sonbahar ve ilkbahar Kasım ve Nisan aylarında olmak üzere 2 kez tekrarlanan denemenin her birinde tek bir ağaçtan 100 adet tepe tomurcuğu alınmıştır.

Tepe tomurcuklarını içeren 2-3 cm boyundaki sürgünler öncelikle akan çeşme suyu altında 20 dakika tutulmuş ve bunu takiben laminar kabine alınarak yüzey sterilizasyonu için sırasıyla %70'lik etil alkolde 1 dakika, 1-2 damla Tween 80 içeren %40'lık ticari sodyum hipoklorid solüsyonunda 20 dakika bekletilmiştir. Ardından da 3 kez 5'er dakika boyunca steril saf su ile durulanmıştır (Hepaksoy ve Aksoy, 2008).

Eksplant kaynağı in vitro sürgünlerin elde edilmesi Denemelerde kullanılan yaprak eksplantlarının eldesi için steril edilen tepe tomurcukları MS (Murashige and Skoog, 1962) besin ortamında kültüre alınmıştır. Tomurcuk sürdürme ortamı; MS ortamına 0.1 mg/L GA3 (giberellik asit), 0.1 mg/L IBA (indole-3-butyric asit) 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'ı 5.7'ye ayarlanmıştır (Hepaksoy ve Aksoy, 2006). Hazırlanan besin ortamı ve kavanozlar otoklavda (Hirayama 25 L) 121°C için 1 atmosfer basınç altında ön vakumlu olarak 20 dakika sterilize edilmiş ve besin ortamları steril kabin içerisinde steril kavanozlara dökülerek soğutulmaya bırakılmıştır.

Yüzey sterilizasyonunun ardından 3-5 mm büyüklüğünde tepe tomurcukları izole edilerek, her petride 6'şar adet olacak şekilde hazırlanan sürgün geliştirme ortamında her deneme başlangıcında (sonbahar ve ilkbahar dönemleri) kültüre alınmıştır (Şekil 1.).

Tüm kültürler 16 saat fotoperiyotta, 30 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde ve 24±2 °C'ta iklim odasında tutulmuştur.

In vitro yaprak eksplantlarının hazırlanması

Süren tomurcuklardan elde edilen yapraklar 1cm² büyüklüğünde kesilerek, Çizelge 1.'de verilen farklı tip ve konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicilerini içeren (Soliman et al, 2010) MS besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Her bir uygulama için 6 eksplant içeren 5 petri kullanılmıştır. Kültürler 4 haftalık aralıklarla 3 kez alt kültür edilmiştir.

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.



Şekil 1. Sürgün uçlarının kültüre alınışı ve elde edilen yaprak eksplantları

Çizelge 1. 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

BULGULAR ve TARTIŞMA

İndirekt Somatik Embriyogenesis Çalışmaları

Sonbahar denemesinde gelişen yaprak eksplantları 1 cm² 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. İlkbahar dönemi denemesinde de 2 hafta sonra kallus oluşumu başlamıştır. Sonbahar ve ilkbahar dönemlerinde kallus geliştirme ortamlarında 4 hafta süreyle kalan yaprak eksplantlarındaki kallus oluşma yüzdeleri, Çizelge 2'de verilmiştir.

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 et al., (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. Mitrofanova et al. (2019) 1.5-3.0 mg/L 2,4-D ve 3.0-4.0 mg/L TDZ içeren MS besin ortamlarında 'Belyiy Ranniy', 'Sabrutsiya Rozovaya' ve 'Violette' incir çeşitlerinde in vitro genç bitkilerin yaprak eksplantlarında morfojenik kallus, somatik embriyo oluşumu ve fide gelişimi induksiyonu gözlemlemiş, fidelerin %60-90'ı somatik embriyolardan rejenerasyon edilmiştir.

Direkt Somatik Embriyogenesis Çalışmaları

Kasım ayı sonunda dikilen tepe tomurcuklarından gelişen yapraklardan 1 cm² büyüklüğünde kesilen yaprak segmentleri, direkt somatik embriyogenesis geliştirme ortamında (DE-1, DE-2, DE-3, DE-4) kültüre alınmıştır. Farklı dönem ve farklı ortamlara göre değişkenlik gösteren kalluslanma oranlarının varyans analiz sonuçlarına göre ortalamalarının karşılaştırmaları Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 2. 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	İlkbahar Dönemi	
K-1	46.67 (43.97)	56.66 (48.89)	51.66 (45.97) a
K-2	53.33 (46.94)	80.00 (66.254)	66.66 (56.60) a
K-3	16.66 (18.92)	36.66 (37.21)	26.66 (28.06) b
K-4	53.33 (46.94)	70.00 (57.25)	61.66 (52.09) a
LSD (0.05)	Ö.D		17.285*
Dönem ort.	42.50 (38.97) b	60.83 (52.40) a	
LSD (0.05)	12.223*		

Ö.D: Önemli değil *: $p=0.05$ 'e göre önemli Parantez içerisindeki değerler logaritmik olarak transforme edilmiş halidir.

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

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

Ö.D: Önemli değil *: $p=0.05$ 'e göre önemli Parantez içerisindeki değerler logaritmik olarak transforme edilmiş halidir.

Çizelge 3'te görüldüğü gibi, ilkbahar ve sonbahar dönemlerinde direkt somatik embriyo 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 2iP) 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 et al., (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 iP içeren MS ortamında elde etmişlerdir.

Denemenin 2. ilkbahar döneminde, direkt somatik embriyo teşvik ortamlarında (DE-1, DE-2, DE-3, DE-4) kültüre alınan ve boyları iki katına ulaşan eksplantların yarısı, kesilerek 10 gün süre ile somatik embriyo teşvik ortamı-2'ye (DE-5) konulurken; diğer yarısı aynı direkt somatik embriyo teşvik ortamında alt kültüre alınmıştır. 10 gün sonra eksplantlar, büyüme düzenleyici içermeyen somatik embriyo geliştirme ortamında (DE-0) alt kültüre alınmıştır. İki hafta sonra yapılan gözlemlerde, 10 gün somatik embriyo teşvik ortamı-2'de (DE-5) kalan eksplantlarda organogenesis yoluyla kök

oluşumlarına rastlanmıştır. İlerleyen haftalarda köklerde uzama ve dallanma şeklinde gelişme gerçekleşmiştir (Şekil 2). Direkt somatik embriyogenesis teşvik ortam içeriklerine göre kallus ve kök oluşturma yüzde değerleri ile kök sayıları varyans analizi yapılarak istatistikî açıdan incelenmesi Çizelge 4'te verilmiştir.

Buna göre en çok kalluslanma %80 ile DE-3 (MS + 2 mg/L TDZ + 6 mg/L 2iP) 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 2iP) 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 oluşturdıkları 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.



Şekil 2. Direkt somatik embriyo geliştirme ortamlarında (DE-4) 3.hafta kültürlerinde yaprak eksplantlarında kök gelişimi (aynı besin ortamı içeren petriden farklı görüntüler)

Çizelge 4. Direkt somatik embriyogenesis teşvik ortam içeriklerine göre kallus ve kök oluşturma yüzde 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 Parantez içerisindeki değerler logaritmik olarak transforme edilmiş halidir.

Yakushiji et al. (2003) incirin (*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 et al., (2007), Woody Plant Medium (WPM) ortamına ilave edilen 2 mg/L NAA ve 8 mg/L GA3 birlikte kullanıldığında, kök uzunluğu ve kök kuru madde ağırlığı üzerinde artırıcı etkilerde bulunduğunu bildirmiştir. Shahcheraghi and

Shekafandeh, (2016) incirlerde sürgünlerin köklenmesi için MS/2 ortamı ve çeşitli konsantrasyonlarda Indol-3-butirik asit (IBA) (0, 0.5, 1 veya 1.5 mg/L) kullanmıştır. Sonuçlar, alt kültürler arttıkça sürgünlerin arttığını göstermiştir. Direkt somatik embriyo teşvik ortamından (DE-1, DE-2, DE-3, DE-4), büyüme düzenleyicisi içermeyen ortama (DE-0) aktarılan 2 haftalık kültürlerde yapılan gözlemlerde somatik embriyo yapıları görülmüştür (Şekil 3).



Şekil 3. Yaprak eksplantlarında oluşan embriyonik yapılar (aynı besin ortamı içeren petriden farklı görüntüler)

Direkt embriyo teşvik ortamlarına göre gerçekleşen embriyo oluşum oranı ve sayıları Çizelge 5'te verilmiştir. DE-4 (MS + 2 mg/L TDZ + 8 mg/L 2İP) ortamının 5 farklı tekrürü 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 et al. (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 oranını %98.93 olarak belirlemiş olup, bu embriyoların %17'sinin iyi gelişmiş kotiledon safhasındaki embriyolar olduğunu bildirmiştir.

Çizelge 5. DE-4 Direkt embriyogenesis teşvik 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
Ortalama (%)	20.00	0.83

SONUÇ

Türkiye’de özellikle Ege Bölgesi’nde Aydın yöresinde yetiştirilen, çok iyi kalitede standart kurutmalık incir çeşidi olan Sarılop çeşidinde yapılan bu çalışmada, yaprak segmentlerinden direkt ve indirekt somatik embriyogenesis için en uygun koşulların belirlenmesi amaçlanmıştır. İndirekt ve direkt somatik embriyogenesis çalışmaları, sonbahar ve ilkbahar olmak üzere 2 dönemde yapılmıştır.

Tüm ortam kombinasyonlarında kallus gelişmesi görülürken, ilkbahar dönemindeki direkt embriyogenesis denemelerinde, kök oluşumu ve embriyo gelişimi de gözlenmiştir.

En yüksek kök oluşum oranı (%42.76) ve embriyonal gelişim (%20), DE-4 (MS + 2 mg/L TDZ + 8 mg/L 2iP) ortamında olmuştur. Bu çalışmada DE-4 besin ortamında 2iP’in dozunun artması kök oluşumunu artırmış ve somatik embriyo oluşumunu teşvik etmiştir.

İncirde yapılmış çalışma sayısı oldukça az olan ve Sarılop 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 döneminde 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.

TEŞEKKÜR

Aydın ADÜ BAP birimi tarafından desteklenen ZRF-12035 numaralı yüksek lisans tezinden üretilmiştir. Destekleri için teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Anonim (2019) <http://www.fao.org>. Dünya incir üretim miktarları kayıtları, Erişim Tarihi: 25.09.2021
Agarwal S, Kanvar K, Sharma DR (2004). Factors Affecting Secondary Somatic Embryogenesis and Embryo

Maturation in *Morus alba* L. *Scientia Horticulturae*, 102 359–368.

- Corrales-Lopez M, Gella R, Marin JA, Toribio F, (1998). Elimination of Fig Mosaic from Fig Shoot-Tip Cultures by Thermothe rapy. *Acta Horticulturae*, 480: 173-178.
- Çalışkan O (2012). Türkiye’de Sofralık İncir 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. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Demiralay A, Yalcin-Mendi Y, Aka-Kacar, SY, Cetiner S (1998). In vitro Propagation of *Ficus carica* L. var. Bursa Siyahı Through Meristem Culture. *Acta Horticulturae*, 480:165-7.
- Dhage SS, Pawar BD, Chimote VP, Jadhav AS, Andkale AA (2012). In vitro Callus Induction and Plantlet Regeneration in Fig (*Ficus carica* L.). *Journal of Cell and Tissue Research* vol. 12(3) 3395-3400.
- Edremet NF, Açıkgöz S, Gurel A, Hayta Ş (2012). Production of Virus-Free Fig Plantlets by Shoot Tip Culture and Thermotherapy and Virus Detection of in vitro Plantlets Through RT-PCR. *Uluslararası Gıda Tarım ve Gastronomi Kongresi*, (15-19 Şubat 2012), Antalya.
- El-Dessoky S, Dessoky Attia O, Attia, El-Awady A. M. Mohamed (2016). An Efficient Protocol for in vitro Propagation of Fig (*Ficus carica* sp) and Evaluation of Genetic Fidelity Using RAPD and ISSR markers. *J App Biol Biotech*. 4 (04): 057-063. DOI: 10.7324/JABB.2016.40406
- Fraguas BC, Pasqual M, Dutra FL, Cazerra OJ (2004). Micropropagation of Fig (*Ficus carica* L.) Roxo de Valinhos Plants. *In Vitro Cell. Dev. Biological-Plant*, 40: 471–474.
- Ferreira EA, Pasqual M, Rezende JC (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, Soylu A. (2008). Genel Meyvecilik. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- Günver G, Ertan E (1998). A Study on the Propagation of Figs by the Tissue Culture Techniques. *Acta Horticulturae*, 480: 169-172.
- 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. Sarılop Clone Selected For Its High Performance. *Acta Horticulturae* 798: 199-204.
- Horstman A, Bemer M, Boutilier K (2017). A Transcriptional View on Somatic Embryogenesis. *Regeneration*;4:201–216. <https://doi.org/10.1002/reg2.91>
- Kim K, Kim MY, Yun PY, 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.
- Mitrofanova IV, Lesnikova-Sedoshenko NP, Brailko VA, Kuzmina T.N, Chelombit SV, Shishkina EL, Mitrofanova, OV (2019). Realization of *Ficus carica* L. Morphogenic Capacity via Organogenesis and Somatic Embryogenesis in vitro. *Acta Hortic.* 1255, 69-76.
- Murashige T, Skoog F (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plant*, 15: 473-497.
- Mustafa NS, Rania AT (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 AH, Newbury HJ (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.
- Özalp S (1998). Sarılop İncir Çeşidinin Doku Kültürü Yolu İle Üretilmesi Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi, Yüksek lisans tezi (Basılmamış), İzmir.
- Qrunfleh IM, Shatnawi MM, Zakaria I, Al-Ajlouni ZI (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 EA (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.
- Saiju HK, Malla SB, Rajbhandary SB (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.
- Shahcheraghi ST, Shekafandeh A (2016). Micropropagation of Three Endemic and Endangered Fig (*Ficus carica* L.) Genotypes. *Adv. Hort. Sci.*, 30(3): 129-134
- Soliman IH, Gabr M, Abdallah N (2010). Efficient Transformation and Regeneration of Fig (*Ficus carica* L.) via Somatic Embryogenesis. *Landes Bioscience* 1:1, 47-58.
- Taha RA, Mustafa NS, Hassan SA (2013). Protocol for Micropropagation of Two *Ficus carica* Cultivars. *World Journal of Agricultural Sciences* 9 (5): 383-388.
- Tanriver E (2019). Fig Production and Germplasm in Turkey. *Modern Fruit Industry* pp:1-9. Intech open Yakushij 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 EG, Maheswaran G (1986). Somatic Embryogenesis Factors Influencing Coordinated Behaviour of Cells as an Embryogenic Group. *Annals of Botany*, 57, 443-462.

