



## Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences

### Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi

## Patates (*Solanum Tuberosum* L.) Bitkisinde Sakkaroz Ve Oksin-Sitokinin Uygulamalarının Mikro Yumru Oluşumuna Etkileri

Sinem DİLSİZ<sup>1\*</sup>, Mustafa YORGANCILAR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Konya, Türkiye

### MAKALE BİLGİSİ

Makale Geçmişi:  
Geliş tarihi: 29.05.2018  
Kabul tarihi: 12.06.2018

Anahtar Kelimeler:

*In Vitro*  
Oksin  
Sitokinin  
*Solanum Tuberosum*  
Ticari Şeker

### ÖZET

Bu çalışmada doku kültürü yöntemiyle patatesteki (*Solanum tuberosum* L. cv. Vangogh) farklı karbon kaynağı ve bitki büyüme düzenleyicileri kullanılarak mikro yumru elde edilmesi araştırılmıştır. Bitkilerden alınan sürgün eksplantları 6 farklı (2 mg/L KIN veya BAP x 1 mg/L IBA veya NAA) konsantrasyon ve kombinasyonda büyüme düzenleyicisi içeren MS besin ortamlarında, 3 farklı karbon kaynağı (30, 60 ve 90 g/L sakkaroz) ve yarı katılaştırıcı olarak agar (6 g/L) ilave edilen ortamlarda kültüre alınmıştır. Kültürün ilerleyen döneminde 2 farklı fotoperiyot uygulanmıştır. Denemeler tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Araştırma sonucunda her ortamda sürgün rejenerasyonu gözlemlenmiştir. Kültür başlangıcından 6 hafta sonra yapılan gözlem ve ölçümlere göre; mikro yumru oluşturma oranının %0-100 ve yumru oluşum süresinin 31-38 gün arasında değişim gösterdiği, oluşan mikro yumru çapının 0.2-2.0 mm ve tek mikro yumru ağırlığının 0.8-50.0 mg olduğu tespit edilmiştir. Araştırma sonunda doku kültürü yöntemiyle patatesteki in vitro şartlarda başarılı bir şekilde mikro yumru elde edilmiştir.

## Effects on Microtuberization Production of Applications of Sucrose Auxin-Cytokinin in Potato Plants (*Solanum Tuberosum* L.)

### ARTICLE INFO

Article history:  
Received date: 29.05.2018  
Accepted date: 12.06.2018

Keywords:

*In Vitro*  
Auxin  
Cytokinin  
Micro-Tuber  
*Solanum Tuberosum*  
Commercial Sugar

### ABSTRACT

In this study, it was investigated to obtain microbumps in potatoes (*Solanum tuberosum* L. cv. Vangogh) using carbon source and plant growth regulators at different concentrations by tissue culture method. The shoot explants from the plants were cultured in MS nutrient media containing 6 different (2 mg/L KIN or BAP x 1 mg/L IBA or NAA) concentrations and combination growth regulators in media containing 3 different carbon sources (30, 60 and 90 g/L sucrose) and agar (6 g/L) as a semi-solidifier. Two different photoperiods were applied during the culture period. The experiments were carried out in in vitro conditions according to factorial arrangement of completely randomized design with 4 replications. After 6 weeks from the beginning of the culture, it has been detected that the ratio of forming a single micro tuber varies between 0 to 100%, tuber formation varies between 31 to 38 days, the diameter of the formed microtuber varies between 0.2 to 2.0 mm, and the weight of the microtuber ranged from 0.8 to 50.0 mg. At the end of the study, microtuber were successfully obtained from potatoes in the tissue culture method.

\* Sorumlu yazar email: [sinem\\_dilsiz@outlook.com](mailto:sinem_dilsiz@outlook.com)

\*Yüksek Lisans Tezinden Üretilmiştir.

## 1. Giriş

Patates 16.yy 'ın ikinci yarısı İspanyol gemiciler tarafından getirilip, Avrupa'ya yayılmıştır. Patates Türkiye'ye ise 1850 yılında Rusya'dan Kafkasya üzerinden girmiş olup, Karadeniz ve Doğu Anadolu bölgesinde yetiştirildiği belirtilmiştir (Esendal, 1990; Çaylak, 2002; Öztürk ve Polat, 2017). Botanik alanda patatesin 2000 cinsi bulunmaktadır. Bu cinslerden yaklaşık 180'i yumru üretebilmesine rağmen, sadece 8'inin gıda alanında kullanılmak için kültüre alındığı belirtilmiştir. En yaygın patates türü olan *Solanum tuberosum* L.' un kültürü yapıldığı bilinmektedir (Akınerdem ve Çöl, 2016).

Patates Dünya'da 19.09 milyon hektar alanda dikilmiş olup, bundan 381.68 milyon ton üretilmiştir (FAO, 2017). Ülkemizde 2004 yılında patates kanseri (*Synchytrium endobioticum*) hastalığı sebebiyle dikim alanları azaltılmıştır (Er ve Uranbey, 2009). Son verilere göre ülkemizde 142.8 bin hektar alana dikilmiş ve dekardan ortalama 3359 kg civarında verim elde edilmiştir (TÜİK, 2017).

Patates, önemli bir besin kaynağı olması sebebiyle, dünyada gittikçe artan açlık sorunlarına çözüm bulabilecek en önemli kültür bitkilerindedir. Dünya ülkelerinin 125'den fazla ülkesinde deniz seviyesinde 4000 m. rakımlık bölgelere kadar geniş alanlarda yetiştirilmektedir. Buğday, çeltik ve mısır bitkileri başta olmak üzere patates 4. sıra ile en çok üretimi yapılan kültür bitkisidir. Gerek ucuz oluşu, gerek birim alandaki yüksek verimi, gerek besin değerinin yüksek oluşu ve endüstri bitkisi olarak birçok farklı alanda kullanılması sebebiyle, patates bugün tüm dünyada yetiştirilen ve tüketilen önemli bir endüstri bitkisidir (Öztürk ve Polat, 2017).

Türkiye'de patates tohum sektörü ile uğraşanların büyük çoğunluğu, tohumu anaç kademedeki ithal ederek, ülkemizde bir defa çoğaltım yaparak pazarlamaktadır. Sertifikalı tohumların yeterli olmaması durumunda ise tohum ihtiyacını ikinci ve üçüncü kademe tohumları çoğaltma yoluna gidilmektedir. Bunun sonucunda verim düşmekte, virüs ve birçok hastalıkların yumruya bulaşmasına ve tohumluğun kalitesinin düşmesine sebep olmaktadır (Arioğlu, 2006). Patates tohumluk üretimi ve sertifikalı tohumluk problemleri uzun zamandır tartışılmakta ve çeşitli öneriler sunulmaktadır (Arslan ve ark., 1999; Kuşman, 2002; Arioğlu ve ark., 2006; Günel ve ark., 2010).

Sağlıklı patates tohumu elde etmek ve çoğaltmak için genellikle tohumluk programlarında doku kültürü metodlarına ve hızlı çoğaltma tekniklerine başvurulmaktadır. Meristem kültürü, sürgün ucu ve *in vitro* kültürler genetik muhafazayı korumak için tercih sebebidir (Nunez-Paleniuss, 2006).

Ülkemizde yapılan araştırmalarda; Aslam ve ark. (2011), *In vitro* koşullarda mikro yumru üretimi patates (*Solanum tuberosum* L.) tohumluk programlarında temel tohumluk eldesinde kullanılmaktadır. Son yıllar-

da sertifikalı tohumluk üretim programlarında, mikro yumru kullanımı artarak önemli hale geldiğini bildirmiştir. Bir araştırmada MS ortamına dahil edilen sukrozun mini yumru oluşumunda önem arz ettiği belirtilmiş; yapılan bazı araştırmalarda sukroz konsantrasyonunun % 6 ve % 8 konsantrasyonlarda en iyi mini yumru oluşumu gerçekleştirdiğini belirtmişlerdir (Kumlay ve ark., 2014b). Yee ve ark. (2001), çalışmalarında kullandıkları besin ortamlarına 30 g L<sup>-1</sup> sakkaroz, 7 g L<sup>-1</sup> agar ve birden fazla büyüme düzenleyici ilave ederek 6 farklı konsantrasyonda besin ortamı hazırlamışlar ve sürgün rejenerasyon frekansını % 6 ile %100 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Kumlay ve ark. (2014b) Benzyl aminopurine (BAP),  $\alpha$ -naphthaleneacetic acid (NAA) ve indole-3-butyric acid (IBA)'ın ortamdaki etilen üretimini ve dolayısıyla mikro yumru oluşumunu uyardığı; BAP ve Kinetin ilavesi ile yumru oluşum etkinliğinin arttığı, BAP'ın sadece % 4 (w v<sup>-1</sup>) sukroz konsantrasyonunun üzerinde mikro yumru oluşumunu teşvik ettiği (Banfalvi ve ark., 1997), optimum mikro yumru sayısı ve mikro yumru ağırlığı için BAP konsantrasyonunun 2 mg L<sup>-1</sup> ve fotoperiyotun 8 saat olması gerektiğini açıklamışlardır (Belletti ve ark., 1994). Kumlay ve ark. (2014a) yaptıkları araştırmalarında doku kültüründe patates bitkisinde en önemli karbon kaynağı olan sukrozun artmasıyla sürgün gelişim mekanizmasının hızlandığı, azalması ile de mekanizmanın yavaşladığını ortaya koymuşlardır. Özellikler yönünden en ideal ve düzgün şekle sahip bitkilerin oluşmasında BAP ve IBA birlikte ilave edilen ortamın etkili olduğunu, yalnızca BAP'lı ortamın bitki özellikleri açısından yetersiz olduğunu vurgulamışlardır. MS ortamına yalnızca sitokinin ve ya yalnız oksin ilavesinin yeterli olmadığı görülmektedir. Bu sebeple ideal bir bitki gelişimi için, oksin+sitokin kombinasyonları ilave edilmiş besin ortamları tercih edilmeli, ya da bitki vejetasyon sürecinin farklı safhalarında büyüme düzenleyicileri kullanarak bitki özelliklerinin kontrolü sağlanabilir. Bu şartlarda büyüme düzenleyiciler ilk gelişim safhasında erken gelişimini tamamlayacak ve ileriki safhalarda ise bitkideki değişik fizyolojik olayların dengeli bir şekilde korunmasında etkili olabileceğini belirtmiştir.

Bu çalışmada doku kültürü yöntemi ile alternatif besin ortamları kullanılarak, hastalıktan arı kaliteli mikro yumru üretiminin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Materyal

Araştırmada materyal olarak çipslik kalitesi orta, kızartılabilir parmak patates kalitesinde iyi, düşük yağ çeken ve lezzetli bir patates çeşidi olan (*Solanum tuberosum* L.) Vangogh kullanılmıştır.

Bu Araştırma, İzmir Özgörkey Gıda Ürünleri San. Ve Tic. A.Ş. bünyesinde Öztar Tohumculuk Doku Kültür Laboratuvarında yürütülmüştür.

Petri kapları, bisturi, pens ve diğer malzemeler de alüminyum folyoya sarılacak 190 °C'de 90 dakika süreyle etüvde sterilize edilmiştir.

## 2.2. Besin Ortamının Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Besin ortamı olarak Murashige ve Skoog (1962) tarafından geliştirilen ve günümüzde değişik şekillerde yaygın olarak kullanılan MS ortamı formülasyonu kullanılmıştır. Karbon kaynağı olarak %3 ticari şeker ilave edildikten sonra ortam pH'sı 5.7'ye ayarlanmış ve katılaştırıcı olarak 6 g/L agar ilave edilmiştir. Ortamlar cam balonlar içerisinde 121 °C'de, 1.5 atm. basınç altında otoklavda 20 dakika sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıkarıldıktan sonra sıcaklığın 45-50 °C'ye düşmesi beklenmiş ve kullanılacak hormonlar (ısıya hassas olduklarından) 0.2 µm milipor filtreden (Schleicher & Schuell, FP 25/0,45 CA-S; 0.2 µm; 7 bar max) geçirilerek ortama ilave edilmiştir. Daha sonra her bir kaba 20 ml besin ortamı konularak katılaştırmaları beklenmiştir.

## 2.3. Bitkisel Materyalin Hazırlanması

Denemede eksplant olarak kullanılacak sürgünlerin elde edilmesi için başlangıç materyali olarak kullanılan patates yumruları, çeşme suyu altında 15 dakika yıkama işlemine tabi tutularak çimlendirme odasına alınmıştır. Yumrular 20-25 gün ışıkta bekletilerek sürgün oluşması sağlanmıştır.

Yumruların elde edilen sürgünler akan su altında 30-35 dakika yıkanarak temizlendikten sonra 1-2 damla yayıcı yapıştırıcı madde olan Tween-20 (h/h) damlatılmış %30'luk ticari hipoklorit (%50 NaOCl içeren HES) (h/h) çözeltisinde 15-20 dakika sürekli karıştırılarak sterilizasyon işlemine tabi tutulmuş ve bu sürenin sonunda steril saf suda 3-4 defa durularak işlem tamamlanmıştır. Sterilize edilen sürgünlerden koltuk altı meristem bölgelerini içeren yaklaşık 10 mm uzunluğunda kesitler alınmış ve bunlar eksplant olarak, kök ve bitki gelişimi için 1.0 mg/l IBA, 2.0 mg/L BAP, 0.3 mg/L GA<sub>3</sub> 20 g/L ticari şeker ve %0.6 agar içeren MS besin ortamlarına alınmıştır. Meristemden gelişen bitkicikler 6-8 boğum evresine geldiğinde steril ekim kabininde tekli boğum çelikleri kesilerek hazırlanmış ve bu eksplantlar nod kültürü için 30 g/L ticari şeker ve % 0.6 agar içeren MS ortamında küçük plastik kaplarda kültüre alınmıştır. MS ortamında sürekli alt kültüre alınarak denemenin kurulması için materyal kaynağı oluşturulmuştur. Meristemden gelişen sürgünlerin uzaması için 16 saat fotoperiyot, %62-64 oransal nem, 22±2°C ve 3000 lüks beyaz floresan ışık yoğunluğu koşullarında raflı iklim odasına konulmuştur.

## 2.4. Kültür İşlemleri

Meristemden gelişen bitkicikler steril bisturi yardımıyla tek boğum aralarından yaklaşık 5 mm uzunluğunda kesilerek her bir kap içerisine 5 eksplant yerleştirilmiştir. Denemede, 3 farklı şeker konsantrasyonu (30 g/L, 60 g/L ve 90 g/L) ve 6 farklı büyüme düzenleyicisi içeren toplam 144 plastik kültür kabı kullanılmıştır. Her bir kap 20 ml besin ortamı içermektedir.

## 2.5. Çalışmada Uygulanan Fotoperiyot Şartları

Farklı şeker konsantrasyonları ve büyüme düzenleyicileri ilave edilen 144 besin ortamlı plastik kültür kaplarına alınan eksplantlar 4 hafta vejetatif aksamlarının gelişmelerini sağlamak ve sürgün oluşumunu incelemek için ışıklı fotoperiyot [16 saat ışıklı, 8 saat karanlık (22±2 °C), 3000 lüks floresan ışık yoğunluğu] koşullarında tutulmuştur. Daha sonra ise yumru oluşum evresinde kültür kaplarının yarısı (72 adet) tamamen karanlık fotoperiyot şartlarına alınmıştır. Büyütme kabinlerindeki ışık ve sıcaklık uygulamaları şu şekildedir:

- I. Fotoperiyot: 16 saat ışık ve 8 saat karanlık,
- II. Fotoperiyot: Tamamen karanlık.

## 2.6. Gözlem, Ölçümler ve Verilerin Değerlendirilmesi

Kültüre alınan eksplantlarda bitkiler 6 haftalık gelişim döneminin sonunda aşağıda belirlenen gözlem ve ölçümler yapılmıştır.

Çalışmada, mikro yumru oluşturma oranı (%) ve oluşum süresi (gün), mikro yumru çapı (mm), tek mikro yumru ağırlığı (mg) özellikleri incelenmiştir.

Araştırma, tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak düzenlenmiş ve elde edilen verilerin varyans analizi yapılmıştır. Önemli bulunan farklılıkları LSD çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır.

## 3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Patates sürgün kültürlerinde, *in vitro* mikro yumru oluşumu ve gelişimi, farklı fotoperiyot şartları ve ortamların etkileri ayrı alt başlıklar altında değerlendirilmiştir.

### 3.1. Mikro Yumru Oluşum Durumu

Kültür başlangıcından itibaren gözlemlenen mikro yumru oluşum oranları (%), mikro yumru oluşum süreleri (gün) ve 6. hafta sonunda mikro yumru oluşumu gözlenmeyenler (X) Tablo 1'de verilmiştir.

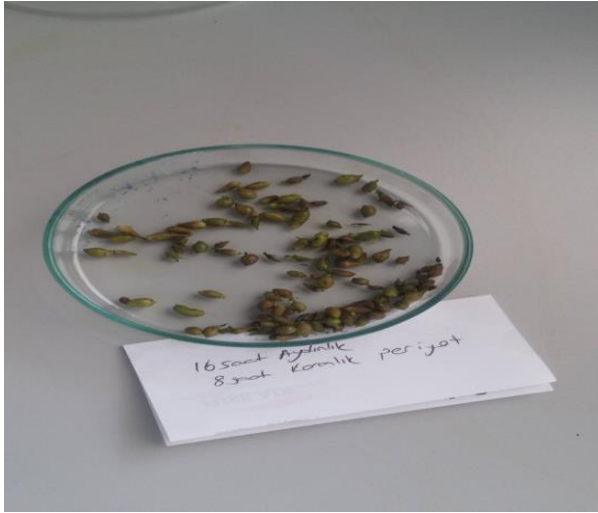
Tablo 1'e baktığımızda, I. Fotoperiyot döneminde 90 g/L sakkaroz içeren BAP+IBA ve BAP+NAA uygulamalarından kültür başlangıcından itibaren 31. günde ilk yumru oluşumu gözlenmiş olup, %100 yumru elde edilmişken, 30 g/L ve 90g/L sakkaroz içeren KIN uygulamasında ve 90 g/L sakkaroz içeren KIN+IBA uygulamalarından altı haftalık kültür süresince mikro yumru oluşumu gözlenmemiştir. II fotoperiyot döneminde ise 90 g/L sakkaroz içeren BAP+NAA uygulamasında kültür başlangıcından itibaren 34. günde ilk yumru oluşumu gözlenmiş olup, %100 yumru elde edilirken, 30 g/L sakkaroz içeren BAP, 60 g/L sakkaroz içeren KIN ve 90 g/L sakkaroz içeren KIN+IBA uygulamalarından altı haftalık kültür süresince mikro yumru oluşumu gözlenmemiştir.

Tablo 1

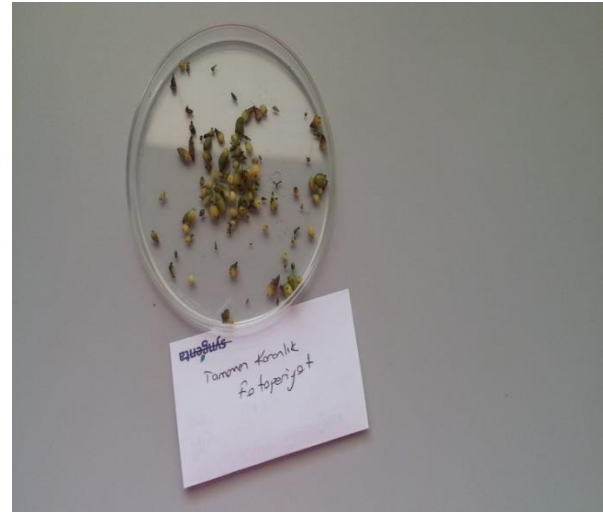
Farklı fotoperiyot, sakkaroz ve BD içeren ortamda patates bitkisinin mikro yumru oluşturma oranı (%) ve oluşum süresi (gün)

Fotoperiyot Uygulaması	Sakkaroz (g/L)	Büyüme Düzenleyicileri (KIN ve BAP 2.0, IBA ve NAA 1.0 mg/L)						Ort.
		KIN	KIN+IBA	KIN+NAA	BAP	BAP+IBA	BAP+NAA	
I	30	0	60	30	15	15	45	27.50
	60	10	45	55	10	50	40	35.00
	90	0	0	5	45	100	100	41.67
<b>Ort.</b>		3.33	35.00	15.00	11.67	27.50	30.83	34.72
II	30	15	30	25	0	20	65	25.83
	60	0	30	15	20	35	65	27.50
	90	25	0	5	30	90	100	41.67
<b>Ort.</b>		6.67	10.00	7.50	8.33	24.17	38.33	31.67
<b>Gen. Ort.</b>								
<b>Mikro Yumru Oluşum Süresi</b>								
I	30	X	33.20	31.67	34.00	32.23	34.17	
	60	32.50	32.00	32.33	34.00	32.33	34.00	
	90	X	X	35.00	31.00	31.00	31.33	
II	30	37.00	37.00	36.40	X	36.67	37.00	
	60	X	37.00	36.33	37.00	36.33	38.00	
	90	36.67	X	35.00	36.00	34.00	34.67	

X: Altı haftalık kültür süresince yumru oluşumu gözlenmemiştir. Tablodaki değerler oluşan yumruların ortalama gün sayılarıdır.



a



b

Şekil 1. Şekil (a ve b) Işıklı ve Karanlık Fotoperiyotta elde edilen mikro yumruların görünümü

Tablo 1' de görüldüğü gibi ilk yumru oluşumu kültür başlangıcından itibaren 31. günde I. fotoperiyot döneminde 90 g/L sakkaroz içeren BAP ve BAP+IBA uygulamalarında gözlenmiştir.

Yapılan araştırmalara bakıldığında Kumlay ve ark. (2014a) yapmış oldukları çalışmada, farklı fotoperiyot şartlarında *in vitro* olarak yetiştirilen patateslerde BAP'ın NAA ve IBA uygulamaları ile birlikte mikro yumru oluşturma üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında büyüme düzenleyici, 3 farklı çeşit, tamamen karanlık ve ışıklı fotoperiyot uygulamasının mikro yumru oluşumuna etkilerini incelemişlerdir. Pasinler, Granola ve Caspar patates çeşitlerini kullanmışlardır. Mikro yumru oluşumunun tamamen karanlık uygulamasında Pasinler çeşidinde BAP ve IBA uygulanan besin ortamında 32.2 gün ile en erken yumru

oluşumunun başladığını ve tamamen karanlık fotoperiyot şartlarında mikro yumru oluşumunun daha erken başladığını, kültüre alındıktan sonraki ilk aşamalarda karanlık ortamda yumru oluşum hızı, yumru sayısı, yumru büyüklüğünün daha fazla olduğu, ileriki evrelerde ise 8 saatlik ışık fotoperiyotunda yumru sayısı ve büyüklüğünün daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Uranbey (2005) Kinetin ve 6-benzyladenine (BA) sitokininlerinin kısa gün koşulları altında patatesteki *in vitro* mikro yumru üretimi bakımından karşılaştırılmasını yaptığı çalışmada kinetin ve BA içeren MS ortamında 28-35 gün aralığında mikro yumru oluşumunun gerçekleştiğini rapor etmiştir. Aslam ve ark. (2011) BA ve sakkaroz uygulayarak Desire ve Cardinal patates çeşitlerinde mikro yumru oluşumuna etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında 8 saat karanlık 16 saat

aydınlatmalı ışıklı fotoperiyotta sıcaklık  $27 \pm 1$  °C'de (%4, %6, %8, %10 ve %12) sakkaroz uygulamalı MS ortamında patates çeşitlerinde %8 sakkaroz konsantrasyonlu ortamda 17. ve 22. gün sonunda mikro yumru görülmeye başlamıştır.

Yaptığımız çalışmamızda ise kültür başlangıcından itibaren ilk yumru oluşumu I. Fotoperiyot şartlarında BAP ve BAP+IBA ortamında gerçekleşmiştir. Diğer araştırmalardaki mikro yumru oluşumu gün sayısındaki farklılık; farklı sakkaroz konsantrasyonlarının uygulanmaması, yüksek ışık şiddeti ve farklı patates çeşitlerinin kullanılmasından kaynaklandığı öngörülmüştür.

### 3.2. Mikro Yumru Çapı (mm)

Tablo 2

Farklı fotoperiyot, sakkaroz ve BD içeren ortamda patates bitkisinin mikro yumru çapı (mm)

Fotoperiyot Uygulaması	Sakkaroz (g/L)	Büyüme Düzenleyicileri (KIN ve BAP 2.0, IBA ve NAA 1.0 mg/L)						Ort.
		KIN	KIN+IBA	KIN+NAA	BAP	BAP+IBA	BAP+NAA	
I	30	0.0i	1.2a-g	0.6d-1	0.8c-1	1.0b-h	1.6a-c	0.8A
	60	0.3g-1	1.3a-f	1.6a-c	0.3g-1	1.0b-h	0.3g-1	0.8A
	90	0.0i	0.0i	0.3g-1	1.4a-e	1.9ab	1.1a-h	0.8A
<b>Ort.</b>		0.1 D	0.8 A-C	0.8 A-C	0.8 A-C	1.3 A	1.0 AB	0.8A
II	30	0.3g-1	0.5e-1	0.2h1	0.0i	0.6d-1	0.4f-1	0.3B
	60	0.0i	0.3g-1	0.2h1	0.6d-1	0.5e-1	0.9c-1	0.4B
	90	1.5a-d	0.0i	0.4f-1	0.9c-1	2.0a	1.1a-h	1.0A
<b>Ort.</b>		0.6 B-D	0.3 CD	0.3 CD	0.5 B-D	1.0 AB	0.8 A-C	0.6B
<b>Gen. Ort.</b>		<b>0.3 D</b>	<b>0.5 CD</b>	<b>0.5 CD</b>	<b>0.7 BC</b>	<b>1.2 A</b>	<b>0.9 AB</b>	<b>0.7</b>
<b>SM*BD</b>	30	0.2EF	0.8B-E	0.4C-F	0.4C-F	0.8B-E	1.0BC	0.6 B
	60	0.2EF	0.8B-E	0.9B-D	0.4C-F	0.7B-E	0.6B-F	0.6 B
	90	0.7B-E	0.0F	0.3D-F	1.2B	1.9A	1.1B	0.9 A

SM: LSD<sub>0,05</sub>: 0.27, FU\*SM: LSD<sub>0,01</sub>: 0.40, BD: LSD<sub>0,01</sub>: 0.39, BD\*FU: LSD<sub>0,01</sub>: 0.55, BD\*SM LSD<sub>0,01</sub>: 0.67, BD\*SM\*FU: LSD<sub>0,05</sub>: 0.94

Tablo 2'de görüldüğü gibi, FU\*BD\*SM etkileşiminde en iyi mikro yumru çapı 2.0 mm ile II. Fotoperiyotta ve 90 g/L sakkaroz içeren BAP+IBA ortamı uygulamalarından elde edilmiştir. I. Fotoperiyotta ise en iyi mikro yumru çapı 1.9 mm ile 90 mg/L sakkaroz içeren BAP+IBA uygulamalarından elde edilmiştir.

FU\*BD etkileşiminde en iyi mikro yumru çapı 1.3 mm ile I. Fotoperiyotta BAP+IBA uygulamasından, en düşük mikro yumru çapı ise 0.1 mm ile I. Fotoperiyotta KIN uygulamasından elde edilmiştir.

FU\*SM etkileşiminde en iyi mikro yumru çapı 1.0 mm ile II. Fotoperiyotta 90g/L sakkaroz uygulamasından elde edilmiştir. En düşük mikro yumru çapı ise 0.3 mm ile II. Fotoperiyotta 30g/L sakkaroz uygulamalarından elde edilmiştir.

SM\*BD etkileşiminde en iyi mikro yumru çapı 1.9 mm ile 90g/L sakkaroz BAP+IBA uygulamasından elde edilmiştir.

Yapılan araştırmalara bakıldığında Kumlay ve ark. (2014a) yapmış oldukları çalışmada, farklı fotoperiyot şartlarında *in vitro* olarak yetiştirilen patateslerde BAP'ın NAA ve IBA uygulamaları ile birlikte mikro yumru çapına etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında büyüme düzenleyici, 3 farklı çeşit ve karanlık ve ışıklı

Kültür sonunda elde edilen mikro yumruların çapı ölçülerek ortalama değerler istatistiki analizi yapılarak Tablo 2'de verilmiştir. Tablo 2'ye baktığımızda fotoperiyot uygulaması (FU), büyüme düzenleyiciler (BD) miktarı, ve sakkaroz miktarı (SM) varyans analizi sonucuna göre %1 seviyesinde ( $p < 0.01$ ) önemli bulunmuştur. Fotoperiyot uygulamasında en iyi mikro yumru çapı 0.8 mm ile I. Fotoperiyot uygulamasından elde edilmiştir. Sakkaroz uygulamaları içerisinde en iyi mikro yumru çapı 0.9 mm ile 90 g/L sakkaroz uygulamasında elde edilmiştir. Büyüme düzenleyicileri uygulamasında en iyi mikro yumru çapı 1.2 mm ile BAP ve IBA uygulamasından elde edilmiştir.

Uygulamalar arası etkileşimlere bakıldığında; FU\*BD, FU\*SM, SM\*BD ve FU\*BD\*SM etkileşimleri %1 seviyesinde ( $p < 0.01$ ) önemli bulunmuştur.

fotoperiyotun mikro yumru çapına etkilerini incelemişlerdir. Pasinler, Granola ve Caspar çeşitlerini kullanmışlardır. Fotoperiyotlar, çeşitler ve ortamlar arasındaki fark ile FU\*ORTAM ve FU\*ÇEŞİT\*ORTAM etkileşimleri çok önemli bulunurken ( $p < 0.01$ ), FU\*ÇEŞİT ve ÇEŞİT\*ORTAM etkileşimleri önemsiz olarak belirlenmiştir ( $p > 0.05$ ). En iyi mikro yumru çapı 8 saat ışık şartlarında BAP ortamında 6.8 mm ile Pasinler çeşidinden elde edilmiş; bunu tamamen karanlık ortamda BAP'lı ortamında *Caspar* çeşidi, 8 saat ışık şartlarında kontrol ortamında *Pasinler* çeşidi, 8 saat ışık fotoperiyodunda kontrol ortamında *Granola* çeşidi 6.2 mm mikro yumru çapı ile ve yine 8 saat ışık fotoperiyodunda kontrol ortamında *Caspar* çeşidi 6 mm mikro yumru çapı ile takip etmiştir.

Yaptığımız çalışmamızda ise; en iyi mikro yumru çapı tamamen karanlık şartlarda BAP+IBA uygulamasında elde edilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda mikro yumru çapı ile ilgili farklılık fotoperiyot şartlarının I. Fotoperiyotta 8 saat ışık kullanılması, kültür başlangıcından itibaren tamamen karanlık fotoperiyot kullanılması, farklı patates çeşitlerinin çeşit özellikleri ve kültür süresinin 8 hafta olmasından kaynaklandığı öngörülmüştür. Yaptığımız çalışmamızda ise II. Fotoperiyot uygulamasına kültür başlangıcından itibaren 4.

haftada geçilmiş ve I. Fotoperiyotta 16 saat ışık uygulanmıştır. Yapılan ölçümler 6. hafta sonunda yapılmış olup mikro yumru çapının 8. hafta gözlemlerinde daha büyük sonuçlar elde edileceği düşünülmektedir. Diğer gözlemlerin 8. hafta sonu ölçümünde doğru bulgular vermeyeceği düşünülerek 6. hafta sonunda ölçümler yapılmıştır. Yapılan çalışmalara bakıldığında BAP uygulanmış ortamlarda en iyi mikro yumru çapının elde edilmesi yaptığımız çalışmayı destekler niteliktedir.

### 3.3. Mikro Yumru Ağırlığı (mg)

Kültür sonunda elde edilen mikro yumruların ağırlıklarına ait ortalama değerler istatistikî analizi yapılarak Tablo 3’de verilmiştir. Tablo 3’de baktığımızda fotoperiyot uygulaması (FU) ve sakkaroz miktarı (SM) varyans analizi sonuçları önemsiz bulunurken, BD miktarı %1 seviyesinde (p<0.01) önemli bulunmuştur. Büyüme düzenleyiciler içerisinde en iyi mikro yumru

ağırlığı 26.3 mg ile BAP+IBA uygulamasından elde edilmiştir.

Uygulamalar arası etkileşimlere bakıldığında; FU\*SM etkileşimleri %1 seviyesinde (p<0.01) önemli iken, FU\*BD\*SM etkileşimleri %5 seviyesinde (p<0.05) istatistikî olarak önemli bulunmuştur.

Tablo 3’te görüldüğü gibi, FU\*BD\*SM etkileşiminde en iyi mikro yumru ağırlığı 50.0 mg ile I. Fotoperiyotta en iyi mikro yumru ağırlığı 90g/L sakkaroz içeren BAP uygulamasından elde edilmişken en düşük mikro yumru ağırlığı 0.8 mg ile I. fotoperiyot uygulamasında 90g/L sakkaroz içeren Kinetin+NAA uygulamasından elde edilmiştir.

FU\*SM etkileşiminde en iyi mikro yumru ağırlığı 22.3 mg ile 60g/L sakkaroz uygulamasından, en düşük mikro yumru ağırlığı ise 9.5 mg ile 60g/L sakkaroz uygulamasından elde edilmiştir.

Tablo 3

Farklı fotoperiyot, sakkaroz ve BD içeren ortamda patates bitkisinin ortalama tek mikro yumru ağırlığı (mg)

Fotoperiyot Uygulaması	Sakkaroz (g/L)	Büyüme Düzenleyicileri (KIN ve BAP 2.0, IBA ve NAA 1.0 mg/L)						Ort.
		KIN	KIN+IBA	KIN+NAA	BAP	BAP+IBA	BAP+NAA	
I	30	0.0h	29.0b-e	9.6e-f	36.7a-d	37.7a-d	16.9d-h	21.6 C
	60	13.5e-h	22.0b-g	40.8ab	9.3e-h	22.4b-g	25.8b-f	22.3 A
	90	0.0h	0.0h	0.8h	50.0a	39.5ab	36.2a-d	21.1 BC
<b>Ort.</b>		4.5	17.0	17.0	32.0	33.2	26.3	21.7
II	30	2.3gh	18.3c-h	5.0f-h	0.0h	9.3e-h	14.1e-h	8.2 AB
	60	0.0h	10.1e-h	8.1e-h	11.7e-h	12.4e-h	14.7e-h	9.5 A
	90	12.3e-h	0.0h	8.0f-h	7.7f-h	36.2a-d	37.9a-c	17.0 AB
<b>Ort.</b>		4.9	9.5	7.0	6.5	19.3	22.2	11.6
<b>Gen. Ort.</b>		<b>4.7 D</b>	<b>13.2 B-D</b>	<b>12.0 CD</b>	<b>19.2 A-C</b>	<b>26.3 A</b>	<b>24.3 AB</b>	<b>16.6</b>
SM*BD	30	1.2	23.7	7.3	18.3	23.5	15.5	14.9
	60	6.8	16.0	24.4	10.5	17.4	20.3	15.9
	90	6.2	0.0	4.4	28.8	37.9	37.1	19.1

BD LSD<sub>0.01</sub>: 11.35, FU\*SM LSD<sub>0.01</sub>: 13.90, FU\*SM\*BD LSD<sub>0.05</sub>: 20.94

Yapılan araştırmalara bakıldığında Yıldırım ve ark. (2002) beş patates genotipinin *in vitro* koşullarda mikro yumru oluşturmaya üzerine yaptıkları çalışmalarında genetik materyal olarak Ege Bölgesinde yetiştirilmiş Resy, Agria, Sultan patates çeşitleri ile Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde seçilmiş 122 ve 106 No’lu patates klonları kullanılmıştır. Kültürler önce 5000 lux/m<sup>2</sup> ışıklı fotoperiyotta (8 saat karanlık 16 saat ışık ve 26 ±2 °C) 4 hafta tutulmuştur. Daha sonra bitkiler 7-8 cm boya ulaştığında yumru elde etmek için ışık şiddeti 600-700 lux/m<sup>2</sup> olacak şekilde azaltılarak ve 22 ± 2 °C’de 11 hafta bekletilmiş ve bu süre sonunda bitkilerden mikro yumrular toplanmıştır. Agria çeşidinde değişim aralığı 40 mg ile 663 mg arasındadır ve ortalama mikro yumru ağırlığı 202 mg dir. 106 ve 122 No’ lu klonların yumru verimleri iki çeşidinkinden oldukça düşüktür. Tek yumru ağırlıkları incelendiğinde yine Resy patates çeşidi 392.1 mg ile diğer 3 genotipten en az 3 kat daha yük-

sek ortalamaya sahiptir. Aslam ve ark. (2011) BA ve sakkaroz uygulayarak Desire ve Cardinal patates çeşitlerinde mikro yumru oluşumuna etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında 8 saat karanlık 16 saat ışıklı fotoperiyotta sıcaklık 27±1 °C’de (%4, %6, %8, %10 ve %12) sakkaroz uygulamalı MS ortamında patates çeşitlerinde %8 sakkaroz konsantrasyonlu ortamda 17. ve 22. gün sonunda mikro yumru görülmeye başlamıştır. Ortalama mikro yumru ağırlığı 30 ve 40 mg olarak belirlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada en iyi ortalama tek yumru ağırlığı 16 saat ışık fotoperiyodunda 90 g/L sakkaroz uygulamasında 50 mg olarak belirlenmiştir. Aslam ve ark. (2011) yaptıkları çalışmalarındaki erken yumru oluşumundaki farklılık sıcaklık değerinin yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülerek, 6. hafta sonunda ortalama yumru ağırlığının 50-60 mg olacağı öngörülmektedir. Yüksek şeker konsantrasyonu ve BAP uygulamasından elde edilen maksimum tek yumru ağırlığı

çalışmamızı desteklemektedir. Diğer çalışmadaki genotip çeşitlilik, çeşit özelliği, toplam kültür süresinin 16 hafta olması ve ışık şiddetinin azaltılması gibi faktörler göz önüne alındığında ortalama tek yumru ağırlığı yüksek çıkmıştır. Çalışmamızda kültür süresinin 6 haftadan fazla olması durumunda ortalama tek yumru ağırlıklarında artış olacağı öngörülmüştür.

#### 4. Sonuç ve Öneriler

Araştırma sonunda doku kültürü yöntemiyle patatesten *in vitro* şartlarda başarılı bir şekilde mikro yumru elde edilmiştir. Araştırmada uygulanan farklı fotoperiyot şartlarında mikro yumruların klorofil pigmentlerinden dolayı yeşil renkten koyu yeşile, kahverenginden mor rengine kadar değiştiği ve kalın kabuklu olduğu görülmüştür. Karanlık ortamda ise mikro yumruların normal yumru rengini yansıttığı, yumruların renklerinin beyaz ve açık sarıdan, koyu sarıya kadar değiştiği, kabuklarının daha ince olduğu görülmüştür. Karanlık ve ışıklı fotoperiyot şartlarında yumrular büyüklük ve şekil olarak heterojen bir dağılım göstermiştir. Mikro yumrular bitkilerin alt, orta ve uç kısımlarında olduğu görülmüştür. Karanlık ortamda bitkinin orta ve uç kısmında görülmüştür. Besin ortamı içerisindeki yumruların daha büyük ve koyu renkli olduğu tespit edilmiştir. Kumlay ve ark. (2014a) yaptıkları çalışmalarında bu durumun sebebinin yumruların lentiselleri yardımıyla MS ortamından besin almasından kaynaklı olduğunu rapor etmişlerdir.

Tamamen karanlık şartlarda mikro yumru oluşumun daha erken başladığı, mikro yumru ağırlığının en iyi karanlık ve aydınlık şartlarda BAP uygulanan ortamlardan elde edildiği, en iyi mikro yumru çapının karanlık fotoperiyot şartlarından elde edildiği görülmüştür. Mikro yumru çapı büyük olan yumruların daha sonraki sera ve tarla uygulamalarında avantaj sağlayacağı sonucu çıkarılabilir.

Araştırmada mikro yumru oluşturan bitkiler genellikle 1 adet yumru vermişlerdir. Farklı fotoperiyot şartlarındaki bu durum çeşitlerin artırılması ile farklılık gösterebilir. Mahdi ve ark. (2004) patates genotiplerinin fotoperiyot tepkilerinin çeşide özel olduğunu; bazı çeşitlerin ışıklı ortamlarda, bazı çeşitlerin ise karanlık ortamda mikro yumru oluşturduğunu vurgulamışlardır.

Çalışmamızda yüksek sakkaroz içeren ortamlar (90mg/L) ve kullandığımız büyüme düzenleyicilerinden sitokinin (BAP) tek başına ya da (BAP+IBA ve BAP+NAA) oksinlerle beraber kullanıldığında mikro yumru ağırlığına, çapına, sayısına etki ettiği görülmüştür. Kumlay ve ark. (2014b) yaptıkları çalışmalarında %8 sakkaroz konsantrasyonunda BAP tek başına veya BAP+IBA kombinasyonlarından en yüksek yumru verimi elde ettiğini rapor etmiştir. Buna göre; optimum mikro yumru sayısı ve verimi için MS ortamına yalnızca oksin ve sitokinin ilavesinin tek başına yeterli olmadığı, oksin ve sitokininin dengeli bir şekilde ilavesi, uygun şeker konsantrasyonu ile birlikte kontrollü şart-

larda özellikle karanlık fotoperiyot şartları sağlandığında kaliteli ve uniform mikro yumrular elde edilebilir.

Çalışmamızdan elde edilen bu sonuçların daha sonraki çalışmalarda bitki aksamalarının (stolon, gövde parçası ya da mikro yumru) yeni besin ortamlarında olumlu sonuç veren BAP ve BAP+IBA, BAP+NAA uygulamalarının farklı konsantrasyonları denenerek yeni araştırmalar yapılması yararlı olabilir.

Araştırmada mikro yumru sayısı ve mikro yumru ağırlığı verileri tek başlarına yeterli olmamalı, bunun dışında mikro yumrunun hastalıklardan arı, uygun göz sayısı ve dormansi durumu göz önüne alınmalı ve hasat verimlerinin yüksek olması tercih edilmelidir.

Geniş kullanım alanı olan, ticari değeri oldukça yüksek bir bitki olan patatesten verim ve kalitenin artırılmasına yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. Bunun yanı sıra tohumluk maliyetinin düşürülmesi ve hastalıklara hassas bitki olduğu için hastalıklardan arındırılmış tohumluk elde edilmesi sıklıkla çalışılan konulardandır.

Doku kültürü metotları kullanılarak hastalıktan arı, kaliteli ve üniform sera ve tarla koşullarına süper elit kademedeki mini yumru için binlerce patates mikro yumru tohumluğu üretilebilir. Günümüzde kullanımı gittikçe yayılmakta olan ve yeni geliştirilen bioreaktör gibi birçok kütleli mikro yumru üretim metotlarının, ticari üretim için alternatif metotlardan olup, belirtilen bütün yumru karakteristiklerinin optimize edilmesini mümkün kılmaktadır (Kumlay ve ark. 2014b).

Sonuç olarak, araştırmada yapılan gözlem ve ölçümlere göre; mikro yumru oluşturma oranının %0-100 ve yumru oluşum süresinin 31-38 gün arasında değişim gösterdiği, oluşan mikro yumru çapının 0.2-2.0 mm ve tek mikro yumru ağırlığının 0.8-50.0 mg olduğu tespit edilmiştir. Araştırma sonunda doku kültürü yöntemiyle patatesten farklı konsantrasyonlarda karbon kaynağı ve bitki büyüme düzenleyicileri kullanılarak *in vitro* şartlarda başarılı bir şekilde mikro yumru elde edilmiştir.

Türkiye sahip olduğu iklim şartları sebebiyle patates üretimi için en uygun topraklara sahiptir. Ülkemiz, patates üretiminde iyi noktalarda olmasına rağmen, tohumluk konusunda henüz arzu edilen seviyeye gelememiştir. Türkiye’de patates tohumluğunun büyük çoğunluğu, tohumu anaç kademedeki ithal edildikten sonra ülkemizde bir defa çoğaltım yaparak pazarlamaktadır. Verim ve kalitesi yüksek, ülkemiz koşullarına uygun yerli çeşitlerin geliştirilmesi gerekmektedir.

Bu nedenle gelişmekte olan bu biyoteknolojik metotların ülkemiz patates tohumluk üretim programlarında mutlaka entegre edilmesi gerekmektedir. Hem çeşit geliştirme amaçlı ıslah programlarına materyal çoğaltmak, hem de hastaliksız tohumluk üretiminde kullanmak amacıyla materyal üretmek için yürütülecek çalışmalara yarar sağlayacak her türlü çalışma önem kazanmıştır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçların sonraki çalışmalara bilimsel katkıda bulunacağı beklenmektedir.

## 5. Kaynaklar

- Aknerdem F, Çöl N (2016). Patates Tohumculuğu ve Önemi, *Agrotime yayıncılık*, <http://www.agrotimeyayincilik.com.tr/2016/02/25/patates-tohumculugu-ve-onemi/>.
- Arıoğlu H, Çalışkan M E, Onaran H (2006). Türkiye’de Patates Üretimi Sorunları ve Çözüm Önerileri, *IV. Ulusal Patates Kongresi*, 6-8 Eylül, Niğde, s: 1-10.
- 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.
- Çaylak Ö (2002). Ham yumru kalitesini belirleyen faktörler. Patates Tarımı, (Editör: Yaşar ŞİMŞEK) Sayfa: 104-110. Kar Tarım, Ankara.
- Er C, Uranbey S (2009). Nişasta ve Şeker Bitkileri (3. Baskı), Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ankara.
- Esendal E (1990). Nişasta ve Şeker Bitkileri ve Islahı. Cilt:1 Patates. *Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Yayınları* No: 49, Ders kitabı 221, Samsun.
- FAO (2016). Production and trade statistics [www.fao.org/](http://www.fao.org/) (Erişim Tarihi:17.12.2017)
- Günel E, Çalışkan M E, Kuşman N, Tuğrul K M, Yılmaz A, Ağırnaslıgil T, Onaran H (2010). Nişasta ve Şeker Bitkileri Üretimi. *Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*, 11-15 Ocak, Ankara, s. 377-396.
- Kumlay A M, Arslan N, Kaya C (2014a). Farklı Fotoperiyot Şartlarında in vitro Olarak Yetiştirilen patates (*Solanum tuberosum* L.)’lerde BAP’ın NAA ve IBA ile Birlikte Mikro Yumru Oluşturma Üzerine Etkileri, *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der. / Iğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech.* 4(1): 73-82, 2014.
- Kumlay A M, Arslan N, Kaya C. (2014b). Farklı Fotoperiyot Şartlarında in vitro Olarak Yetiştirilen Patates (*Solanum tuberosum* L) Eksplantlarına Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Etkileri, *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der. / Iğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech.* 4(2): 83-94, 2014.
- Kuşman N (2002). Türkiye patates tohumluk endüstrisinin teknolojik, ticari ve hukuksal yapısı. *III. Ulusal Patates Kongresi*, 23-27 Eylül, İzmir.
- 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.
- Nunez-Palenius H G, Cantliffe D J, Klee H H, Ochoa-Alejo N, Ramirez-Malagon R and Perez-Molphe E (2006). Methods in Plant Tissue Culture. In: Shetty K., Paliyath G., Pometto A. and Levin R.E. (eds). *Food Biotechnology*, pp. 553-603. CRC Press, New York.
- Öztürk E, Polat T (2017). Tohumluk Patates Yetiştiriciliği ve Önemi, *Alinteri Journal of Agricultural Sciences*, 32 (1):99-104.
- TÜİK (2016). Türkiye İstatistik Kurumu [www.tuik.gov.tr/](http://www.tuik.gov.tr/) (Erişim Tarihi:17.12.2017).
- Uranbey S (2005). Comparison of Kinetin and 6-benzyladenine (BA) on in vitro Microtuberization of Potato Under Short Days Conditions, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, *Tarım Bilimleri Dergisi* (J. Agric. Sci.), 15(1): 39-41.
- Yee S, Stevens B, Coleman S, Seabrook J A E, Xiu-Qing L (2001). High efficiency regeneration in vitro from potato petioles with intact leaflets, *Amer J of Potato Res.*, 78:151-157.
- Yıldırım Z ve Tugay E (2002). Beş Patates Genotipinin in vitro Koşullarda Mikro Yumru Oluşturması Üzerinde Bir Araştırma, *Ege Üniv. Ziraat Fak., Derg.*, 39 (1),41-45.