

Farklı Fotoperiyot Şartlarında *in vitro* Olarak Yetiştirilen patates (*Solanum tuberosum L.*)'lerde BAP'ın NAA ve IBA ile Birlikte Mikro Yumru Oluşturma Üzerine Etkileri

Ahmet Metin KUMLAY¹, Neşet ARSLAN², Canan KAYA³

ÖZET: Bu çalışma, benzyl aminopurine (BAP)'in tek başına ya da α -naphthaleneacetic acid (NAA) ve indole-3-butyric acid (IBA) ile birlikte Pasinler, Granola ve Caspar patates çeşitlerinin tek boğum sürgün kesimlerinin mikroyumru (MY) oluşturması üzerine etkisini belirlemek için yürütülmüştür. Eksplantlar kısa gün şartları (8 saat ışık) ve tamamen karanlık şartları gibi iki farklı fotoperiyot şartlarında gelişmeye bırakılmışlardır. Bu makalede patateste MY oluşumu özelliklerinden alınan gözlemler değerlendirilmiştir. MY oluşumu tamamen karanlık şartlarda (50.98 gün) kısa gün şartlarına göre (55.88 gün) daha erken başlamıştır. Karanlık şartlarda MY sayısı (2.94 adet) 8 saat ışık şartlarına göre (2.35 adet) daha fazla elde edilmiştir. Aradaki fark istatistiki olarak önemli olmamasına rağmen, toplam MY ağırlığının da karanlık şartlarda (432.02 mg), kısa gün şartlarından (389.13 mg) daha fazla olduğu görülmüştür. Hiç hormon içermeyen MS ortamı (kontrol) en yüksek MY değerleri vermiştir. Elde edilen sonuçlar, tamamen karanlık şartların kısa gün şartlarına göre, %8 sukroz içeren hormonsuz kontrol ortamının diğer bitki büyüme düzenleyicilerine göre daha üstün olduğunu, BAP+IBA uygulamasının kontrolden sonraki en uygun uygulama olduğunu göstermiştir. Bulgular ayrıca, kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisinin çeşide bağlı olarak değişebileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Patates, biyoteknoloji, doku kültürü, *in vitro*, mikroyumru

The Effects of BAP with NAA and IBA on Microtuberization of *in vitro* Grown Potatoes (*Solanum tuberosum L.*) under Different Photoperiod Conditions

ABSTRACT: The present research was carried out to determine the effect of benzyl aminopurine (BAP) with α -naphthaleneacetic acid (NAA) and indole-3-butyric acid (IBA) combinations on the microtuberization of Pasinler, Granola and Caspar potato genotypes using stem segments with single nodes. Explants were incubated at two different photoperiod conditions such as short day (8 hours daylight) and continuous dark. Observations from the microtuber characteristics were examined in this article. Microtuberization started earlier under continuous dark (50.98 days) than short days (55.88 days) conditions. Higher number of microtubers per plantlets was determined on continuous dark (2.94) than 8 hours photoperiod (2.35). Total microtuber weight was also higher under continuous dark (432.02 mg) than short day (389.13 mg) although differences between them were insignificant. Presented results showed that the effect of continuous dark was more dominant than short days and the influence of control treatment including only 8% sucrose and combination of BAP+IBA was more pronounced compared to other hormonal treatments. Findings of the research also revealed that the effect of PGRs on plantlet characteristics studied was variable depending on the genotype.

Keywords: Potato, biotechnology, tissue culture, *in vitro*, microtuber

¹ İğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, İğdır, Türkiye

² Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara, Türkiye

³ Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Endüstri Bitkileri, Erzurum, Türkiye

Sorumlu yazar/Corresponding Author: akumlay@hotmail.com

GİRİŞ

In vitro şartlarda mikroyumru (MY) çoğaltımı patates (*Solanum tuberosum* L.) tohumluk programı içerisinde temel tohumluk elde edilirken kullanılmaktadır. Son yıllarda sertifikalı tohumluk üretim programlarında, gen kaynaklarının muhafazası ve dağıtımında ve yumru oluşum mekanizmalarının çalışmasında MY kullanımı gittikçe daha büyük bir önem kazanmıştır (Coleman et al., 2001, Donnelly et al., 2003). MY oluşumunun başlaması ve devamı için etkili faktörlerin; ışık şiddeti ve kalitesi, sıcaklık, patates çeşidi, explant kaynağı ve tipi, sukroz ve değişik büyüme düzenleyicilerinin kombinasyonu olduğu yapılan araştırmalar sonucu ortaya konulmuştur (Khuri and Moorby, 1995; Hossain, 2005; Ghavidel et al., 2012).

Çeşidin *in vitro* şartlarda MY elde edilmesini etkileyen en önemli faktörlerden olduğu, (Hossain, 2005), erkenci çeşitlerin geçcilere göre daha erken MY oluşturmaya başladığı (Levy et al., 1993) ve bazı çeşitlerin fitohormon olmazsa dahi MY oluşturmaya başladığı (Aryakia and Hamidoghli, 2010) rapor edilmiştir.

Besi ortamına ilave edilen sukrozun MY oluşumunda önemli olduğu vurgulanmış; bazı araştırmacılar %6 bazıları ise %8 sukroz konsantrasyonunun ise en iyi sonucu verdiğini bildirmişlerdir (Khuri and Moorby, 1995; Coleman et al., 2001; Donnelly et al., 2003). Benzyl aminopurine (BAP), α -naphthaleneacetic acid (NAA) ve indole-3-butyric acid (IBA)'in ortamdaki etilen üretimini ve dolayısıyla MY oluşumunu uyardığı; BAP ilavesiyle yumru oluşum etkinliğinin arttığı (Hossain et al., 2006; Aryakia and Hamidoghli, 2010), BAP'ın sadece %4 (w/v) sukroz konsantrasyonunun üzerinde MY oluşumunu teşvik ettiği (Banfalvi et al., 1997), optimum MY sayısı ve MY ağırlığı için BAP konsantrasyonunun 2 mg L⁻¹ ve fotoperiyotun 8 saat ve olması gerektiği (Belletti et al., 1994) rapor edilmiştir. Ebadi ano Iranbaksh (2011) 80 g L⁻¹ sukroz ve 10 mg L⁻¹ BAP içeren MS ortamlarının bütün bu parametreleri optimize eden bir uygulama olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmanın amacı farklı fotoperiyot ve bitki büyüme düzenleyicileri (oksin olarak IBA ve NAA, sitokin olarak BAP) kullanılarak Pasinler, Granola ve Caspar patates çeşitlerinin *in vitro* şartlarda MY üretiminin gerçekleştirilmesidir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma Yeri, Kullanılan Patates Çeşitleri ve Malzemelerin Sterilizasyonu

Araştırma, Erzurum Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada Pasinler, Granola ve Caspar patates çeşitleri kullanılmıştır. Yumru ortamlarının konulduğu cam kavanozlar ve besi ortamlarının hazırlanmasında kullanılan saf su 121 °C'de 15 dakika tutulmak suretiyle sterilize edilmişlerdir. Petri kapları, bisturi, pens ve diğer malzemeler de alüminyum folyoya sarılarak 180-200 °C'de 3 saat süreyle etüvde tutulmak suretiyle sterilize edilmişlerdir.

Besi Yerinin Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Besi yeri olarak Murashige and Skoog (1962) tarafından geliştirilen ve günümüzde değişik modifikasyonlarının yaygın bir şekilde uygulandığı MS ortamı kullanılmıştır. Ortam pH'sı 5.6-5.8'e ayarlandıktan sonra, katı besi ortamı için 8 g L⁻¹ agar ilave edilmiş, ortamlar cam balonlar içerisinde 121 °C'de 15 dakika otoklave edilmiş, otoklavdan çıktıktan sonra sıcaklığın 45-50 °C'ye düşmesiyle, yumru elde etmede kullanılacak hormonlar ısıya hassas olduklarından 0.2 µm miliporlardan (Schleicher & Schuell, FP 30/0,2 CA-S; 0.2 µm; 7 bar max) geçirilerek ortama ilave edilmiştir. Daha sonra her bir kavanoza 20-25 ml besi ortamı konularak katılaşımları beklenmiştir. Çalışmada kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve konsantrasyonları şu şekilde ayarlanmıştır: 1. Ortam: Kontrol, 2. Ortam: 2 mg L⁻¹ BAP, 3. Ortam: 10 mg L⁻¹ NAA+ 2 mg L⁻¹ BAP, 4. Ortam: 10 mg L⁻¹ IBA + 2 mg L⁻¹ BAP.

Bitkisel Materyalin Hazırlanması

Meristemden gelişen bitkicikler steril bisturi yardımıyla tek boğum aralarından kesilerek içlerinde MS+Bitki Büyüme Düzenleyicisi olan kavanozlara aktarılmış; her bir kavanoz içerisine 4 eksplant olacak şekilde ortamların her birinden 5 tekerrür yapılmıştır.

Çalışmada Uygulanan Fotoperiyot Şartları

Besi ortamına alınan bitkicikler 4 hafta boyunca meristem ve çoğaltım şartlarıyla aynı tutulmuş [16 saat aydınlık, 8 saat karanlık (24±2 °C), 2000 lüks ışık yoğunluğu], daha sonra 2 farklı fotoperiyot şartlarına alınmış ve büyütme kabinlerindeki ışık ve sıcaklık uygulamaları şu şekilde ayarlanmıştır: 1. Fotoperiyot: 8 saat aydınlık (22±2 °C) ve 16 saat karanlık (16±2 °C),

2. Fotoperiyot: Tamamen Karanlık (8 saat 22±2 °C, 16 saat 16±2 °C).

Yapılan Gözlem ve Ölçümler ve Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmada MY oluşum başlangıcı gün sayısı, MY oluşturan bitki oranı (%), stolon sayısı (adet), toplam MY sayısı (adet), bitki başına MY ağırlığı (mg), ortalama tek MY ağırlığı (mg) ve MY çapı (mm) gözlemleri alınmıştır.

Araştırma sonucunda elde edilen veriler TARIST paket programında, “Tesadüf Bloklarında Bölünen Bölünmüş Parseller Deneme Deseni”ne göre 2 fotoperiyot, 3 çeşit ve 4 farklı besi ortamı 5 tekerrürlü olarak değerlendirilmiştir.

Ele alınan her bir özellik için fotoperiyot, çeşit ve besi ortamları arasındaki farklılıklar LSD testi uygulanarak belirlenmiş; bu faktörler arasındaki etkileşimler de grafik çizilerek izah edilmeye çalışılmıştır (Çizelge 1 ve 2).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışma sonucunda değerlendirmeye tabi tutulan bitki özelliklerine fotoperiyot, çeşit ve ortamların etkileri ayrı alt başlıklar altında değerlendirilmiştir.

İlk mikroyumru oluşum başlangıcı gün sayısı (MYGS)

Fotoperiyot, çeşit ve ortamlar arasındaki farklılık ile çeşit x ortam etkileşimi çok önemli ($p < 0.01$), fotoperiyot x ortam etkileşimi önemli ($p < 0.05$), fotoperiyot x çeşit ve fotoperiyot x çeşit x ortam etkileşimi önemsiz ($p > 0.05$) olarak belirlenmiştir. Fotoperiyot x çeşit x ortam etkileşimi önemsiz olarak belirlenmesine rağmen, MY oluşumunun tamamen karanlık şartlarda Pasinler çeşidinde BAP+IBA ortamında en erken başladığı (32.2 gün), bunu yine karanlık şartlarda BAP+IBA ortamında Caspar çeşidinin (39.2 gün) ve kontrol ortamında Granola çeşidinin (40.6 gün) takip ettiği görülmektedir (Şekil 1 ve Çizelge 2).

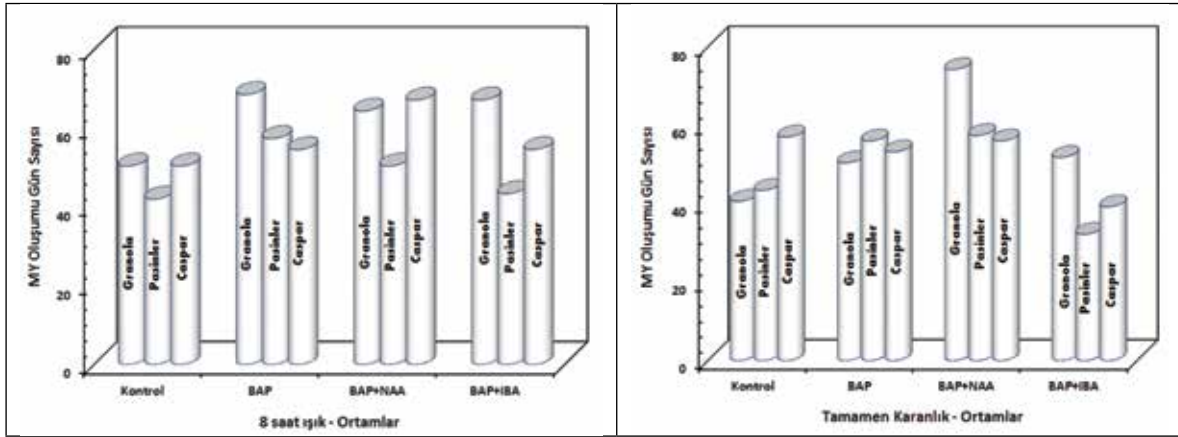
Çizelge 1. Patates çeşitlerinden alınan gözlem ve değerlendirmeler üzerine fotoperiyot, çeşit ve hormon uygulamalarının etkisi ile ikili etkileşim F değerleri

Uygulamalar	Alınan Gözlemler						
	MYGS (gün)	MYO (%)	SS (adet)	TMYS (adet)	BBMYA (mg)	TMYA (mg)	MYÇ (mm)
Fotoperiyot Ortalamaları							
8 saat Işık	55.88b	80.83	5.48b	2.35b	389.13	167.87	5.12a
Karanlık	50.98a	75.83	6.68a	2.94a	432.02	153.98	3.91b
Fotoperiyot F	7.289**	1.412 ^{ns}	16.859**	12.876**	1.248 ^{ns}	0.924 ^{ns}	15.904**
Çeşit Ortalamaları							
Pasinler	47.78a	81.25	6.60a	2.89	502.48a	184.03a	5.06a
Granola	58.45b	75.00	6.05ab	2.63	277.25b	108.28b	3.80b
Caspar	54.08b	78.75	5.60b	2.43	452.00a	190.48a	4.68a
Çeşitler F	11.657**	0.745 ^{ns}	3.915*	2.639 ^{ns}	12.638**	13.350**	6.075**
Hormon Uygulamaları Ortalamaları							
Kontrol	47.37a	90.00a	8.17a	3.00a	466.07a	168.77	4.57a
BAP	56.70b	78.33ab	4.83c	2.83a	419.93a	160.80	5.05a
BAP+NAA	61.60b	66.67b	4.37c	1.85b	281.77b	155.07	3.60b
BAP+IBA	48.07a	78.33ab	6.97b	2.90a	474.53a	159.07	4.83a
Uygulamalar F	14.468**	5.124**	37.581**	10.526**	5.394**	0.159 ^{ns}	4.456**
İnteraksiyon F Değerleri							
FP x Çeşit F	1.376 ^{ns}	0.353 ^{ns}	1.873 ^{ns}	3.313*	1.124 ^{ns}	2.236 ^{ns}	0.196 ^{ns}
FP x Ortam F	3.862*	0.679 ^{ns}	1.544 ^{ns}	0.561 ^{ns}	2.797*	3.535*	5.213**
Çeşit x Ortam F	3.530**	1.791 ^{ns}	11.681**	6.102**	2.259*	1.369 ^{ns}	1.877 ^{ns}

FP: Fotoperiyot, MYGS: Mikroyumru oluşumu gün sayısı, MYO: Mikroyumru oluşum oranı, SS: Stolon Sayısı, TMYS: Toplam mikroyumru sayısı, BBMYA: Bitki başına mikroyumru ağırlığı, TMYA: Tek mikroyumru ağırlığı, MYÇ: Yumru Çapı
 **: %1 seviyesinde önemli, *: %5 seviyesinde önemli, ns: önemli değil.

Tamamen karanlık şartlarda MY oluşumunun daha erken başladığı, kültüre alındıktan sonraki ilk devrelerde karanlık şartlarda yumru oluşum hızı, yumru sayısı, yumru büyüklüğünün daha fazla olduğu, ileriki aşamalarda ise 8 saatlik ışık periyodunda yumru sayısı ve büyüklüğünün daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ortiz-Montiel ve Lozoya-Saldana (1987) yumru oluşum başlangıcının 5. haftadan itibaren (35. gün) başladığını, Slimmon et al., (1989) tek boğum kesimlerinden elde edilen

bitkiciklerin %47'sinin ilk 4 haftalık süre sonunda tamamen karanlık şartlarda yumru meydana getirdiğini, buna karşın 8 saatlik ışık şartlarında bu oranın %20 olduğunu, Costa et al. (1991) ilk yumru oluşumunun 30. günden itibaren başladığını rapor etmişlerdir. Dobranszki and Mandi (1993) 8 saatlik ışık uygulamasının yumru oluşumunu geciktirdiğini, buna karşın 8 saatlik fotoperiyottan sonra uygulanan tamamen karanlık şartların hızlı bir yumru oluşumunu teşvik ettiğini belirtmişlerdir.

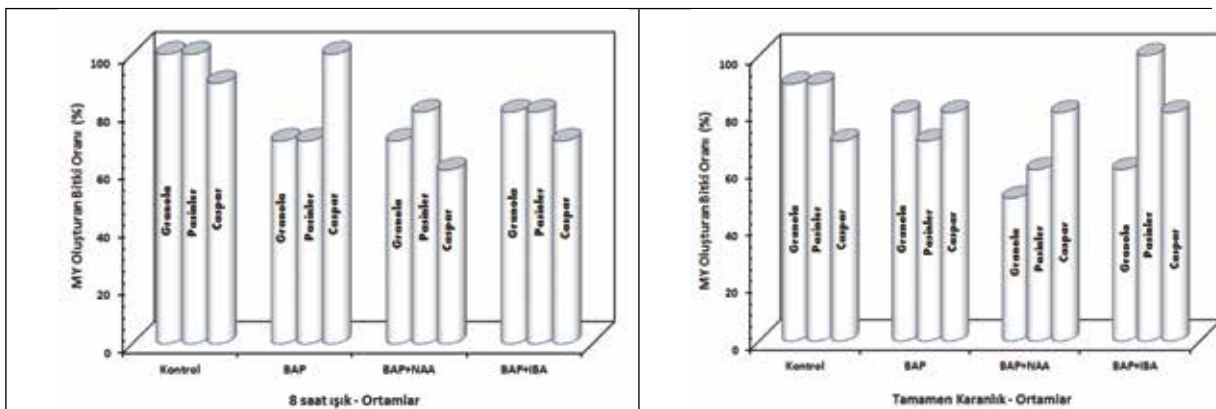


Şekil 1. Mikroyumru oluşumu gün sayısı üzerine hormon uygulamaları ve fotoperiyot şartlarının etkisi.

Mikro Yumru Meydana Getiren Bitki Oranı (MYO, %)

Farklı ışıklandırma ve büyütme ortamlarından elde edilen MYO değerleri, varyans analiz sonuçları ve LSD grupları Çizelge 1 ve 2'de verilmiştir.

MYO yönünden sadece hormon uygulamaları açısından çok önemli farklılık bulunmuş ($p < 0.01$), diğer bütün uygulama ve interaksiyonlar açısından meydana gelen farklılık önemsiz ($p > 0.05$) olarak belirlenmiştir (Şekil 2 ve Çizelge 2).



Şekil 2. Mikroyumru meydana getiren bitki oranı üzerine hormon uygulamaları ve fotoperiyot şartlarının etkisi.

Slimmon et al (1989) yaptıkları çalışmada, 8 saatlik fotoperiyodun ilk 4 haftalık diliminde yumru oluşum oranının karanlık periyoda göre düşük

olduğunu, ancak 8 haftalık ve 12 haftalık inkübasyon döneminde benzer sonuçlar elde edildiğini rapor etmişlerdir.

Çizelge 2: Patates çeşitlerinden alınan gözlemler üzerine fotoperiyot, çeşit ve hormon uygulamalarının üçlü interaksiyon etkileri

FP	Çeşit	Ortamlar	Alınan Gözlemler						
			MYGS (gün)	MYO (%)	SS (adet)	TMYS (adet)	BBMYA (mg)	TMYA (mg)	MYÇ (mm)
8 saat Işık	Pasinler	Kontrol	42.0	100	6.4d-h	2.0	527.2	259.2	6.2ab
		BAP	57.4	70	4.8h-l	2.6	519.0	227.4	6.8a
		BAP+NAA	50.4	80	5.2f-k	2.1	451.2	211.2	5.2a-f
		BAP+IBA	43.4	80	6.8d-h	2.9	454.0	148.4	5.0a-g
	Granola	Kontrol	50.4	100	9.0bc	3.0	373.8	131.0	6.2ab
		BAP	68.6	70	2.8l	1.8	163.8	91.6	3.6e-j
		BAP+NAA	64.4	70	3.8j-l	1.5	183.0	119.4	4.0c-i
		BAP+IBA	67.2	80	5.4e-k	2.6	150.0	55.0	3.6e-j
	Caspar	Kontrol	50.4	90	7.4c-e	2.7	644.0	236.6	6.0a-c
		BAP	54.6	100	5.4e-k	3.0	487.2	181.2	5.6a-e
		BAP+NAA	67.2	60	3.4kl	1.4	210.2	158.6	3.4f-j
		BAP+IBA	54.6	70	5.4e-k	2.6	506.2	194.8	5.8a-d
Karanlık	Pasinler	Kontrol	43.4	90	7.2c-f	2.8	431.8	157.6	4.2b-i
		BAP	56.0	70	7.0c-g	4.6	466.6	102.0	3.1g-j
		BAP+NAA	57.4	60	5.6e-j	2.7	489.0	167.8	4.6b-h
		BAP+IBA	32.2	100	9.8b	3.4	681.0	198.6	5.4a-f
	Granola	Kontrol	40.6	90	13.0a	5.0	504.8	103.2	2.4i-j
		BAP	50.4	80	4.0i-l	2.2	444.2	204.2	5.0a-g
		BAP+NAA	74.2	50	4.0i-l	2.0	88.4	53.0	1.8j
		BAP+IBA	51.8	60	6.4d-h	2.9	310.0	108.8	3.8d-j
	Caspar	Kontrol	57.4	70	6.0d-i	2.5	314.8	125.0	2.4i-j
		BAP	53.2	80	5.0g-k	2.8	438.8	158.4	6.2ab
		BAP+NAA	56.0	80	4.2i-l	1.4	268.8	220.4	2.6h-j
		BAP+IBA	39.2	80	8.0b-d	3.0	746.0	248.8	5.4a-f
Fotoperiyot x Çeşit x Ortam F değeri			2.10 ^{ns}	1.82 ^{ns}	2.73*	1.57 ^{ns}	1.48 ^{ns}	2.05 ^{ns}	2.79*

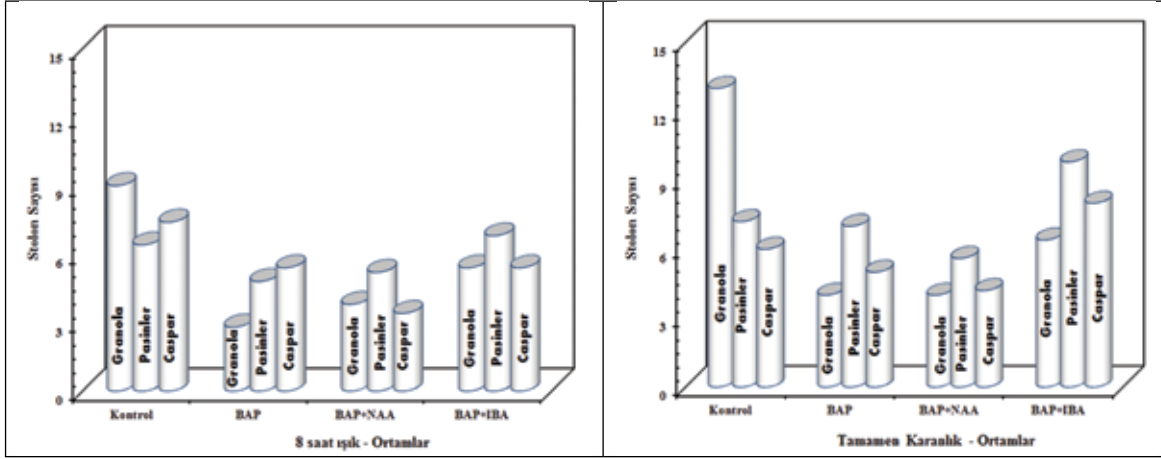
FP: Fotoperiyot, MYGS: Mikroyumru oluşumu gün sayısı, MYO: Mikroyumru oluşum oranı, SS: Stolon Sayısı, TMYS: Toplam mikroyumru sayısı, BBMYA: Toplam mikroyumru ağırlığı, TMYA: Tek mikroyumru ağırlığı, YÇ: Yumru Çapı

** : %1 seviyesinde önemli, * : %5 seviyesinde önemli, ns: önemli değil.

Stolon Sayısı (SS, adet)

Fotoperiyot ve ortamlar arasındaki farklılık ile çeşit x ortam interaksiyonu çok önemli (p<0.01),

çeşitler arasındaki fark ile fotoperiyot x çeşit x ortam interaksiyonu önemli (p<0.05), fotoperiyot x çeşit ve fotoperiyot x ortam interaksiyonu önemsiz (p>0.05) olarak belirlenmiştir (Çizelge 1 ve 2).



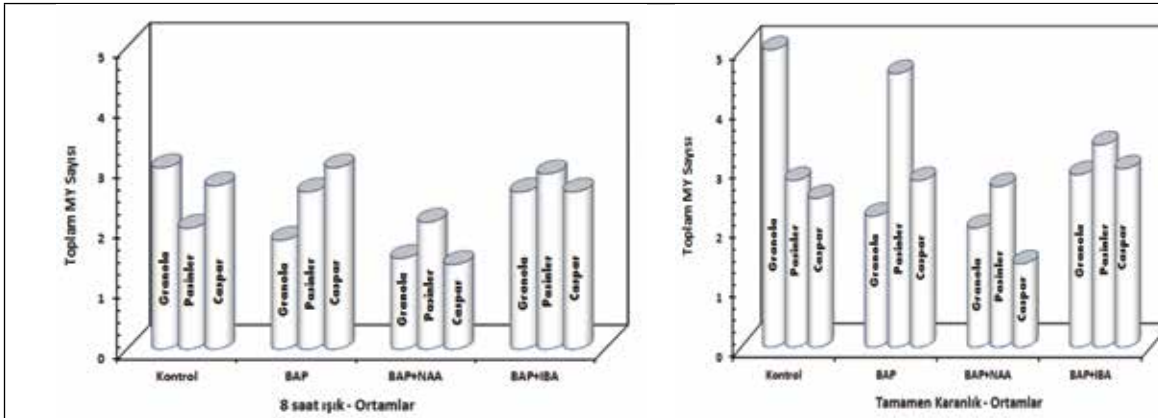
Şekil 3. Stolon sayısı üzerine hormon uygulamaları ve fotoperiyot şartlarının etkisi

En yüksek SS tamamen karanlık şartlarda kontrol ortamında Granola çeşidinden elde edilmiş (13.0 adet), bunu karanlık şartlarda BAP+IBA ortamında Pasinler (9.8 adet), 8 saat ışık şartlarda kontrol ortamında Granola çeşidi (9.0 adet) ve tamamen karanlık şartlarda BAP+IBA ortamında Caspar çeşidi (8.0 adet) takip etmiştir (Çizelge 2 ve Şekil 3). Yapılan gözlemlerde *in vitro* şartlarda stolonların genelde üst bitki aksamalarında oluştuğu, bazı durumlarda ise saplardaki koltukaltı boğumlarından meydana geldiği belirlenmiştir.

Toplam Mikroyumru Sayısı (TMYS)

Farklı ışıklandırma ve büyütme ortamlarından elde

edilen bitki başına TMYS değerleri, varyans analiz sonuçları ve LSD grupları Çizelge 1 ve 2'de verilmiştir. Fotoperiyot ve ortamlar arasındaki farklılık ile çeşit x ortam etkileşimi çok önemli ($p < 0.01$), fotoperiyot x çeşit etkileşimi önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Öte yandan, çeşitler ile fotoperiyot x ortam ve fotoperiyot x çeşit x ortam etkileşimi önemsiz ($p > 0.05$) olarak belirlenmiştir. En yüksek TMYS tamamen karanlık şartlarda kontrol ortamında Granola çeşidinden elde edilmiş (5 adet), bunu yine tamamen karanlık şartlarda Pasinler çeşidi BAP (4.6 adet) ve BAP+IBA (3.4 adet) ortamları ile takip etmiştir (Çizelge 2 ve Şekil 4).



Şekil 4. Toplam mikroyumru sayısı üzerine hormon uygulamaları ve fotoperiyot şartlarının etkisi.

Hormonsuz %8 sukroz konsantrasyonunda, bitki başına en az 1 adet yumru elde edildiği ve bu sonucun hormonlarla elde edilen sonuçlarla çok benzer olduğu not edilmiştir (Dobranszki and Mandi, 1993).

Belletti ve ark. (1994) 2 mg L⁻¹ BAP, Rafique et al. (2004) ise %6 sukroz+1µM BAP konsantrasyonundan en yüksek

TMYS elde edildiğini vurgulamışlardır. Lentini ve Earla (1991) bitki başına ortalama 2-6 adet MY, Gopal

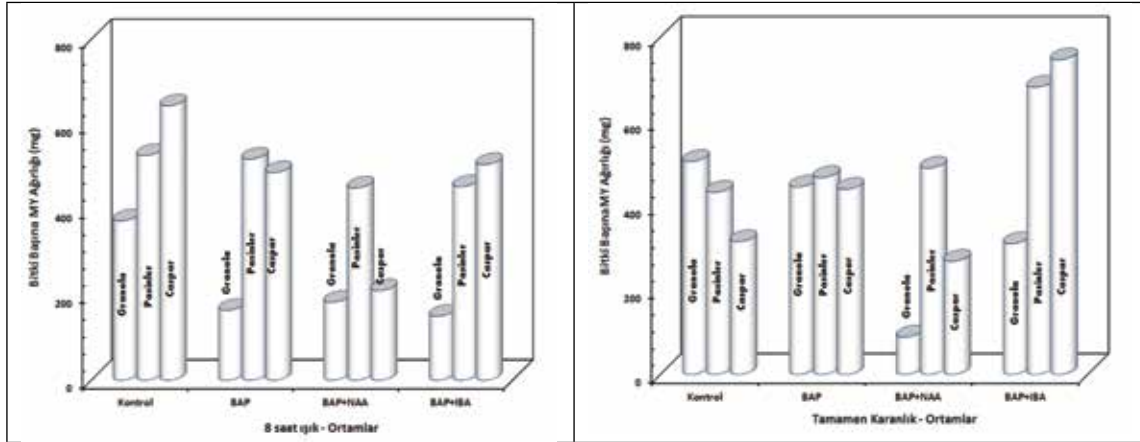
et al. (1998) ise en fazla 2 adet MY elde edildiğini rapor etmişlerdir.

Bitki Başına Mikro Yumru Ağırlığı (BBMYA, mg)

Çeşit ve ortamlar arasındaki farklılık çok önemli bulunurken ($p < 0.01$); fotoperiyot x ortam ve çeşit ortam etkileşimleri önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Fotoperiyot farkları ile fotoperiyot x çeşit ve fotoperiyot x çeşit x ortam etkileşimleri ise önemsiz olarak

belirlenmiştir ($p>0.05$). En yüksek BBMYA karanlık şartlarda BAP+IBA uygulamasında Caspar çeşidinden (746 mg) elde edilmiş; bunu yine karanlık şartlarda

BAP+IBA uygulamasında Pasinler çeşidi (681 mg) ve 8 saat ışık şartlarındaki kontrol uygulamasında Caspar çeşidi (644 mg) takip etmiştir (Çizelge 2 ve Şekil 5).



Şekil 5. Bitki başına mikroyumru ağırlığı üzerine hormon uygulamaları ve fotoperiyot şartlarının etkisi.

8 saatlik fotoperiyot uygulamasının başlangıç aşamalarında yumru oluşum hızı yavaş olmasına rağmen, ilerleyen aşamalarda bu hızın arttığı ve MY sayısında ve ağırlığında önemli oranda artışlar meydana geldiği görülmüştür (Slimmon et al., 1989). Gopal et al. (1998) BBMYA'nın 207.49-644.84 mg, Lentini ve Earla (1991) ise 640-2010 mg arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Desiree çeşidinin %6 sukroz+6 mg L⁻¹ BA, Cardinal çeşidinin ise %8 sukroz+6 mg L⁻¹ BA kombinasyonundan en uygun TMYs ve BBMYA verdiği ve sukroz oranı artırılarak BA konsantrasyonunun düşürülebileceği (Aslam et al., (2011), elde edilen sonuçların çeşide özgü olduğu (Sharma et al., 2011) rapor edilmiştir.

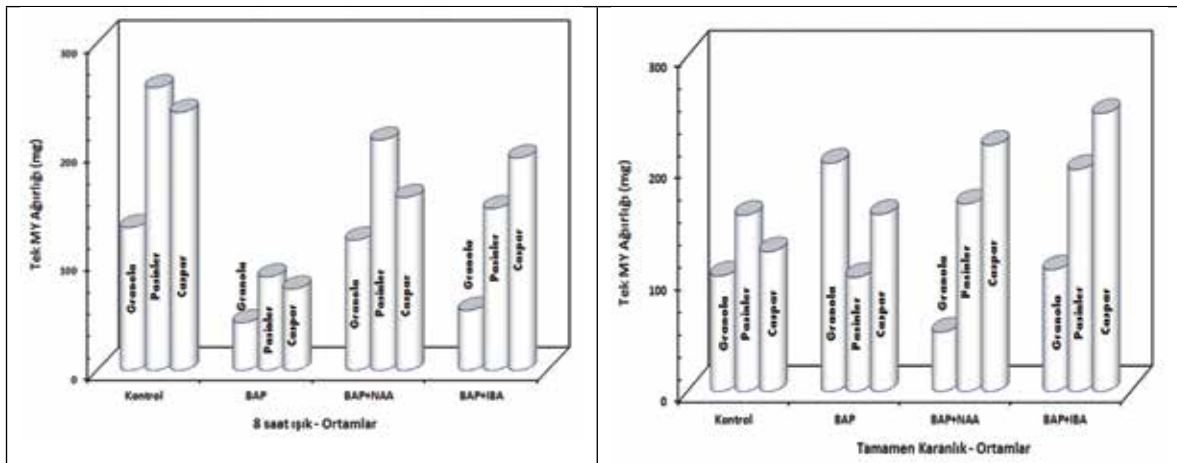
Tek Mikroyumru Ağırlığı (TMYA)

Çeşitler arasındaki fark çok önemli bulunurken

($p<0.01$), fotoperiyot x ortam interaksyonu önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Fotoperiyotlar ve ortamlar arasındaki farklılık ile fotoperiyot x çeşit, çeşit x ortam, fotoperiyot x çeşit x ortam interaksyonu ise önemsiz olarak belirlenmiştir ($p>0.05$).

En yüksek TMYA 8 saat ışık şartlarında kontrol uygulamasında Pasinler çeşidinden (259.2 mg) elde edilmiş; bunu karanlık şartlarda BAP+IBA (248.8 mg) ve aydınlık şartlarda kontrol (236.6 mg) ortamlarında Caspar çeşidi takip etmiştir (Çizelge 2 ve Şekil 6). Harvey et al. (1991) sadece sukroz bulunan ortamdan ortalama 214 mg ağırlığında

TMYA elde ederken, Lentini and Earla (1991) 130-470 mg ve Gopal et al (1998) ise 114.69-363.76 mg arasında TMYA elde etmişlerdir.

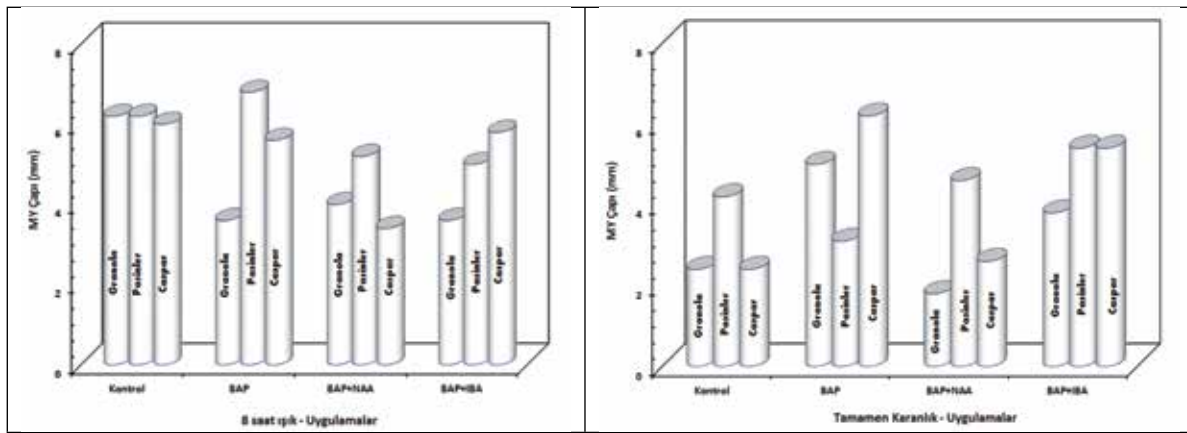


Şekil 6. Ortalama tek mikroyumru ağırlığı üzerine hormon uygulamaları ve fotoperiyot şartlarının etkisi

Mikroyumru Çapı (MYÇ, mm)

Fotoperiyotlar, çeşitler ve ortamlar arasındaki fark ile fotoperiyot x ortam ve fotoperiyot x çeşit x ortam interaksyonu çok önemli bulunurken ($p < 0.01$), fotoperiyot x çeşit ve çeşit x ortam interaksyonu önemsiz olarak belirlenmiştir ($p > 0.05$). En yüksek MYÇ 8 saat ışık şartlarında BAP ortamında Pasinler çeşidinden (6.8 mm) elde edilmiş; bunu tamamen karanlık şartlarda BAP ortamında Caspar çeşidi, 8 saat ışık şartlarında kontrol ortamında Pasinler çeşidi, 8 saat ışık şartlarında kontrol ortamında Granola çeşidi 6.2 mm MY çapı ile ve yine 8 saat ışık şartlarında

kontrol ortamında Caspar çeşidi 6 mm MY çapı ile takip etmiştir (Çizelge 2 ve Şekil 7). Slimmon ve ark. (1989) karanlık şartlarda MYÇ'nin 0.48 ile 0.60 cm, buna karşın kısa gün şartlarında bu oranların 0.58 ile 0.75 cm arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Forti et al (1991) kısa gün şartlarında üretilen MY'ların tamamen karanlık şartlarda elde edilenlere göre; Levy et al (1993) ise erkenci çeşitlerden alınan MY'ların geçici çeşitlere göre çaplarının daha büyük olduğunu belirlemişlerdir. Aryakia and Hamidoghli (2010) 1 mg L⁻¹ BAP konsantrasyonunun MY ağırlığı ve büyüklüğünü artırmada en uygun konsantrasyon olduğunu rapor etmişlerdir.



Şekil 7. Mikroyumru çapı üzerine hormon uygulamaları ve fotoperiyot şartlarının etkisi

SONUÇ VE TARTIŞMA

Işık şartlarında oluşan MY'ların klorofil pigmentasyonundan dolayı genelde yeşilimtrak renkten koyu yeşile, koyu kahverengiden mor rengine kadar değiştiği ve daha kalın kabuklu olduğu görülmüştür. Buna karşın, karanlık şartlarda oluşan MY'ların ışık yokluğundan dolayı çoğunlukla (%90'ın üzerinde) normal yumru rengini yansıttığı, yumru renginin beyaz ve açık sarıdan koyu sarı rengine kadar değiştiği ve daha hassas yumrular oluştuğu görülmüştür. Karanlık şartlarda elde edilen MY'ların rengi doğal patates yumru renkleriyle uyumlu olmasına rağmen yumru büyüklük dağılımında heterojen bir yapı göze çarpmıştır. Buna karşın, kısa gün şartlarında elde edilen MY'ların daha homojen bir dağılım gösterdiği, çeşitlerin tarla ve sera şartlarında elde edilen karakteristik yumru şekline daha yakın yumru şekli meydana getirdiği gözlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmaların birçoğunda MY'ların bitkiciklerin alt, orta ve uç kısımlarında oluştuğu ve çok nadir olarak bazı bitkiciklerin agar içerisinde meydana geldiği rapor edilmiştir (Nasiruddin and Blake 1994). Işık şartlarında elde edilen MY'ların ya direkt ya da kısmen agar ortamı içerisinde geliştiği, buna karşın karanlık şartlarda ise daha üst bitki aksamlarında MY

oluşumu görüldüğü belirlenmiştir. Besi ortamı içinde veya besi ortamıyla temas halinde olan MY'ların oldukça yüksek taze ağırlık vermesinin sebebi, besi ortamıyla direkt temas halinde olan MY'ların lentiselleri vasıtasıyla ortamdan besin alabilmesinin mümkün olmasındandır. Besi ortamında meydana gelen MY'larda üst bitkicik aksamlarında elde edilenlere göre, oldukça önemli bir oranda lentsel gelişimi olduğu görülmüştür. Ancak, lentsellerdeki bu önemli artışın, hasattan sonra MY'ları hemen kurumaya ve sıvı kaybına karşı daha hassas kıldığı da rapor edilmiştir (Slimmon et al., 1989).

Tamamen karanlık şartlarda MY oluşumunun daha erken başladığı, toplam MY sayısının ve ağırlığının daha fazla olduğu, buna karşın 8 saatlik fotoperiyot (kısa gün) şartlarında ise MY oluşum oranının, ortalama tek MY ağırlığının ve MY çapının daha fazla olduğu görülmektedir (Çizelge 1). Elde edilen bu sonuçlar, tamamen karanlık şartların MY oluşumu için daha uygun olduğunu belirten Hoque (2010)'un çalışmasıyla benzerlik arzederken, Seabrook et al (1993), Hossain, (2005), Pruski et al (2001) ile Yasmin et al (2011)'nin çalışmalarından ise farklılık göstermektedir. Kısa gün (8 saat fotoperiyot) şartlarında tek MY büyüklüğünün ve

MY çapının daha fazla olduğu ve daha uniform MY'lar meydana geldiği gözlenmiştir. Kısa gün şartlarında elde edilen toplam MY ağırlığının tamamen karanlık şartlara göre istatistiki anlamda farklı olmamasına rağmen, daha sonraki sera ve tarla uygulamalarında buradan elde edilen daha büyük çaptaki MY'ların bir avantaj sağlayacağı sonucu çıkarılabilir. Bu sonuçlardan; tek boğum kesimlerinin ilk 4 haftalık süre boyunca uzun gün şartlarında (16 saat aydınlık, 8 saat karanlık) tutularak iyi bir bitki gelişiminin sağlanması ve daha sonra kısa gün şartlarına (16 saat karanlık, 8 saat aydınlık) alınarak yeterli MY oluşumunun teşvik edilmesi en uygun uygulama gibi görülmektedir. Daha sonra yapılacak çalışmalarda kısa gün şartlarındaki ışık şiddetinin düzenlenmesi ile daha verimli sonuçlar alınabileceği ve bu konuda çalışmalar yapılmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

Çeşitlerin *in vitro* şartlarda MY meydana getirme özellikleri yönünden toplam MY sayısı yönünden istatistiki anlamda önemli farklılıkların olmadığı, buna karşın toplam ve tek MY ağırlıkları ile MY çapı yönünden farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Mahdi et al (2004) çeşitlerin fotoperiyot tepkilerinin çeşide özgü olduğunu; bazı çeşitlerin ışık şartlarında, bazılarının ise karanlık şartlarda MY meydana getirdiğini vurgulamışlardır. Bu sonuç *in vitro* şartlarda TMYS ve TMYA'nın çeşitlere özgü olduğunu rapor eden Aslam ve ark. (2011, Sharma et al. (2011) ile Srivastava et al (2012)'nin çalışmalarından farklılık arzetmektedir. Pasinler çeşidi Caspar ve Granola çeşitlerine göre daha yüksek TMYS ve TMYA vermesine rağmen (Çizelge 2), Caspar ve Granola'dan elde edilen *in vitro* yumruların gerçek yumru özelliklerini daha doğru yansıttığı gözlenmiştir. Buna karşın, Pasinler çeşidinden elde edilen MY'ların düzensiz şekilli olması bu çeşide olan ilgiyi azaltmış, ancak yeni hormon kombinasyonlarının kullanılmasıyla bu çeşidin özelliklerinin geliştirilmesi ve pratiğe aktarılmasının uygun olacağı düşünülmektedir. Doğu Anadolu Patates Islah Çalışmaları'ndan elde edilen yeni hat ve klonlar ile yeni ticari çeşitlerin MY meydana getirme özelliklerinin test edilmesi ve tohumluk programlarına olumlu tepkiler veren bu çeşitlerin alınmasıyla, patates tohumluk endüstrisine yeni açılımların kazandırılması mümkün olabilecektir.

Elde edilen sonuçlardan da görülebileceği gibi sadece %8 sukroz içeren kontrol ortamının hormon uygulamalarına göre daha yüksek MY özellikleri verdiği belirlenmiştir. Kontrolde sonraki en iyi uygulamanın BAP+IBA kombinasyonu olduğu, bunu tek başına BAP uygulamasının takip ettiği ve

BAP+NAA uygulamasının ise en düşük MY özellikleri verdiği görülmektedir (Çizelge 1). Buna göre; optimum bir MY sayısı ve verimi için besi ortamına yalnızca oksin veya sitokin ilavesinin tek başına etkili olamadığı, oksin ve sitokinlerin dengeli bir şekilde aynı anda kullanılmasının gerektiği, ya da yumru oluşumunun farklı safhalarında değişik fitohormonlarının kullanılmasıyla bitki büyüme düzenleyicilerinin yumru karakteristiklerini kontrol etmelerinin sağlanması gerektiği sonucu çıkarılabilir. Bu durumda fitohormonlar başlangıçta bitkilerin iyi gelişimi sağlayacak ve daha sonraki aşamalarda ise yumru veriminde etkili olabilecektir. Örneğin; bir sitokininin genelde yumru oluşum başlangıcını etkilediği ve bu nedenle yumru sayısını büyük oranda artırdığı, buna karşılık oksinlerin temelde yumru büyümesini artırdığı ve daha büyük yumruların oluşumuna sebebiyet verdiği göz önüne alındığında, bu iki kimyasalın besi ortamında dengeli bir şekilde kullanılması halinde uniform ve kaliteli MY'ların alınacağı aşıkardır. Oksin ve sitokin miktarını optimize etmek ve bunları farklı sukroz konsantrasyonları ile dengelemek için yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır. Elde edilen bu sonuçların boğum kesimlerinden alındığı dikkate alındığında, daha sonraki çalışmalarda farklı bitki aksamalarının (stolon, sap parçası ya da MY) yeni besi ortamlarında denenmesi ve tepkilerinin kontrol edilmesi yararlı olacaktır.

Uygun besi ortamı ve fotoperiyodun belirlenmesinde sadece MY sayısı ve MY ağırlığının dikkate alınması yeterli olmamakta, elde edilen MY'nun hastalıktan arı olması, göz sayısı ve dormansi durumu ile hasat indeksinin de gözönüne alınması gerekmektedir. Hasat indeksi elde edilen taze MY yumru ağırlığının toplam biyomasa oranını göstermekte ve bu oranın yüksek olması arzu edilmektedir. Son yıllarda kullanımı gittikçe yaygınlaşan ve yeni geliştirilen bioreaktör gibi birçok kütleli MY üretim metodolojisi, ticari üretim için alternatif metotlardan olup, belirtilen bütün yumru karakteristiklerinin optimize edilmesini mümkün kılmaktadır (Piao et al., 2003; Kamarainen-Karppinen et al., 2010; Sarekanno et al., 2012). Bu metotlar bitki başına yumru sayısını artırdığı gibi, MY'ların büyüklük ve ağırlıklarını da artırmakta ve bu nedenle herhangi bir ön muameleye tabi tutulmadan depolanabilmesine ve doğrudan tarlaya dikilmesine izin verebilmektedir. Hastalısız patates tohumluğu üretimi için gelişmekte olan bu teknolojilerin ülkemiz patates tohumluk üretim programlarında mutlaka istihdam edilmesi gerekmektedir. Bu sayede, hali hazırda mevcut problemlerin çoğunun kısa sürede çözülebileceği görülecektir.

KAYNAKLAR

- Aryakia, E., Hamidoghli, Y., 2010. Comparison of kinetin and 6-benzyl amino purine effect on *in vitro* microtuberization of two cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.). American-Euroasian J. Agric. & Environ. Sci., 8 (6): 710-714.
- Aslam, A., Ali, A., Naveed, N. H., Saleem, A., Iqbal, J., 2011. Effect of interaction of 6-benzyl aminopurine (BA) and sucrose for efficient microtuberization of two elite potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars, Desiree and Cardinal. African J of Biotechnology, 10 (59): 12738-12744.
- Banfalvi, Z., Molnar, A., Kostyal, Z., Lakatos, L., Molnar, G., 1997. Comparative studies on potato tuber development using an *in vitro* tuber induction system. Acta Biologica Hungarica, 48(1):77-86.
- Belletti, P., Lanteri, S., Lotito, S., Saracco, F., 1994. Production of potato microtubers through *in vitro* culture. Acta Horticulturae (Eds. L. Quagliotti and P. Belletti), 362: 141-148.
- Coleman, W. K., Donnelly, D. J., Coleman, S. E., 2001. Potato microtubers as research tools: A review. Am J Potato Research, 78: 47-55.
- Costa, E., Terras, W., Jerez, E., 1991. Induction of tuberization *in vitro* in stem segments of potatoes with a bud and a leaf. Cultivos Tropicales, 12 (1): 87-90.
- Dobranszki, J., Mandi, M., 1993. Induction of *in vitro* tuberization by short day period and dark treatment of potato shoots grown on hormone-free medium. Acta Biologica Hungarica, 44 (4): 411-420.
- Donnelly, D. J., Coleman, W. K., Coleman, S. E., 2003. Potato microtuber production and performance: a review. Am J of Potato Res 80: 103-115.
- Ebadi, M., Iranbaksh, A., 2011. The induction and growth of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubers (sante cultivar) in response to the different concentrations of 6-benzylaminopurine and sucrose. African J of Biotechnology 10 (52): 10626-10635.
- Forti, E., Mandalino, G., Ranalli, P., 1991. *In vitro* tuber induction: influence of the variety and of the media. Acta Horticulturae 300: 127-132.
- Ghavidel, R. A., Bolandi, A. R., Hamidi, H., Foroghian, S., 2012. Effects of plant growth regulators and photoperiod on *in vitro* microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). African J of Biotechnology, 11 (53): 11585-11590.
- Gopal, J., Minocha, J. L., Dhaliwal, H. S., 1998. Microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). Plant Cell Reports, 17:794-798.
- Hoque, M. E., 2010. *In vitro* tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). Plant Omics Journal. 3 (1): 7-11.
- Hossain, M. J., 2005. *In vitro* microtuberisation of potato obtained from diverse sources. Plant Tissue Cult. & Biotech. 15 (2): 157-166.
- Hussain, I., Chaudhry, Z., Muhammed, A., Asghar, R., Naqvi, S. M. S., Rashid, H., 2006. Effect of chlorocholine chloride, sucrose and BAP on *in vitro* tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Cardinal). Pak. J. Bot., 38 (2): 275-282.
- Islam, M. S., Chowdhury, A. R., Hossain, M. M., 1999. Microtuber production of six potato varieties as affected by temperature, sucrose and BAP. Annals of Bangladesh Agriculture, 9 (1): 91-97.
- Kamarainen-Karppinen, T., Virtanen, E., Rokka, V. M., Pirtilla, A. M., 2010. Novel bioreactor technology for mass propagation of potato microtubers. Plant Cell Tiss Organ Cult., 101: 245-249.
- Khuri, S., Moorby, J., 1995. Investigations into the role of sucrose in potato cv. Estima microtuber production *in vitro*. Annals of Botany 75: 295-303.
- Lentini, Z., Earle, E. D., 1991. *In vitro* tuberization of potato clones from different maturity groups. Plant Cell Reports, 9 (12): 691-695.
- Levy, D., Seabrook, J. E. A., Coleman, S., 1993. Enhancement of tuberization of axillary shoot buds of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars cultured *in vitro*. J of Experimental Botany, 44 (259): 381-386.
- Mahdi, E. F. M., Al-Saad, H. S., Elshibli, S. M. A. I., 2004. *In vitro* tuberization of potato cultivars as influenced by photoperiod, exogenous sucrose and cytokinin concentrations. J. King Saud Univ. Agric. Sci. 17 (1): 25-35.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- Nasiruddin, K. M., Blake, J., 1994. Production of potato microtubers with and without growth regulators. In: Physiology, Growth and Development of Plants in Culture (Eds. P. J. Lumsden, J. R. Nicholas and W. J. Davies), pp: 254-260.
- Ortiz-Montiel, G. and Lozoya-Saldana, H., 1987. Potato microtubers: technology validation in Mexico. Am Potato J., 64: 535-544.
- Piao, X. C., Chakrabarty, D., Hahn, E. J., Paek, K. Y., 2003. A simple method for mass production of potato microtubers using a bioreactor system. Current Science, 84 (8): 1129-1132.
- Pruski, K., Duplessis, P., Lewis, T., Astatkie, T., Nowak, J., Struik, P. C., 2001. Jasmonate effect on *in vitro* tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars under light and dark conditions. Potato Research, 44 (4): 315-325.
- Rafique, T., Jaskani, M. J., Raza, H., Abbas, M., 2004. *In vitro* studies on microtuber induction in potato. Int J. Agri. Biol., 6 (2): 375-377.
- Sarekanno, M., Kadaja, J., Kotkas, K., Rosenberg, V., Eremeev, V., 2012. Development of field-grown potato plants derived meristem plants multiplied with different methods. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil and Plant Science, 62: 114-124.
- Seabrook, J. E. A., Coleman, S., Levy, D., 1993. Effect of photoperiod on *in vitro* tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 34 (1): 43-51.
- Sharma, A. K., Venkatasalam, E. P., Singh, R. K., 2011. Micro-tuber production behavior of some commercially important potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. Indian J of Agricultural Sciences, 81 (11): 1008-1013.
- Slimmon, T., Machado, V. S., Coffin, R., 1989. The effect of light on *in vitro* microtuberization of potato cultivars. Am. Pot. J. 66:843-848.
- Srivastava, A. K., Diengdoh L. C., Rai, R., Bag, T. K., Singh, B. P., 2012. *In vitro* micropropagation and microtuberization potential of selected potato varieties. Indian J of Hill Farming, 25 (2): 14-17.
- Yasmin, A., Jalbani, A. A., Mangrio, G. S., Nasreen, A., 2011. Optimization of microtuberization in indigenous potato cv. Desiree. Pak. J. Biotechnol. 8 (2): 39-44.