



İncirde (*Ficus carica* L.) *in vitro* doku kültürü tekniklerinin uygulanma potansiyelinin değerlendirilmesi

Evaluation of the application potential of *in vitro* tissue culture techniques in fig (*Ficus carica* L.)

Altın Kardelen Abacı¹ , Begüm Güler^{2,*} , Aynur Gürel³ 

¹ Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, 35040, İzmir Türkiye

² Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, 40100, Kırşehir, Türkiye

³ Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, 35040, İzmir Türkiye

Öz

İncir, çoğunlukla Akdeniz bölgesinde yetişen ve insanlık tarihinin bilinen en eski ıslah edilen meyve türlerinden biri olarak bilinir. Ticari değeri yüksek olan incirin, iklim ve ekolojik istekleri nedeniyle dünyada az sayıda ülkede üretimi yapılabilmektedir. Dünya ülkeleri içinde gerek kuru incir gerekse de taze incir üretiminde Türkiye ilk sırada yer almaktadır. İncir tohumlarının cansızlığı ve ayrıca üretimde yaşanan çeşitli problemlerden ötürü araştırmacılar farklı üretim yöntemlerini tercih etmişlerdir. Bitki doku kültürü teknikleri bu yöntemler arasında iyi bir alternatif olmuştur. Doku kültürü yöntemleri ile çoğaltım; mevsimsel ve diğer çevresel koşullardan bağımsız, yüksek kaliteli, hastaliksız incir üretimine olanak vermesi nedeniyle yüksek avantajlar sağlamaktadır. Bugüne kadar birçok araştırmacı tarafından incir bitkisinde mikroçoğaltım, somatik embriyogenez, kallus kültürü, hastaliksız bitki üretimi (meristem kültürü), protoplast kültürü ve *in vitro* seleksiyon ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla gerçekleştirilen araştırmalarda sürgün ucu, nod, gövde, yaprak ya da meristem başta olmak üzere farklı eksplant kaynakları kullanılmıştır. Bu derlemede, ekonomik öneme sahip olan *Ficus carica* L. türünde *in vitro* koşullarda farklı uygulama alanlarında yapılan çeşitli çalışmalar incelenerek elde edilen sonuçların irdelenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Ficus carica* L., İncir, Bitki doku kültürü teknikleri, *In vitro*

Abstract

Figs are known as one of the oldest known breeds of fruit in the history of mankind, mostly grown in the Mediterranean region. Fig, which has a high commercial value, can be produced in a few countries in the world due to its climate and ecological demands. Turkey is in first place in the production of both dried and fresh figs among the countries of the world. Researchers have preferred different production methods due to the lifelessness of fig seeds and various problems experienced in production. Plant tissue culture techniques have been a good alternative among these methods. Propagation by tissue culture methods provides high advantages as it enables high quality, disease-free fig production independent of seasonal and other environmental conditions. To date numerous studies have been carried out by many researchers on micropropagation, somatic embryogenesis, callus culture, disease-free plant production (meristematic culture), protoplast culture and *in vitro* selection in fig plants. In the studies accomplished for this purpose, different explant sources, especially shoot tip, node, stem, leaf or meristem were used. In this review, it is aimed to examine the results obtained by examining various studies conducted in different application areas under *in vitro* conditions on the economically important *Ficus carica* L. species.

Keywords: *Ficus carica* L., Fig, Plant tissue culture techniques, *In vitro*

1 Giriş

Kökü Anadolu'da insanlık tarihi kadar eski dönemlere dayanan incir, kültür meyveleri arasında en eski gelişim tarihine sahip olan meyve türlerinden biridir. İncirin anavatanı Türkiye olup, buradan önce Filistin ve Suriye'ye, daha sonra Ortadoğu üzerinden Hindistan ve Çin'e yayılmıştır [1]. Botanik ismi *Ficus carica* L. olan incir, *Moraceae* (Dutgiller) familyasına ait ağaç ya da ağaççık formunda bir bitki türüdür. İncir meyvesi, Anadolu ve özellikle Ege'de binlerce yıllık bir geçmişe sahip olmakla birlikte, adını Ege Bölgesindeki antik yerleşim alanı Caria'dan almıştır [2].

Ficus, dünya çapında tropikal ve alt tropikal bölgelerde bulunan 800'den fazla odunsu ağaç, epifit ve çalı türü ile en büyük kapalı tohumlu (Angiosperm) cinslerinden birini oluşturmaktadır [3]. Yüksekliği 3-10 metre arasında değişen, çok dallı, yaprak döken, küçük dioik ağaçlardır. Dallanması düz, kabuğu grimsi kahverengidir. Yaprakları; alternat, genellikle 3-5 oval loblu (palmat loblu) genişlemiş oval biçiminde ve tıpkı kalın bir kâğıt gibidir. 2-5 cm uzunluğunda güçlü yaprak sapı vardır. 10-20 cm uzunluk ve genişliğindeki laminanın tabanı kalp şeklindedir [4]. *Ficus carica* L.'nin 'erkek' yabani incir (caprifig-kaprifig) ve dişi incir (yenilebilir incir) olmak üzere 2 eşeysel formu bulunmaktadır. Yabani incir, bir evciklidir (monoik) ve bünyesinde ayrı erkek (stamen) çiçekler ile ayrı dişi (pistil)

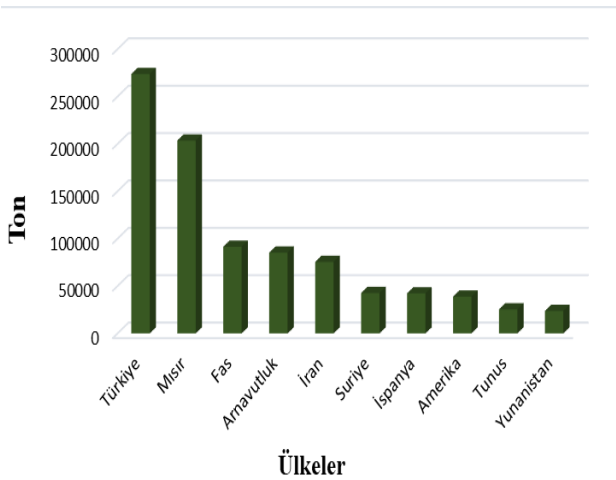
* Sorumlu yazar / Corresponding author, e-posta / e-mail: begum.guler@ahievran.edu.tr (B. Güler)

Geliş / Recieved: 15.09.2023 Kabul / Accepted: 16.10.2023 Yayınlanma / Published: 15.01.2024

doi: 10.28948/ngumuh.1360362

çiçekleri bulundurmaktadır. Erkek çiçek işlevsel olarak polen üretmektedir. Yenilebilir incirler sadece uzun biçimli dişi çiçekler içermektedir. İşlevsel olarak erkek ağaçlar hermafrodit olduğundan, *Ficus carica* L. genellikle iki evcikli (dioik) yerine ginodioik (bazı bireylerinde yalnızca dişi çiçek, diğerlerinde ise karma eşeyli çiçek bulunması) olarak kabul edilmektedir [5, 6]. Meyve eti, yumuşak ve tatlıdır. Olgunlaşmış meyvelerindeki kabuk; saydam, parlak, esnek ve etten kolayca ayrılabilir niteliktedir. Rengi çeşidine göre yeşil, yeşilimtırak sarı, açık veya koyu mordur [7].

Pek çok besleyici özelliği bulunan incirin günümüzde yüksek miktarda tüketiminden dolayı, dünya çapında önemli bir ekonomik rolü mevcuttur [8]. Dünya genelinde hem kuru hem de taze olarak tüketilen incir meyvesi, genellikle kurutulduktan sonra pazarlanmaktadır [9]. Son veriler ışığında, dünya çapında incir ağaçlarının dikili olduğu alan 289.818 hektarı aşmakta olup tahmini üretim 1.315.588 tondur [10]. FAOSTAT'dan alınan verilere göre, 1994-2020 yılları arasında en önemli incir üreticisi ülkeler arasında bulunan Türkiye, sahip olduğu zengin incir genetik kaynakları ve farklı ekolojik koşulları barındırması nedeniyle ilk sırada yer almaktadır (Şekil 1) [11, 12]. Türkiye'yi ise Mısır, Fas, Cezayir, İran ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD) takip etmektedir [13]. Ülkemiz, 2020 yılında başta Ege, Marmara ve Akdeniz bölgeleri olmak üzere 53.694 ha alanda yıllık 320.000 metrik ton üretimle dünyanın en büyük yaş ve kuru incir üreticisi konumunda olmuştur [14]. Türkiye, incirin genetik kaynağı açısından zengin bir çeşitlilik barındırmaktadır. Bu kaynağı, 272 adet dişi ve 58 adet erkek incir genotipi veya çeşidi oluşturmaktadır. Ülkemiz, ayrıca dünya çapında kaliteli kurutulmuş incir üretim merkezi konumundadır [15]. Türkiye'de yetiştirilen ve ihracatı yapılan en önemli taze ve kurutulmuş incir çeşitleri sırasıyla 'Sarılop' ve 'Bursa siyahı'dır. Üretilen kuru incirin büyük çoğunluğunu oluşturan 'Sarılop' çeşidi, Aydın ve İzmir illerinin sahip olduğu uygun iklim koşullarına optimum şekilde uyum sağlamaktadır [16].

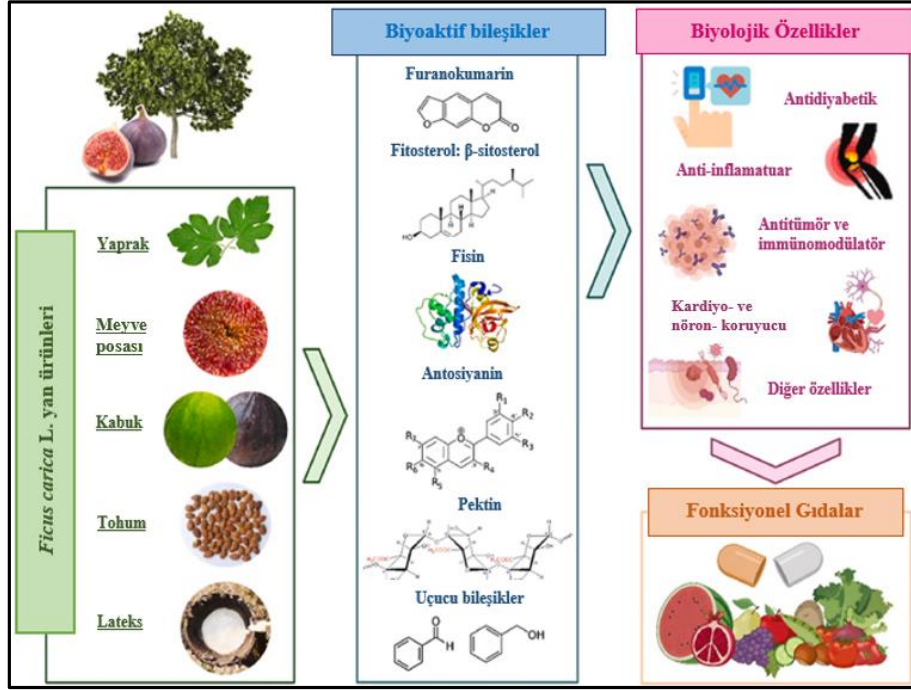


Şekil 1. 1994-2020 yılları arasında dünyanın en önemli incir üreticisi ülkeleri ve üretim miktarları (ton) [12].

Geleneksel tıpta, incir ağaçlarının yaprakları, meyveleri ve kökleri; solunum, kardiyovasküler ve gastrointestinal sistemler başta olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır [17]. İncirde bulunan C vitamini, tokoferol, karotenoid ve fenolik gibi antioksidan özelliğe sahip bileşikler; kanserojenlerin metabolik aktivasyonu ve detoksifikasyonu üzerinde etki göstererek tümör hücrelerinin gelişimini engellemekte, ayrıca yaşlanma ile ilgili nörokimyasal değişiklikleri önleyebilmektedir. Yapılan çalışmalar, fenolikler açısından zengin meyvelerin kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar üzerinde etkili olduğunu ve kanser kökenli ölüm oranlarını azalttığını göstermiştir [18]. *Ficus carica* L. yan ürünleri (yaprak, meyve posası, kabuk, tohum, lateks); fenolik bileşikler, uçucu bileşikler, pektin veya fisin dahil olmak üzere farklı biyoaktif bileşikler içerirler. Bu bileşikler, yeni fonksiyonel gıdaların geliştirilebilmesi açısından çeşitli biyolojik özelliklere sahiptirler (Şekil 2) [19]. İncirler, içerdikleri çok sayıda amino asit ile mükemmel bir mineral, vitamin ve diyet lifi kaynağıdır [20]. Ayrıca incir, vücudun kendisinin üretilmediği bundan dolayı dışarıdan alınması gereken fitosterol maddesini, omega-3 ve -6 gibi yağ asitlerini yoğun bir şekilde içermektedir [16]. Günlük olarak tüketilen 100 g kuru incir (4-6 adet), Avrupa Birliği 90/496 No.lu direktifine göre günlük protein ihtiyacının %7'sini, enerji ihtiyacının %10'unu, kalsiyumun %17'sini, potasyumun %18'ini, fosforun %20'sini, demir ile magnezyumun %30'unu, B1 vitamininin (Thiamin) %5.2'sini ve B2 vitamininin (Riboflavin) ise %4.5'ini karşılayabileceği belirtilmiştir [21].

Yetiştiriciliği yapılan birçok üründe olduğu gibi incir bahçelerinde ve fidanlıklarında, bitki sağlığı açısından çeşitli sorunlarla karşılaşmaktadır [22]. İncir mozaik hastalığı gibi çeşitli virüs hastalıkları üretimin her aşamasında tehdit oluşturmaktadır [23]. Hasadının insan gücü gerektirmesi ve çeşitli patojenlerden kaynaklanan bitki sağlığı sorunları nedeniyle incir üretimi sınırlı olmaktadır. Bu nedenle, dikili alanların son zamanlarda kademeli olarak yok olduğu görülmektedir [24]. Bunlara ek olarak, dişi çeşitlerin ihtiyaçlarına göre seçilmiş tozlayıcıların eksikliği ve bunların tarlada çoğaltılmasının zorluğu gibi önemli sıkıntılar da bulunmaktadır [23].

İncir tohumlarının cansızlığı nedeniyle eşeyli üretim tercih edilmemekte, vejetatif çoğaltım için ise çelikleme, aşılama ve daldırma gibi yöntemler kullanılmaktadır. Ancak büyük ölçekli üretim için çok sayıda çelik materyaline ihtiyaç duyulmakta ve zayıf köklenme nedeniyle çeliklerin sadece %20-30'u hayatta kalmaktadır. İncir ile yapılan *in vitro* çalışmalar da çoğunlukla incir mozaik virüsü içermeyen bitki materyalinin üretimine yönelik olarak tekli-sürgün ucu eksplantlarının uzamasıyla sınırlı kalmıştır [25]. Bütün bu sebepler, yerel üretimi ve ulusal incir kaynaklarının korunmasını teşvik etmek için incirin çoğaltılmasına yönelik yüksek performanslı ve verimli prosedürlerin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır [26].



Şekil 2. *Ficus carica* L'nin yan ürünlerinin fonksiyonel gıda üretiminde kullanımı [19].

Bitki doku kültürü teknikleri, odunsu bitkilerin çoğaltılması ve ıslahında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak cansız tohum sorunu nedeniyle, özellikle sürgün ve kök induksiyonu için bitki büyüme düzenleyicilerinin yardımıyla bitkinin çeşitli kısımlarından alınan eksplantlar kullanılarak çoğaltım oranını artıracak doku kültürü tekniklerine ihtiyaç bulunmaktadır [27]. Bitki doku kültürü teknikleri kullanılarak farklı incir çeşitlerinde gerçekleştirilen birçok çalışmadan olumlu bulgular elde edilmekle birlikte, özellikle çoğaltım protokolünü optimize etmek ve çeşitli biyoteknoloji araştırmalarını desteklemek konusunda literatürde eksiklikler bulunmaktadır. Bu makalede, dünya çapında çeşitli amaçlara yönelik olarak *in vitro* koşullarda *Ficus carica* L. türünde ve diğer *Ficus* çeşitlerinde gerçekleştirilen bitki doku kültürü tekniklerine ilişkin araştırma sonuçlarının bir incelemesi sunulmuştur.

2 İncir bitkisinde *in vitro* doku kültürü çalışmalarında kullanılan besin ortamları ve içerikleri

Bitki doku kültürü teknikleri; laboratuvarında kontrollü aseptik koşullar altında bütün bitki, organ, doku veya hücrelerin yetiştirilmesine olanak tanımaktadır. Doku kültürü sistemi, temel besin ortamı yoluyla çeşitli bitki eksplantlarının büyüme ve gelişmesi için gerekli tüm besinleri, enerjiyi ve suyu sağlamaktadır [28]. Kültürde bir eksplantın büyümesi, gelişmesi ve morfogenez tepkisi; genetik yapısına, çevre koşullarına ve besin ortamının bileşimine bağlıdır. Bir bitki doku kültürü çalışmasının başarısı, büyük ölçüde uygun besin ortamının seçimi ile ilişkilidir [29].

İncir bitkisinde mikroçoğaltım dahil olmak üzere doğrudan ya da dolaylı organogenez ve somatik embriyogenez yollarıyla *in vitro* rejenerasyonun yanı sıra

meristem, protoplast, saçaklı kök kültürleri ve *in vitro* seleksiyon tekniklerinin kullanımıyla gerçekleştirilen çeşitli *in vitro* doku kültürü çalışmalarında, çoğunlukla Murashige ve Skoog (MS) besin ortamının kullanıldığı, bunu Odunsu Bitki Ortamı (WPM, Woody Plant Medium) ile Gamborg (B5) besin ortamının takip ettiği belirlenmiştir. Ayrıca Knudson, White (WH), LS (Linsmaier ve Skoog), Quoirin ve Lepoivre (QL), Zeytin Ortamı (OM, Olive Medium) ve Ceviz Ortamı (DKW, Driver Kuniyuki Walnut) besin ortamlarının da çeşitli denemelerde test edildiği saptanmıştır (Tablo 1-7).

Orkide tohumlarının *in vitro* koşullarda asimbiyotik çimlenmesinin keşfedilmesi ile Knudson tarafından mineral ve şeker içeren oldukça basit bir besin ortamı geliştirilmiş ve orkide doku kültürünün temeli atılmıştır [30]. 1946 yılında Knudson tarafından tanımlanan Knudson C Orchid besin ortamı, orijinal olarak *Cymbidium* orkide tohumlarının *in vitro* çimlenmesini sağlamak için geliştirilmekle birlikte, diğer bitki türleri için de kullanılabilir. Besin ortamı içerisindeki potasyum dihidrojen fosfat, fosfat kaynağı, amonyum sülfat ve kalsiyum nitrat ise azot kaynağı olarak işlev yapmakta ve tohumların çimlenmesi teşvik edilmektedir. Bununla birlikte magnezyum sülfat, fotosentezi ve hücre farklılaşmasını desteklemekte, mangan ve demir gibi mikro elementler de metabolizmayı geliştirerek çimlenmeye yardımcı olmaktadır [31]. Bitki doku kültürlerinde en yaygın olarak kullanılan besin ortamı Murashige ve Skoog tarafından 1962'de geliştirilen MS besin ortamıdır. MS besin ortamı; Ca, Mg, N, K, S ve P gibi makro besin elementleri; Cu, Co, Mo, Mn, Na ve Zn gibi mikro besin elementleri, vitaminler, organik madde elementleri ve karbon kaynakları dahil olmak üzere bitki rejenerasyonunu başlatmak için yeterli besinleri

içermektedir [32]. 1963 yılında White tarafından domates köklerinin elde edilmesi için oluşturulan White besin ortamı, kök kültürüne yönelik eski bir bitki doku kültürü ortamı olarak bilinmektedir. Bu besin ortamı oldukça düşük bir tuz konsantrasyonuna ve daha yüksek bir $MgSO_4$ konsantrasyonuna sahiptir. Ayrıca nitrat konsantrasyonu, MS besin ortamına göre %19 civarında daha azdır [33]. Linsmaier ve Skoog tarafından 1965 yılında geliştirilen LS besin ortamı, ilk olarak tütün kültürlerinin organik takviyelerini optimize etmek için kullanılmıştır. İnositol, bitkilerin primer ve sekonder metabolizmasında yer alan, glikoliz ve trikarboksilik asit döngüsünde enzimatik bir kofaktör olarak işlev görmektedir. LS besin ortamı, MS besin ortamına benzer bileşenlere sahiptir. Ancak Linsmaier ve Skoog, artan tiamin hipoklorit konsantrasyonu (0.1 mg/L yerine 0.4 mg/L) ile MS besin ortamında inositol hariç vitamin eksikliğinin telafi edildiğini belirtmişlerdir [33]. 1968'de Gamborg tarafından geliştirilen B5 besin ortamı ise makro ve mikro elementler, vitaminler, kalsiyum klorür ve potasyum iyodür içeren ve bitki doku kültüründe yaygın olarak kullanılan diğer bir besin ortamıdır [32]. *Prunus* türü bitkicikler, Quoirin ve Lepoivre tarafından tanımlanan QL besin ortamında kök kallusundan yeniden rejener edilmişlerdir. Kalluslar, 6-benzilaminopürin (BAP) ve giberellik asit (GA_3) içeren meristem kültüründen türetilen bitkiciklerin köklerinden oluşturulmuştur. *Rosa hybrida* L. çeşitlerinin mikroçoğaltımı da bu besin ortamında gerçekleştirilmiştir. QL besin ortamı, MS'ye kıyasla birkaç farklılık içermektedir. Amonyum iyon konsantrasyonu güçlü bir şekilde azaltılırken, kalsiyum iyon konsantrasyonu artırılmış ve klor iyonları neredeyse elimine edilmiştir. Bu formülasyon, bitkilerde görülen vitrifikasyon (camsılaşma) sorunlarını önleyebilmektedir [34]. WPM (Woody Plant Medium), düşük iyon seviyeli, ancak yüksek miktarda sülfat içeren bir besin ortamıdır ve 1981 yılında Lloyd ve McCown tarafından odunsu bitkilerin doku kültürü için geliştirilmiştir [32]. Zeytin ortamı (OM, Olive Medium), 1984'te Rugini tarafından olgunlaşmış tohumlardan mineral elementlerin analiz edilmesiyle geliştirilmiştir ve zeytinin mikroçoğaltımı ile ilgili ilk çalışma Rugini tarafından rapor edilmiştir. OM besin ortamı, İtalya'da 50'den fazla zeytin çeşidi için ticari bitki üretiminde kullanılmıştır [35]. Driver ve Kuniyuki tarafından oluşturulan DKW besin ortamı, başlangıçta ceviz bitkisinde sürgün çoğaltımı ve kallus gelişimi için kullanılmıştır ve eksplant büyümesine yardımcı olan MS besin ortamına kıyasla daha yüksek konsantrasyonda kalsiyum elementine sahiptir [32].

Bitki doku kültürü çalışmalarında hem katı hem de sıvı besin ortamları kullanılabilir. Besin ortamının bileşimi, özellikle de bitki büyüme düzenleyicileri ve azot kaynağı, eksplant tepkisi üzerinde önemli etkilere sahiptir. Bitki büyüme düzenleyicileri, besin ortamında bitki hücrelerinin ve dokularının gelişim yolunun belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Oksinler, sitokininler ve giberellinler en yaygın olarak kullanılan bitki büyüme düzenleyicileridir. Kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerinin tipi ve konsantrasyonu, esas olarak bitki türüne, kültüre alınan doku veya organ tipine ve çalışmanın amacına bağlı olarak değişmektedir. Yüksek dozlardaki

oksin ve sitokininler sırasıyla kök oluşumunu ve sürgün rejenerasyonunu teşvik etmektedirler [36].

Oksinin kimyasal yapısının aydınlatılmasından sonra, yapı olarak indol-3-asetik asit (IAA)'e benzeyen birçok kimyasal bileşiğin bitkilerde oksin benzeri etkiler oluşturduğu belirlenmiştir. IAA dışında; indol bütirik asit (IBA), naftalin asetik asit (NAA), naftoksi asetik asit (NOAA), fenoksi asetik asit (FOAA), 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D), fenil asetik asit (FAA), parakloro fenoksi asetik asit (4-CPA) ve 2,4,5-triklorofenoksi asetik asit (2,4,5-T) vb. oksinler de mevcuttur. Sitokininler ise bitki dokularında özellikle hücre bölünmeleri esnasında ortaya çıkan kinin yapısındaki organik maddelerdir. Sitokininler iki ana gruba ayrılırlar: tiazuron (TDZ) olarak bilinen 1-fenil-3-(1,2,3-tiadiazol5-yl) üre ve N-(2-kloro-4-piridil) -N'-fenilüre (CPPU) gibi sentetik fenilüre türevleri ve kinetin (Kin), 6-benziladenin (BA) veya 6-benzilaminopürin (BAP) gibi doğal adenin türevleri. Sentetik fenilüre türevleri, özellikle TDZ, adenin türevlerinden daha yüksek aktiviteye sahiptir [37]. Spesifik bir sitokinin türü olan izopenteniladenin (ZIP), yaprak senesensini geciktirmede, kök büyümesini engellemede ve sürgün rejenerasyonunu desteklemede rol oynadığı gösterilmiştir [38].

Bazı bitki doku kültürleri çalışmalarında, büyümeyi teşvik etmek için besin ortamına organik katkı maddeleri de dahil edilebilmektedir. Bu katkı maddeleri arasında hindistancevizi suyu, muz posası, bal, patates, mısır ve papaya özütü bulunmaktadır [39]. Bitki doku kültürü çalışmalarında, *in vitro*'da daha iyi veya daha verimli bitki büyümesini sonuçlayan yeni bileşiklerin araştırılmasına sürekli gereksinim duyulmaktadır. Floroglusinol (PG, 1,3,5-trihidroksibenzen), nispeten bilinmeyen bir bileşik olan floridzinin bir bozunma ürünüdür ve büyümeyi teşvik edici özelliklere sahiptir. PG'nin, çeşitli bahçe ve tahıl bitkilerinde sürgün oluşumunu ve somatik embriyogenezini artırdığı bilinmektedir. Oksin ile birlikte köklendirme ortamına eklendiklerinde daha fazla köklenme uyarılmaktadır. Çünkü PG ve homologları, oksin sinerjistleri veya oksin koruyucuları olarak işlev görmektedir [40]. Bununla birlikte, yaygın olarak 6-aminopürin hemisülfat tuzu olarak bilinen adenin sülfat (Ads, $C_{10}H_{12}N_{10}O_4S$), bir pürindir ve sitokinin biyosentez yolağının öncüsü olarak görev yapmaktadır. Ads'nin bitki doku kültürü üzerindeki etkisi, genellikle benzilaminopürin veya kinetin gibi sitokininlerle birlikte kullanıldığında belirlenmeye çalışılmıştır [41].

İncir bitkisinde gerçekleştirilen *in vitro* doku kültürü çalışmalarında, sürgün rejenerasyonunu teşvik etmek için en fazla kullanılan sitokinin olan BAP'ı, Kin takip etmektedir. Az sayıda çalışmada ise TDZ ve ZIP'nin kullanıldığı belirlenmiştir. Çalışmalarda kök rejenerasyonunun teşvikinde en fazla kullanılan oksinler NAA ve IBA olmuştur. Daha az sayıdaki çalışmada, sırasıyla IAA ve 2,4-D'nin kullanıldığı saptanmıştır. İncirle ilgili çalışmalarda kombinasyon halinde en fazla kullanılan sitokinin ve oksinler; BAP+NAA veya Kin+IBA ya da NAA olarak belirlenmiştir. Kombinasyon halindeki bu bitki büyüme düzenleyicilerine ek olarak GA_3 'ün yanı sıra PG ve Ads de kullanılmıştır (Tablo 1-7).

İncir bitkisinde köklenme zordur ve çelikler büyük zorluklarla kök geliştirmektedir. Çeliklerin köklenme başarısında, özellikle kök uyarımını teşvik edici bitki büyüme düzenleyicileri önemli rol oynamaktadır. Oksinler, genellikle kök uyarımının yanı sıra aşılama işleminin başlatılmasında da önemli etkilere sahiptirler ve sitokinin tarafından indüklenen kök apikal baskınlığını kırarak kök oluşumunu indüklerler [42].

İncirde çeşitli alanlarda yapılan doku kültürü çalışmaları incelendiğinde, sürgün ucu eksplantlarının en fazla kullanılan eksplant tipi olduğu belirlenmiştir. Bunu, sırasıyla sürgün ucu meristemleri, yaprak ve nod eksplantları ile apikal ve aksiller (koltuk altı) tomurcuklar takip etmiştir. En az sayıda kullanılan eksplant tiplerinin ise tohum ve gövde eksplantları olduğu belirlenmiştir (Tablo 1-7).

3 İncir bitkisinde çeşitli amaçlara yönelik olarak kullanılan *in vitro* doku kültürü teknikleri

3.1 İncir bitkisinde mikroçoğaltım

Bitki doku kültürlerinde, uygun bir besin ortamı içerisinde aseptik *in vitro* kültür koşulları altında bitkinin tam bir bitki oluşturma yeteneğine sahip olan çeşitli eksplantlarından kısa sürede ve çok sayıda bitkiyi hızlı rejenerasyonla üretme yöntemi "mikroçoğaltım" olarak isimlendirilmektedir [43]. Ticari düzeyde mikroçoğaltım yöntemleri ilk olarak 1960 yılında George Morel tarafından orkide bitkilerinin üretimi için kullanılmıştır. Mikroçoğaltımda kültürün başlatılması için yaygın olarak kullanılan eksplantlar meristem, sürgün ucu ve aksiller tomurcuklardır. Sürgün apikal kısmı, meristem ve sürgün ucunda aktif olarak bölünen meristematik hücreler grubundan oluşmaktadır [44]. Bir yüzyıldan fazla süredir devam eden etkili biyoteknolojik yöntemlerle ilgili araştırmalara rağmen mikroçoğaltım tekniği, genetik aslına uygunluğu koruyan ve hastalık barındırmayan, klonal bitkiciklerin büyük ölçekli üretimi için önemini sürdürmeye devam etmektedir [45]. *In vitro* kültür teknikleri, yıl boyunca hızlı kitlesel üretimle tek tip bitkiler sağladığı için geleneksel çoğaltma yöntemlerine göre birçok avantajlara sahiptir [46]. Mikroçoğaltım, incirdeki çeşitli sorunların üstesinden gelmek üzere kullanılan doku kültüründeki en uygun tekniktir [25].

Yenilebilir incir (*Ficus carica* L.) meyveleri tozlaşmayla veya tozlaşma olmaksızın çoğaltılabilmektedir. Ancak, partenokarpik incir meyveleri çimlenmede kullanılmak için canlı tohumlar üretmemektedir [47]. Bununla birlikte, incirin tohumları temel olarak ıslah amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca çelikle çoğaltım, düşük köklenme yüzdelere neden olmakta ve bu nedenle çeliklerin sadece %20 ila 30'u hayatta kalmaktadır [48]. Klasik daldırma ve dip sürgün yöntemlerinde ise, sınırlı sayıda sürgün elde edilmesinden dolayı üretilen fidan sayısı düşük olmaktadır. Arazi koşullarında, ani sıcaklık değişimleri ve düşük nem gibi ekolojik koşullar çeliklerin büyümesini ve köklenmesini olumsuz etkilemekte, bu yöntemin üretimde kullanılabilmesi için ise toprağın hazırlanması ve uygun iklim koşullarının sağlanması kritik önem taşımaktadır. Üretim sırasında karşılaşılan en düşük stres koşulları bile üretim miktarını ve

maliyetini olumsuz etkileyebilmektedir. İncir fidanlıklarında üretimin kolay olduğu düşünülmektedir ancak bu sorunlar nedeniyle çelikler, yüksek köklenme yeteneğine sahip olsalar bile istenilen düzeyde başarı ve süreklilik göstermemektedir [49]. Brezilya, Güney Amerika'daki temel incir üretici ülkelerinden biridir. Ancak nematodları (*Meloidogyne*), akarları (*Eriophyes fici*) ve mozaik virüsünü (*Heterodera fici*) kontrol etmede zorluklar yaşanmaktadır. Bu nedenle, bu zorlukların üstesinden gelebilmek için çoğaltım tekniklerinin iyileştirilmesi gerektiği ifade edilmiştir [50, 51].

Çok sayıda ve kısa sürede dikime hazır hale gelen fide sorununu çözmek üzere incirde vejetatif çoğaltım tekniğine ihtiyaç duyulmaktadır [52]. İncir bitkisinin mikroçoğaltılması yoluyla patojensiz bitkicikler elde etmek mümkündür ve bu teknikle arzu edilen nitelikte ve kalitedeki başarılı bir ticari meyve bahçesinin, büyük ölçekli üretimi için temel gereksinimlerden biri olarak görülmektedir. Mikroçoğaltımın avantajlarının yanı sıra *in vitro* kültür, genetik transformasyonla elde edilen transgenik bitkiler üzerindeki araştırmaları da desteklemiştir [53]. Doku kültürü, bitki materyalinin yüksek çoğaltım oranlarıyla üretimini ve dolayısıyla germplazmanın uzun süreli depolanması için yeterli bitki materyalini sağlayan temel yöntemdir. Doku kültürü, korunan materyalin *in vitro* (hastaliksız) olarak muhafaza edilebilmesi, ülkeler arasında kolaylıkla değiş-tokuş edilebilmesi ve yenilenmiş olgun *F. carica* bitkiciklerinin üretilmesi için büyük avantajlar sunmaktadır [48].

İncir bitkisinin *in vitro* kültürü, en uygun ve etkili besin ortamının kullanımının yanı sıra, çeşit ve eksplant tipi ile başlangıç, çoğaltım, köklenme gibi farklı kültürleme aşamalarına bağlıdır. İncirin *in vitro*'da kültürü için MS ve WPM ortamı yaygın olarak kullanılmaktadır [53]. WPM besin ortamı, ekonomik olarak daha ucuz olmasının yanı sıra, özellikle ağaç ve odunsu türler için daha uygun olacak şekilde tasarlanmıştır [24].

İncir bitkisinde gerçekleştirilen birçok mikroçoğaltım çalışmasında, en fazla MS besin ortamının kullanıldığı, bunu WPM besin ortamının takip ettiği belirlenmiştir. İncirin mikroçoğaltımıyla ilgili yapılan diğer çalışmalarda ise LS, Knudson, B5'in daha az kullanılan besin ortamları olduğu anlaşılmaktadır (Tablo 1). İncirde *in vitro* koşullarda sürgün rejenerasyonunu teşvik etmek için en çok BAP (BA) ve Kin'in kullanıldığı, az sayıdaki çalışmada ise 2IP'nin test edildiği belirlenmiştir. Kök rejenerasyonu çalışmalarında ise en fazla kullanılan oksin tipleri sırasıyla NAA, IBA ve IAA olduğu saptanmıştır. İncirdeki mikroçoğaltım araştırmalarında en fazla kullanılan eksplant tiplerinin başında sürgün ucu eksplantı gelirken bunu nod eksplantları takip etmiştir. Bazı mikroçoğaltım çalışmalarında ise sürgün, sürgün ucu meristemi, yaprak, aksiller tomurcuk ve gövde eksplant tiplerinin de kullanıldığı Tablo 1'den de görülmektedir.

İncirin *in vitro* mikroçoğaltım çalışmaları incelendiğinde, eksplant başına elde edilen en yüksek ortalama sürgün sayıları ve çoğaltım katsayıları ile ilgili farklı sonuçların elde edildiği anlaşılmaktadır. Kumar vd. [54] 'Gular' incir çeşidinde apikal tomurcuk eksplantlarının

2 mg/L BAP ve 0.2 mg/L NAA içeren MS besin ortamında kültüre alınması sonucunda, eksplant başına 4.8 adet sürgün sayısının elde edildiğini bildirmişlerdir. Fráguas vd. [50] 'Roxo de Valinhos' incir çeşidinde nod eksplantlarının 0.5 mg/L Kin eklenen WPM besin ortamında kültüre alınması ile en yüksek çoğaltım katsayılarını 2.4-2.6 olarak belirlemişlerdir. Hepaksoy ve Aksoy [55] 'Sarılop Clone 37' incir çeşidinde sürgün ucu eksplantlarının 1.0 mg/L IBA, 1.0 mg/L GA₃ ve 5.0 mg/L BA içeren MS besin ortamında kültüre alınması sonucunda, en yüksek çoğaltım katsayısını 2.69 olarak elde etmişlerdir. Kim vd. [56] 'Seungjung Dauphine' incir çeşidinde yaprak eksplantlarının 2 mg/L BAP ve 0.5 ya da 1 mg/L TDZ'nin kombinasyonlarını içeren MS besin ortamında kültüre alınması ile eksplant başına en yüksek ortalama çoklu sürgün sayısı 10.8 olarak belirlenmiştir. Darwesh vd. [51] *F. carica* L. bitkisinde sürgün ucu eksplantlarının 5 mg/L BA ve 1 mg/L GA₃ içeren MS besin ortamında kültüre alınması sonucunda, eksplant başına en yüksek sürgün sayısını 7.25 olarak saptamışlardır. Danial vd. [57] *F. carica* L.'nin sürgün ucu eksplantlarının 3 mg/L BAP içeren MS besin ortamında kültüre alınması ile eksplant başına 5.6 sürgün sayısı elde etmişlerdir. Bayouhd vd. [23] 'Soltani' incir çeşidinin sürgün ucu eksplantlarının 0.5 mg/L BAP, 0.1 mg/L NAA ve 0.1 mg/L GA₃ içeren MS besin ortamında kültüre alınması sonucunda, eksplant başına en yüksek sürgün sayısını 16.91 olarak belirlemişlerdir. Moniruzzaman vd. [47] 'Masui Dauphine' çeşidinde sürgün tomurcuk eksplantlarının 0.5 mg/L BAP ve 0.2 mg/L NAA kombinasyonunu içeren MS besin ortamında kültüre alınması ile eksplant başına 2.45 sürgün sayısının elde edildiğini bildirmişlerdir. Mitrofanova vd. [58] sekiz *F. carica* L. çeşidinde apikal tomurcuklu sürgün uçlarının 0.5–2.0 mg/L BAP ve 0.1–0.5 mg/L NAA içeren WPM besin ortamında kültüre alınması sonucunda, eksplant başına 15–25 olarak sürgün sayısını belirlemişlerdir. Shahcheraghi ve Shekafandeh [59] 'Barghenari', 'Dehdez' ve 'Runu' isimli üç incir çeşidinin nod eksplantlarının, 0.5 mg/L BAP ve 0.2 mg/L 2IP eklenen MS besin ortamında kültüre alınması ile eksplant başına elde edilen sürgün sayılarını 'Runu' incir çeşidi için 13.67 ve 'Barghenari' çeşidi için ise 8.8 olarak saptamışlardır. Patah vd. [60] *Ficus carica* L.'nin gövde eksplantlarının 1 mg/L BAP MS besin ortamında kültüre alınması sonucunda, eksplant başına 2.57 sürgün sayısını belirlemişlerdir. Prabhuling ve Huchesh [61] 'Brown Turkey' incir çeşidinde nod eksplantlarının 1 mg/L BAP ve 0,10 mg/L NAA içeren MS besin ortamında kültüre alınması ile eksplant başına 3.50 sürgün sayısının saptandığını bildirmişlerdir. Ling vd. [62] Japon 'BTM 6' incir çeşidinde aksiller sürgün ucu eksplantlarının 2 mg/L BAP içeren MS ortamında kültüre alınması sonucunda, eksplant başına en yüksek sürgün sayısını 1.67 olarak belirlemişlerdir. Al-Zahrani vd. [63] 'Kadotta' çeşidinde sürgün ucu meristemleri eksplantlarının 3 mg/L BAP, 0.5 mg/L Kin ve 0.5 mg/L 2IP kombinasyonlarını içeren MS besin ortamında kültüre alınması ile eksplant başına 8.5 sürgün sayısını elde ettiklerini ifade etmişlerdir. Shatnawi vd. [46] 'Salti Kodari' incir çeşidinde sürgün ucu eksplantlarının 0.4 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA kombinasyonunu içeren MS besin ortamında kültüre alınması sonucunda, eksplant başına düşen sürgün

sayısını 4.2 olarak saptamışlardır. Sahraroo vd. [64] 'Sabz' incir çeşidinde sürgün ucu meristemlerinin 2 mg/L BAP içeren MS besin ortamında kültüre alınması ile eksplant başına 2.4 adet sürgünün elde edildiğini belirlemişlerdir. Abdolinejad vd. [65] 'Sabz' incir çeşidinde gövde eksplantlarının 4.54 µM TDZ, 1.07 µM NAA ile 17.68 µM BAP kombinasyonlarını içeren MS besin ortamında kültüre alınması sonucunda, indirekt rejenerasyon yoluyla sürgün çoğaltımında eksplant başına ortalama 6.9 adet sürgünün elde edildiğini bildirmişlerdir. Srisikanda vd. [67] 'Golden Orphan' incir çeşidinin nodal eksplantlarını 0.8 mg/L BAP ve 0.5 mg/L IAA kombinasyonunu içeren MS besin ortamında kültüre aldıklarında, eksplant başına 4.15 adet sürgün sayısını elde etmişlerdir.

3.2 İncir bitkisinde *in vitro* rejenerasyon

In vitro doku kültürü çalışmalarında bitki rejenerasyonu (morfogenez), organogenez (organ oluşumu) ve somatik embriyogenez (somatik embriyo oluşumu) süreci ile gerçekleşmektedir. Hem organogenez hem de embriyogenez doğrudan veya kallus fazı aracılığı ile dolaylı olarak meydana gelebilmekte ve bu süreç, kültüre alınan eksplantların genotipinden etkilenmektedir [78]. *In vitro* vejetatif üretimin ilk aşamasında, eksplant alınacak bitkilerin seçiminin gerçekleştirilmesi gerekmektedir. İyi gelişmiş, sağlıklı bitkilerle kültüre başlanması, başarı şansını artırarak temiz kültür elde edilmesini kolaylaştırmaktadır. Daha sonraki aşamada, meristem, tomurcuk veya sürgün ucu gibi eksplantların steril olarak izolasyonu gerçekleştirilmektedir. Son aşama ise, eksplantın rejenerasyon yeteneğini kaybetmeden, sürekli çoğaltmanın sağlanmasıdır [79]. *F. carica* L.'nin rejenerasyonu ile ilgili yapılmış olan birçok çalışma bulunmakla birlikte, farklı faktörlerin rejenerasyon üzerindeki etkilerinin çok fazla ele alınmadığı görülmüştür. Sonuçta, *F. carica* L.'nin rejenerasyonu üzerine istenen ölçüde çoğaltmayı sağlayan yeterli bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Bu nedenle, kolay ve verimli bir *in vitro* rejenerasyon yönteminin sağlanması amacıyla çalışmalar devam etmektedir. Verimli bir rejenerasyonun sağlanabilmesi için de ortam ve kültür sistemi optimize edilmelidir [80]. İncir'in *in vitro* koşullarda gerçekleştirilen rejenerasyon çalışmalarında genellikle ortam bileşenlerinin etkileri incelenmiştir. Kallus dokusu, bitkinin yaralanmış veya kesilmiş bölgelerinde oluşan düzensiz şekilli parankima hücrelerinin bir araya gelerek oluşturduğu gruplardır [81]. Bitki rejenerasyonunda klonal çoğaltım için özellikle kallus aracılı protokollerin kullanılması ile somaklonal varyasyon üretimi büyük bir zorluk olarak görülmektedir. Hücre veya dokulardaki epigenetik veya kalıcı genetik değişikliklerin bir sonucu olabilmekte ve rejenerantların genetik doğruluğunun kaybolmasına yol açabilmektedir [65]. Bitkiden elde edilen ürünlerin insan yararına kullanılabilmesi için kallus kültürü biyoteknolojide çok önemli bir yere sahiptir. Kallus kültürü; farmasötik, gıda, tarım ve kozmetik endüstrileri için faydalı ürünler elde etmek üzere tasarlanabilen, farklılaşmamış bir kütle halinde bitki dokularının çoğaltılmasını içermektedir [82].

Tablo 1. İncir bitkisinde gerçekleştirilen çeşitli mikroçoğaltım çalışmaları.

İncir (<i>Ficus carica</i> L.) Genotipi	Besin Ortamı	Bitki Büyüme Düzenleyicisi (mg/L)	Eksplant tipi	Kaynakça
'Calimyma', 'Caprifig', 'Excel', 'Osborne Pacific', 'Pasquale', 'Tena' ve 'Zidi'	MS	0.1 mg/L BA, 0.18 mg/L NAA ve 0.03 mg/L GA3 ile sürgün induksiyonu	Sürgün ucu eksplantları	[67]
'Kalamon'	MS	0.5 mg/L NAA ve 0.5 mg/L IBA ile kök induksiyonu	Sürgün ucu eksplantları	[68]
'Bursa Siyahi'	MS	0.5 mg/L BA, 0.1 mg/L IBA, 0.1 mg/L GA3 ve 89 mg/L PG ile sürgün induksiyonu	Sürgün ucu meristemi	[69]
'Bursa Siyahi'	LS	1 mg/L BA, 1 mg/L NAA ve 3 mg/L GA3	Sürgün ucu meristemi	[70]
'Roxo de Valinhos'	MS, B5, Knudson, White ve WPM	0.5 mg/L BAP, 0.1 mg/L IBA, 0.1 mg/L GA3, 89 mg/L PG ile sürgün induksiyonu 0.5 veya 1 mg/L BAP, 1 veya 2 mg/L IBA ve 89 mg/L PG ile kök induksiyonu	Aksiller tomurcuklar	[71]
<i>Ficus carica</i> L.	WPM	*	Nod eksplantları	[72]
'Roxo de Valinhos'	WPM	Farklı dozlarda Kin (0, 0.5, 1, 2 ve 4 mg/L) ve GA3 (0, 2, 4, 6 ve 8 mg/L) ile sürgün ve kök induksiyonu	Nod eksplantları	[50]
'Sarilop'	MS	Farklı dozlarda BA (0, 0.5, 1.0, 2.0 ve 4.0 mg/L), Kin (0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg/L) ve GA3 (0, 2.0, 4.0, 6.0, ve 8.0 mg/L) ile sürgün ve kök induksiyonu	Sürgün ucu eksplantları	[55]
'Roxo de Valinhos'	WPM	8 mg/L NAA ile sürgün büyümesi	Nod eksplantları	[73]
'Roxo de Valinhos'	WPM	1 mg/L IBA, 1 mg/L GA3, 5 mg/L BA ve 89 ml/L PG ile kök induksiyonu	Nod eksplantları	[74]
'Roxo de Valinhos', 'Kadotta', 'Uruguay' ve 'Celeste'	MS	NAA (0.0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L) ve GA3 (0,0, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg/L) ile kök induksiyonu	Yaprak primordia ve meristemi	[75]
'Sultany', 'Aboudi', 'White Adcy'	MS	0.5 mg/L Kin ile sürgün induksiyonu	Sürgün eksplantları	[25]
'Conadria' ve 'Black Mission'	¼ MS, ½ MS, MS ve 2MS	2.5 mg/L BA, Kin, 2IP ve Ads	Sürgün ucu eksplantları	[76]
'Sultany' ve 'Aboudi'	MS	0.5 mg/L BAP ile sürgün induksiyonu	Sürgün ucu eksplantları	[77]
<i>Ficus carica</i> L.	MS	0.5 mg/L BAP ile sürgün induksiyonu	Sürgün ucu eksplantları	[51]
'Zidi' (ZDI), 'Soltani' (SNI), 'Bither Abiadh' (BA)	MS	Farklı dozlarda BA, Kin ve GA3 ile sürgün ve kök induksiyonu	Sürgün ucu eksplantları	[23]
'Masui Dauphine'	MS	Farklı dozlarda BAP, NAA ve GA3 ile sürgün ve kök induksiyonu	Sürgün tomurcuk eksplantları	[47]
'Bargchenari', 'Dehdez' ve 'Runu'	½ MS ve MS	0.5 mg/L BAP ve 0.2 mg/L NAA ile sürgün induksiyonu	Nod eksplantları	[59]
<i>Ficus carica</i> L.	MS	2, 4, 6 ve 8 mg/L Kin, 0.5 mg/L BA, 0.2 mg/L 2IP, 0.2 mg/L NAA ve 1 mg/L GA ₃ ile sürgün induksiyonu	Sürgün ve gövde eksplantları	[60]
'Kadota' ve 'Dattero'	MS	0, 0.5, 1 veya 1.5 mg/L IBA ile kök induksiyonu	Sürgün ucu meristemleri	[63]
'Salti Kodari'	MS	Farklı dozlarda BAP, Kin, NAA, IBA ve IAA ile sürgün ve kök induksiyonu	Sürgün ucu eksplantları	[46]
'Golden Orphan'	MS	Farklı dozlarda BAP, Kin, TDZ, NAA, IBA ve IAA ile sürgün ve kök induksiyonu	Nod eksplantları	[66]

*: belirtilmemiş

İncir bitkisinde gerçekleştirilen kallus kültürü çalışmalarında farklı eksplant kaynakları kullanılmış ve bu kallusların sahip oldukları aktif bileşiklerin biyokimyasal olarak etkileri incelenmiştir [57]. *F. carica* L., *in vitro* morfogenez yeteneği açısından rekalsitrant, odunsu çok yıllık bir bitki olarak bilinmektedir. Bu nedenle, *in vitro* teknikler yoluyla kaliteli incirlerin seçimine bağlı herhangi bir biyoteknolojik programın başarısı, büyük ölçüde yüksek verimli bir morfogenez protokolünün oluşturulmasına bağlıdır. Bu nedenle, uygun bir eksplantın seçimi ve besin ortamındaki bitki büyüme düzenleyicilerinin doğru kombinasyonunun optimize edilmesi, verimli bir rejenerasyon protokolü oluşturmak için kritik faktörlerdir [65].

Bununla birlikte, ışığın *in vitro* morfogenezini etkileyen çok önemli bir unsur olması nedeniyle incir rejenerasyon çalışmalarında ışık kaynakları üzerinde de durulmuştur. Bilindiği üzere, floresan ışığı (Flu) geniş frekans spektrumu (350 ile 750 nm arası) ile genellikle bitki doku kültürü odalarında kullanılmaktadır. Ancak bu ışık frekansı, bitki büyümesini teşvik etmede oldukça yetersiz kalmakta ve yüksek miktarda enerji tüketerek ısı ürettiği için fotostres yaratmaktadır. Bu etkilerden kaçınmak için ise bitkilerle arasının biraz uzak olmasına dikkat edilmektedir. Yapılan araştırmalarda, maliyetleri azaltabilecek ve doku kültüründe bitkilerinin üretimini ve kalitesini artıracak enerji açısından verimli bir ışığa sahip yeni tekniklerin de üzerinde durulmuştur. Işık yayan diyotlar (light-emitting diode-LED), çeşitli avantajlar sundukları için *in vitro* bitki büyümesi için umut verici bir ışık kaynağı olarak önerilmiştir [83]. LED lambaların düşük enerji tüketimi, bitki çoğaltımını *in vivo* ve *in vitro* koşullarda daha ekonomik hale getirmektedir. Buna ek olarak, LED enerjisinin çoğu, ısı üretimi minimum düzeyde tutarken, fotosentetik ve fotomorfogenik tepkileri optimize edecek şekilde çeşitli biçimlerde uygun bir aydınlatma gücüne dönüştürebilmektedir. Tüm bu nitelikler LED'leri bitki doku kültürü için mükemmel bir ışık kaynağı yapmıştır. Bu nedenle, LED aydınlatmanın kullanımı bitkilerin hızlı ve büyük ölçekli üretimi açısından son zamanlarda daha çok ilgi çekmiştir [83]. Fotoperiyodizmin etkileri üzerine yapılan bazı çalışmalar, bitkicik rejenerasyonunun, ışık varlığında klorofilin fotooksidasyon ve zincirleme reaksiyonundan etkilendiğini kanıtlamıştır. Bununla birlikte, fotoperiyodizmin incirin bitkicik rejenerasyonu üzerindeki etkisine ilişkin rapor edilmiş bir çalışma henüz bulunmamaktadır [84].

3.2.1 Organogenez

Bitki gelişimine olanak sunan uygun ortam koşulları, bitki sağlığı üzerinde de belirgin bir etki oluşturmaktadır. İyi kalitedeki bir bitkinin yüksek verimde üretilmesi, besin ortamının fiziko-kimyasal özelliklerine bağlıdır [85]. Sürgün indüksiyonunun sağlanmasının amaçlandığı bir besin ortamında, genellikle oksin ve sitokinin hormonlarının doğru kombinasyonlarının kullanılması esastır. Besin ortamında kullanılan sitokinin miktarının oksin miktarından fazla olması durumunda, sürgün ve yaprak gelişimi indüklenebilmektedir. Eğer, besin ortamındaki sitokinin

miktarı oksine göre düşükse, kök başlatımının yanı sıra bitki büyümesi de uyarılmaktadır. Aynı zamanda, besin ortamındaki sitokinin ve oksin oranının dengelenmesi halinde sürgün, yaprak ve kök gelişimi de dengelenmektedir [52]. Ayrıca bir karbon ve enerji kaynağı olarak işlev gören sükröz, *in vitro* besin ortamının çok önemli bir bileşenidir [86].

İncirle ilgili yapılan birçok çalışmada, farklı besin ortamları ile değişik tipte ve konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicilerinin kombinasyonları kullanılarak bitkinin çeşitli eksplantlarının kültüre alınması ile sürgün rejenerasyonu gibi organogenezin indüklendiği gösterilmiştir [59].

Tablo 2, incir bitkisinde gerçekleştirilen çeşitli *in vitro* doku kültürü organogenez çalışmalarının bir özeti içerir. Buna göre, en fazla MS besin ortamının kullanıldığı, MS besin ortamının yanı sıra WPM besin ortamının da kullanıldığı belirlenmiştir (Tablo 2). İncirde sürgün rejenerasyonunu teşvik etmek için en çok sırasıyla BAP, TDZ ve Kin sitokininlerinin kullanımı tercih edilmiştir. Çalışmalarda kök rejenerasyonunun teşvikinde ise sıklıkla NAA, IBA ve IAA oksinleri ele alınmıştır. İncirde organogenez çalışmalarında, sürgün, yaprak sürgün ucu ve apikal tomurcuk eksplantlarının yanı sıra nod, sürgün ucu meristemi ve aksiller tomurcuklarının da kullanıldığı belirlenmiştir (Tablo 2).

3.2.2 Somatik embriyogenez

Biyoteknolojinin önemli konularından birisi olan somatik embriyogenez, zigotik olmayan tüm bitki hücrelerinin embriyolara farklılaşarak fertil bitkiler üretmesini sağlayan ve üreme özelliği olmayan hücrelerin içsel totipotensi özelliğini kullanan bir yöntem olarak adlandırılmaktadır [92]. Somatik embriyo prosesi genel olarak iki farklı yolla gerçekleşebilmektedir. Doğrudan somatik embriyogenez de herhangi bir ara basamak (kallus fazı) gözlenmezken; dolaylı somatik embriyogenezde ara bir faz olarak kallus oluşumu gözlenebilmektedir [93]. Kallus fazının görüldüğü süreçlerde yüksek frekansta somaklonal varyasyon görülebilirken, doğrudan somatik embriyogenezde donör bitki ile birebir benzer özellikte bitkiler elde edilmektedir [94].

Soliman vd. [94] incirde yaptıkları çalışmada, farklı BA, NAA/2,4-D ve Kin ile kombinasyonlarının yaprak eksplantlarında kallus oluşumu üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Sonuçlar kallus oluşumu için en iyi ortamın 2.0 mg/L 2,4-D ve 0.2 mg/L Kin içeren MS olduğunu göstermiştir. Dolaylı somatik embriyogenez aracılığı ile en iyi bitkicik farklılaşması ise 0.25 mg/L NAA ile 30 mg/L 2-IP (N₆-2-izopentenil adenin) ve 7 mg/L TDZ konsantrasyonlarında (sırasıyla %83 ve %79 rejenerasyon verimliliği ile) elde edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada eksplantlar, gus-intron ve bar genlerini barındıran pISV2678 plazmidi aracılığı ile *Agrobacterium* ve mikromermi bombardımanı kullanılarak transforme edilmişlerdir. *Agrobacterium* kullanılarak en yüksek transformasyon etkinliğinin (%17.5), eksplantların bakterilerle 30 dakika boyunca kokültürü ile elde edilmiştir.

Tablo 2. İncir bitkisinde gerçekleştirilen çeşitli organogenez çalışmaları

İncir (<i>Ficus carica</i> L.) genotipi	Besin ortamı	Bitki büyüme düzenleyicisi (mg/L)	Eksplant tipi	K*
'Gular'	MS	2.0 mg/L BAP ve 0.2 mg/L NAA	Apikal tomurcuklar	[54]
'Masui Dauphine'	MS	Farklı dozlarda 2, 4-D, TDZ ve 0.5 mM PG	Yaprak eksplantları	[87]
'Seungjung Dauphine', 'Bongraesi', 'Banane', 'Brunswick', 'Violet Dauphine', 'Brown Turkey' ve 'The King'	MS	0.5 mg/L veya 1.0 mg/L TDZ ile 2 mg/L IBA	Yaprak eksplantları	[56]
<i>Ficus carica</i> L.	MS	Farklı dozlarda BAP, Kin, 2,4-D, IBA ve NAA	Sürgün ve yaprak eksplantları	[57]
'Aboudy'	MS	0.1 mg/L NAA	Sürgün ucu meristemi	[86]
'Poona Fig', 'Brown Turkey', 'Conadria' ve 'Deanna', 'Belyiy Ranniy', 'Die Dalmatie', 'Figue Blanche', 'Figue Jaune', 'Limonno-Zheltiy', 'Pomoriyskiy', 'Sabrutsiya Rozovaya', 'Smena', 'Violette' ve 'Yantarniy'	MS	Farklı dozlarda BAP, IBA ve GA ₃	Aksiller sürgün uçları	[88]
'Brown Turkey'	MS	Farklı dozlarda BAP, NAA, IBA	Nod eksplantları	[61]
Japon 'BTM 6'	MS	Farklı dozlarda BAP, TDZ, Kin, Zeatin, IBA, IAA, NAA	Aksiller sürgün uçları	[62]
<i>Ficus carica</i> L.	MS	Farklı dozlarda BAP	Sürgün eksplantları	[89]
'Black Jack'	WPM	BAP	Apikal tomurcuk	[90]
'Violette de Solliès'	MS	1.0 mg/L BAP ve farklı dozlarda hindistan cevizi suyu ve muz homojenatı	Sürgün eksplantları	[91]

*: Kaynakça

Mikromerme bombardımanı kullanılarak kaydedilen en yüksek transformasyon verimliliği ise, %12 olarak belirlenmiştir.

Turan vd. [95] tarafından yapılan bir çalışmada, iyi kalitede sofralık ve kurutmalık bir incir çeşidi olan 'Sarılöp' çeşidinin yaprak eksplantları kullanılarak doğrudan ve dolaylı somatik embriyogenez yoluyla somatik embriyo oluşumunun eldesi amaçlanmıştır. Doğrudan somatik embriyo oluşumu için yaprak eksplantları, farklı dozlarda TDZ ve 2-IP içeren MS ortamlarında kültüre alınmış ve kallus oluşumu, eksplant uzaması, kök rejenerasyonu ve embriyo oluşumu gözlenmiştir. Eksplant başına oluşan somatik embriyo sayısı 0.83'tür. Çalışmada en yüksek kök oluşum oranı %20 olarak 2 mg/L TDZ ve 8 mg/L 2-IP kombinasyonunu içeren MS besin ortamında elde edilmiştir. İncir yaprak eksplantlarında kallus oluşumları %66.66 oranında elde edilmekle birlikte, bu kalluslardan somatik embriyo oluşumu gözlenmemiştir.

Mitrofanova vd. [58] tarafından 'Smena', 'Figue Jaune' ve 'Die Dalmatie' incir çeşitlerinde morfogenezin elde edilmesinin en önemli yolunun genç incir bitkilerinin yaprak segmentlerinden *in vitro* somatik embriyogenezin sağlanması olduğu ifade edilmiştir. Sürgünler, somatik embriyolardan %60-90 oranlarında rejenere edilmiştir. Bu çeşitlerde morfogenik yapıların histolojik analizleri yapıldığında, mikrosürgünlerin tabanında spontan ve indüklenmiş rizogenezin meydana geldiği gözlenmiştir.

Tablo 3'te incir bitkisinde yapılan somatik embriyogenez kültürü çalışmaları gösterilmektedir. Bu *in vitro* somatik embriyogenez çalışmalarında, farklı konsantrasyonlardaki çeşitli sitokin ve oksin tiplerini içeren MS ve WPM besin ortamlarının esas alındığı ve en çok da yaprak eksplantlarının kullanımının tercih edildiği anlaşılmaktadır (Tablo 3).

3.2.3 Kallus kültürleri

Bitki doku kültürleri, temel bilim ve ticari uygulamalarda önemli birer teknik olmaktadır. Bu yöntemlerden birisi olan kallus kültürleri, tüm bitkilerde yaralı dokuların farklılaşmamış hücreler ile geri kazanması mantığını temel alır. Bu kallus dokuları farklı biyoteknolojik yöntemler amacıyla *in vitro* olarak kültüre alınabilmektedir. Bitkilerin neredeyse tüm kısımları kallus üretimi amacıyla kullanılabilir. Düzenli altkültürlemeler ile, kalluslar uzun süreli olarak muhafaza edilebilirler. Bu kallus hücreleri, farklılaşmamış meristematik hücrelere benzemektedirler. Uygun kültür ortamı içerisinde bu kallus hücreleri tüm bir bitkiyi oluşturabilme potansiyeline sahiptirler [97]. *In vitro* seleksiyon, somaklonal varyasyondan yararlanma ve genetik transformasyon gibi doku kültürü tekniklerinin etkin kullanımı, bitki rejenerasyonu yapabilen kararlı kallus kültürlerini başlatma ve oluşturma yeteneğine bağlıdır [98]. Kallus indüksiyonu incir çalışmalarında kullanılan diğer önemli tekniklerden biridir. Bugüne kadar incirde yapılan çalışmalarda, bitkinin farklı kısımlarından kallus indüksiyonu teşvik edilebilmiştir [57, 99].

Tablo 3. İnci bitkisinde gerçekleştirilen somatik embriyogenez çalışmaları

İncir (<i>Ficus carica</i> L.) genotipi	Besin ortamı	Bitki büyüme düzenleyicisi (mg/L)	Eksplant tipi	K*
'Sultani'	MS	0.0–10 mg/L BAP 0.0–10 mg/L Kin, 0.0–10 mg/L TDZ, 0.0–10 mg/L 2IP veya 0.0–1.0 mg/L NAA	Yaprak eksplantları	[94]
'Belyiy Ranniy', 'Die Dalmatie', 'Figue Blanche', 'Figue Jaune', 'Limonno-Zheltyiy', 'Pomoriyskiy', 'Sabrutsiya Rozovaya', 'Smena', 'Violette' ve 'Yantarniy'	WPM ve MS	Farklı dozlarda BAP, Kin, NAA, TDZ, 2,4-D, IBA, IAA ve GA ₃ ,	Apikal tomurcuklu sürgün uçları	[58]
'Sarilop'	MS	Farklı dozlarda Kin, TDZ, 2,4-D ve 2IP	Yaprak eksplantları	[96]

*: Kaynakça

Fisin enzimi (EC 3.4.22.3), *Ficus* bitki grubunun lateksinden elde edilebilen bir proteaz enzimidir [100]. Nassar ve Newbury [101] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, incirin gövde eksplantlarından elde edilen kalluslarda, çeşitli immünokimyasal teknikler ile fisin içeriği belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada, besin ortamında bulunan bitki büyüme düzenleyicisi içeriğinin fisin içeriği üzerinde etkili bir parametre olduğu tespit edilmiştir.

Cormier vd. [102] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Ficus carica*'nın gövde eksplantlarının kültüre alınmasıyla oluşturulan kallusları, termostabil sisten proteaz içeriği açısından incelenmiş ve elde edilen kallusun önemli miktarda proteaz içerdiği bildirilmiştir.

Dhage vd. [98] yaptıkları çalışmada, farklı *in vitro* kültür koşullarında 'Brown Turkey', 'Conadria', 'Deanna' ve 'Poona' isimli dört yerel incir genotipinde, sürgünlerden elde edilen yaprak eksplantları kullanılarak kallus uyarılması ile verimli bir *in vitro* rejenerasyon protokolü geliştirmeyi amaçlamışlardır. En iyi kallus gelişimi, 2.0 mg/L TDZ ve 4.0 mg/L 2-IP içeren MS ortamında (CM3) gözlenmiştir. Genotipler arasında 'Brown Turkey', kallus oluşumuna en iyi yanıtı (%85.8) vermiştir. 'Brown Turkey' çeşidinde petiolde en yüksek kallus uyarılması (%100) sağlanmış, bunu 'Poona' (%71.7), 'Deanna' (%58.4) ve 'Conadria' (%48.3) izlemiştir.

Sriskanda vd. [103] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, incir bitkisinin 'Violette de Soillès' çeşidinin gövde eksplantlarından kallus indüksiyonunda TCL (Thin

Cell Layer-ince hücre tabaka) tekniğinin etkinliğinin incelenmesi amaçlanmıştır. TCL, kallusu indüklemek için eksplantların ince kesitleri ile birçok bitki türünün mikroçoğaltılmasında kullanılan bir teknik olarak bilinmektedir. 3.0 ile 4.0 mm çapındaki gövde eksplantları, yaklaşık 0.5 ile 0.8 mm'lik bir kalınlıkta kesilmiş ve farklı dozlarda BAP ve NAA içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Sonuçlar, 1.0 mg/L BAP, 0.5 mg/L NAA ve 2.0 mg/L BAP ve 0.5 mg/L NAA içeren MS ortamının, %100 kallus indüklenme oranıyla en yüksek miktarda yarı-kırılğan kallusu indüklediğini göstermiştir.

Tablo 4'te incir bitkisinde yapılan kallus kültürü çalışmaları gösterilmektedir. Bu kapsamda, kallus eldesine yönelik olarak MS ve B5 besin ortamlarının kullanıldığı belirlenmiştir. Çalışmalarda eksplant tipi olarak da en çok gövde ve yaprak eksplantları kullanılmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. İnci bitkisinde gerçekleştirilen kallus kültürü çalışmaları

İncir (<i>Ficus carica</i> L.) genotipi	Besin ortamı	Bitki büyüme düzenleyicisi (mg/L)	Eksplant tipi	K*
<i>Ficus carica</i> L	B5	0.2 mg/L Kin ve 0.5 mg/L NAA	Gövde eksplantları	[102]
'Brown Turkey', 'Conadria', 'Deanna' ve 'Poona'	MS	2.0 mg/L TDZ ve 4.0 mg/L 2IP veya IBA	Yaprak eksplantları	[98]
'Sabz' ve 'Torsh'	MS	Farklı dozlarda BAP, TDZ, IBA ve NAA	Gövde eksplantları	[65]
'Violette de Soillès'	MS	Farklı dozlarda BAP, TDZ ve NAA	Gövde eksplantları	[103]

*: Kaynakça

3.3 İncir bitkisinde meristem kültürleri

Çeşitli abiyotik ve biyotik kısıtlamalar, incirin meyve gelişimini sınırlamakta ve gelirin azalmasıyla birlikte üretim alanlarının kademeli olarak ortadan kalkmasına neden olmaktadır. Başta incir mozaik hastalığı olmak üzere çeşitli virüs hastalıkları, sağlıklı incir meyve bahçelerinin gelişmesini engelleyerek üretimi sınırlayıcı şekilde tüm üretim alanlarında bir tehdit olarak yayılma göstermektedir [23]. İncir mozaik hastalığı, incir üretimini ekonomik açıdan etkileyen önemli bir hastalık olmakla birlikte, yenilebilir incirin yetiştiği bölgelerde doğal olarak bulunmaktadır. İncir meyvelerinin verimini ve kalitesini düşürerek yıkıcı kayıplara neden olan önemli virüsler arasında incir mozaik virüsü yer almaktadır [104]. İncir mozaik virüsü, inciri enfekte eden diğer RNA virüslerine göre daha sık görülen bir etmenidir ve mozaik hastalığının başlıca tetikleyicisidir [105]. İncir mozaik hastalığına yol açan viral etmenler tohumla taşınmamaktadır. Uzun yıllar tanımlanmamış olmasına rağmen, bu etmenlerin taşınmasında önemli ölçüde *Eriyophidae* familyasına ait *Aceria ficus* ve *Lepidosaphes*

ficus akarları etkili olmaktadır. Ayrıca mekanik olarak aşı ve çelik ile de taşınabildiği ifade edilmiştir [106].

İncirdeki bitkisel üretim düşüşü, geleneksel çoğaltım yöntemlerinin kullanılması ve sistemik virüslerin, özellikle de incir mozaik virüsünün kalıcı olmasından kaynaklanmaktadır. Çelikle üretim sırasında virüsler, incir genetik materyalinde yayılma gösterirler. Bitki ıslahçıları, viral enfeksiyonun ortadan kaldırılması veya engellenmesi için kimyasal kontrol yöntemlerinin etkisizliği nedeniyle, hastalıktan arı yüksek kaliteli, kalıtsal olarak kararlı ve türlerine sadık olan stok incir bitkilerini elde etmek üzere sürgün ucu ve meristem kökenli mikroçoğaltıma dayalı doku kültürü tekniklerinin uygulanmasına giderek daha fazla yönelmişlerdir [63]. Dünya çapında yaygın bir hastalık olan incir mozaik ile ilişkili bazı virüslerden arındırılmış incir bitkilerinin elde edilmesi için genellikle termoterapi, *in vitro* meristem ucu kültürü ve her iki tekniğin kombinasyonu kullanılmıştır [107]. Meristemler, vasküler sistemlerinin olmaması nedeniyle çoğu durumda virüssüzdür. Çalışmalar, daha küçük boyutlardaki meristemlerin kültüre alınmasının başarılı bir şekilde virüssüz bitkilerin üretimine sonucunda olduğunu göstermiştir. Ayrıca yüksek sıcaklıklar virüs transkripsiyon enzimlerini inhibe ederek, virüs replikasyonunu önlemekte ve virüsün apikal meristeme doğru taşınmasını azaltmaktadır [108]. Bu nedenle, meristem kültürleri çok sayıda sağlıklı bitki elde etmek için başarılı biyoteknolojik bir alternatif teknik haline gelmiştir [109]. Meristemden elde edilen bitkicikler, kallustan üretilen bitkiciklere göre şekil ve form açısından donör bitkiye daha benzer özellikler göstermiş, ayrıca daha kısa sürede ve daha yüksek derecede virüs eliminasyonu ile çok sayıda bitki çoğaltılabilmektedir [63]. *In vitro* uygulamalarından biri olan termoterapi, bitki türlerinde virüs eliminasyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, termoterapi uygulanmış sürgünlerle ilişkili en yaygın problemler, sürgün ucu nekrozu ve hiperhidrisitedir. Bu problemler, virüssüz bitkilerde önemli kayıplara neden olmaktadır [110]. Meristem kültürü ve termoterapiye ek olarak yapılan çalışmalarda, kemoterapi, elektroterapi ve kriyoterapi gibi diğer uygulamalar da kullanılmaktadır. Ancak bu uygulamaların her biri sırasında eksplantlar; düşük hayatta kalma oranlarına, büyüme inhibisyonuna, bodur büyümeye veya anormal morfolojiye yol açabilecek bir dizi baskıya maruz kalmaktadır [111].

Çömlekçiöğlü vd. [112] yaptıkları çalışmada, 'Bursa Siyahi' ve 'Alkuden' isimli iki incir genotipinin kısa ve uzun süreli termoterapi muamelesi ve meristem kültürü ile mozaik virüsü içermeyen incir bitkisi elde etmeye çalışmışlardır. Sürgün oluşumu, 'Bursa Siyahi' çeşidinde, uzun süreli bir termoterapi uygulaması ile 0.2 mg/L GA₃+0.5 mg/L BA+0.1 mg/L IBA içeren MS ortamında en yüksek değeri verirken, 'Alkuden' çeşidinde ise en yüksek sürgün oluşumu termoterapi uygulaması olmadan, 0.2 mg/L GA₃+0.2 mg/L BA+0.1 mg/L IBA içeren MS besin ortamında elde edilmiştir.

Başarılı bir mikroçoğaltım, çoklu sürgün rejenerasyonuna dayalı apikal meristem ya da koltuk altı tomurcuk kültürleri kullanılarak gerçekleştirilebilmektedir. Singh vd. [99] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, incir

sürgün uçları *in vitro* kültüre alınarak mikroçoğaltım yapılmıştır. En yüksek sürgün oluşum yüzdesi (%83), 30 mg/L 2-IP içeren MS ortamında belirlenmiştir. En yüksek yaprak sayısı 3.0 mg/L BAP içeren MS ortamında elde edilmiştir. En yüksek sağkalım yüzdesi ise %100 olarak 10.0 mg/L BA ve NAA içeren MS ortamında saptanmıştır.

Sahraroo vd. [64] gerçekleştirdikleri bir çalışmada, 'Jaami-e-Kan' ve 'Sabz' iki İran incir çeşidine ait meristem uçlarını; sürgün çoğaltımı, kök uyarımı ve bitkicik rejenerasyonu için en iyi koşulları optimize etmek üzere *in vitro* koşullar altında kültüre almışlardır. Çalışmada, 0,2-0,4 mm ve 0,5-0,7 mm boyutlarındaki meristem uçları, 0,5, 1.0 ve 1.5 mg/L konsantrasyonlarda BA içeren MS ve B5 besin ortamlarına transfer edildikten sonra hayatta kalan meristemler, 0,5 mg/L BA ve 0,1 mg/L NAA içeren MS besin ortamına aktarılmışlardır. En yüksek meristem sağkalımı, 'Sabz' çeşidinde 0,5-0,7 mm boyutundaki eksplantlardan 0,5 mg/L BA içeren MS besin ortamında kaydedilmiş ve mikrosürgün başına 2,4 sürgün ile en yüksek çoğaltım oranı 2 mg/L BA içeren MS besin ortamında elde edilmiştir. En yüksek oranda köklenmiş mikrosürgünler (%88,3) ise 1,5 mg/L IBA içeren MS besin ortamında belirlenmiştir. Sonuçlar, incir ağaçlarının meristem kültürü ile mikroçoğaltımında meristem boyutunun ve bitki büyüme düzenleyicilerinin varlığının önemli bir rol oynadığını göstermiştir.

Tablo 5, incir bitkisinde gerçekleştirilen meristem kültürü çalışmaları gösterilmektedir. Buna göre, en fazla MS besin ortamının kullanıldığı, ayrıca çalışmalarda B5, QL ve DKW besin ortamlarının da denendiği belirlenmiştir. Çalışmalarda eksplant tipi olarak sürgün ucu eksplantları ve sürgün ucu meristemleri kullanılmıştır (Tablo 5).

Tablo 5. İnci bitkisinde gerçekleştirilen meristem kültürü çalışmaları

İncir (<i>Ficus carica</i> L.) genotipi	Besin ortamı	Bitki büyüme düzenleyicisi (mg/L)	Eksplant tipi	K*
'Bursa Siyahi' ve 'Alkuden'	MS	Farklı dozlarda BA IBA ve GA ₃	Sürgün ucu meristemleri	[112]
<i>Ficus carica</i> L.	DKW ve modifiye edilmiş QL	**	Apikal veya aksiller tomurcuklar ve sürgün ucu eksplantları	[107]
<i>Ficus carica</i> L.	MS	Farklı dozlarda BA Kin, NAA ve 2,4-D	Sürgün ucu eksplantları	[99]
'Jaami-e-Kan' ve 'Sabz'	MS ve B5	Farklı dozlarda BA, NAA ve IBA	Sürgün ucu meristemleri	[64]

*: Kaynakça, **:belirtilmemiş

3.4 İncir bitkisinde protoplast kültürleri

Protoplast; hücre duvarının enzimler ya da mekanik yollarla uzaklaştırılmasının ardından elde edilen izole tek hücrelerdir [113]. Protoplastlar, bitkilerde hücre çalışmaları için uygun bir sistem olarak kabul edilirler [114]. Toprak kaynaklı *Ceratocystis canker* hastalığına karşı direnç sağlamak için incir anaçları üzerine bir araştırma programı geliştirilmiştir. Genellikle incir ağaçlarının bu hastalığa direncinde çeşitler arası farklılıklar rapor edilmiş, ancak yapılan çalışmalar neticesinde tüm yaygın incir çeşitlerinin bir dereceye kadar bu hastalığa yakalandığı belirlenmiştir [115]. Yaygın incir (tohum ebeveyni) ile yabani tür *Ficus erecta* (polen ebeveyni) arasında yapay tozlaşma yoluyla türler arası hibridizasyon gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar bu türler arası hibridizasyonun *C. canker*'e dirençli yeni bir incir anacı kaynağı sağladığını göstermiştir. Protoplast rejenerasyonu ile incir çeşitlerinin geliştirilmesi hala çok sınırlıdır. Bununla birlikte, bitkilerin protoplast kültürü ile rejenerasyonu, bazı meyve türlerinde pratik ıslah için yeni ufuklar açmıştır. *Ficus*'un hücre süspansiyonlarından oluşturulan canlı protoplast kültürleri, önce bir inkübasyon ortamına tutulduktan sonra protoplastların MS tuzları, vitaminler ve glikoz içeren bir besin ortamına aktarılmasıyla elde edilmiştir. Hücre bölünmesi tespit edildikten sonra protoplast yoğunluğu 5×10^5 canlı protoplast/cm³ olarak belirlenmiştir [115, 116].

Protoplast kültürü, bitki ıslahında hücre düzeyinde uygulanan biyoteknolojik yöntemler arasında giderek daha fazla kullanılır hale gelmektedir. Mitrofanova vd. [117] tarafından '*Sabrutciya Rozovaya*' ve '*Datte de Naples*' incir çeşitlerine ait *in vitro* mikrosürgünlerin yaprak eksplantlarından protoplast izolasyonu üzerine ilk çalışmalar yapılmıştır. Bu değerli incir çeşitlerinin yaprak eksplantları, 0.1-0.5 mg/L NAA ve 0.5-2.0 mg/L BAP içeren modifiye WPM besin ortamında *in vitro* kültüre alınmıştır. Ardından bir yıkama ortamında yeniden süspansiyon haline getirme ve üç kez santrifüjleme sonucunda '*Sabrutciya Rozovaya*' (2×10^5) ve '*Datte de Naples*' (1.39×10^5) incir çeşitlerinde yeterli sayıda canlı protoplastın elde edilmesi sağlanmıştır.

3.5 İncir bitkisinde saçaklı kök kültürleri

Bitkiler, genellikle sekonder metabolitleri çok düşük miktarlarda üretir ve biriktirirler. Bu nedenle, yeterli miktarda aktif madde elde edebilmek için yüksek miktarlarda bitki materyalinin temin edilmesi önemlidir. Bu kapsamda saçaklı kökler, bu sorunun üstesinden gelmek ve daha yüksek miktarlarda sekonder metabolitleri veya yeni bulunan özel metabolitleri üretmek için iyi bir alternatif sunarlar [118].

İncir bitkisi, değerli farmasötik uygulamaları bulunan önemli fenolik ve flavonoid bileşiklerin kaynağı olarak bilinmektedir. Amani vd. [119] incirde yaptıkları çalışmada, *Rhizobium (Agrobacterium) rhizogenes* aracılığı ile elde edilen saçaklı kök (hairy root-HR) kültürlerinde fenolik bileşiklerin üretimi, antioksidan kapasitesi ve flavonoid biyosentetik yolak genlerinin ekspresyon düzeyinin *Piriformospora indica*'nın büyümesi üzerindeki etkisini araştırmayı amaçlamışlardır. HR kültürlerinde %2'lik *P. indica* kültür filtratına 72 saat maruz bırakıldığında, gallik

asit (80.5 kat), kafeik asit (26.2 kat), kumarik asit (4.5 kat) ve sinamik asit (60.1 kat), apigenin (27.6 kat) ve rutin (5.7 kat) olarak maksimum fenolik bileşik birikimi gözlenmiştir. En yüksek klorojenik asit (4.9 kat) ve kuersetin flavonoid (8.8 kat), *P. indica* ile %6 (h/h)'lık oranda 48 saat süren bir inkübasyondan sonra elde edilmiştir. Bu çalışma, *P. indica*'nın incir HR'ler tarafından sekonder metabolit üretimini artırmaya yönelik etkili bir elisitör olma potansiyelini göstermektedir.

Amani vd. [120] tarafından ele alınan başka bir araştırma kapsamında ise iki '*Sabz*' ve '*Siah*' çeşidinden elde edilen saçaklı köklerin *Leishmania major* promastigotları ve amastigotları üzerinde *in vitro* inhibitör etkileri ve biyokimyasal kapasitesi araştırılmıştır. HR oluşumunu teşvik etmek için beş haftalık birkaç steril fide, '*Sabz*' çeşidi için "ATCC 15834" ve '*Siah*' çeşidi için ise "A7" *A. rhizogenes* suşları ile inoküle edilmiştir. Yaprak, kök, saçaklı kök ve meyveleri içeren numuneler, $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 7-10 gün boyunca kurutulmuştur. Kurutulmuş toz numuneler daha sonra, metanol maserasyon yöntemi ile ekstrakte edilmiştir. Sonuçta, antioksidan enzim ve HPLC analizine dayanarak, saçaklı kökler yüksek antioksidan kapasite sergilemişler ve yüksek seviyelerde fenolik bileşikler içermişlerdir. Tetrazolyum boya 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2, 5-difeniltetrazolyum-bromür ve tripan mavisi testlerinin sonuçlarına göre, her iki çeşidin saçaklı kök ekstraktları *Leishmania major* promastigotlarına karşı doza bağımlı önemli ölçüde inhibitör etki göstermiştir. Bu çalışmanın bulguları, incirin saçaklı köklerinin umut verici bir doğal antileşmanyal ajan kaynağı olarak kabul edilebileceğini düşündürmüştür.

Tablo 6. İnci bitkisinde gerçekleştirilen saçaklı kök kültürü çalışmaları

İncir (<i>Ficus carica</i> L.) genotipi	Besin ortamı	Bitki büyüme düzenleyicisi (mg/L)	Eksplant tipi	K*
'Sabz'	½ MS	**	Sürgün eksplantları	[119]
'Sabz' ve 'Siah'	½ MS	**	Tohum eksplantları	[120]

*: Kaynakça, **:belirtilmemiş

3.6 İncir bitkisinde *in vitro* seleksiyon-tuz stresi

Abiyotik stresler arasında tuz stresi, sadece edafoklimatik koşullarda bir dengesizliğe neden olmakla kalmayıp, aynı zamanda bitki büyümesi ve fizyolojik süreçler üzerinde de yıkıcı etkiler yaratan en önemli stres

etkeni olarak kabul edilmektedir. Yüksek toprak tuzluluğu, dünya çapında yaklaşık %6 (800 milyon hektar) civarında verimli araziye ekilemez hale getirmiştir. Tuz stresi koşulları altındaki topraklar, bitki büyümesini ciddi şekilde engelleyebilmektedir. Tuz stresi, ozmotik basınca ve iyon toksisitesine yol açarak bitkilerde iyonik dengeyi bozmaktadır. Ayrıca bitkiler, hücre düzeyinde oksidatif strese de maruz kalırlar. Bu gibi problemler, tuz stresinin bitkiler üzerinde nihai zararlı etkilere neden olurlar. Na⁺ ve Cl⁻ iyonları, bitkiler için gerekli olsa da bu iyonların yapraklarda yüksek düzeyde birikmesi hücre işleyişi için toksik olabilmekte ve programlanmış hücre ölümüne yol açabilmektedir. Ek olarak, daha yüksek miktarda Na⁺ ve Cl⁻ iyonları; protein sentezini, bitki yağ metabolizmasını ve enzim işleyişini olumsuz etkilemektedir [121]. Bioteknoloji ve doku kültürü teknikleri, abiyotik veya biyotik stres altında dayanıklı bitkileri seçmek ve bahçe bitkilerinde verimlilik özelliklerini geliştirmek için kullanılan güçlü araçlar olarak bilinmektedir. Ayrıca *in vitro* kültürler, bilinen çevresel koşullar altında tuzun hücresel düzeyde fizyolojik etkilerini incelemek için önemli bir teknik sağlarlar [122].

Genellikle meyve ağaçlarının tuzluluğa karşı duyarlılıkları fazladır. Ilıman iklim meyve ağaçlarından biri olan incir ise tuzluluğa orta derecede dayanıklıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, incir yapraklarının birkaç hafta boyunca 100 mM sodyum klorüre (NaCl) maruz kaldıktan sonra sağlıklı ve yeşil olduklarını, ayrıca gaz değişim parametrelerinin de nispeten yüksek kaldığını göstermiştir. Bununla birlikte, ≥ 200 mM NaCl konsantrasyonları, yoğun yaprak nekrozuna, yaprak dökülmesine ve yaprak fotosentezinde dramatik bir düşüşe neden olmuştur. İncir ağaçları kuraklığa karşı oldukça dayanıklıdır ve çoğunlukla Akdeniz bölgesi, Orta Doğu ve Asya'nın yarı kurak iklimleri ile ılıman koşulları altında iyi performans göstermektedir [123]. Ayrıca incir, sulama için tuzlu veya acı su kullanımının oldukça yaygın olduğu yarı kurak ortamlarda yetiştirilmeye uygunluğunun yanı sıra su eksikliğini ve orta derecedeki tuzluluğu tolere etme yetenekleri ile iyi bilinmektedir [124].

İran, incir üretiminde dünyada dördüncü sırada yer almaktadır. Bununla birlikte, yıllar boyunca aralıksız şekilde devam eden kuraklık nedeniyle toprak tuzluluğu yoğunlaşmıştır ve bu nedenle İran incir üretim endüstrisi kısıtlanmıştır. Bu nedenle Abdolinejad ve Shekafandeh [125] yaptıkları çalışmada, farklı tuz konsantrasyonlarının (0, 80, 120 ve 180 mM NaCl) iki incir çeşidi olan 'Anjir Sabz' ve 'Shah Anjir'in fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri üzerindeki etkilerini *in vitro* kültür yoluyla değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak, kültüre alınan yaprak eksplantlarına farklı tuz konsantrasyonlarının uygulanmasından üç gün sonra, her iki çeşitte de 80 mM NaCl'de herhangi bir sararma belirtisi gözlenmemiştir. Ancak iki çeşitten alınan yaprak eksplantları için 120 ve 160 mM NaCl uygulanması durumunda ise sararmalar görülmüş ve bu durum nekroz ile sonuçlanmıştır. Bu belirtiler 'Anjir Sabz'da 'Shah Anjir'den daha belirgin olmuştur. Her iki çeşitte de toplam klorofil konsantrasyonu 80 mM NaCl'de kontrole kıyasla önemli ölçüde artmış, ancak 'Shah Anjir'de 'Anjir Sabz'a oranla artış daha az olmuştur. Bununla birlikte,

aynı tuzluluk seviyesinin 'Shah Anjir'in klorofil bozunması üzerinde daha az yıkıcı etkiye sahip olduğu da görülmüştür.

Suudi Arabistan'da tarımın %90'ından fazlası yeraltı suyu ile sulamaya bağlıdır. Bu nedenle yüzey sulama suyunun yoğun buharlaşması ve yerel hidrojeolojik koşullar, yeraltı suyu tuzluluğu riskini artırarak tuz stresine yol açmaktadır. Toprak suyunun tuzluluğundaki artış, bitki kökleri tarafından su ile K⁺, Ca²⁺ ve NO₃ alımını engellediği için çoğu bitkinin çimlenmesini ve kök uzamasını engellemektedir. Bu kapsamda Metwali vd. [126] yaptıkları çalışmada, 'Black Mission', 'Brown Turkey' ve 'Brunswick' isimli üç Suudi incir çeşidinin sürgün ucu eksplantlarından *in vitro* koşullarda bitki oluşumunu ve bu bitkiciklerin farklı konsantrasyonlardaki tuza olan tolerans durumlarını incelemişlerdir. 12 g/L'den fazla NaCl konsantrasyonları, çalışmada ele alınan tüm parametreler üzerinde öldürücü etkilere yol açmıştır. 11 g/L'deki tuz konsantrasyonunda 'Brunswick' çeşidine ait bitkicikler olumsuz etkilenmişlerdir. K⁺, Na⁺, Fe³⁺ ve Zn²⁺ içeriği, tüm çeşitlerde artan NaCl seviyeleri ile kademeli olarak artmıştır, ancak 'Brown Turkey' çeşidi diğerlerinden daha fazla K⁺ ve Na⁺ biriktirmiştir.

Ürdün'de incir üretimi, biyotik ve abiyotik stresler (kuraklık, tuzluluk, alkalilik, toprak kaynaklı hastalıklar ve nematodlar) dahil olmak üzere çeşitli zorluklar nedeniyle son elli yılda 20 kattan fazla azalma göstermiştir. Bu nedenle Al-Shomali vd. [127] yaptıkları çalışmada, yeni bir sürgün ve kallus rejenerasyon protokolünü geliştirmek için üç yerel incir genotipinin ('Khdari', 'Mwazi' ve 'Zraki') apikal tomurcuk eksplantlarını MS, OM ve WPM temelli üç farklı besin ortamında kültüre almışlardır. Kültür kurulduktan sonra, farklı besin ortamlarında gelişme gösteren aynı eksplantlar, besin ortamlarının aktarılmaya olan etkilerinin incelenmesi için MS besin ortamında tekrar kültüre alınmışlardır. 2 aylık apikal tomurcuk eksplantlarının transferinden sonra üç incir genotipi için elde edilen veriler incelendiğinde, önemli ölçüde en yüksek sürgün büyümesinin OM'den aktarılan eksplantlarda gözlemlendiği belirlenmiştir. Buna karşılık WPM besin ortamından aktarılan kültürlerde en yüksek kallus gelişiminin olduğu saptanmıştır. 'Khdari' yerel genotipinde sürgün büyümesi için incelenen üç besin ortamı arasında önemli bir farklılık tespit edilmezken, 'Mwazi' ve 'Zraki' yerel genotipi için OM kullanılarak en yüksek oranda anlamlı sürgün büyümesi elde edilmiştir.

Emek [128] tarafından 'Bursa Siyahı' incir çeşidinde fidelerin morfolojisi üzerine farklı NaCl konsantrasyonlarının etkisini belirlemek amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Çalışma kapsamında, tohumların *in vitro* koşullar altında çimlendirilmesiyle elde edilen fideler, tuz stresi için farklı konsantrasyonlarda NaCl içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Bitki canlılığının NaCl konsantrasyonunun artışına bağlı olarak azaldığı gözlemlenmiştir. Altı haftanın sonunda, bitkiler yaş ağırlık, sürgün uzunluğu, yaprak sayısı, kök sayısı ve kök uzunluğu gibi parametrelerle değerlendirilmiş, 40 mM NaCl içeren besin ortamında bulunan bitkiler maksimum büyüme göstermişlerdir. Ayrıca, tuz stresi etkilerinin artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak arttığı belirlenmiştir.

Tablo 7, incir bitkisinde tuz stresine dayalı olarak gerçekleştirilen *in vitro* seleksiyon çalışmaları gösterilmektedir. Bu kapsamda, *in vitro* seleksiyona yönelik olarak en fazla MS ortamının yanı sıra OM ve DKW besin ortamlarının denendiği belirlenmiştir. Çalışmalarda eksplant tipi olarak sürgün ucu, tohum, aksiller tomurcuk ve fide eksplantları kullanılmıştır (Tablo 7).

Tablo 7. İnci bitkisinde gerçekleştirilen tuz stresine dayalı *in vitro* seleksiyon çalışmaları

İncir (<i>Ficus carica</i> L.) genotipi	Besin ortamı	Bitki büyüme düzenleyicisi (mg/L)	Eksplant tipi	K*
'Anjir Sabz' ve 'Shah Anjir'	MS	**	Fide eksplantları	[125]
'Black Mission', 'Brown Turkey' ve 'Brunswick'	MS	Farklı dozlarda ve kombinasyonlarda BAP, Kin, 2IP ve NAA	Sürgün ucu eksplantı	[126]
'Khdari', 'Mwazi' ve 'Zraki'	MS, OM, WPM	1 mg/L BAP	Apikal tomurcuk eksplantları	[127]
'Bursa Siyahı'	MS	**	Tohum eksplantları	[128]
'Ahtoy White', 'Masone Black', 'Zeibilly Red', 'Zeibilly Flair' and 'Shami Stihy'	MS	2 veya 3 mg/L BAP ile 0.5 mg/L 2IP	Sürgün ucu eksplantları	[122]

*: Kaynakça, **:belirtilmemiş

4 Sonuçlar

İncir bitkisinin yerel ve küresel boyutta üretimi, tüketimi ve ekonomik geliri her geçen yıl artarak devam etmektedir. Son zamanlarda, *in vitro* yöntemlerin kullanımı, nesli tükenmekte olan bitkilerde germplazmin korunmasında önemli bir yoldur ve koruma amaçları için giderek daha popüler hale gelmiştir. Bitki biyoteknolojisi ve genetik mühendisliğinin ilk basamaklarından olan *in vitro* doku kültürü teknikleri, incir genetik materyalinin çoğaltımı açısından alternatif bir üretim yöntemi olarak yenilikçi bir bakış açısı sunmaktadır.

Bitkiler arasında en yüksek kalsiyum ve lif kaynağına sahip olan incir bitkisi, çeşitli vejetatif yöntemlerle çoğaltılabilirken, tohumlarının çoğunlukla cansız olması sebebiyle tohumla eşeyli çoğaltım yöntemi tercih edilmemektedir. Bu nedenle, incir bitkilerinin konvansiyonel olarak çoğaltımı; çelikleme, aşılama ve daldırma ile yapılan vejetatif çoğaltıma dayanmaktadır. Büyük ölçekli üretimin sağlanabilmesi için dikim alanını

artırmada çok sayıda çelikle üretime ihtiyaç bulunmaktadır. Bu açıdan mikroçoğaltım bu tip sorunların üstesinden gelmede iyi bir seçenek olarak görülmektedir. İncir bitkisinde mikroçoğaltımın gerçekleştirilmesiyle ilgili çok sayıda farklı çalışma olmakla birlikte çoğunlukla büyük ölçekli üretimlerin optimizasyonu ve ticari üretim protokollerinin oluşturulmasına yönelik araştırmalar artan ilgi ile devam etmektedir. Ayrıca incirde çok çeşitli doku kültürü teknikleri, farklı amaçlara yönelik çalışmalarda daha detaylı olarak ele alınmalıdır.

İncire olan yoğun talebi karşılamak ve incir üretiminde karşılaşılan sorunları çözmek üzere hastalıktan arı, kaliteli ve kısa sürede hızlı kitlesel üretimin gerçekleştirilmesi bir zorunluluk olarak görülmektedir. Sonuç olarak, incir yetiştiriciliğinin çeşitli *in vitro* doku kültürü teknikleri aracılığı ile geliştirilmesi çalışmalarına hız verilmesi yerinde olacaktır.

Çıkar çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Benzerlik oranı (iThenticate): % 12

Kaynaklar

- [1] D. Bay, Bursa Siyahı incir bitkisi (*Ficus carica* L.)'nde K, Ca, Mg ve P besin elementlerinin mevsimsel değişimlerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye, 2012.
- [2] N. F. Edremit, Aydın ilinin bazı ilçelerinde incir mozaik hastalığının yaygınlığının belirlenmesi, etmenin tanınması ve üretim materyalinin incir sürgün ucu kültürü-termoterapi ile etmeden arındırılması. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye, 2013.
- [3] D. Singh, B. Singh, and R. K. Goel, Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Ficus religiosa*. A review, Journal of Ethnopharmacology, 134 (3), 565-583, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.01.046>.
- [4] Ö. Aytürk, Dioik *Ficus carica* L. (incir)'de dişi, gal ve erkek çiçek gelişiminin mikroskobik ve moleküler yöntemler ile karşılaştırılması. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye, 2016.
- [5] W. P. Armstrong, Sex life of figs: coevolution of a tree & minute wasp. Palomar.Edu, 2012. Erişim adresi: <https://www.waynesword.net/arbimg10.htm> (accessed: 11.12.2023).
- [6] Tureng Dictionary and Translation, 2023. Erişim adresi: <https://tureng.com/tr/turkce-ingilizce/gynodioecious> (accessed: 15.06.2023).
- [7] G. Çatmadım, Aydın ili Kuyucak ilçesinde (Büyük Menderes Ovası) yetiştirilen sarılop ve bursa siyahı incir çeşitlerinde meyve gelişimlerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye, 2014.
- [8] D. Núñez-Gómez, P. Legua, J. J. Martínez-Nicolás and P. Melgarejo, Breba fruits characterization from four varieties (*Ficus carica* L.) with important commercial interest in Spain. Foods, 10 (12), 3138, 2021. <https://doi.org/10.3390/foods10123138>.

- [9] N. Soni, S. Mehta, G. Satpathy and R. K. Gupta, Estimation of nutritional, phytochemical, antioxidant and antibacterial activity of dried fig (*Ficus carica*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3 (2), 158-165, 2014. doi: 10.12691/jfnr-8-12-3.
- [10] C. Teruel-Andreu, L. Andreu-Coll, D. López-Lluch, E. Sendra, F. Hernández and M. Cano-Lamadrid, *Ficus carica* fruits, by-products and based products as potential sources of bioactive compounds: A review. *Agronomy*, 11 (9), 1834, 2021. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091834>.
- [11] O. Çalışkan, Türkiye’de sofralık incir yetiştiriciliğinin mevcut durumu ve geleceği. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 26 (2), 71-87, 2012.
- [12] FAOSTAT, 2022. Erişim adresi: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> (accessed: 14.03.2022).
- [13] D. Çelik, Kuru incirlerde aflatoksin ve oktaroksin varlığının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye, 2022.
- [14] İ. G. Güney, T. Bozoğlu, G. Özer, Ş. Türkölmez and S. Derviş, First report of *Neoscytalidium dimidiatum* associated with dieback and canker of common fig (*Ficus carica* L.) in Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 129 (3), 701-705, 2022. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00586-8>.
- [15] Ş. N. Erdeğer, İncir (*Ficus carica* L.) genomunda sekans temelli ssr (basit dizi tekrarı) markörlerinin geliştirilmesi. Doktora Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye, 2019.
- [16] A. Güler, Şanlıurfa’da yetiştirilen Ege kökenli bazı incir çeşitlerinin toprakta bulunan besin maddelerinden yararlanma durumlarının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye, 2021.
- [17] E. Nakilcioğlu-Taş, Biochemical characterization of fig (*Ficus carica* L.) seeds. *Journal of Agricultural Sciences*, 25 (2), 232-237, 2019. <https://doi.org/10.15832/ankutbd.398268>
- [18] H. Crisosto, L. Ferguson, V. Bremer, E. Stover and G. Colelli, Fig (*Ficus carica* L.). In *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits*. Woodhead Publishing, Sawston, Cambridge, pp. 134-160, 2011. <https://doi.org/10.1533/9780857092885.134>
- [19] M. Ayuso, M. Carpena, O. Taofiq, T.G. Albuquerque, J. Simal-Grdana, M.B.P.P. Oliveira, M.A. Prieto, I.C.F.R. Ferreira and L. Barros, Fig “*Ficus carica* L.” and its by-products: A decade evidence of their health-promoting benefits towards the development of novel food formulations. *Trends in Food Science and Technology*, 127: 1-13, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.06.010>.
- [20] S. Mahmoudi, M. Khali, A. Benkhaled, I. Boucetta, Y. Dahmani, Z. Attallah and S. Belbraouet, Fresh figs (*Ficus carica* L.): Pomological characteristics, nutritional value, and phytochemical properties. *European Journal of Horticultural Science*, 83 (2), 104-113, 2018. doi: 10.17660/eJHS.2018/83.2.6.
- [21] M. Tepecik, Farklı potasyum dozlarının incirde kaliteye etkisi. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye, 2010.
- [22] F. Özçekçi, İncir mozaik hastalığının Aydın ilindeki incir bahçe ve fidanlıklarındaki yaygınlığının saptanması ile hastalık etmeninin, bitki özsuğu ile taşınması, konukçu çevresi ve serolojik yöntemlerle (elisa) karakterizasyonunun belirlenmesi. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye, 2008.
- [23] C. Bayoudh, R. Labidi, A. Majdoub and M. Mars, *In vitro* propagation of caprifig and female fig varieties (*Ficus carica* L.) from shoot-tips. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17, 1597-1608, 2015. <http://jast.modares.ac.ir/article-23-2152-en.html>.
- [24] A. C. Boliari, A. F. A. Ferreira, L. N. H. Monteiro, M. S. A. C. D. Silva and A. D. Rombola, Advances in propagation of *Ficus carica* L. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41, 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452019026>.
- [25] N. S. Mustafa and R. A. Taha, 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, 2012.
- [26] A. Ismail, Using of DNA-barcoding, scot and sds-page protein to assess soma-clonal variation in micropropagated fig (*Ficus carica* L.) plant. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 25 (5), 415-425, 2022. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2022.415.425>.
- [27] N. A. Azhar and Z. Zainuddin, Tissue culture of *Ficus carica* variety BTM-6. *Malaysian Journal of Sustainable Agriculture (MJSA)*, 4 (1), 26-28, 2020. doi: <http://doi.org/10.26480/mjsa.01.2020.26.28>.
- [28] G. C. Phillips and M. Garda, Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 55 (3), 242-257, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09983-5>.
- [29] E. Chimdessa, Composition and preparation of plant tissue culture medium. *Tissue Cult Bio Bioeng*, 3: 120, 2020. doi: 10.29011/2688-6502.000020.
- [30] S. S. Bhojwani and P. K. Dantu, *Micropropagation, In Plant tissue culture: An introductory text*, Springer, India, 2013.
- [31] Himedia Laboratories, 2023. Erişim adresi: [https://www.diagnocine.com/Content/Upload/Product/datasheets/m%20\(250\).pdf](https://www.diagnocine.com/Content/Upload/Product/datasheets/m%20(250).pdf) (accessed: 11.12.2023).
- [32] A. Purwito, D. Efendi and T. M., Ermayanti, Growth response of four accessions of *Moringa oleifera* Linn shoots cultured on various basic media. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 741 (1), 012054, 2021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/741/1/012054>.
- [33] *Plant Cell Technology*, 2023. Erişim adresi: <https://www.plantcelltechnology.com/pct-blog/tissue-culture-medium-types-and-5-steps-of-selection/> (accessed: 21.06.2023).
- [34] *Biochemie*, 2023. Erişim adresi: <https://www.duchefa-biochemie.com/product/details/number/Q0251> (accessed: 21.06.2023).

- [35] M. Peyvandi, F. Farahani, Z. Noormohammadi, O. Banihashemi, M. Hosseini and S. Ataei, Mass production of *Olea europaea* L. (cv. rowghani) through micropropagation. *General and Applied Plant Physiology*, 35, 35-43, 2009.
- [36] A. Hussain, I. A. Qarshi, H. Nazir and I. Ullah, Plant tissue culture: current status and opportunities. *Recent Advances in Plant In Vitro Culture*, 6(10), 1-28, 2012. <http://dx.doi.org/10.5772/50568>.
- [37] A. M. Kumlay ve T. Eryiğit, Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi düzenleyici maddeler: bitki hormonları. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 1 (2), 47-56, 2011, <https://dergipark.org.tr/tr/pub/jist/issue/7925/104223>.
- [38] H. T. Hallmark and A. M. Rashotte, Cytokinin isopentenyladenine and its glucoside isopentenyladenine-9G delay leaf senescence through activation of cytokinin-associated genes. *Plant Direct*, 4, (12), 2020. <https://doi.org/10.1002/pld3.292>.
- [39] Y. J. Lee, D. Sriskanda, S. Subramaniam and B. L. Chew, The effects of banana, potato and coconut water in the regeneration of *Ficus carica* cv. Japanese BTM 6. *Malaysian Applied Biology*, 51 (1), 163-170, 2022. <https://doi.org/10.55230/mabjournal.v51i1.2157>.
- [40] J. A. Teixeira da Silva, J. Dobránszki and S. Ross, Phloroglucinol in plant tissue culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 49, 1-16, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11627-013-9491-2>.
- [41] A. Rency, S. Pandian and M. Ramesh, Influence of adenine sulphate on multiple shoot induction in *Clitoria ternatea* L. and analysis of phyto-compounds in *in vitro* grown plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16, 181-191, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cbac.2018.07.034>
- [42] T. S. Dattatraya and R. N. S. S. Vidyadhar, To study the effect of plant growth regulator and chemicals on survival of cuttings in fig (*Ficus carica* L.) cv. Dinkar. *International Journal of Conservation Science*, 8 (6), 2220-2222, 2020. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i6af.11103>.
- [43] A. Gürel, Ş., Hayta, P. Nartop, M. Bayraktar ve S.O. Fedakar, Bitki hücre, doku ve organ kültürü uygulamaları. Ege Üniversitesi Yayınları Mühendislik Fakültesi, İzmir, Türkiye, 2013.
- [44] S. Bhatia and K. L. Sharma, Micropropagation. Modern applications of plant biotechnology in pharmaceutical sciences. Academic Press, Burlington, New Jersey, pp. 32-98, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802221-4.00002-9>.
- [45] J. C. Cardoso, L. T. Sheng Gerald and J. A. Teixeira da Silva, Micropropagation in the twenty-first century. *Plant Cell Culture Protocols*, Springer, pp. 17-46, 1815, 2018. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8594-4_2.
- [46] M. A. Shatnawi, R. A. Shibli, W. G. Shahrouf, T. S. Al-Qudah and T. Abu-Zahra, Micropropagation and conservation of fig (*Ficus carica* L.). *Journal of Advances Agriculture*, 10, 1669-1679, 2019. <https://doi.org/10.24297/jaa.v10i0.8160>.
- [47] M. Moniruzzaman, Z. Yaakob and R. A. Taha, *In vitro* production of fig (*Ficus carica* L.) plantlets. In V International Symposium on Fig, pp. 231-236, Napoli, Italy, 2015. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1173.40>.
- [48] I. M. Qrunfleh, M. M. Shatnawi and Z. I Al-Ajlouni., Effect of different concentrations of carbon source, salinity and gelling agent on *in vitro* growth of fig (*Ficus carica* L.). *African Journal of Biotechnology*, 12 (9), 936-940, 2013. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2871>.
- [49] O. Dolgun and F. E. Tekintas Production of fig (*Ficus carica* L.) nursery plants by stem layering method. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 73 (3), 157-160, 2008. <https://hrcak.srce.hr/26826>.
- [50] C. B. Fráguas, M. Pasqual, L. F. Dutra and J. O. Cazetta, Micropropagation of fig (*Ficus carica* L.) 'Roxo de Valinhos' plants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 405, 471-474, 2004b. <http://dx.doi.org/10.1079/IVP2004562>.
- [51] H. Darwesh, S. Bazaid and B. Samra, *In vitro* propagation method of *Ficus carica* at Taif governorate using tissue culture technique. *International Journal of Advanced Research*, 2, 6, 756-761, 2014.
- [52] R. S. D. Pratiwi, L. A. M. Siregar and C. Hanum, The response of several combination of plant growth regulators to shoot induction of fig (*Ficus carica* L.) var. improved celeste. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, p. 032088, Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Atara, Indonesia, 2021. [doi:10.1088/1755-1315/782/3/032088](https://doi.org/10.1088/1755-1315/782/3/032088).
- [53] M. Pasqual and E. A. Ferreira Micropropagation of Fig tree (*Ficus carica* sp). In *Protocols for micropropagation of woody trees and fruits* Springer, Dordrecht, pp. 409-416, 2007. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6352-7_37.
- [54] V. Kumar, A. Radha and S. Kumar Chitta, *In vitro* plant regeneration of fig (*Ficus carica* L. cv. Gular) using apical buds from mature trees. *Plant Cell Reports*, 17, 717-720, 1998. <https://doi.org/10.1007/s002990050471>.
- [55] S. Hepaksoy and U. Aksoy, *In vitro* propagation of *Ficus carica* cv. Sarilop clone selected for its high performance. In III International Symposium on Fig, pp. 199-204, Vilamouran, Algarve, Portugal, 2005. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.798.27>.
- [56] K. M. Kim, M. Y. Kim, P. Y. Yun, T. Chandrasekhar, H. Y. Lee and P. S. Song, Production of multiple shoots and plant regeneration from leaf segments of fig tree (*Ficus carica* L.). *Journal of Plant Biology*, 50, 440-446, 2007. <https://doi.org/10.1007/BF03030680>.
- [57] G. H. Danial, D. A. Ibrahim, S. A. Brkat and B. M. Khalil, Multiple shoots production from shoot tips of fig tree (*Ficus carica* L.) and callus induction from leaf segments. *International Journal of Pure & Applied Sciences & Technology*, 20 (1), 117-124 2014.
- [58] I. V. Mitrofanova, N. P. Lesnikova-Sedoshenko, V. A. Brailko, T. N. Kuzmina, S. V. Chelombit, E. L. Shishkina and O. V. Mitrofanova, Realization of *Ficus*

- carica* L. morphogenic capacity via organogenesis and somatic embryogenesis *in vitro*. In International Symposium on Horticulture: Priorities and Emerging Trends, 1255, pp. 69-76, Bengaluru, India, 2017. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1255.12>.
- [59] S. T. Shahcheraghi, and A. Shekafandeh, Micropropagation of three endemic and endangered fig (*Ficus carica* L.) genotypes. *Advances in Horticultural Science*, 30 (3), 129-134, 2016. <https://doi.org/10.13128/ahs-20248>.
- [60] F. K. A. Patah, N. A. Hasbullah, H. Idris and N. S. Radzuan, Micropropagation of *Ficus carica* L. through Tissue Culture System. 12th Int'l Conference on Advances in Agricultural, Chemical, Biological & Medical Sciences (AACBMS-18), pp. 19-22, Pattaya, Thailand, 2018. <https://doi.org/10.17758/EARES3.C0818108>.
- [61] G. Prabhuling and H. Huchesh, Direct *In Vitro* regeneration in fig (*Ficus carica* L.) cv. 'Brown Turkey'. *Research Journal of Biotechnology*, 13, 5, 77-83, 2018.
- [62] Wan Ting Ling, Fui Chu Liew, Wei Yong Lim, Sreeramanan Subramaniam and Bee Lynn Chew. Shoot induction from axillary shoot tip explants of fig (*Ficus carica*) cv. Japanese BTM 6. *Tropical Life Sciences Research*, 29 (2), 165-174, 2018. <https://doi.org/10.21315/tlsr2018.29.2.1>.
- [63] H. S. Al-Zahrani, O. A. Almaghrabi, M. P. Fuller, H. I. Soliman, M. Farooq and E. M. Metwali, Micropropagation of virus-free plants of Saudi fig (*Ficus carica* L.) and their identification through enzyme-linked immunosorbent assay methods. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 54, 626-636, 2018. doi: 10.1007/s11627-018-9933-y.
- [64] A. Sahraroo, A. Zarei and M. Babalar, *In vitro* regeneration of the isolated shoot apical meristem of two commercial fig cultivars 'Sabz' and 'Jaami-e-Kan'. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 743-749, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.01.024>.
- [65] R. Abdolinejad, A. Shekafandeh, A. Jowkar, A. Gharaghani and A. Alemzadeh, Indirect regeneration of *Ficus carica* by the TCL technique and genetic fidelity evaluation of the regenerated plants using flow cytometry and ISSR. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 143, 131-144, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01903-5>.
- [66] D. Sriskanda, Y. X. Liew, S. P. Khor, F. Merican, S. Subramaniam and B. L. Chew, An efficient micropropagation protocol for *Ficus carica* cv. Golden Orphan suitable for mass propagation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 38, 102225, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102225>
- [67] L. M. Muriithi, T. S. Rangan and B. H. Waite, *In Vitro* propagation of fig through shoot tip culture. *HortScience*, 17 (1), 86-87, 1982. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.17.1.86>.
- [68] C.A. Pontikis and P Melas, Micropropagation of *Ficus carica* L. *HortScience*, 21 (1):153-154, 1986.
- [69] G. Günver and E. A. Ertan, Study on the propagation of figs by the tissue culture techniques. In I International Symposium on Fig, pp. 169-172, İzmir, Turkey, 1997. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1998.480.29>.
- [70] A. Demiralay, Y. Yalçın-Mendi, Y. Aka-Kaçar and S. Cetiner, *In vitro* propagation of *Ficus carica* L. var. Bursa Siyahi through meristem culture. In I International Symposium on Fig, pp. 165-168, İzmir, Turkey, 1997. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1998.480.28>.
- [71] G. R. Brum, M. Pasqual, A. B. Silva and N. N. J. Chalfun, Sucrose, culture media, and their interactions during *in vitro* proliferation of 'Roxo de Valinhos' (*Ficus carica* L.). In II International Symposium on Fig, pp. 131-135, Caceres, Spain, 2001. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.605.20>.
- [72] C. B. Fráguas, M. Pasqual and A. R. Pereira, Multiplicação *in vitro* de *Ficus carica* L.: efeito da cinetina e do ácido giberélico. *Ciência e Agrotecnologia*, 28, 49-55, 2004. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542004000100006>.
- [73] E. A. Ferreira and M. Pasqual, *Ficus carica* L. produced by micropropagation. In International Symposium on Biotechnology of Temperate Fruit Crops and Tropical Species, 738, pp. 437-441, Florida, USA, 2005. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.738.53>.
- [74] E. A. Ferreira and M. Pasqual, Protocol optimization for micropropagation of 'Roxo de Valinhos' fig tree. *Ciência Rural*, 38, 1149-1153, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000400040>.
- [75] W. Barbosa, R. Pio, R. F. de Arruda Veiga, E. A. Chagas and N. P. Feldberg, Efeito de concentrações do AIB no enraizamento *in vitro* de cultivares de figueira, 24, 2, 1-6, 2008.
- [76] R. A. Taha, N. S. Mustafa and S. A. Hassan, Protocol for micropropagation of two *Ficus carica* cultivars. *World Journal of Agricultural Sciences*, 9 (5), 383-388, 2013. doi:10.5829/idosi.wjas.2013.9.5.1802.
- [77] N. S. Mustafa, R. A. Taha, S. A. M. Hassan and N. S. M. Zaied, Effect of medium strength and carbon source on *in vitro* shoot multiplication of two *Ficus carica* cultivars. *Journal of Applied Sciences Research*, 9 (4), 3068-3074, 2013.
- [78] L. Erfa, D. Maulida, R. M. Sari and F. Yuniardi, Regeneration of red palestine fig (*Ficus carica* L.) from formation of adventitious shoots in murashige & skoog media with additional of BAP/TDZ and NAA. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, p. 012068, Lampung State Polytechnic, Indonesia, 2022. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1012/1/012068>.
- [79] S. Hepaksoy, Bazı kiraz anaçlarının mikroçoğaltımı üzerinde araştırmalar I. Gelişme ve çoğalma. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41 (3), 11-12, 2004.
- [80] M. Moniruzzaman, Z. Yaakob and N. Anuar, Factors affecting *in vitro* regeneration of *Ficus carica* L. and genetic fidelity studies using molecular marker. *Journal*

- of Plant Biochemistry and Biotechnology, 30 (2), 304-316, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13562-020-00590-9>.
- [81] A. M. S. Almemary, Callus induction and differentiation. The Future Journal of Agriculture, 3, 5-9, 2020. <https://doi.org/10.37229/fsa.fja.2020.07.02>.
- [82] E. D. Benjamin, G. A. Ishaku, F. A. Peingurta and A. S. Afolabi, Callus culture for the production of therapeutic compounds. American Journal of Plant Biology, 4 (4), 76-84, 2019. <https://doi.org/10.11648/j.ajpb.20190404.14>
- [83] M. Lotfi, Effects of monochromatic red and blue light-emitting diodes and phenyl acetic acid on *in vitro* mass production of *Pyrus communis* 'Arbi'. Journal of Horticulture and Postharvest Research, 5 (2), 119-128, 2022. <https://doi.org/10.22077/jhpr.2021.4517.1229>.
- [84] E. C. Hong, C. B. Lynn and S. Subramaniam, Development of plantlet regeneration pathway using *in vitro* leaf of *Ficus carica* L. cv. Panachee supported with histological analysis. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 27, 101697, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101697>.
- [85] S. Mehmood, Q. Ayub, S. M. Khan, N. Arif, M. J. Khan, A. Mehmood... and M. U. Ayub, Responses of fig cuttings (*Ficus carica*) to different sowing dates and potting media under agro-climatic conditions of Haripur. RADS Journal of Biological Research & Applied Sciences, 11 (2), 112-119, 2020. <https://doi.org/10.37962/jbas.v11i2.268>
- [86] D. S. Elazab and M. M. Shaaban, The impact of sucrose concentration on root growth and development in fig (*Ficus carica* L.) *in vitro*. Assiut Journal of Agricultural Sciences, 46 (6), 67-75, 2015. doi: 10.21608/AJAS.2015.521.
- [87] H. Yakushiji, N. Mase and Y. Sato, Adventitious bud formation and plantlet regeneration from leaves of fig (*Ficus carica* L.). The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 78 (6), 874-878, 2003. <https://doi.org/10.1080/14620316.2003.11511712>.
- [88] S. S. Dhage, V. P. Chimote, B. D. Pawar, A.A. Kale, S. V. Pawar and A. S. Jadhav, Development of an efficient *in vitro* regeneration protocol in fig (*Ficus carica* L.). Journal of Applied Horticulture, 17, 2, 160-164, 2015. <https://doi.org/10.37855/jah.2015.v17i02.30>
- [89] M. Hayati and E. Kesumawati, Response of *in vitro* propagated fig (*Ficus carica* L.) shoots to the concentrations of benzyl amino purine and coconut water. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 922, 1, 012067, 2021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/922/1/012067>.
- [90] A. R. Parab, K. Y. Han, B. L. Chew and S. Subramaniam, Morphogenetic and physiological effects of LED spectra on the apical buds of *Ficus carica* var. 'Black Jack'. Scientific Reports, 11 (1), 1-11, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03056-7>.
- [91] X. J. Lui, D. Sriskanda, W. T. Ling, S. Subramaniam and B. L. Chew, The Incorporation of coconut water and banana homogenate in the regeneration of fig (*Ficus carica* L.) cv. Violette de Solliès. Malaysian Applied Biology, 51 (5), 13-22, 2022. <https://doi.org/10.55230/mabjournal.v51i5.2327>.
- [92] B. Güler, Çay (*Camellia sinensis* [L.] O. Kuntze) bitkisinde geçici daldırma sistemine dayalı biyoreaktörler aracılığıyla sentetik tohumların üretilmesi. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye, 2022.
- [93] S. Asghar, N. Ghori, F. Hyat, Y. Li and C. Chen, Use of auxin and cytokinin for somatic embryogenesis in plant: a story from competence towards completion. Plant Growth Regulation, 99 (3), 413-428, 2023. <https://doi.org/10.1007/s10725-022-00923-9>.
- [94] H. I. Soliman, M. Gabr and N. A. Abdallah, Efficient transformation and regeneration of fig (*Ficus carica* L.) via somatic embryogenesis. GM crops, 1 (1), 40-51, 2010. <https://doi.org/10.4161/gmcr.1.1.10632>.
- [95] T. Turan, Sarılop İncir (*Ficus carica* L.) Çeşidi Yaprak Segmentlerinden Somatik Embriyogenesis Oluşumu. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye, 2013.
- [96] D. Büyükdinç and G. Günver Dalkılıç, Sarılop incir (*Ficus carica* L.) çeşidi yaprak segmentlerinden somatik embriyogenesis oluşumu, Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 19 (1), 29-35, 2022. <https://doi.org/10.25308/aduziraat.1011855>.
- [97] Efferth, T. Biotechnology applications of plant callus cultures. Engineering, 5 (1), 50-59, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.11.006>.
- [98] S. S., Dhage, B. D. Pawar, V. P. Chimote, A. S. Jadhav and A. A. Kale, *In vitro* callus induction and plantlet regeneration in fig (*Ficus carica* L.). Journal of Cell & Tissue Research, 12, 3, 3395-3400, 2012.
- [99] B. M. Singh, C. M. Rajoriya, I. A. Wani, R. S. Rawat and B. L. Jat, *In vitro* studies of *Ficus carica* and its application in crop improvement. International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology, 4 (11), 135-148, 2016.
- [100] S. Wahyuni, R. Susanti and R. S. Iswari, Isolation and characterization of ficin enzyme from *Ficus septica* Burm F stem latex. Indonesian Journal of Biotechnology, 20 (2), 161-166, 2015. <https://doi.org/10.22146/ijbiotech.24200>.
- [101] A. H. Nassar and H. J. Newbury, Ficin production by callus cultures of *Ficus carica*. Journal of Plant Physiology, 131 (3-4), 171-179, 1987. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(87\)80157-8](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(87)80157-8).
- [102] F. Cormier, C. Charest and C. Dufresne, Partial purification and properties of proteases from fig (*Ficus carica*) callus cultures. Biotechnology letters, 11, 797-802, 1989. <https://doi.org/10.1007/BF01026100>.
- [103] D. Sriskanda, X. J. Chew and B. L. Chew, Callus induction of fig (*Ficus carica* cv. Violette de Solliès) via thin cell layer technique. Journal of Tropical Plant Physiology, 14 (1), 22-30, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102225>.
- [104] E. Hafez, A. A. El Morsi and A. A. Abdelkhalek, Biological and molecular characterization of the fig mosaic disease. Molecular Pathogens, 2, 2, 2011. <https://doi.org/10.5376/mp.2011.02.0002>

- [105] M. Afechtal, Fig tree viruses in Morocco. Moroccan Journal of Agricultural Sciences, 1, (1), 54-58, 2020.
- [106] G. Sümer, Sürgün Ucu ve Termoterapi Yöntemleri ile İncir Mozaik Hastalık Etmenlerinden Arındırılmış ve Tek Basamaklı Rt-Pcr ile Testlenmiş, Sarılop ve Bursa Siyahı İncir Üretim Materyalinin Elde Edilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye, 2014.
- [107] M. Chiumenti, A. Campanale, G. Bottalico, A. Minafra, A. De Stradis, V. Savino and G. P. Martelli, Sanitation trials for the production of virus-free fig stocks. Journal of Plant Pathology, 95, 655-658. 2013.
- [108] K. Magyar-Tábori, N. Mendler-Drienyovszki, A. Hanász, L. Zsombik and J. Dobránszki, Phytotoxicity and other adverse effects on the *in vitro* shoot cultures caused by virus elimination treatments: Reasons and solutions. Plants, 10, (4), 670, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10040670>.
- [109] K. A. Quiroz, Berríos, M., Carrasco, B., Retamales, J. B., Caligari, P. D., and García-González, R. (2017). Meristem culture and subsequent micropropagation of Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis* (L.) Duch.). Biological Research, 50, 20, 2-11, 2017. <https://doi.org/10.1186/s40659-017-0125-8>.
- [110] S. Karimpour, G. H. Davarynejad, M. ZakiAghl, M. R. Safarnejad, P. Martínez-Gómez and M. Rubio, Rapid assessment of sanitary and physiological state of thermotherapy-treated apple shoots by chlorophyll content evaluation. European Journal of Horticultural Science, 86, 205- 211, 2021. <https://doi.org/10.17660/eJHS.2021/86.2.11>.
- [111] M. Ebrahimi, A. A. Habashi, M. Emadpour and N. Kazemi, Recovery of virus-free almond (*Prunus dulcis*) cultivars by somatic embryogenesis from meristem undergone thermotherapy. Scientific Reports, 12 (1), 14948, 2022. <http://dx.doi.org/10.17660/eJHS.2021/86.2.11>.
- [112] S. Çömlekçioğlu, A. B. Kuden, Y. A. Kacar and M. A. Kamberoglu, Meristem culture of two fig cultivars in Turkey. Fruits, 62 (2), 125-131, 2007. <http://dx.doi.org/10.1051/fruits:2007006>.
- [113] M. Ziv and A. Altman, Tissue culture- general principles. encyclopedia of applied plant sciences. Brian Thomas (Eds.), Elsevier, pp. 1341-135, Wellesbourne, UK, 2003. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227050-9/00213-1>.
- [114] J. E. Han, H. S. Lee, H. Lee, H. Cho and S. Y. Park, Embryogenic stem cell identity after protoplast isolation from *Daucus Carota* and recovery of regeneration ability through protoplast culture. International Journal of Molecular Sciences, 23 (19), 11556, 2022. <https://doi.org/10.3390/ijms231911556>.
- [115] F. Aljane, A. Essid and S. Nahdi, Improvement of fig (*Ficus carica* L.) by conventional breeding and biotechnology. M. Al-Khayri et al. (Eds.), Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits, 3, 343-375, 2018. https://doi.org/10.1007/978-3-319-91944-7_9.
- [116] H. Yakushiji, T. Morita, S. Jikumaru, Interspecific hybridization of fig (*Ficus carica* L.) and *Ficus erecta* Thunb., a source of *Ceratocystis canker* resistance. Euphytica, 183, 39-47, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0459-1>.
- [117] I. Mitrofanova, N. Lesnikova-Sedoshenko and O. Krivenko, Some features of protoplast isolation from leaf explants of *Ficus carica* plantlets cultured *in vitro*. Journal of Biotechnology, 305 (S), 52-53, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.05.186>.
- [118] N. E. Moreno-Anzúrez, S. Marquina, L. Alvarez, A. Zamilpa, P. Castillo-España, I. Perea-Arango... and J. Arellano-García, A cytotoxic and anti-inflammatory campesterol derivative from genetically transformed hairy roots of *Lopezia racemosa* Cav. (*Onagraceae*). Molecules, 22, (1), 118, 2017. <https://doi.org/10.3390/molecules22010118>
- [119] S. Amani, M. Mohebodini, S. Khademvatan, M. Jafari and V. Kumar, *Piriformospora indica* based elicitation for overproduction of phenolic compounds by hairy root cultures of *Ficus carica*. Journal of Biotechnology, 327, 43-53, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.12.015>.
- [120] S. Amani, S. Khademvatan, M. Mohebodini, M. Jafari and V. Kumar, *Ficus carica* hairy roots: *In vitro* anti-leishmanial activity against *Leishmania major* promastigotes and amastigotes. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 15 (5), 220, 2022. <https://doi.org/10.4103/1995-7645.345945>.
- [121] M. Abid, Y. J. Zhang, Z. Li, D. F. Bai, Y. P. Zhong and J. B. Fang, Effect of salt stress on growth, physiological and biochemical characters of four kiwifruit genotypes. Scientia Horticulturae, 271, 109473, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109473>.
- [122] H. I. A. Soliman, and M. R. Abd Alhady, Evaluation of salt tolerance ability in some fig (*Ficus carica* L.) cultivars using tissue culture technique. Journal of Applied Biology and Biotechnology, 5 (6), 29-39, 2019. <https://doi.org/10.7324/JABB.2017.50605>.
- [123] A. Vangelisti, L.S. Zambrano and G. Caruso, How an ancient, salt-tolerant fruit crop, *Ficus carica* L., copes with salinity: a transcriptome analysis. Sci Rep, 9, 2561, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39114-4>.
- [124] A. Mascellani, L. Natali, A. Cavallini, F. Mascagni, G. Caruso, R. Gucci... and R. Bernardi, Moderate salinity stress affects expression of main sugar metabolism and transport genes and soluble carbohydrate content in ripe fig fruits (*Ficus carica* L. cv. Dottato). Plants, 10 (9), 1861, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10091861>.
- [125] R. Abdolinejad and A. Shekafandeh, Responses of two figs (*Ficus carica* L.) cultivars under salt stress via *in vitro* condition. Agriculture Science Developments, 3 (5), 194-199, 2014.
- [126] E. M. Metwali, I. A. S. Hemaid, H. S. Al-Zahrani, S. M. Howlader and M. P. Fuller, Influence of different concentrations of salt stress on *in vitro* multiplication of some fig (*Ficus carica* L.) cultivars. Life Science

- Journal, 11 (10), 386-397, 2014. [oai:pearl.plymouth.ac.uk:10026.1/3047](https://oai.pearl.plymouth.ac.uk:10026.1/3047).
- [127] I. Al-Shomali, M. T. Sadler and A. Ateyyeha, Culture media comparative assessment of common fig (*Ficus carica* L.) and carryover effect. Jordan Journal of Biological Sciences, 10 (1), 13-18, 2017.
- [128] Y. Emek, *In vitro* Şartlar Altında ‘Bursa Siyahı’ (*Ficus carica* L.) incir çeşidinin morfolojisi üzerine tuzun etkisi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg, 21 (3), 292-296, 2018. <https://doi.org/10.18016/ksudobil.298973>.

