

PATATES (*Solanum tuberosum* L.)’TE *IN VITRO* ŞARTLARDA MİKROYUMRU ELDE EDİLMESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Ahmet Metin KUMLAY^{1*} Neşet ARSLAN² Canan KAYA³

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

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

³Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enst. Müdürlüğü, Erzurum
*email: ametin.kumlay@igdir.edu.tr

Geliş Tarihi : 28.01.2014

Kabul Tarihi : 06.05.2014

ÖZET: Hastalıktan arı fide elde edilmesi, germplazm muhafazası ve değişimi, ve tohumluk yumru elde edilmesi gibi amaçlarla patates (*Solanum tuberosum* L.) bitkisinin *in vitro* şartlarda mikroçoğaltımı ve mikroyumru (MY) elde edilmesi yaygın olarak kullanılmaktadır. Patateste MY araştırmaları temelde bitki büyüme düzenleyicileri üzerine yoğunlaşmış, ancak bu çalışmaların sonuçlarında önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Bu derlemenin amacı; *in vitro* şartlarda kültüre alınmış patates bitkiciklerinin MY meydana getirme özellikleri üzerine, bitki büyüme düzenleyicileri yanında çeşidin, eksplant kaynağı ve tipinin, inokülasyon yoğunluğunun, katılaştırıcı destek maddesinin, fotoperiyotun, sıcaklığın, karbonhidratın, kültür ortamındaki azot ve potasyum içeriğinin etkilerini araştırmaktır.

Anahtar Kelimeler: Patates, doku kültürü, *in vitro*, mikroyumru, hormonlar

FACTORS AFFECTING MICROTUBERIZATION OF POTATO (*Solanum tuberosum* L.) ON *IN VITRO* CONDITIONS

ABSTRACT: Micropropagation and microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) by *in vitro* culture was commonly used for the production of disease-free plantlets, germplasm conservation and exchange, and seed tuber production. Research on microtuberization in potato has mainly focused on the use of plant growth regulators however there is a significant variation in the results of these studies. Therefore, it is important to understand factors affecting microtuberization. The purpose of this review is to examine the effects of cultivar, explant source and types, inoculation density, solidifying support material, photoperiod, temperature, composition of carbohydrates, content of nitrogen and potassium in nutrient medium in addition to plant growth regulators in microtuberization of potato plantlets cultivated *in vitro*

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

1. GİRİŞ

Patates (*Solanum tuberosum* L.) tarımında verimi artıran en önemli girdilerden birisi kaliteli ve sağlıklı tohumluk kullanımınıdır. Günümüzde özellikle patates gibi vejetatif olarak çoğaltılan bitkilerin çok özel besi yerlerine ihtiyaç göstermeden doku kültürü ortamlarında hızlı büyümeleri ve klasik yollarla yapılan üretimlerde özellikle virüs hastalıklarının önlenememesi nedeniyle, doku kültürü metodlarının patates tohumluk teknolojisinde kullanımı zorunlu hale gelmiştir (Gönülşen, 1987; Karadoğan, 1994). Hastalıktan arı patates tohumluğu üretiminde en yaygın kullanılan iki yöntem; meristem uç kültürü tekniği ve mikroyumru (MY) elde edilmesidir.

In vitro yumru denildiğinde genelde *in vitro*’da üretilen “mikro yumrular” veya “*in vitro* yumrular” kastedilmesine rağmen, günümüzde yaygın olarak kabul gören ve çalışmamızda kullanacağımız terminoloji “mikroyumru” terimidir (Coleman ve ark., 2001; Donnelly ve ark., 2003). Patates bitkisinde MY elde edilmesi ilk defa patates patolojisinde yumru oluşumu ve problemlerini kontrol etmek için deneysel

bir araç olarak tarif edilmiştir. MY üretimi uzun yıllar sadece gen kaynaklarının muhafazasında kullanılmış; ancak daha sonra temel tohumluk elde edilirken ve son yıllarda ise sertifikalı tohumluk üretim programlarında ve yumru oluşum mekanizmalarının çalışılmasında gittikçe daha büyük bir önem kazanmıştır. *In vitro* bitki elde edilmesinde çok sayıda yeni alt kültüre ihtiyaç olmasına rağmen, MY elde etmede fazla sayıda alt kültüre ihtiyaç olmaması, fide üretim maliyetinin tarlaya göre az olması, herhangi bir mevsimde kolaylıkla üretilip çoğaltılmasının mümkün olması, direkt tarlaya dikilebilir olması, materyalin virüs bulaşmaları, dolu ve don gibi çevre zararlarından korunabilir olması, patojen eliminasyonu için materyalin kolaylıkla temin edilmesi, germplazm muhafazası, uzun süreli (aylarca) depolamanın mümkün olması ve nakliye kolaylığı sağlanması gibi avantajları bulunmaktadır (Coleman ve ark., 2001; Donnelly ve ark., 2003).

MY oluşumu çok sayıda faktörün etkisiyle kontrol edilmektedir ve bu faktörlerin en önemlilerinin çevresel (fotoperiyot ve sıcaklık), hormonal, besinsel ve fizyolojik özellikte olduğu bildirilmiştir (Koda ve

Okazawa, 1983; Charles ve ark., 1992; O'Brien ve ark. 1998). Bu derlemenin amacı; *in vitro* şartlarda yetiştirilen patates bitkiciklerinin MY oluşturması üzerine; çeşit, eksplant kaynağı ve tipi, inokülasyon yoğunluğu, agar, fotoperiyot, sukroz, azot ve potasyum ile bitki büyüme düzenleyicileri (BBD)'nin etkilerini araştırmaktır.

2. MİKRO YUMRU OLUŞUMUNU ETKİLEYEN ÇEVRESEL FAKTÖRLER

Yumru oluşumu, uygun çevre şartları, glikozit veya jasmonik asitle ilişkili bir hormon olan tuberonek asit tarafından yaprakların uyarılması ve bu uyarının stolon uçlarına nakledilmesiyle başlamaktadır. 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 (Koda ve Okazawa 1983; Khuri ve Moorby, 1995; O'Brien ve ark. 1998; Coleman ve ark. 2001; Donnelly ve ark. 2003; Hossain, 2005; Deryabin ve Yureva, 2010; Ghavidel ve ark., 2012; Srivastava ve ark., 2012). Yumru oluşumunun başlaması ve gelişmesinde, stres şartlarına bağlı olarak konsantrasyonunun arttığı belirlenen lipoksigenaz enziminin de etkili olduğu gösterilmiştir (Kolomiets ve ark., 2001).

Patates sürgünleri, meristemleri ya da tek boğum parçaları *in vitro* ortamlarda önce stolon, daha sonra da mikro yumru meydana getirmektedirler. Yumru oluşumu başladıktan sonra stolonlardaki boğumlararası mesafenin uzamasıyla stolonun uç kısmındaki meristematik aktivitenin durması ve stolonun sub-apikal bölgesinin radyal genişlemesi yumru oluşumunun başladığını gösteren en belirgin işaret olarak kabul edilmektedir (Hussey ve Stacey, 1984). Bu noktada, stolon ucu nişasta ve patatin gibi yumru proteinleriyle dolmaya başlamakta ve besi ortamında artan Ca^{2+} konsantrasyonunun yumru oluşumunda uyarıcı bir rol aldığı düşünülmektedir. Bu durumda yumruların karbonhidrat ve mobil organik elementlerin biriktiği bir bölge haline geldiği belirtilmiştir (Melchiorre ve ark., 1997; de Paiva ve Otoni, 2003). MY oluşumunda en çok etkili çevresel faktörlerin patates çeşidi (Hossain, 2005), eksplant kaynağı (Melchiorre ve ark., 1997), eksplant tipi (Forti ve ark., 1991), inokülasyon yoğunluğu (Tabori ve ark., 2000), ışık (Dobranszki, 2001) ve sıcaklık (Uranbey ve ark., 2004) şartları, eksplantın tutulduğu sıvı ya da katı ortam (Murashige ve Skoog, 1962; Karadoğan, 1994), karbon kaynakları (Khuri ve Moorby, 1995) olduğu yapılan birçok çalışmada belirtilmiş ve aşağıda detaylı olarak izah edilmiştir.

2.1. Patates Çeşidi, Eksplant Kaynağı, Eksplant Tipi ve İnokülasyon Yoğunluğu

Patateste çeşit farklılığının yumru oluşumu üzerine etkisi birçok çalışmada gösterilmiş (Aslam ve ark., 2011; Sharma ve ark., 2011), genotipin yumru oluşturmadaki en belirgin etkisinin fotoperiyot

uygulamalarında olduğu; kritik fotoperiyot eşliğinden daha kısa fotoperiyot uygulamalarının yumru oluşumunun uyarılmasını teşvik ettiği belirlenmiştir (Gopal ve ark., 1998). Genotipin morfogenetik özelliklerde (boğum, kök ve koltukaltı dal sayısı) çok önemli farklılıklar meydana getirdiği, karakterlerde görülen bu farklılıkların daha detaylı analizleri için tarla çalışmalarının gerekli olduğu belirtilmiştir (Elshibli, 2000).

Geçici çeşitlerde erkencilere göre daha yavaş bir yumru oluşumu görülmesine rağmen, erkenci çeşitlerde sayı olarak az, ancak çap ve ağırlık olarak daha büyük yumrular elde edilmiştir (Forti ve ark., 1991; Dobranszki ve ark., 1999; Koda ve Kikuta, 2001). Genelde fizyolojik olarak yaşlı olan yumruların alınan eksplantlarda, genç olanlara göre MY oluşumunun daha erken başladığı ve yumru sayısının daha fazla olduğu görülmektedir (Hossain, 2005). Kültür ortamında uzun süredir muhafaza edilen yaşlı filizlerden elde edilen eksplantların ve ana yumrunun ileri yaş safhalarında alınan çeliklerin daha fazla yumru verdiği de gözlenmiştir (Deryabin ve Yur'eva, 2001). Ayrıca, farklı eksplant tipleri üzerine yapılan çalışmalarda, tek boğum kesimlerinin stolon benzeri organlara göre oldukça yüksek bir gelişme oranı gösterdiği rapor edilmiştir (Melchiorre ve ark., 1997). Kültür kabında *in vitro* kültüre alınan bitkilerin yoğunluğunun düşük olması durumunda, oluşan MY ağırlıklarının da arttığı görülmüştür (Forti ve ark., 1991). Tabori ve ark. (2000) yüksek yoğunluklarda MY oluşumunun erken başladığını, 4 mm'den büyük uniform MY sayısının fazla olduğunu ancak toplam MY sayısının yoğunluktan etkilenmediğini bildirmişlerdir.

2.2. Eksplant Destek Maddesi: Agar

Kültür ortamında yüksek oranda sıvı ya da aşırı nemin olması camsılaşmaya (vitrikasyona) sebep olmakta, bitki hücre duvarları aşırı su ile dolmakta, bitkilerde metabolik ve morfolojik anormallikler görülmektedir (Hatipoğlu, 2008). Camsılaşmanın patates bitkiciklerinin gelişimine engel olduğu ve ölümüne yol açtığı; çok katı ortamların ise ortamdaki besin maddelerinin alımını zorlaştırdığı belirlendiğinden, az agar ilave edilmiş yarı katı ortamların patates doku kültüründe kullanımı yaygın bir durum olarak ortaya çıkmıştır. Bu nedenle *in vitro* MY elde etme ortamlarında genelde %0.6-0.8 oranlarında agar kullanılmaktadır. Düşük agar konsantrasyonları kullanıldığında eğer pH'da düşükse, besi yeri tam katılaşmaz. Yüksek agar konsantrasyonlarında ise besi ortamı aşırı derecede katılaşır, ortama konulan eksplantlar besi ortamıyla tam temasa geçemezler ve besin maddelerinden yararlanmaları güçleşir. Camsılaşma probleminin çözümünde kullanılan diğer bir madde paklobutrazol (PBZ) gibi büyüme geciktirici kimyasal bir maddedir. Son zamanlarda, fiziksel çevrenin kontrolünü sağlayan biyoreaktörler ve otomatik sıvı kültür sistemleri yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde

agara alternatif olarak gelrit ve biogel gibi alternatif destek ortamları kullanılmaktadır. Gelritin ilave edilmesi gereken konsantrasyonu, agarın yarısı ya da 1/3'ü kadardır. Nowak ve Asiedu (1992) jel oluşturuca ajan olarak agar (6 g L⁻¹) ile birlikte gelrit (2 g L⁻¹) kullanmışlar ve MS ortamına % 6 sukroz ve 2.5 mg L⁻¹ kinetin ilave ederek yumru oluşturma durumunu belirlemişlerdir. Gelrit bulunan ortamda yumru oluşumu daha erken başlamış ve daha uniform yumrular (büyük çoğunluğu 5 mm çapında) elde edilmiştir. Arregui ve ark. (2003) Difco Bacto agarın Phytagele göre daha optimal MY değerleri verdiğiinden, MY çalışmalarının bütün uygulamalarında kullanılabileceğini belirtmişler, Uranbey ve ark. (2004) gelrit kullanılması durumunda agardan daha fazla MY sayısı, ağırlığı ve verimi elde edildiğini bildirmişlerdir.

2.3. Işıklandırma Şartları (Fotoperiyot)

Yapılan çalışmalarda; kısa gün şartlarında yumru oluşumunun teşvik edildiği, vejetatif gelişme ve yumru oluşumunu kontrol eden fotoperiyodun türe ve çeşide özgü olduğu, yumru oluşumunda etkili fotoperiyodun genetik olaylar tarafından kontrol edildiği gösterilmiştir (Coleman ve ark., 2001; Donnelly ve ark., 2003). Ayrıca, uzun gün şartlarında stolon uzamasının teşvik edildiği, kısa gün şartlarında ise stolon büyüme ve gelişmesinin durdurduğu belirlenmiştir (Markarov ve ark., 1993; Seabrook ve ark., 1993). Yumru oluşum uyarısının kritik fotoperiyottan daha kısa fotoperiyotlarda belirgin şekilde teşvik edildiği, gece uzunluğu azaldıkça (uzun gün) yumru gelişiminin sekteye uğradığı ve uyarı algısının patates çeşidine göre değiştiği belirlenmiştir. Sekiz saatlik fotoperiyot şartlarında üretilen MY'ların tamamen karanlık şartlarda üretilenlere göre daha büyük (Nowak ve Asiedu, 1992), epidermis (kabuk) tabakasının daha kalın ve dehidrasyona (su kaybına) daha dayanıklı olduğu (Forti ve ark., 1991) görülmüştür.

Işığın düzenli kullanılması halinde, kimyasal uygulamasına eşit oranda veya daha fazla yumru elde edilebileceği (Dobranszki, 1997a; Dobranszki, 1997b), yumru oluşumunun çeşide özgü ve ışıklandırma şartlarına bağlı olduğu da belirtilmiştir (Dobranszki ve ark., 1999; Dobranszki, 2001). Slimmon ve ark. (1989) sekiz saatlik fotoperiyotta yaprak sararmasının geciktiğini, MY'larda yeşillenme olduğunu ve boğumlarda köklenme meydana geldiğini, karanlık şartlara göre daha yüksek yumru oluşum oranı tespit edildiğini açıklamışlardır. *In vitro* şartlarda MY oluşumunun erken başlaması için kısa fotoperiyot şartlarında yüksek ışık şiddetinin gerektiği, ışık yoğunluğu ve çeşide bağlı olarak fotoperiyot uygulamasının yumru oluşumuna senkronize bir etkide bulunduğu görülmüştür (Dobranszki, 2001). Gopal ve ark. (1998) sürekli karanlık şartlarda kültüre alınan patates bitkiciklerinde hızlı bir MY oluşum oranı ve yumrular üzerinde az sayıda göz meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, kısa gün

şartlarında ve düşük sıcaklıkta kültüre alınan materyallerde yumru oluşumunun daha erken başladığını, bitki başına daha yüksek sayıda MY meydana geldiğini ve yumru çapının daha büyük olduğunu da belirtmişlerdir. Ayrıca, karanlık uygulamasının yumru oluşum oranını etkilediği, özellikle yüksek ışık şiddetinin yumru oluşumunda senkronize etki yaptığı, ışık şartlarındaki yumrulara daha fazla sayıda göz meydana geldiği rapor edilmiştir (Gopal ve ark., 1998).

2.4. Sıcaklık

MY oluşum hızının ve kuru madde birikiminin artması için en iyi şartların kısa gün ve düşük sıcaklık olduğu ve bu şartlar altında elde edilen yumruların boyutlarının daha düzgün, şekil ve dış görünüş olarak daha homojen olduğu belirlenmiştir (Dobranszki, 1997a). Yüksek sıcaklıklar hem kısa hem de uzun gün şartlarında yumru oluşumunu engelleyici etkide bulunmakta, ancak uzun gün şartlarında bu etki daha fazla olmaktadır. Yumru oluşumunda düşük sıcaklıkların kısa gün şartlarına (8 saat ışık) benzer etkilere sebep olduğu, yüksek sıcaklıklarda solunum (respirasyon) hızının fotosentez hızını geçtiği ve bu nedenle stolon uçlarındaki nişasta birikimi işleminin sekteye uğradığı ve düşük sıcaklıklarda stolon uçlarına gönderilen karbonhidrat yoğunluğunun oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir (Dobranszki, 1997b). Düşük gece sıcaklıklarında, yapraklarda yumru oluşumunu teşvik edici bir hormonun üretildiği ve daha sonra bu hormonun stolon uçlarına transfer edildiği de gösterilmiştir. Yüksek sıcaklıklar bitkide oluşan asimilatların dağılımını değiştirmekte; yumrulara giden asimilatların miktarı azalmakta ve diğer bitki organlarına giden asimilat miktarı ise artmaktadır. Yüksek sıcaklıklar ayrıca, ortamdaki GA miktarını değiştirmek suretiyle engelleyici etkide bulunmakta, GA inhibitörleri (CCC veya BAP) ile bu engelleyici etkinin giderilmesi ve yumru oluşumunun tekrar başlatılması mümkün olabilmektedir (Dobranszki ve ark., 1999).

Yapılan çalışmalarda, 12°C'in altında ve 35°C'in üzerinde MY oluşumunun tamamen durduğu ve optimal sıcaklığın 20-25°C aralığında olduğu; MY oluşumunun erken safhalarında yüksek sıcaklığın MY oluşumunu engellediği ve sürgün gelişimini teşvik ederek ikincil büyümelere sebep olduğu gösterilmiştir (Deryabin ve Yur'eva, 2010). Ancak, nötr gün şartlarında yumru oluşumunun teşviki için 20°C'den daha düşük sıcaklıklara ihtiyaç olduğu ve yumru oluşumunun 12°C'de optimum olduğu, bitki kuru maddesinin % 80'inin yüksek ışık şiddeti ve düşük sıcaklıkta, % 5'inin ise düşük ışık şiddeti yüksek sıcaklıkta yumrulara aktarıldığı tespit edilmiştir. Erkenci çeşitlerin diğer çeşitlere göre kısa fotoperiyot şartlarında sıcaklığın artırılmasından veya düşük sıcaklıklarda uzun fotoperiyot uygulamalarından daha az etkilendikleri (Charles ve ark., 1992), karanlık şartlarda en iyi sonucun 20-22 °C'den elde edildiği bildirilmiştir (Uranbey ve ark., 2004).

2.5. Karbon Kaynağı

Bitkiler enerji ihtiyaçlarını fotosentez yoluyla ototrofik olarak karşılarlar. Ancak, doku kültürü ortamında kloroplastın normal fonksiyonu bloke edildiğinden ya da tam olarak görevini yerine getiremediğinden eksplantlar bu ototrofik yetenekten yoksundurlar. Yani, *in vitro* şartlarda fotosentez ya hiç yoktur veya yetersizdir. Bu nedenle, eksplantlarda hücre gelişimini ve daha sonraki aşamalarda ise bitki regenerasyonunu teşvik etmede yeterli karbon kaynağı sağlamak için dışarıdan karbon kaynakları eklenmesi çok büyük bir zorunluluk arz etmektedir (Hatipoğlu, 2008). MY elde edilmesinde kullanılan en önemli karbonhidrat kaynağı sukroz olup, MY oluşumunun yüksek sukroz konsantrasyonlarının (%5'ten fazla) diğer düzenleyici faktör olan hormonlarla etkileşimlerinden kaynaklandığı ve genç doku ya da hücrelerle çalışıldığında ortama daha yüksek konsantrasyonlarda sukroz ilavesi gerektiği yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (Rahman ve ark., 2010; Altındal ve Karadoğan, 2010; Motallebi-Azar ve Kazemiani, 2011; Motallebi-Azar ve Kazemiani, 2013).

Sukrozun düzenleyici faktör olarak yumru oluşumundaki rolü tam olarak anlaşılamamış, ancak yumru oluşumunda etkili bazı özel genlerin oluşumunda etkili olabileceği düşünülmüştür. Bazı durumlarda, hormonlarla beraber uygulandığında MY oluşumu için % 6'lık sukroz konsantrasyonu optimal kabul edilirken (Fufa ve Diro, 2013), bazı çalışmalarda % 8 sukroz ve 8 saat fotoperiyot uygun olarak belirlenmiştir (Chandra ve ark., 1988; Deryabin ve Yur'eva, 2010; Yasmin ve ark., 2011). Sukroz otoklavlandığında çok az oranda glukoz ve fruktoza hidrolize olur ve değişikliğe uğrar. Bu nedenle çoğu araştırmacı şekeri otoklavda sterilize etmek yerine, filtrasyon yoluyla sterilize etmeyi tercih etmektedir. Ancak, her iki uygulamanın MY sayısı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Deryabin ve Yur'eva, 2010). Chandra ve ark. (1988), %8'lik sukrozun optimal MY değerleri verdiğini, glukoz ve fruktoz içeren ortamlarda daha küçük yumrular elde edildiğini, mannoz ve mannitolden ise hiç yumru elde edilemediğini kaydetmişlerdir.

Khuri ve Moorby (1995), radyoaktif olarak etiketlenmiş şeker kullanarak yaptıkları çalışmada karbon kaynağı olarak glukoz veya fruktoz yerine sukroz kullanılması durumunda daha fazla şekerin yumrulara transfer edildiğini belirlemişlerdir. MY oluşumu süresince nişasta ve şeker içerikleri ile sukroz sentaz enzimi aktivitesinde meydana gelen değişiklikleri belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, MY oluşum süresince sukroz ve nişasta seviyelerinin doğrusal olarak arttığı, buna karşın glukoz ve fruktoz seviyelerinin sabit bir şekilde düştüğü belirlenmiştir. Ayrıca, sukroz ve nişasta içerikleri ile sukroz sentaz aktivitesi arasında yakın bir ilişki bulunmuş, sukroz sentaz enziminin nişasta biyosentezinde anahtar bir rolü olduğu tespit edilmiştir. Çok yüksek ya da çok düşük sukroz

konsantrasyonu MY oluşum başlangıcının yavaşlamasına, daha az sayıda ve daha küçük yumruların elde edilmesine yol açmıştır. Imani ve ark. (2010) ve Ebadi ve Iranbakhsh (2011) yüksek sukroz ve BAP konsantrasyonunun daha büyük ve sağlıklı MY üretimini teşvik ettiğini, de Paiva Neto ve Otoni (2003) ise yaptıkları derleme çalışmasında Ramarosandratana ve ark. (2001)'ndan atfen sukrozun hızlı metabolizasyonundan dolayı oksijen eksikliğine ve etanol birikimine sebep olabileceğini belirttiktedirler.

MY oluşum mekanizmasını inceleyen ilk çalışmalardan şimdiye kadar yürütülen bütün çalışmalar, gelişen yumruda bir enerji kaynağı olarak sukrozun rolü üzerine odaklanmışlardır. Son yapılan çalışmalarda ise az sayıda araştırmacı MY oluşum ortamında sukrozun muhtemel ozmotik rolü üzerinde durmuşlardır. Sukroz alımı ve yumruda nişastaya dönüşümünün, ortamın ozmotik potansiyeline bağlı olduğu gösterilmiş, kültür ortamındaki osmotik mekanizmayı belirlemek için yapılan çalışmalarda sıvı besi ortamının agarla katılaştırılmış ortamlara göre daha büyük yumrular verdiği belirlenmiştir. Khuri ve Moorby (1995) otoklave edilme sırasında ya da bitki gelişimi süresince besin ortamındaki sukrozun parçalandığı ve ortamın osmotik konsantrasyonunu artırdığını iddia etmiştir. Buradan MY oluşum mekanizmasının çözelti ortamındaki osmotik şoka bağlı olabileceği, ancak gelişen yumruların besi ortamında bulunan sukroz için bir havuz vazifesi gördüğü çıkarımı yapılmıştır.

2.6. Azot (N) ve Potasyum (K) Kaynağı

In vitro çalışmalarda amonyum nitratın yumru oluşumunu teşvik ettiği belirlendiğinden, patates doku kültürü çalışmalarında yaygın olarak kullanılan MS ortamına (Murashige ve Skoog, 1962) temel tuz kaynağı olarak amonyum nitrat (NH_4NO_3) ilave edilmektedir. Yapılan çalışmalarda yüksek N konsantrasyonuna maruz bırakılan bitkiciklerde yumru oluşumunun engellendiği, ancak bu bitkilerin 4-6 gün boyunca tekrar azotsuz ortama alınması halinde, yumru oluşumunun tekrar başladığı belirlenmiştir. Tekrar yumru oluşumu başladıktan sonra, bitkiciklerin tekrar aşırı azot bulunan ortama alınması halinde stolon uzamasının teşvik edildiği ve yumru oluşumunun durduğu belirlenmiş, yüksek azotun yapraklara uygulanması halinde yumru oluşumuna engel olmadığı gözlemlenmiştir (Iranbakhsh ve ark., 2011). Hossain ve Siddique (2011) 45 mM N konsantrasyonu ile birlikte ortama ilave edilen kumarinin 105 günde optimum sayı ve ağırlıkta MY meydana getirdiğini rapor etmişlerdir.

Zakaria (2007) bitki başına ortalama MY sayısının 60 meq N ve 40 meq K konsantrasyonuna kadar arttığını, ancak artan N ve K konsantrasyonu ile MY oluşumunun geciktiğini ve MY sayısının düştüğünü rapor etmişlerdir. Yeasmin ve ark. (2011) MS ortamına 30, 60 ve 90 mM oranlarında N ve 10, 20 ve 30 mM oranlarında ise K ilave etmişler ve bütün N x

K kombinasyonlarının büyük mikro yumrular verdiğini belirlemişlerdir. Düşük N uygulamasının boğum sayısı, boğum arası uzunluğu, klorofil içeriği ve yaprak alanı yönünden optimum sonuçlar verdiği, N miktarının azalmasıyla bütün çeşitlerde klorofil içeriğinin arttığı ve yumru oluşumunun erken başladığı rapor edilmiştir (Zarrabeitra ve ark., 1997). Naik ve Sarker (1998) maksimum MY ağırlığı ve hasat indeksinin 40 mM potasyum konsantrasyonu içeren besi ortamlarından elde edildiğini rapor etmişlerdir. Nistor ve ark. (2012) 10, 25 ve 40 mM L⁻¹ konsantrasyonlarında K kullanıldıkları bir çalışmada, artan K konsantrasyonu ile MY büyüklüğünün arttığını, buna karşın MY sayısının ise azaldığını belirtmişlerdir.

2.7. Karbondioksit, Mineral İyonlar ve Karboksilik Asitler

Mingo-Castel ve ark. (1976) *in vitro* şartlarda kültüre alınan patates stolonlarında CO₂'in MY oluşumunu stimüle ettiğini, CO₂ ve etilen arasında antagonistik bir ilişki olduğunu, etilenin CO₂'in olumlu etkisini ortadan kaldırdığını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, stolon eksplantlarının 3-5 gün kadar CO₂ bulunan ortamda kültüre alınmasıyla, MY oluşumunun başladığını tespit etmişlerdir. *In vitro* şartlarda mineral iyonların azot ile birlikte verilmesi durumunda MY olumuna katkıda bulunduğu, ancak katkının net olarak tespit edilemediği belirlenmiştir (Sarker ve Naik, 1998). Arvin ve ark. (2005) standart MS ortamında 3 mM olarak kullanılan Ca konsantrasyonunun optimum MY gelişimi için yeterli olmadığını, çalışmada 10-25 mM konsantrasyon aralığında kullanılan Ca²⁺'nin MY gelişimine önemli katkıları olduğunu, ancak her çeşit için MS ortamına ilave edilecek optimum Ca²⁺ oranı için ayrı ayrı çalışma yapılması gerektiğini vurgulamışlardır. Sharma ve ark. (2005) formik ve asetik asit gibi karboksilik asitlerin patates doku kültürü ortamlarında anti-GA₃ etkisi gösterdiğini, MY oluşumuna katkıda bulunduğunu, yumrulara KM birikimini artırmasından dolayı depolama ve dormansi süresini kısalttığını ve sonuç olarak MY'ların çimlenmesini kolaylaştırdığını bildirmişlerdir.

3. MİKRO YUMRU OLUŞUMUNU ETKİLEYEN HORMONAL FAKTÖRLER

Patateste yumru oluşumu hakkında ileri sürülen teorilerden birisi yumru oluşumunun hormonal olduğu yönündedir (Koda ve Okazawa, 1983; Kolomiets ve ark., 2001; Zang ve ark., 2005). Patates yapraklarından ve yaşlı patates yumrularından tuberonik asit olarak adlandırılan bir bileşiğin yumru oluşumuna katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Kumlay ve Eryiğit, 2011). MY oluşumu için ortama eklenen bütün hormonların etkisi fiziksel ve kimyasal faktörlere son derece hassas olan ortam dengesini ayarlamaya yöneliktir. Bu nedenle, bitkide bulunan içsel fitohormonlar yanında dışarıdan eklenen yapay

hormonların fonksiyonlarının ve etki düzeylerinin detaylı incelenmesine ihtiyaç bulunmaktadır. Patateste MY oluşumu üzerine yapılan bütün çalışmalar genel anlamda BBD'nin (Bitki Büyüme Düzenleyicileri) kullanımı üzerine yoğunlaşmış ve MY oluşumunun karbonhidrat ve fitohormonların kombinasyonundan kaynaklandığı gösterilmiştir (Ewing ve Struik, 1992; Ewing, 1985). Birçok çalışmada benzer hormonlar ve yakın konsantrasyonlar kullanılmasına rağmen, elde edilen sonuçların farklı olduğu görülmüştür. Buna göre; MY elde etmede kullanılacak hormon konsantrasyonunun ortamdaki sukroz içeriğine, sıcaklığa, fotoperiyota, ışık yoğunluğuna ve çeşitlere göre değişiklikler gösterebileceği vurgulanmıştır (Donnelly ve ark., 2003; Aryakia ve Hamidoghli, 2010; Deryabin ve Yureva, 2010; Ghavidel ve ark., 2012).

3.1. Gibberellinler (Gibberellik Asit=GA₃)

Bilinen hormonlar içerisinde yumru oluşum kontrolünde en önemli olanı GA₃'tir. Başlangıçta GA₃'in yumru oluşumunu geciktirdiği ve yumru oluşumunu teşvik eden şartlar altında bitki yapraklarındaki seviyesinin düşük olduğu gösterilmiştir. Yumru oluşum başlangıcından hemen önce içsel GA₃ seviyesinin stolon ucunda azaldığı bildirilmiş ve dışarıdan GA₃ uygulamasının yumru oluşumunu etkilediği bulunmuştur. Çevresel şartlar yumru oluşumu için çok ideal olsa bile, GA₃'in yumru oluşumuna engel olduğu, düşük sıcaklıkların GA₃ sentezini hızlandırıp GA₃ seviyesini artırdığı ve MY oluşumunu sekteye uğrattığı, ancak diğer bazı faktörlerin de etkili olabileceği kaydedilmiştir (Koda ve Okazawa, 1983). Düşük GA₃ ve yüksek etilen seviyelerinin, sitokininin MY oluşumunu uyarmasına önemli katkıda bulunduğu; içsel GA₃ seviyesinin yumru oluşumunu teşvik etmeyen şartlarda yüksek, teşvik edici şartlarda ise düşük olduğu, dışarıdan uygulanan GA₃'in yumru oluşumunu engellediği ve stolon benzeri oluşumlar meydana getirerek yumru oluşumunun sekteye uğrattığı belirtilmiştir (Vreugdenhil ve Sergeeva, 1999).

GA₃'in sadece fotoperiyottan etkilenmediği, çevresel faktörlerin de GA₃'in MY oluşumunu etkilediği belirlenmiştir. Bunların bazıları;

- a) Yüksek sıcaklıklar eksplant tomurcuklarındaki GA₃ aktivitesini artırarak yumru olumunu engellemiştir (Menzel, 1983),
- b) Hidroponik sistemlerde devamlı ilave edilen nitrat kaynağı sürgünlerdeki GA₃ aktivitesini artırmış ve yumru oluşumun engellemiştir (Krauss ve Marschner, 1982),
- c) *In vitro* şartlarda stolon uçlarında meydana gelen GA₃ azalışı, ortamda yüksek sukroz içeriğinin MY oluşumunda gösterdiği etki ile aynı etkiyi göstermiş (Xu ve ark., 1998), daha sonra yumru oluşumunu teşvik eden PBZ (Paklobutrazol) ve ancymidol gibi GA₃ inhibitörleri ile MY oluşumu daha da artırılmıştır.

3.2. Oksinler ve Sitokinler

Oksin ve sitokinlerin konsantrasyonlarının ayarlanması, değişik fotoperiyot uygulamalarıyla kombine edilmesinin, besi ortamlarında MY oluşum hızını ve oranını artırabileceği belirlenmiştir. Sitokininin yumru oluşum başlangıcını takip eden hücre bölünmesinde, nişastayı sentezleyen enzimlerin üretiminde ve ana yumrudan diğer küçük yumrulara transfer edilmesinden sorumlu olduğu bilinmektedir (Deryabin ve Yur'eva, 2010). Yumru oluşum başlangıcında içsel sitokinin seviyesinde değişimler olduğu, ancak sitokinlerin yumru oluşumundan direkt olarak sorumlu olmadığı ileri sürülmüş, oksin seviyesinin yumru oluşumunun erken safhalarında stolon uçlarında artmaya başlarken, yumru büyüdükçe azaldığı belirtilmiştir. Patates dokularında bulunan temel sitokininin zeatin ribozid (ZR) olduğu (Mauk ve Langille, 1978), bu bileşiğin ortama ilavesiyle yumru oluşumunun teşvik edildiği ve % 6 sukroz konsantrasyonunda %75 oranında yumru meydana getirdiği kaydedilmiştir (Tuğrul ve Samancı, 1998). Sitokininin yüksek sukroz konsantrasyonlarında yumru oluşumunu teşvik ettiği belirlenmiş; sitokinin tek başına kullanıldığında stolonu yapraklı sürgüne dönüştürdüğü, bu nedenle uygun bir yumru oluşumu için sitokininin diğer hormonlarla birlikte kullanılması gerektiği vurgulanmıştır (Deryabin ve Yur'eva, 2001, 2010). Yüksek sukroz seviyesi, kısa gün yada karanlık şartlarda 6-furfurilaminopurin (Kinetin, KIN)'in, Benzil Adenin (BA), Indol Asetik Asit (IAA), Naftalen Asetik Asit (NAA), Indol Bütirik Asit (IBA), Benzil Amino Purin (BAP) ve chlorocholine chloride (cycocel, CCC)'in MY oluşumunu teşvik ettiği görülmüş ve yumru oluşumunun çeşide özgü olduğu kaydedilmiştir (Badawi ve ark., 1995; Zhang ve ark., 2005; Dragicevic ve ark., 2008; Zakaria ve ark., 2008). Deryabin ve Yur'eva (2010) derleme makalelerinde KIN'in yumru oluşumu üzerindeki etkinliğini ilk çalışan araştırmacının Butenko olduğunu belirtmişler ve Butenko'ya atfen 2 mg L⁻¹ KIN konsantrasyonunun sürgün gelişimini engellediğini, stolonun yanal tomurcuklarından MY meydana getirdiklerini vurgulamışlardır.

Daha önce yapılan çalışmaların birçoğunda MY'ların bitkiciklerin alt, orta ve uç kısımlarında oluştuğu ve çok nadir olarak agar içerisinde meydana geldiği rapor edilmiştir (Nasiruddin ve Blake 1994). Işık şartlarında elde edilen MY'ların ya doğrudan ya da kısmen agar ortamı içerisinde geliştiği, buna karşın karanlık şartlarda daha üst bitki aksamalarında MY oluşumu görüldüğü belirlenmiştir. Besi ortamına ilave edilen sitokinlerin de MY'ların bitkicik üzerinde oluşum yerini de etkilediği tespit edilmiştir (McGrady ve ark., 1986). KIN ve BAP ilave edilmiş besi ortamlarında yumru oluşumunun genelde stolonlarda meydana geldiği ve MY'ların bitkiciklerin orta ya da taban kısımlarında oluştuğu görülmüştür (Deryabin ve Yur'eva, 2010). KIN'in jasmonik asit (JA) ile birlikte kullanılması durumunda MY oluşumunun uyarıldığı ve sitokininin rizogenezise engel olarak MY oluşum

etkinliğini artırdığı (Pelacho ve Mingo-Castel, 1991) görülmüştür. Kısa gün şartlarında yumru oluşumu başladıktan 4-6 günden sonra patates bitkisi yapraklarında sitokin belirlenmiş, ancak stolon gelişimine bağlı olarak yapraklardaki sitokin miktarının belirgin bir şekilde düştüğü belirlenmiştir (Ewing ve Struik, 1992). KIN ve BAP'ın hücre bölünme hızını artırarak MY oluşumunu uyardığı, ancak düşük sıcaklıkların bu uyarı etkisini engellediği not edilmiştir (Simko, 1993). Sitokinlerin MY oluşumu ve büyümesini hızlandırdığı, stolon boğumlarının şişerek kalınlaşmasına sebep olduğu, ancak yumru oluşumunun mekanizmasını etkilemediği için yumru oluşumunu teşvik ediciler sınıfında sınıflandırılmayacağı vurgulanmıştır (Koda ve Okazawa, 1988).

Banfalvi ve ark. (1997) BAP'ın ancak %4 (w/v) sukroz konsantrasyonunun üzerinde etkin olduğunu, Aryakia ve Hamidoghli (2010) bir BAP'ın ortama ilavesiyle MY oluşum etkinliğinin arttığını belirtmişlerdir. GA₃'in sürgün ve stolon gelişimini ile kuru ağırlığı artırdığı, buna karşın yumru oluşumunu geciktirdiği ve yumru verimini düşürdüğü; CCC'in ise sürgün ve stolon gelişimi ile kuru ağırlığı azalttığı, ancak yumru oluşumunu teşvik ettiği belirlenmiştir (Sharma ve ark. 1998). Dışarıdan GA uygulamasının stolon gelişimini teşvik ettiği, buna karşın yumru oluşumunu engellediği; dışarıdan ABA uygulamasının ise stolon uzamasına engel olduğu, yumru oluşumunu teşvik ettiği; IAA içeren ortamın stolon gelişimini belirgin şekilde engellediği, küçük ve hassas yumrular elde edildiği görülmüştür (Xu ve ark., 1998). Besi ortamına ilave edilen IAA'ın hiçbir hormon içermeyen kontrol ortamına göre MY büyüklüğünü 1.5-3.0 kat kadar artırdığı (Marschner ve ark., 1984), 2,4-D'nin ise stolon sayısında belirgin bir artışa sebep olduğu not edilmiştir (Mangat ve ark., 1984). Hussain ve ark. (2006) tamamen karanlık şartların yumru gelişimini teşvik ettiğini ve en yüksek MY sayısının 90 g L⁻¹ sukroz+200 mg L⁻¹ CCC içeren ortamdan elde edildiğini rapor etmişlerdir. Hoque (2010) 4 mg L⁻¹ kinetin konsantrasyonunun en iyi MY gelişimi gösterdiğini, karanlık şartların ışık şartlarına göre daha uygun olduğunu belirtmiştir.

3.3. Jasmonik Asit

Jasmonik asidin (JA) patates bitkisinin büyüme ve gelişiminde, özellikle yumru oluşumunun kontrolünde önemli rolü olduğu ve MY elde edilmesinde bu özellikten faydalanılabileceği belirtilmiş ve bu konuda birçok araştırma yapılmıştır (van den Berg ve Ewing, 1991; Martin-Closas ve ark., 2000; Koda ve Kikuta, 2001; Kumlay ve Eryiğit, 2011). JA'in düşük konsantrasyonlarda kök oluşumunu uyarabileceği ve aynı zamanda vejetatif gelişimde de önemli bir rol oynayabileceği belirtilmiştir (Martin-Closas ve ark., 2000). Dışsal JA'in stolonların uç meristem morfolojisindeki değişiklikleri teşvik ettiği, stolon uçlarında dört kat, stolon şişme bölgelerinde ise altı kat bir artışa sebep olduğu, buna bağlı olarak, hücre

büyümesinin ve yaprak primordia uzunluğunun arttığı, meristemlerin geliştiği ve erken vaskular doku bölünmesi sonucunda yumru oluşumunun meydana geldiği belirtilmiştir (Cenzano ve ark., 2003). Ayrıca, JA'in sukroz ve ışığın fotosentetik pigment metabolizmasını etkilediği, klorofil içeriğindeki değişime bağlı olarak kök oluşumunun geliştiği, bunun sonucu olarak da yumru oluşumunun teşvik edildiği ve yumru oluşumunda en etkili kombinasyonun 1 µM JA + 90mM sukroz olduğu görülmüştür (Kovac ve Ravnikar 1994). Pelacho ve Mingo-Castel (1991) MS ortamına ilave edilen JA'in kinetine göre 2.8 kat daha fazla MY sayısı, 2.3 kat daha fazla yumru oluşum hızı ve 6.4 kat daha fazla toplam yumru ağırlığı verdiğini tespit etmişlerdir. JA ilave edilmiş ortamlarda tutulan bitkiciklerden en yüksek yumru oranı elde edilmiş; JA'in sürgün oluşumu ve explantların toplam taze ve kuru ağırlıkları üzerine olumlu etkileri olduğu rapor edilmiştir (Martin-Closas ve ark., 1997). JA içeren ortamlardan daha uzun boylu, kök sistemi iyi gelişmiş, geniş yapraklı ve daha kalın saplı bitkiler elde edildiği (Dermastia ve ark., 1996), bitkiciklerde toplam protein, taze ve kuru ağırlığın arttığı, buna karşın peroksidaz aktivitesinde önemli bir etkiye sahip olmadığı gözlenmiştir (Kovac ve ark., 1997). Takahashi ve ark. (1994) JA'in MY taze ağırlığında artışa sebep olduğunu, yumrulardaki büyümenin hücre bölünmesinden değil, hücre genişlemesinden kaynaklandığını ve bu aktivitenin olması için sukrozun gerekmediğini vurgulamışlardır. Araştırmacılar ayrıca, JA'in bitkicik kuru ağırlığını % 60, kök sistemi kuru ağırlıklarını ise % 300 oranında artırdığını rapor etmişlerdir. Pruski ve ark. (2001) JA uygulamasının çeşide özgü olduğunu, tamamen karanlık şartların ışıklı şartlara göre daha büyük yumrular verdiğini vurgulamışlardır. Erken ve geçi çeşitlerin JA uygulamasına tepkisi de farklı olmuş; geçi çeşitlerde yumru oluşum başlangıcına tepki de daha geç olmuştur. Geçici çeşitlerde boğumlar arası mesafe de daha fazla olmuş, bu durum içsel GA₃ seviyesinin yüksek olduğunu göstermektedir. GA₃'in JA'in etkisini yavaşlattığı göz önüne alındığında (Castro ve ark., 2000), geçici çeşitlerdeki yavaş JA tepkisi, hala genç olan dokularda yüksek oranda bulunan GA₃ seviyesinden kaynaklanabileceği, JA ve GA₃'in yumru oluşum başlangıcını ve olgunlaşmayı belirleyen anahtar faktörler olabileceği belirtilmiştir (Koda ve Kikuta, 2001). Pruski ve ark. (2002) JA ile önmuameleye tabi tutulan veya JA-içeren besi ortamlarından elde edilen yumruların diğer uygulamalardan daha uniform ve daha büyük olduğunu ve 8 saatlik fotoperiyot uygulamasının üstün kalitede ve uniform MY üretimi için en iyi uygulama olduğunu vurgulamışlardır.

3.4. Etilen

Etilenin, stolon gelişimini engellediği, morfolojisini tamamlanmamış ve nişasta içermeyen yumrular meydana getirdiği belirlenmiştir. Bazı

araştırmacılar *in vitro* kültür ortamında etilen bulunması durumunda yumru oluşumunda bir artış olduğunu kaydederken (Biran ve ark., 1972), bazıları etilenin yumru oluşumunu engellediğini belirtmişlerdir (Vreugdenhil ve Struik, 1990). Başlangıçta ortamda etilenin fazla olması nedeniyle stolon gelişimi ve yumru oluşumunun geciktiği, ancak yumru oluşumun başlamasıyla ortamdaki etilen seviyesinin gittikçe düşmesinden dolayı yumru oluşumunun arttığı rapor edilmiştir (Suttle, 1998). Etilenin kök oluşumu ve gelişimine tamamen engel olduğu, stolon gelişimini engellediği, stolonun kalınlaşmasına ve yere doğru dikey gelişimine neden olduğu ve yumruda bulunan nişasta ve antosiyanin birikimini engellediği bildirilmiştir (Mingo-Castel ve ark., 1976).

3.5. Absisik Asit (ABA)

Kısa gün şartlarında tutulan patates bitkisinden alınan çeliklere ABA uygulanmasıyla yumru oluşumunun başladığı, ABA'nın etkisinin yumru oluşumunun ileri safhalarında daha fazla olduğu ve ABA uygulanmasıyla GA₃'in yumru oluşumundaki olumsuz etkisinin önlenebileceği belirlenmiştir. Ayrıca, içsel ABA seviyesi ile patatesteki mikro yumru oluşumu ve dormansilerinin sürekliliği arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir (Koda ve Okazawa, 1983).

3.6. Asetil Salisilik Asit (ASA)

Patates mikro bitkilerinin bulunduğu ortama ASA ilavesiyle % 100 yumru oluşumu sağlanmış, ASA ve BAP'in MY oluşumunu % 40-70 oranında teşvik ettiği, buna karşın CCC'nin tek başına mikro yumru oluşumunda etkili olmadığı belirlenmiştir (Lopez-Delgado ve Scott, 1997). ASA'in bitki dokularında bulunan içsel oksin ve sitokinin seviyelerini azaltarak ve bitki hücrelerinin gelişimini yavaşlatarak, *in vitro* patates bitkiciklerinin uzun süreli muhafazasında mannitole alternatif olabileceği (Lopez-Delgado ve ark., 1998) gösterilmiştir. Salisilik ve salisilhidroksamik asitin yüksek konsantrasyonlarda sürgün gelişimi ile yaprak ve kök oluşumunu engellediği, düşük konsantrasyonlarda ise uyardığı, yumru oluşturan bitkilerde linolenik asit seviyesi yükselterek MY oluşum hızını düşürdüğü görülmüştür (Klocek ve Mioduszewska, 2001).

3.7. Kumarin (Coumarin)

Çok geniş aralıktaki bitki türünde doğal olarak meydana gelen aromatik bileşiklerden olan kumarin ve türevlerinin bazı bitki türlerinde fizyolojik olayların modifikasyonunda görev aldığı bilinmektedir. Kumarin'in patates eksplantlarında MY meydana getirmesi üzerine ilk çalışmalar 1972 yılında Stallknecht tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada 1 mg L⁻¹ kumarin konsantrasyonunda hiç bir MY oluşumu görülmediği, ancak konsantrasyonun 10 mg L⁻¹'e çıkmasıyla eksplantların %30'unun MY meydana getirdiği belirlenmiştir (Stallknecht, 1972). Diğer bir çalışmada, ortamda % 6-8 oranında sukroz bulunması durumunda kumarinin yumru oluşumunu başlattığı

görülmüş, optimum konsantrasyonun 25-50 mg L⁻¹ arasında olduğu, 100 mg L⁻¹ konsantrasyonun MY oluşumunu geciktirdiği ve bu konsantrasyonda daha küçük MY elde edildiği görülmüştür (Stallknecht ve Farnsworth, 1982). Araştırmacılar ayrıca, MY oluşum başlangıcının kinetin ile kıyaslandığında 2-3 gün daha erken başladığını ve 15-20 gün arasında bitkiciklerin %100'ünün MY meydana getirdiğini belirlemiştir. Bazı araştırmacılar ise optimum kumarin konsantrasyonunun 100 mg L⁻¹ olduğunu ve bu konsantrasyonun 500 mg L⁻¹ CCC konsantrasyonu ile benzer yada biraz yüksek sayıda mikro yumru verdiğini tespit etmiştir (Chen ve ark., 1991). Stallknecht ve Farnsworth (1982) yüksek azot, GA₃, ABA, IAA ve NAA'nin kumarinin MY oluşturmadaki etkinliğini azalttığını da belirlemiştir.

3.8. Aktif Kömür

Aktif kömür, sitokininler, poliamin biosentez inhibitörü ve CCC'in karşılaştırılmasından, bütün ortamlarda yumru meydana geldiği, ancak aktif kömür içeren ortamın en hızlı MY oluşum oranı ve en büyük MY'lar verdiği gözlenmiştir. Aktif karbon, hinokitol (β -tujaplicin), thidiazuron (TDZ), ABA ve PBZ'un yüksek konsantrasyonlarda yumru oluşumunu teşvik ettiği belirlenmiştir (Sajid ve Aftab, 2009; Lajayer ve ark, 2011; Peng ve ark. 2012). Azotun *in vitro*'da MY oluşumunu etkileyen en önemli faktörlerden olduğu bilindiğinden, aktif karbonun muhtemelen nişasta biyokimyasını etkilediği ve bitkideki amonyum:nitrat oranını değiştirerek MY oluşumuna katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Garner ve Blake, 1989). Bizarri ve ark. (1995) %0.2 w/v aktif karbonun %8 sukroz bulunan sitokinin, poliamin biosentez inhibitörü ve CCC'den daha yüksek oranda MY oluşumu sağladığını, MY sayısı ve ağırlığının daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, aktif karbon ilave edilmiş ortamlardan elde edilen MY'ların daha büyük olmasından dolayı direkt tarlaya dikilmeye uygun olduğunu da vurgulamışlardır.

3.9. Diğer Büyüme Düzenleyiciler

ABA, CCC, Na-2,3-diklor-izo-bütirat, kumarin veya PBZ bulunan ortamda; kumarin ve PBZ'un yumru oluşturan bitki oranını, MY sayısını, ortalama MY ağırlığını ve toplam MY ağırlığını artırdığı görülmüştür (Simko, 1991a). PBZ'un ASA ile karşılaştırıldığı çalışmada da; PBZ'un yumru oluşum başlangıcını çabuklaştırdığı, yumru meydana getiren bitki oranını % 53'ten % 100'e çıkardığı, MY büyüklüğünü % 123 ve MY verimini % 183 artırdığı; buna karşın ASA'nın yumru oluşumuna herhangi bir etkisi olmadığı belirlenmiştir (Simko, 1991b). Simko (1993) PBZ'un erken yumru oluşumunu stimüle ederken, sap gelişimini engellediğini; kinetinin tek başına yumru oluşumunda etkili olmadığını, buna karşın 0.001 mg L⁻¹ PBZ ilavesi halinde MY oluşumunun önemli oranda teşvik edildiğini kaydetmiştir. Araştırmacı, besi ortamına ilave edilen sukroz ve PBZ'un MY oluşum oranını, ağırlığını,

sayısını ve yumrulardaki uniformiteyi artırdığını, buna karşın yüksek PBZ konsantrasyonunun ve GA₃'in MY oluşumunu önemli oranda engellediğini bildirmiştir. CCC ve daminozide ilavesi MY oluşumunu uyarırken, MY taze ağırlığını azaltmış; buna karşın, ancymidol ve PBZ ilavesi MY büyümesi üzerine herhangi bir engelleyici etkiye bulunmamıştır (Harvey ve ark., 1991). Triadimefon ve Uniconazole gibi triazololler özellikle MY oluşumunun zor olduğu patates çeşitlerinin geliştirildiği kültür ortamında çalışılmış, 10 mg L⁻¹ BAP konsantrasyonu ile kıyaslandığında, 0.01 mg L⁻¹ gibi düşük konsantrasyonlarda bile bu kimyasalların MY sayısı ve büyüklüğünü önemli oranda artırdığı ve en iyi sonucu 0.05 mg L⁻¹ Uniconazole konsantrasyonundan elde edildiği rapor edilmiştir. Benzer sonuçların Tetcyclacis ilave edilmiş ortamdan elde edildiği ve dördüncü günden itibaren MY oluşumunun görüldüğü not edilmiştir (Vreugdenhil ve ark., 1994). Dhital ve Lim (2004) en yüksek MY verimini (591 mg plantlet⁻¹) BAP ile mukayese edildiğinde sukkinik asit 2,2-dimetilhidrazid (B-9) kimyasalından elde etmişlerdir.

4. SONUÇ

Yapılan çalışmalardan da görülebileceği gibi, patates bitkisinde MY oluşumu çok sayıda içsel ve dışsal faktörlerin bir arada ve dengeli bir şekilde bulunmasına bağlıdır. Karbonhidrat içerikleri ve hormonal faktörler yanında, ışık süresi ve yoğunluğu, sıcaklık, farklı agar konsantrasyonlarının değişik şekilde kombine edilmesi suretiyle çok sayıda uniform MY elde etmek mümkündür. Patateste sağlıklı tohumluk elde edilmesinde, bu fizyolojik faktörlerin MY üretiminde kullanılması çok büyük yararlar sağlayacaktır. Şimdiye kadar bahse konu birçok çalışmada MY sayısı ve büyüklüklerinin artırılması için çok sayıda araştırma yapılmışsa da bunların sera ve tarla şartlarındaki performanslarının denenmesi ve araştırma seviyesinden ticari seviyeye kaydırılması çok büyük bir önem arz etmektedir. Daha sonra yapılacak çalışmalarda besi ortamlarında (*in vitro*) elde edilen bu sonuçlar, tarladan (*in vivo*) elde edilen yumru karakteristikleriyle karşılaştırılmalı, aradaki ilişki belirlenmeli ve *in vitro*'dan elde edilen bu sonuçların hangi oranda gerçeği yansıttığı ortaya konulmalıdır. Aradaki korelasyonun yüksek olması halinde, ıslah çalışmalarının erken aşamalarında *in vitro*'da test edilecek yeni çeşit adaylarının seleksiyonu ve ıslah süresinin kısaltılması mümkün olabilecektir. Son yıllarda kullanımı gittikçe yaygınlaşan ve yeni geliştirilen bioreaktör teknolojisi gibi birçok kütleli MY üretim metodolojisi, ticari üretim için alternatif metotlardandır. Bu metotlar bitki başına yumru sayısını artırdığı gibi, MY'ların büyüklük ve ağırlıklarını da artırmakta ve herhangi bir ön muameleye tabi tutulmadan depolanabilmesine ve doğrudan tarlaya dikilmesine izin verebilmektedir (Coleman ve ark., 2001; Piao ve ark., 2003; Kamarainen-Karppinen ve ark., 2010; Sarekanno ve

ark., 2012). Hastaliksız patates tohumluğu üretimi için gelişmekte olan bu teknolojilerin ülkemiz patates tohumluk üretim programlarına entegre edilmesi gerekmektedir.

5. KAYNAKLAR

- Altındal, D., Karadoğan, T. 2010. The effect of carbon sources on *in vitro* microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). Turkish J of Field Crops, 15(1): 7-11.
- Arregui, L.M., Veramendi, J., Mingo-Castel, A.M. 2003. Effect of gelling agents on *in vitro* tuberization of six potato cultivars. Amer J of Potato Res., 80: 141-144.
- Arvin, M.J., Habib, A., Donnelly, D. 2005. Effects of calcium concentration in medium on microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). Iranian J of Biotech., 3(3): 152-156.
- 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.
- Badawi, M.A., El-Sayed, S.F., Edriss, N.H., El-Barkouki, T.M. 1995. Factors affecting production of potato microtubers from meristem tip *in vitro*. Egyptian J of Horticulture, 22(2): 137-149.
- 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.
- Biran I., Gur, I., Halevy, A.H. 1972. The relationship between exogenous growth inhibitors and endogenous levels of ethylene and tuberization of Dahlias. Physiol.Plant, 27: 226-230
- Bizarri, M., Borghi, L., Ranalli, P. 1995. Effects of activated charcoal effects on induction and development of microtubers in potato (*Solanum tuberosum* L.). Annals of Applied Biology, 127(1): 171-181.
- Castro, G., Abdala, G., Agüero, C., Tzio, R. 2000. Interaction between jasmonic and gibberellic acids on *in vitro* tuberization of potato plantlets. Potato Res., 43 (1): 83-88.
- Cenzano, A., Vigliocco, A., Kraus, T., Abdala, G. 2003. Exogenously applied jasmonic acid induces changes in apical meristem morphology of potato stolons. Annals of Botany, 91: 915-919.
- Chandra, R., Dodds, J.H., Tovar, P. 1988. *In vitro* tuberisation in potato (*Solanum tuberosum* L.). Int. Association of Plant Tissue Culture Newsletter, 55: 10-20.
- Charles, G., Rossingol, L., Rossingol, M. 1992. Environmental effect on potato plants *in vitro*. J of Plant Physiology, 6: 708-713.
- Chen, S.N., Li, Q.H., Wang, L.H., Nie, W.M., Wang, J. 1991. Effect of coumarin and oligosaccharins on *in vitro* tuberization of potato. Acta Botanica Yunnanica. 13 (3): 321-326.
- Coleman, W.K., Donnelly, D.J., Coleman, S.E. 2001. Potato microtubers as research tools: A review. Am J Potato Res., 78: 47-55.
- de Paiva Neto, V.B., Otoni, W.C. 2003. Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture: does it matter? Scientia Horticulturae, 97: 193-202.
- Dermastia, M., Ravnika, M., Kovac, M. 1996. Morphology of potato (*Solanum tuberosum* L. cv Sante) stem node cultures in relation to the level of endogenous cytokinins. J of Plant Growth Reg., 15(3): 105-108.
- Deryabin, A.N., Yur'eva, N.O. 2001. Periodicity of tuberization stages in potato *in vitro*. Russian Agric. Sci., 3: 6-8.
- Deryabin, A.N., Yur'eva, N.O. 2010. Exogenous regulation of tuberization of *Solanum tuberosum* L. in culture *in vitro* (Review). Celckoxozauctvennaya Biologiya (Сельскохозяйственная биология), 3: 17-25.
- Dhital, S.P., Lim, H.T. 2004. Microtuberization response in several genotypes of potato (*Solanum tuberosum* L.) by direct addition of liquid medium to *in vitro* plantlets. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 45(6): 281-286.
- Dobranszki, J. 1997a. Effects of dark treatment on tuber initiation and development of induced potato plantlets cultured *in vitro*. Acta Agronomica Hungarica, 44(4): 377-386.
- Dobranszki, J. 1997b. Effect of light on *in vitro* tuberization of potato of pure *Solanum tuberosum* origin. Acta Agronomica Hungarica, 45(4): 383-397.
- Dobranszki, J., Tabori, K.M., Frenczy, A. 1999. Light and genotype effects on *in vitro* tuberization of potato plantlets. Potato Res., 42(3-4): 483-488.
- Dobranszki, J. 2001. Effects of light on *in vitro* tuberization of the potato cultivar Desiree and its relatives. Acta Biologica Hungarica, 52(1): 137-147.
- 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.
- Dragicevic, I., Konjevic, R., Vinterhalter, B., Vinterhalter, D., Neskovic, M. 2008. The effects of IAA and tetcyclacis on tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.) shoot cultures in vitro. Plant Growth Regul., 54: 189-193.
- Ebadi, M., Iranbakhsh, 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.
- Elshibli, M.A.I.S. 2000. Effect of genotype on morphogenesis of ten *Solanum* potato varieties cultured *in vitro* . In: Fifth Triennial Congress Proceedings of the African Potato Association, 29 May–2 June, 2000, Uganda, pp: 23-26.
- Ewing, E.E. 1985. Cuttings as simplified models of the potato plant. In: Potato Physiology (Ed. P. H. Li). Academic Press, New York, USA, pp: 153-207.
- Ewing, E.E., Struik, P.C. 1992. Tuber formation in potato: induction, initiation and growth. Hort. Reviews, 14: 89-198.
- Forti, E., Mandalino, G., Ranalli, P. 1991. *In vitro* tuber induction: influence of the variety and of the media. Acta Horticulturae, 300: 127-132.
- Fufa, M., Diro, M. 2013. The effects of sucrose on *in vitro* tuberization of potato cultivars. Advances in Crop Sci. & Tech., 1(4): 1-3.
- Garner, N., Blake, J. 1989. The induction and development of potato microtubers *in vitro* media free of growth regulating substances. Annals of Botany 63: 663-674.
- 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.
- Gönülşen, N. 1987. Bitki doku kültürleri yöntemleri ve uygulama alanları. Ege Tar. Arş. Ens. Md. Yayınları, No. 78, Menemen, İzmir, 140 s.
- Harvey, B.M.R., Crothers, S.H., Evans, N.E., Selby, C. 1991. The use of growth retardants to improve microtuber formation by potato (*Solanum tuberosum* L.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 27 (1): 59-64.
- Hatipoğlu, R. 2008. Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova Üniv., Ziraat Fakültesi Yayınları, Genel Yayın No: 190, Ders Kitapları Yayın No: A-58, pp: 15-30.
- 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.
- Hossain, M. J., Siddique, M. A. 2011. Effect of nitrogen and coumarin on *in vitro* microtuberisation of potato. SAARC J. Agri., 9 (2): 17-27.
- 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.
- Hussey, G., Stacey, N.J. 1984. Factors affecting the formation of *in vitro* tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). Annals of Botany, 53: 565-578.
- Imani, A.A., Qhrmanzadeh, R., Azimi, J., Janpoor, J. 2010. The effect of various concentrations of 6-benzylaminopurine (BAP) and sucrose on *in vitro* potato (*Solanum tuberosum* L.) microtuber induction. American-Euroasian J. Agric. & Environ. Sci., 8 (4): 457-459.
- Iranbakhsh, A., Ebadi, M., Zare, Z. 2011. Effects of nitrogen and potassium on *in vitro* microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L. var Agria). Australian J of Basic and Applied Sciences. 5(12): 442-448.
- 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.
- Karadoğan, T. 1994. Patateste doku kültürünün kullanım alanları ve uygulanması. Atatürk Ü. Zir. Fak. Der. 25:(2), 275-290.
- 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.
- Klocek, J., Mioduszewska, H. 2001. The influence of salicylic acid and salicylhydroxamic acid on *in vitro* potato plant growth. Biotechnologia, 2 (53): 148-151.
- Koda, Y., Okazawa, Y. 1983. Influences on environmental, hormonal and nutritional factors on potato tuberisation *in vitro*. Japanese J of Crop Sci., 52: 582-591.
- Koda, Y., Okazawa, Y. 1988. Detection of potato tuber-inducing activity in potato leaves and old tubers. Plant Cell Physiol. 29 (6): 969-974.
- Koda, Y., Kikuta, Y. 2001. Effects of jasmonates on *in vitro* tuberization in several potato cultivars that differ greatly in maturity. Plant Production Science, 4 (1): 66-70.
- Kolomiets, M.V., Hannapel, D.J., Chen, H., Tymeson, M., Gladon, R.J. 2001. Lipxygenase is involved in the control of potato tuber development. The Plant Cell, 13: 613-626.
- Kovac, M., Ravnikar, M. 1994. The effect of jasmonic acid on the photosynthetic pigment of potato plants grown *in vitro*. Plant Science, 103: 101-107.
- Kovac, M., Luskovec, M., Vilhar, B., Ravnikar, M. 1997. Peroxidase activity during rooting of potato stem nodes on medium with and without jasmonic acid. Acta Biologica Slovenica, 41 (4): 61-67.
- Krauss, A., Marschner, H. 1982. Influence of nitrogen nutrition, day-length and temperature on contents of gibberellic acid and abscisic acid on tuberization in potato plants. Potato Res., 25: 13-21.
- Kumlay, A. M., Eryiğit, T. 2011. Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi düzenleyici maddeler: Bitki hormonları. Iğdır Üni. Fen Bilimleri Ens. Dergisi, 1(2): 47-56.
- Lajayer, H.M., Esmailpour, B., Chamani, E. 2011. Hinokitol and activated charcoal influence the microtuberization and growth of potato (*Solanum tuberosum* cv. Agria) plantlets *in vitro*. Australian J of Crop Science 5 (11): 1481-1485.
- Lopez-Delgado, H., Scott, I. M. 1997. Induction of *in vitro* tuberization of potato microplants by acetylsalicylic acid. J of Plant Physiology. 151:1, 74-78.
- Lopez-Delgado, H., Jimenez-Casas, M., Scott, I. M. 1998. Storage of potato microplants *in vitro* in the presence of acetylsalicylic acid. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 54: 145-152.
- Mangat, B.S., Kerson, J., Wallace, D. 1984. The effect of 2,4-D on tuberization and starch content of potato tubers produced on stem segments cultured *in vitro*. Am. Potato J., 1984, 61(6): 355-361.
- Markarov, A. M., Golovko, T. K., Tabalenkova, G. N. 1993. Photoperiodic responses in the morphological and functional characteristics of three potato species. Soviet Plant Physiology. 40 (1): 32-36.
- Marschner, H., Sattelmacher, B., Bangerth, F. 1984. Growth rate of potato tubers and endogenous contents of indolylacetic acid and abscisic acid. Physiologia Plantarum, 60 (1): 16-20.
- Martin-Closas, L. I., Pelacho, A. M. 1997. Increase in potato tuberization and growth by jasmonic acid under photoperiod and at high temperatures. Hort. Biotech. In vitro Culture and Breeding (Eds. A. Altman and M. Ziv), ISHS Acta Horticulturae, (447): 165-166.
- Martin-Closas, L.I., Sol, S., Pelacho, A.M. 2000. Potential application of jasmonic acid for *Solanum tuberosum* micropropagation. XXV. International Horticultural Congress, Part 10: Application of Biotechnology and Molecular Biology and Breeding-In vitro Culture, Brussels, Belgium (Eds. L. H. W. van der Plas and G. J. de Klerk). ISHS Acta Horticulturae 520: 127-134.
- Mauk, C.S., Langille, A.R. 1978. Physiology of tuberisation in *Solanum tuberosum* L. cis-zeatin riboside in the potato plant: Its identification and changes in endogenous levels as influenced by temperature and photoperiod. Plant Physiology, 62: 438-441.
- McGrady, J.J., Struik, P.C., Ewing, E.E. 1986. Effect of exogenous application of cytokinins on the development potato (*Solanum tuberosum* L.) cuttings. Potato Res., 29(2): 191-205.
- Melchiorre, M.N., Casano, L.M., Moriconi, D.N. 1997. Histological and exomorphological changes occurring during *in vitro* tuberization of potato cv. Spunta. Biocell, 21(2): 119-127.
- Menzel, C.M. 1983. Tuberization in potato at high temperatures: interaction between shoot and root temperatures. Annals of Botany, 52: 65-69.

- Mingo-Castel, A.M., Smith, O.E., Kumamoto, J. 1976. Studies on the carbondioxide promotion and ethylene inhibition of tuberization in potato explants cultured *in vitro*. *Plant Physiology*, 57: 480-485.
- Motallebi-Azar, A., Kazemiani, S. 2011. A new concept about carbon source roles on *in vitro* microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Advances in Agriculture & Botany-Int J of Bioflux Society*, 3(3): 160-167.
- Motallebi-Azar, A., Kazemiani, S. 2013. The study of carbon sources efficiency on *in vitro* potato microtuberization. *South Western J of Hort Biol and Env.*, 4(1): 66-81.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Naik, P.S., Sarker, D. 1998. Effect of potassium on microtuber production *in vitro*. *Biologia Plantarum*, 41 (1): 121-125.
- 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, W. J. Davies). pp.254-260.
- Nistor, A., Chiru, N., Cioloca, M., Popa, M. 2012. Influence of different potassium concentration in potato microtuberization. *Studia Universitatis "Vasile Goldiș", Seria Științele Vieții*, 22(4): 543-547.
- Nowak, J., Asiedu, S.K. 1992. Gelling agent and light effects on *in vitro* tuberization of potato cultivars. *Am. Pot. J.* 69: 461-470.
- O'Brien, P.J., Allen, E.J., Firman, D.M. 1998. A review of some studies into tuber initiation in potato (*Solanum tuberosum* L.) crops. *J of Agric. Sci.*, 130: 251-270.
- Pelacho, A.M., Mingo-Castel, A.M. 1991. Jasmonic acid induces tuberization of potato stolons cultured *in vitro*. *Plant Physiology*, 97(3): 1253-1255.
- Peng, M., Wang, X., Li, L. 2012. The effect of plant growth regulator and active charcoal on the development of microtubers of potatoes. *Amer J of Plant Sci.*, 3: 1535-1540.
- 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., Duplesis, 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 Res.*, 44(4): 315-325.
- Pruski, K., Astatkie, T., Nowak, J. 2002. Jasmonate effects on *in vitro* tuberization and tuber bulking in two potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) under different media and photoperiod conditions. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, Vol. 38 (2): 203-209.
- Rahman, M. H., Islam, R., Hossain, M., Islam, M. S. 2010. Role of sucrose, glucose and maltose on conventional potato micropropagation. *J of Agricultural Technology*. 6(4): 733-739.
- Ramarosandratana, A., Harvengt, L., Bouvet, A., Galvayrac, R., Paques, M. 2001. Effects of carbohydrate source, polyethylene glycol and gellan gum concentration on embryonal-suspensor mass (ESM) proliferation and maturation of maritime pine somatic embryos, *In Vitro Cell. Dev. Biol.: Plant.*, 37: 29-34.
- Sajid, Z.A., Aftab, F. 2009. Effect of thidiazuron (TDZ) on *in vitro* micropropagation of *Solanum tuberosum* L. cvs. Desiree and Cardinal. *Pak. J. Bot.*, 41 (4): 1811-1815.
- 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.
- Sarker, D., Naik, P.S. 1998. Effect of inorganic nitrogen nutrition on cytokinin-induced potato microtuber production *in vitro*. *Potato Res.*, 41: 211-217.
- Seabrook, J.E.A. 1993. Light effects on the growth and morphogenesis of potato (*Solanum tuberosum* L.) *in vitro*: A review. *Amer J of Potato Res.*, 82: 353-367.
- Sharma, N., Kaur, N., Gupta, A.K. 1998. Effects of gibberellic acid and chlorocholine chloride on tuberisation and growth of potato (*Solanum tuberosum* L.). *J of Science of Food and Agriculture*, 78(4): 466-470.
- Sharma, S., Chanemougasoundharam, A., Sarkar, D., Pandey, S.K. 2005. Saturated carboxylic acid-induced *in vitro* tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Potato J.*, 32(1-2): 29-36.
- 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 Agric. Sci.*, 81(11): 1008-1013.
- Simko, I. 1991a. Comparison of the effect of some plant growth inhibitors on rate of *in vitro* potato tuberization. *Pol'nohospodarstvo*. 37(6): 409-418.
- Simko, I. 1991b. *In vitro* tuberization after paclobutrazol treatment. *Biologia Bratislava*, 46(3), 251-256.
- Simko, I. 1993. Effects of kinetin, paclobutrazol and their interactions on the micro-tuberization of potato stem segments *in vitro* in the light. *J of Plant Growth Regul.*, 12 (1) 23-27.
- Slimmon, T., Souza-Machado, V., Coffin, R. H. 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.
- Stallknecht, G. F. 1972. Coumarin-induced tuber formation on excised shoots of *Solanum tuberosum* L. cultured *in vitro*. *Plant Physiol*, 50(3): 412-413.
- Stallknecht, G.F., Farnsworth, S. 1982. General characteristics of coumarin-induced tuberization of axillary shoots of *Solanum tuberosum* L. cultured *in vitro*. *Am. Pot. J.* 59: 17-32.
- Suttle, J.C. 1998. Involvement of ethylene in potato microtuber dormancy. *Plant Physiology*, 118: 843-848.
- Tabori, K.M., Dobranszki, J., Ferenczy, A. 2000. Effects of culture density on growth and *in vitro* tuberization capacity of potato plantlets. *Acta Agronomica Hungarica*, 48(2): 185-189.
- Takahashi, K., Fujino, K., Kikuta, Y., Koda, Y. 1994. Expansion of potato cells in response to jasmonic acid. *Plant Science*, 100 (1): 3-8.
- Tuğrul S., Samancı, B. 1998. Patates (*Solanum tuberosum* L.)'te yumru oluşumunu etkileyen faktörler, *Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 11: 117-122.
- Uranbey, S., Parmaksız, İ., Sancak, C., Çöçü, S., Özcan, S. 2004. Temperature and gelling agents effects on *in vitro* microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 19 (2): 89-94.

- van den Berg, J. H., Ewing, E.E. 1991. Jasmonates and their role in plant growth and development, with special reference to the control of potato tuberization: a review. *Am. Pot. J.*, 68(11): 781-794.
- Vreugdenhil D., Struik, P.C. 1990. Hormonal regulation of tuber formation. In: EAPR Abstracts of Conference Papers and Posters. 11th Triennial Conference of the Eur. Assoc. Potato Res., Edinburgh. P: 37-38.
- Vreugdenhil, D., Bindels, P., Reinhoud, P., Klocek, J., Hendriks, T. 1994. Use of the growth retardant tetacyclacis for potato tuber formation *in vitro*. *J. Plant Growth Reg.*, 14(3): 257-265.
- Vreugdenhil, D., Sergeeva, L.I. 1999. Gibberellins and tuberization in potato. *Potato Res.*, 42 (3-4): 471-481.
- Xu, X., van Lammeren A.A., Vermeev, E., Vreugdenhil, D. 1998. The role of gibberellin, abscisic acid, and sucrose in the regulation of potato tuber formation *in vitro*. *Plant Physiol.*, 117 (2): 575-584.
- 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.
- Yeasmin, L., Ahmed, S., Rashid, M.H., Parveen, S., Zeba, N. 2011. Effect of nitrogen and potassium on *in vitro* development of microtuber of potato (*Solanum tuberosum* L.). *J. Expt. Biosci.* 2(1): 107-112.
- Zakaria, M., Hossain, M.M., Mian, M. A. K., Hossain, T., Sultana, N. 2007. Effect of nitrogen and potassium on *in vitro* tuberization of potato. *Plant Tissue Cult. & Biotech.* 17(1): 79-85.
- Zakaria, M., Hossain, M.M., Mian, M. A. K., Hossain, T., Uddin, M.Z. 2008. *In vitro* tuberization of potato influenced by benzyl adenine and chloro choline chloride. *Bangladesh J. Agril. Res.* 33(3): 419-415.
- Zarrabeitia, A., Lejarcegui, X., Veramendi, J., Mingo-Castel, A.M. 1997. Influence of nitrogen supply on micropropagation and subsequent microtuberization of four potato cultivars. *Am. Pot. J.* 74(6): 369-378.
- Zhang, Z., Zhou, W., Li, H. 2005. The role of GA, IAA and BAP in the regulation of *in vitro* shoot growth and microtuberization in potato. *Acta Physiologiae Plantarum.* 27(2B): 363-369.