

Farklı Fotoperiyot Şartlarında *in vitro* Olarak Yetiştirilen Patates (*Solanum tuberosum* L) Eksplantlarına Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Etkileri

Ahmet Metin KUMLAY¹, Neşet ARSLAN², Canan KAYA³

ÖZET: Bu çalışma, benzyl aminopurine (BAP)'in tek başına yada α -naphthaleneacetic acid (NAA) ve indole-3-butyric acid (IBA) ile birlikte Pasinler, Granola ve Caspar patates çeşitlerinin tek boğum sürgün kesimlerinin mikroçoğaltımı üzerine etkisini belirlemek için yürütülmüştür. Eksplantlar kısa gün şartları (8 saat ışık) ve tamamen karanlık şartları gibi iki farklı fotoperiyot şartlarında gelişmeye bırakılmışlardır. Bu makalede patatesten bitkicik özelliklerinden alınan gözlemler değerlendirilmiştir. Fotoperiyot, çeşit ve bitki büyüme düzenleyicilerinin incelenen bitki özellikleri üzerine etkileri önemli olarak belirlenmiştir. En uzun sürgün karanlık şartlarda Caspar çeşidinden BAP+IBA ortamından alınmış (19.6 cm), ancak aradaki fark anlamlı bulunamamıştır. En yüksek yan dal (16.4 adet) ve kök (23.2 adet) sayısı Granola çeşidinden, control ortamından 8 saat ışık şartlarında elde edilmiştir. En yüksek boğum (15 adet) ve yaprak (20 adet) sayısı ile en yüksek bitki kuru madde oranı (%16.08) Caspar çeşidinden, BAP+IBA içeren ortamdan 8 saat ışık şartlarında elde edilmiştir. En yüksek kök uzunluğu (23.2 cm) Granola çeşidinden BAP+NAA içeren ortamdan kısa gün şartlarında elde edilmiştir. Bir çok karakterin hiç bir hormon içermeyen kontrol ortamında daha olumlu sonuç verdiği görülmüştür. BAP+IBA kombinasyonunun etkisinin diğer bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisinden daha belirgin olduğu ve bu etkinin çeşide özgü olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca, incelenen bitki özellikleri yönünden genel olarak kısa gün şartlarının tamamen karanlık şartlara göre daha etkili olduğu görülmüştür.

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

The Effects of Plant Growth Regulators on *in vitro* Grown Potato (*Solanum tuberosum* L.) Explants Under Different Photoperiod Conditions

ABSTRACT: The present research was carried out to determine the effect of benzyl aminopurine (BAP) with α -naphthaleneacetic acid (NAA) and indole-3-butyric acid (IBA) combinations on the multiplication of Pasinler, Granola and Caspar potato genotypes using stem segments with single nodes. Explants were incubated at two different photoperiod conditions such as short day (8 hours daylight) and continuous dark. In this article, observations from the plantlets characteristics were examined. The effects of photoperiod, cultivar and plant growth regulators (PGRs) on examined plantlet characteristics were significantly different. The maximum shoot was determined from cv. Caspar on BAP+IBA containing medium under dark condition, but differences were insignificant. The maximum shoot number (16.4) and root number (23.2 adet) were determined from cv. Granola on Control media under short day conditions. The highest number of nodes (15), leaves (20) and dry matter content (16.08%) were determined from cv Caspar on BAP+IBA supplemented medium under 8 hour photoperiod. The highest root length (23.2 cm) was determined from cv. Granola on BAP+NAA under short day conditions. Control application without any plant growth regulators was effective on the most of the studied plantlet characteristics. The impact of BAP+IBA combinations was more pronounced compared to other PGRs treatments. Results revealed that the effect of PGRs on plantlet characteristics studied was variable depending on the genotype. It is also clear that, short day conditions were more effective than continuous dark on studied plantlet characteristics.

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

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

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

³ Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Entitüsü, Endüstri Bitkileri, Erzurum, Türkiye
Sorumlu yazar/Corresponding Author: Ahmet Metin KUMLAY, akumlay@hotmail.com

GİRİŞ

Günümüzde özellikle patates (*Solanum tuberosum* L.) gibi vejetatif olarak çoğaltılan bitkilerin çok özel besi yerlerine ihtiyaç göstermeden doku kültürü ortamlarında hızlı büyümeleri ve klasik yollarla yapılan üretimlerde özellikle virüs hastalıklarının önlenememesinden dolayı doku kültürü metotlarının patates tohumluk teknolojisinde kullanımı zorunlu hale gelmiştir (Karadoğan, 1994; Pruski, 2007). *In vitro* şartlarda bitki gelişiminin başlaması ve devamı için etkili faktörlerin patates çeşidi, explant kaynağı ve tipi, ışık şiddeti ve kalitesi, sıcaklık ve değişik büyüme düzenleyicilerinin dengeli bir kombinasyonu (Akhtar et al., 2006; Dhital et al., 2010) olduğu gösterilmiştir. Oksin, sitokinin ve fotoperiyot uygulamalarının kombine edilmesiyle *in vitro* şartlarda bitki gelişiminin arttığı (Uddin, 2006), genelde yan sürgün gelişiminin artırılması için düşük bir oksin/sitokinin oranı olmasının arzu edildiği ve naftalen asetik asit (NAA), benzil amino pürin (BAP) ve giberellik asit (GA_3) ilave edilmiş ortamlarda bitkiciklerde iyi bir sürgün gelişiminin meydana geldiği belirlenmiştir (Ghaffoor et al., 2003; Ali ve ark., 2007; Dhital et al., 2010). Optimum bitki gelişimi için BAP konsantrasyonunun 2 mg L^{-1} , fotoperiyodun 8 saat ve sıcaklığın $20 \text{ }^\circ\text{C}$ olması gerektiği belirlenmiş, konsantrasyonun 4 mg L^{-1} seviyesine çıkarılmasıyla bitki gelişiminin durduğu ve erken sararmanın meydana geldiği belirlenmiştir (Belletti et al., 1994). Zhang et al. (2005) MS ortamına ilave edilen IAA'in GA_3 ile birlikte sürgün gelişimini hızlandırdığını, buna karşın BAP ilavesiyle sürgün gelişiminin yavaşladığını belirtirken, Bhatia et al. (2007) en iyi sonucun NAA+ GA_3 kombinasyonundan alındığını, Ahmad et al. (2012) BAP+KIN uygulamasının KIN ve NAA'in tek başına kullanımına göre daha yüksek sayıda çoklu sürgün sayısı verdiğini kaydetmişlerdir. Bu çalışmanın amacı; farklı fotoperiyot ve bitki büyüme düzenleyicileri (oksin ve sitokinin) kullanılarak orta-erkenci Pasinler, orta-geçici Granola ve geçici Caspar patates çeşitlerinin *in vitro* şartlarda bitki gelişim özelliklerinin incelenmesidir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma Yeri, Kullanılan Patates Çeşitleri ve Malzemelerin Sterilizasyonu

Araştırma, Erzurum Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Doku Kültürü

Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Çalışmada Pasinler, Granola ve Caspar çeşitleri kullanılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce yumru ortamlarının konulduğu cam kavanozlar ve besi ortamlarının hazırlanmasında kullanılan saf su $121 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 15 dakika tutulmak suretiyle sterilize edilmişlerdir. Petri kapları, bisturi, pens ve diğer malzemeler de alüminyum folyoya sarılarak $180\text{-}200 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 3 saat süreyle etüvde tutulmak suretiyle sterilize edilmişlerdir.

Besi Yerinin Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Besi yeri olarak Murashige and Skoog (1962) tarafından geliştirilen ve günümüzde değişik modifikasyonlarının yaygın bir şekilde uygulandığı MS ortamı kullanılmıştır. Çalışmada % 8 sukroz konsantrasyonuna ilaveten oksin olarak IBA ve NAA, sitokinin olarak BAP kullanılmıştır. Ortam pH'sı 5.6-5.8'e ayarlanarak steril distile suyla hacmi 1 litreye tamamlanmıştır. pH ayarlandıktan sonra, katı besi ortamı için 8 g L^{-1} agar ilave edilmiş, ortamlar cam balonlar içerisinde $121 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 15 dakika otoklave edilmiş, otoklavdan çıktıktan sonra sıcaklığın $45\text{-}50 \text{ }^\circ\text{C}$ 'ye düşmesiyle, yumru elde etmede kullanılacak hormonlar ısıya hassas olduklarından $0.2 \text{ } \mu\text{m}$ miliporlardan (Schleicher & Schuell, FP 30/0,2 CA-S; $0.2 \text{ } \mu\text{m}$; 7 bar max) geçirilerek ortama ilave edilmiştir. Daha sonra, her bir kavanoza 20-25 ml besi ortamı konularak katılaşmaları beklenmiştir.

Bitkisel Materyalin Hazırlanması

Meristemden gelişen bitkicikler steril bisturi yardımıyla tek boğum aralarından kesilerek içlerinde MS+BBD olan kavanozlara aktarılmış; her bir kavanoz içerisine 4 eksplant olacak şekilde ortamların her birinden 5 tekerrür yapılmıştır. Çalışmada kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve konsantrasyonları şu şekilde ayarlanmıştır: 1. Ortam: Kontrol (%8 sukroz), 2. Ortam: 2 mg L^{-1} BAP, 3. Ortam: 10 mg L^{-1} NAA+ 2 mg L^{-1} BAP, 4. Ortam: 10 mg L^{-1} IBA + 2 mg L^{-1} BAP.

Çalışmada Uygulanan Fotoperiyot Şartları

Besi ortamına alınan bitkicikler 4 hafta boyunca meristem ve çoğaltım şartlarıyla aynı tutulmuş [16 saat aydınlık , 8 saat karanlık ($24\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), 2000 lüks ışık yoğunluğu], daha sonra 2 farklı fotoperiyot şartlarına

alınmış ve bu büyütme kabinlerindeki ışık ve sıcaklık uygulamaları şu şekilde ayarlanmıştır: 1. Fotoperiyot: 8 saat aydınlık (22 ± 2 °C) ve 16 saat karanlık (16 ± 2 °C), 2. Fotoperiyot: Tamamen Karanlık (8 saat 22 ± 2 °C, 16 saat 16 ± 2 °C).

Yapılan Gözlem ve Ölçümler ve Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmada, sürgün ve kök uzunluğu (cm), yan dal, boğum, yaprak ve kök sayıları, bitki yaş ağırlığı (mg) ve bitki kuru madde oranı (%) gözlemleri alınmıştır. Elde edilen sonuçlar TARIST paket programında “Tesadüf Bloklarında Bölünen Bölünmüş Parseller Deneme Deseni”ne göre 2 fotoperiyot, 3 çeşit ve 4 farklı besi ortamı 5 tekerrürlü olarak değerlendirilmiştir

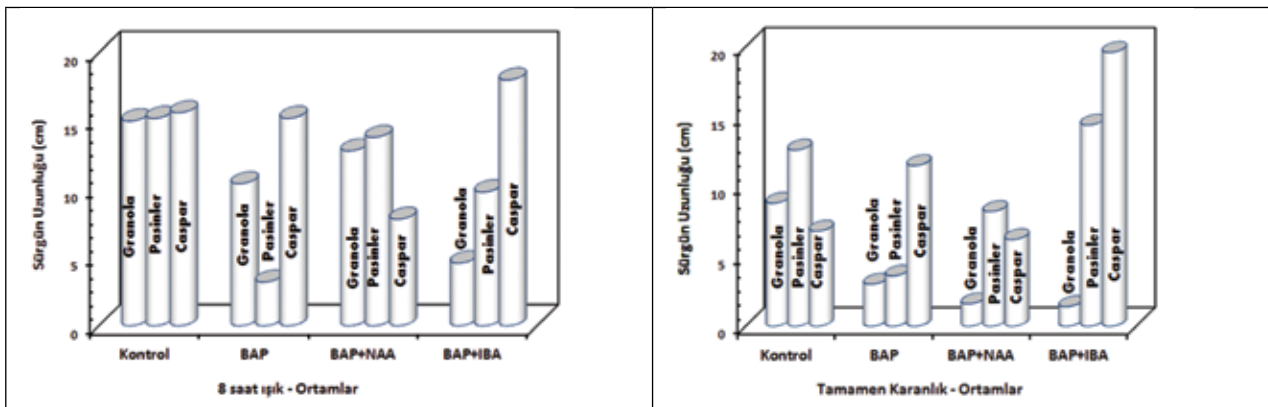
Ele alınan her bir özellik için fotoperiyot, çeşit ve besi ortamları arasındaki farklılıklar LSD testi uygulanarak belirlenmiş; bu faktörler arasındaki etkileşimler de grafik çizilerek izah edilmeye çalışılmıştır.

BULGULARI VE TARTIŞMA

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

Sürgün Uzunluğu (SU, cm)

Fotoperiyot, çeşit ve ortamlar arasındaki farklılık, fotoperiyot x ortam etkileşimi, çeşit x ortam etkileşimi ve fotoperiyot x çeşit etkileşimi % 1 düzeyinde önemli bulunurken; fotoperiyot x çeşit x ortam etkileşimi önemsiz ($p>0.05$) olarak belirlenmiştir (Çizelge 1 ve 2). Mevcut çalışmada en iyi sonuçların Caspar’dan, kontrol ortamından ve 8 saat fotoperiyot şartlarından elde edildiği (Çizelge 1), ayrıca BAP’ın tek başına ya da NAA ile birlikte kullanımının IBA ile birlikte kullanılmasına göre daha kısa SU verdiği görülmektedir (Şekil 1 ve Çizelge 2). Sonuçlar, ortamda yüksek oranda sukroz ve fitohormonların bitki boyunu artırdığını belirten Vinterhalter et al. (1997) ve Yousef et al. (1997)’nin çalışmalarıyla benzerlik arz etmektedir. Yousef et al. (1997) NAA+BAP kombinasyonundan en uzun SU elde ederlerken, (Zaman ve ark., 2001) yalnız NAA içeren ortamdan elde etmişlerdir. Alsadon et al. (2004) hiçbir BBD içermeyen MS ortamında kültüre alınan patates boğum kesimlerinde 1.82-6.89 cm arasında SU uzunluğu elde edildiğini kaydetmişlerdir. Rafique et al. (2004) $1 \mu\text{M}$ BAP, Haque et al. (2009) ise 1.0 mg L^{-1} BAP konsantrasyonundan en uzun SU elde etmişler ve BAP konsantrasyonu arttıkça SU’nun azaldığını not etmişlerdir.



Şekil 1. Sürgün uzunluğu üzerine fotoperiyot x çeşit x ortam etkileşiminin etkisi

Yan Dal Sayısı (YDS, adet)

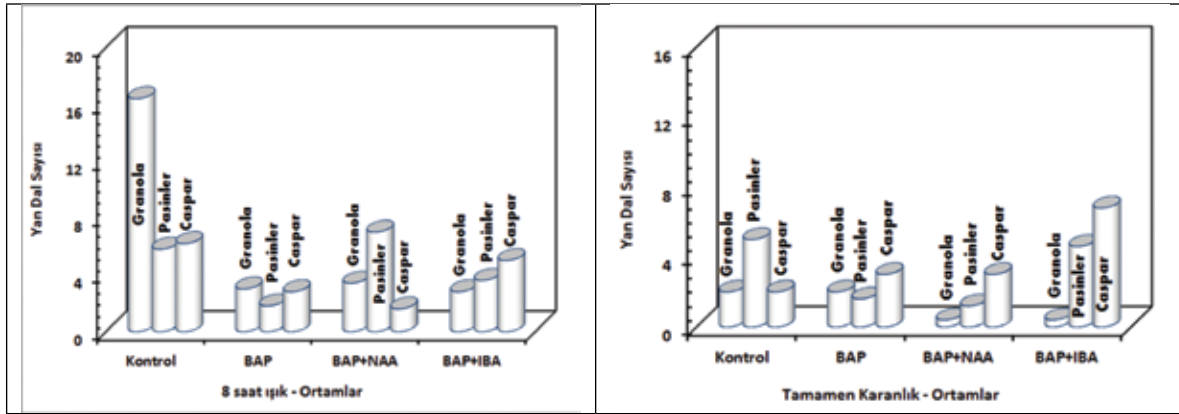
Ortam, fotoperiyot, fotoperiyot x ortam, fotoperiyot x çeşit, çeşit x ortam ve fotoperiyot x çeşit x ortam interaksiyonları çok önemli ($p < 0.01$) olarak belirlenmiş, buna karşın çeşitler arasındaki farkın önemli olmadığı ($p > 0.05$) görülmüştür.

Çeşitler arasında istatistiki anlamda bir fark olmamasına rağmen, kontrol ortamından ve 8 saat fotoperiyot şartlarından daha fazla sayıda YDS elde edildiği görülmektedir (Şekil 2 ve Çizelge 2).

Vinterhalter et al. (1997) patates doku kültüründe büyüme ve dallanmanın düzenlenmesinde sukroz ve sitokinin arasında bir ilişkinin olduğunu, ortamda

hormon olmaması durumunda dallanmanın sukroz tarafından regüle edildiğini, % 3 olan sukroz seviyesinin artmasıyla YDS'nin ve uzunluğunun arttığını rapor etmişlerdir. Yousef et al. (1997) BAP+NAA ortamından en yüksek bitki başına YDS elde edildiğini rapor etmişlerdir.

8 saat ışık şartlarının karanlık şartlara göre, hiç bir fitohormon içermeyen ortamın diğer besi ortamlarından daha fazla sayıda YDS vermesi, yukarıda ifade edilen çalışmalarla tezat teşkil etmekte, ancak fitohormon olmazsa dahi sukroz oranının artmasıyla bitki aksamalarının değişeceğini ifade eden Saker et al. (2012)'nin çalışmalarıyla benzerlik arz etmektedir.



Şekil 2. Yan dal sayısı üzerine fotoperiyot x çeşit x ortam interaksiyonunun etkisi

Boğum Sayısı (BS, adet)

BS *in vitro*'da elde edilen bitkilerin çoğaltımında çok önemli olup, çok sayıda eksplant elde edilmesini sağlamaktadır.

Fotoperiyot, çeşitler ve ortamlar arasındaki farklılık ile çeşit x ortam ve fotoperiyot x çeşit x ortam interaksiyonları çok önemli ($p < 0.01$) bulunmuş; fotoperiyot x ortam, çeşit x ortam ve fotoperiyot x çeşit interaksiyonları ise önemli ($p < 0.05$) olarak belirlenmiştir.

Vinterhalter et al. (1997) ortama ilave edilen BA'in boğum sayısını artırdığını, Yousef et al. (1997)

NAA+BAP kombinasyonundan en yüksek boğum sayısının elde edildiğini rapor etmişlerdir. Zaman ve ark. (2001) bitkicik başına en fazla BS'nı yalnızca NAA uygulamasından elde etmişler, bunu tek başına IBA uygulamasının takip ettiğini belirtmişlerdir.

Mevcut çalışmada en fazla BS kontrol ortamında Caspar çeşidinden ve 8 saat fotoperiyot şartlarından elde edilmiş (Çizelge 1); BAP'ın IBA ile birlikte kullanılmasının tek başına ya da NAA ile birlikte kullanımına göre daha fazla sayıda BS verdiği görülmüş (Şekil 3 ve Çizelge 2), bu sonuçların yukarıda bahsedilen çalışmalardan farklılık arz ettiği belirlenmiştir.

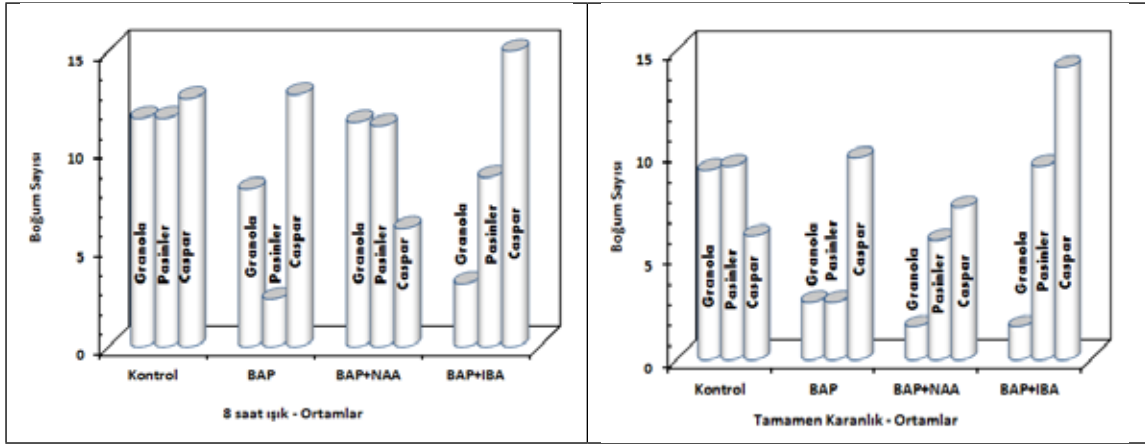
Çizelge 1. Patates çeşitlerinden alınan gözlem ve değerlendirilmeler üzerine fotoperiyot, çeşit ve hormon uygulamalarının etkisi ile ikili interaksyon F değerleri

Uygulamalar	Alınan Gözlemler							
	SU (cm)	YDS (adet)	BS (adet)	YS (adet)	KS (adet)	KU (cm)	BYA (mg)	BKM (%)
8 h ışık	11.78a	4.95a	9.53a	9.52a	11.93a	12.34a	562.27	12.21a
Karanlık	8.14b	2.67b	6.67b	3.65b	6.08b	6.60b	572.53	11.22b
FP F değeri	29.94**	28.48**	34.48**	55.03**	70.54**	72.97**	0.05 ^{ns}	9.28**
Çeşit Ortalamaları								
Pasinler	10.10b	3.83	7.65b	5.75b	9.33a	10.62a	618.33a	12.04ab
Granola	7.20c	3.80	6.18c	5.48b	7.58b	9.66ab	386.13b	10.63b
Caspar	12.58a	3.80	10.48a	8.53a	10.13a	8.13b	697.75a	12.47a
Çeşit F değeri	21.81**	0.002 ^{ns}	26.72**	6.07**	4.67*	4.65*	17.69**	11.57**
Hormon Uygulamaları Ortalamaları								
Kontrol	12.33a	6.23a	10.07a	11.03a	13.83a	14.29a	886.47a	12.49ab
BAP	7.81b	2.37c	6.43c	4.57c	6.00c	4.78c	401.53c	11.69b
BAP+NAA	8.40b	2.77bc	7.23c	2.50c	8.13b	8.58b	383.00c	9.65c
BAP+IBA	11.30a	3.87b	8.67b	8.23b	8.07b	10.22b	598.60b	13.01a
Ortam F değeri	10.88**	16.47**	10.79**	23.06**	23.35**	34.40**	27.72**	20.49**
İnteraksyon F Değerleri								
FP x Çeşit F	7.37**	12.33**	3.87*	4.58*	0.83 ^{ns}	8.89**	0.55 ^{ns}	0.26 ^{ns}
FP x Ortam F	6.14**	12.37**	3.24*	6.42**	17.21**	20.13**	3.93*	0.58 ^{ns}
Çeşit x Ortam F	16.64**	8.15**	18.45**	5.12**	13.18**	17.82**	5.23**	10.13**

FP: Fotoperiyot, SU: Sırgün uzunluğu, YDS: Yan dal sayısı, BS: Boğum sayısı, YS: Yaprak sayısı,

KS: Kök sayısı, KU: Kök uzunluğu, BYA: Bitki yaş ağırlığı, BKM: Bitki kuru madde oranı.

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



Şekil 3. Boğum sayısı üzerine fotoperiyot x çeşit x ortam interaksyonunun etkisi

Yaprak Sayısı (YS, adet)

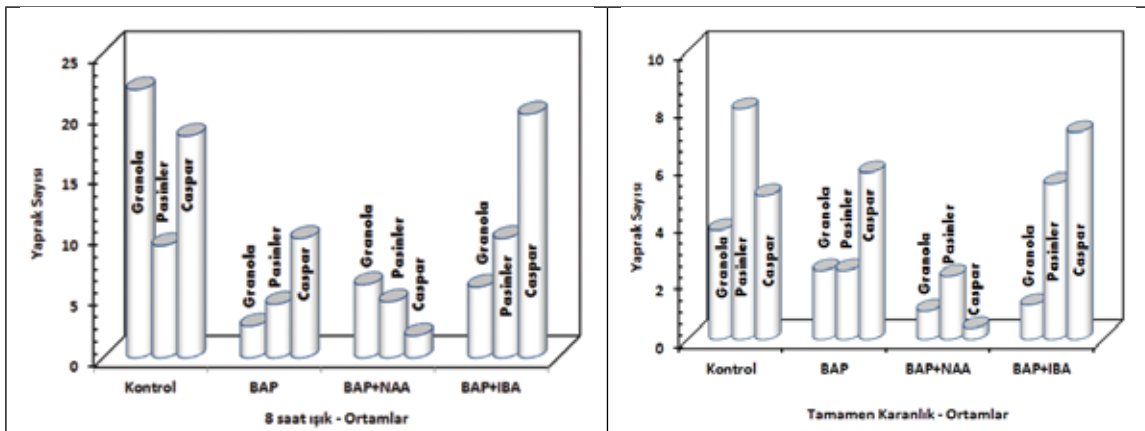
Fotoperiyot, çeşitler ve ortamlar arasındaki farklılık ile çeşit x ortam, fotoperiyot x ortam ve fotoperiyot x çeşit x ortam interaksyonları çok önemli ($p < 0.01$) bulunmuş; fotoperiyot x çeşit interaksyonları ise önemli ($p < 0.05$) olarak belirlenmiştir.

8 saatlik ışık periyodunda hasat döneminde bile yaprakların % 90'ının yeşil kaldığı ve çok az sararma belirtileri gösterdiği gözlenmiştir. Yaprak oluşumunun ve yaprak büyüklüğünün bitkide ve yumruda asimilatların birikimini sağladığı ve yumruda kuru madde oranını artırdığı rapor edilmiştir (Seabrook et al. 2004). 8 saat ışıktan tamamen karanlık şartlara (8 saat ışıktan 2.5 kat daha fazla), Caspar çeşidinden Pasinler

ve Granola çeşitlerine ve kontrol ortamından da diğer ortamlara göre daha yüksek sayıda yaprak elde edildiği görülmektedir (Çizelge 2 ve Şekil 4).

Mevcut çalışmada kontrol ortamından sonra en iyi sonuç BAP+IBA ortamından elde edildiği; bu netice bitkicik başına en fazla YS'nı sadece NAA içeren ortamdan alındığını bildiren Zaman ve ark. (2001)'nin çalışmasından farklılık arzettiği görülmektedir.

Alsadon et al. (2004) hiçbir BBD içermeyen MS ortamında kültüre alınan patates boğum kesimlerinde 2.81-7.91 adet arasında YS elde edildiğini, Haque et al. (2009) ise maksimum yaprak sayısının 1.0 mg L^{-1} BAP konsantrasyonundan elde edildiğini not etmişlerdir.



Şekil 4. Yaprak sayısı üzerine fotoperiyot x çeşit x ortam interaksyonunun etkisi

Çizelge 2. Patates çeşitlerinden alınan gözlemler üzerine fotoperiyot, çeşit ve hormon uygulamalarının üçlü etkilerinin etkileri

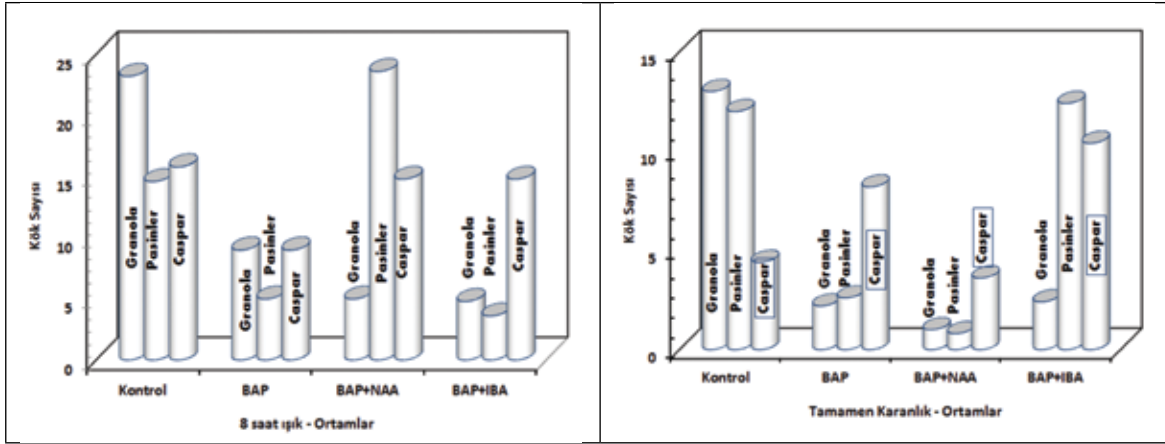
Fotoperiyot	Çeşitler	Ortamlar	SU (cm)	YDS (adet)	BS (adet)	Alınan Gözlemler				BYA (mg)	BKM (%)
						YS (adet)	KS (adet)	KU (cm)	YS (adet)		
Pasinler	Kontrol	Kontrol	15.2	5.8b-d	11.6b-e	9.2bc	14.6bc	10.2e-g	970.6a-c	12.87c-f	
		BAP	3.2	1.8f-h	2.4k	4.4b-h	5.0f-h	4.4h-j	396.6f-i	11.04f-k	
	BAP+NAA	BAP+NAA	13.8	7.0b	11.2b-f	4.6b-h	23.6a	17.8c	529.0d-g	10.20g-l	
		BAP+IBA	9.8	3.6c-g	8.6e-i	9.8b	3.6g-h	17.6c	427.8f-i	15.71ab	
Granola	Kontrol	Kontrol	15.0	16.4a	11.6b-e	22.0a	23.2a	22.9ab	815.2b-d	12.27d-g	
		BAP	10.4	3.0d-h	8.0f-i	2.6d-h	9.0d-f	8.8f-h	287.0g-i	13.56b-e	
	BAP+NAA	BAP+NAA	12.8	3.4c-g	11.4b-e	6.0b-f	5.0f-h	23.2a	325.0g-i	9.40j-l	
		BAP+IBA	4.6	2.8e-h	3.2j-k	5.8b-g	4.8f-h	3.2ij	186.6h-i	8.95k-l	
Caspas	Kontrol	Kontrol	15.6	6.2bc	12.6a-d	18.2a	15.8b	18.5bc	1118.8ab	13.11c-f	
		BAP	15.2	2.8e-h	12.8a-c	9.8b	9.0d-f	4.6h-j	506.4e-g	11.54e-j	
	BAP+NAA	BAP+NAA	7.8	1.6gh	6.0h-j	1.8e-h	14.8bc	6.0gi	380.6f-i	11.79e-i	
		BAP+IBA	18.0	5.0b-e	15.0a	20.0a	14.8bc	10.8d-f	803.6c-e	16.08a	
Karanlık	Kontrol	Kontrol	12.6	5.0b-e	9.4d-g	8.0b-d	12.0b-e	14.9cd	1275.4a	12.29d-g	
		BAP	3.6	1.6g-h	2.8j-k	2.4e-h	2.6h	4.0ij	192.8h-i	10.53g-l	
	BAP+NAA	BAP+NAA	8.2	1.2gh	5.8i-j	2.2e-h	0.8h	0.8j	323.0g-i	8.97k-l	
		BAP+IBA	14.4	4.6b-f	9.4d-g	5.4b-h	12.4b-e	15.2cd	831.4b-d	14.72a-c	
FP x Çeşit x Ortam Interaksiyon F	Kontrol	Kontrol	8.8	2.0f-h	9.2e-h	3.8c-h	13.0b-d	14.0c-e	481.8f-h	9.98h-l	
		BAP	3.0	2.0f-h	2.8jk	2.4e-h	2.2h	2.3ij	538.0d-g	12.22d-h	
	BAP+NAA	BAP+NAA	1.6	0.4h	1.6k	0.2h	1.0h	1.0j	150.6i	8.91k-l	
		BAP+IBA	1.4	0.4h	1.6k	1.2f-h	2.4h	1.9ij	304.8g-i	9.76i-l	
FP x Çeşit x Ortam Interaksiyon F	Kontrol	Kontrol	6.8	2.0f-h	6.0h-j	5.0b-h	4.4f-h	5.1h-j	657.0d-f	14.46a-d	
		BAP	11.5	3.0d-h	9.8c-g	5.8b-g	8.2e-g	4.6h-j	488.4f-h	11.26f-j	
	BAP+NAA	BAP+NAA	6.2	3.0d-h	7.4g-i	0.4g-h	3.6g-h	2.7ij	589.8d-g	8.65l	
		BAP+IBA	19.6	6.8b	14.2ab	7.2b-e	10.4c-e	12.6d-f	1037.4a-c	12.85c-f	
			1.5296 ^{ns}	6.3020 ^{**}	4.2428 ^{**}	3.3049 ^{**}	9.6292 ^{**}	9.5758 ^{**}	3.9617 ^{**}	2.4178 [*]	

SU: Sürgün uzunluğu, YDS: Yan dal sayısı, BS: Boğum sayısı, YS: Yaprak sayısı, KS: Kök sayısı, KU: Kök uzunluğu, BYA: Bitki yaş ağırlığı, BKM: Bitki kuru madde oranı.
 **: %1 seviyesinde önemli, *: %5 seviyesinde önemli, ns: önemli değil.

Kök Sayısı (KS, adet)

Hemen hemen bütün hormon ve ışık ortamlarından saçak köklü bitkiler elde edilmiş, ancak Caspar çeşidinde 8 saat ışık şartlarında NAA içeren ortamda % 40 oranında kazık köklerin meydana geldiği görülmüştür. Fotoperiyot ve ortamlar arasındaki farklılık ile çeşit x ortam, fotoperiyot x ortam ve fotoperiyot x çeşit x ortam etkileşimleri çok önemli ($p < 0.01$), çeşitler arasındaki fark ise önemli ($p < 0.05$) olarak belirlenmiştir. 8 saat ışıktan, tamamen karanlık uygulamasına göre; Caspar'dan Pasinler ve Granola çeşitlerine göre, kontrol

ortamından diğer ortamlara göre daha yüksek KS elde edilmiştir (Çizelge 1 ve Şekil 5). Yapılan çalışmalarda bitki başına ana KS yönünden önemli farklılıklar olduğu, bu farklılığın gelişme döneminin 2. haftasından sonra daha belirgin olarak görüldüğü belirlenmiştir (Nasiruddin ve Blake 1994). NAA ve IBA içeren katı MS ortamında kültüre alınan tek boğum kesimlerinden en iyi köklenmenin IBA ilavesi durumunda meydana geldiği belirlenmiştir (Badawi et al., 1995; Shibli et al., 2002). Elde edilen çalışmalar daha önceki çalışmalarla benzerlik arzietmekte, aradaki farkın çeşit ve fotoperiyot uygulamalarından olabileceği düşünülmektedir.

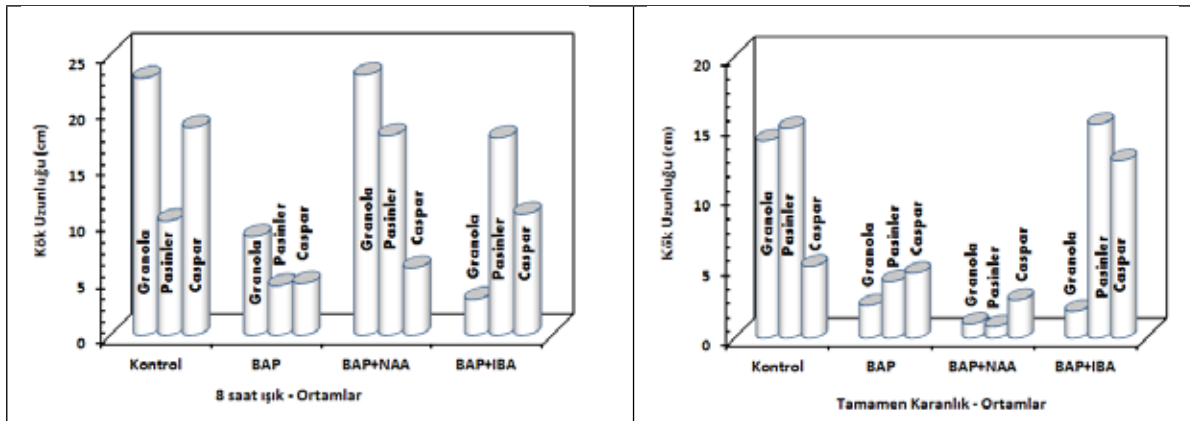


Şekil 5. Kök sayısı üzerine fotoperiyot x çeşit x ortam etkisinin etkisi

Kök Uzunluğu (KU, cm)

Fotoperiyot ve ortamlar arasındaki farklılık ile çeşit x ortam, fotoperiyot x ortam, fotoperiyot x çeşit ve fotoperiyot x çeşit x ortam etkileşimleri çok önemli

($p < 0.01$); buna karşın çeşitler arasındaki fark ise önemli ($p < 0.05$) olarak belirlenmiştir. 8 saat ışıktan, tamamen karanlık uygulamasına göre, Pasinler'den, Granola ve Caspar'a göre, kontrol ortamından diğer BBD'lere göre daha uzun kökler elde edilmiştir (Çizelge 2 ve Şekil 6).



Şekil 6. Kök uzunluğu üzerine fotoperiyot x çeşit x ortam etkisinin etkisi

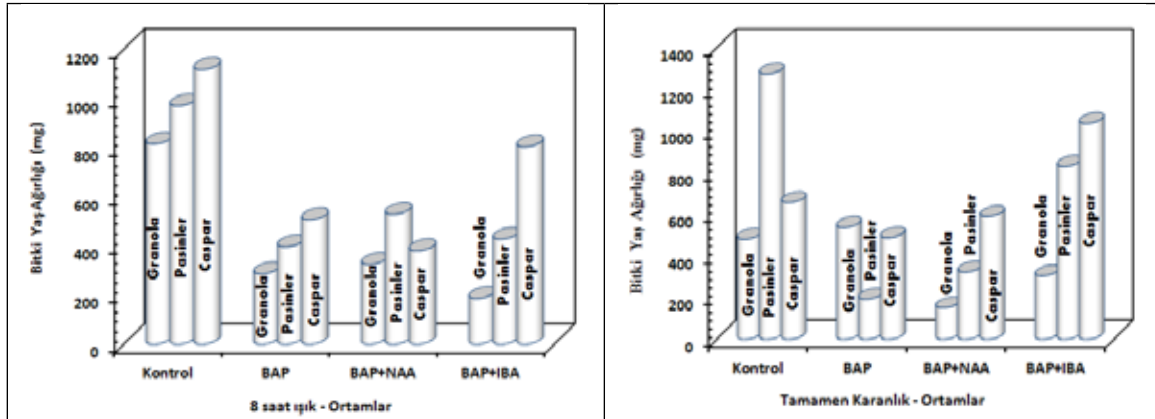
Mevcut sonuçlar; KU ve KS'nda ortamlara göre önemli farklılıkların olabileceğini ve gelişme döneminin 2. haftasından sonra bu farklılığın daha belirgin görülebileceğini belirten Nasiruddin ve Blake (1994)'in sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Araştırma sonucunda; BBD'ler içerisinde BAP+IBA uygulamasının, BAP+NAA ve yalnızca BAP içeren ortamlara göre daha iyi sonuç verdiği görüldüğünden, yalnızca 5 µM BAP içeren ortamdan en uzun KU'nun elde edildiğini belirten Rafique et al. (2004)'nin çalışmasından farklılık göstermektedir.

Bitki Yaş Ağırlığı (BYA, mg)

Çeşitler ve ortamlar arasındaki farklılık ile çeşit x ortam ve fotoperiyot x çeşit x ortam etkileşimleri

çok önemli ($p<0.01$) bulunurken; fotoperiyot x ortam etkileşimi önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Fotoperiyot uygulamaları ve fotoperiyot çeşit etkileşimi arasındaki fark ise önemsiz ($p>0.05$) olarak belirlenmiştir.

Tamamen karanlıktan, 8 saat ışığa göre, Caspar'dan, Pasinler ve Granola çeşitlerine kontrol ortamından diğer besin ortamlarına göre daha fazla BYA elde edilmiştir (Çizelge 2 ve Şekil 7). Romanov et al. (2000) fitohormonların düşük sukroz konsantrasyonlarının (%3) BYA'nı önemli ölçüde artırdığını, yüksek oranların ise önemli ölçüde düşürdüğünü belirtmesine rağmen; yüksek sukroz konsantrasyonu ile yapılan bu çalışmada kontrol ortamından yüksek miktarda BYA elde edildiği görülmektedir.



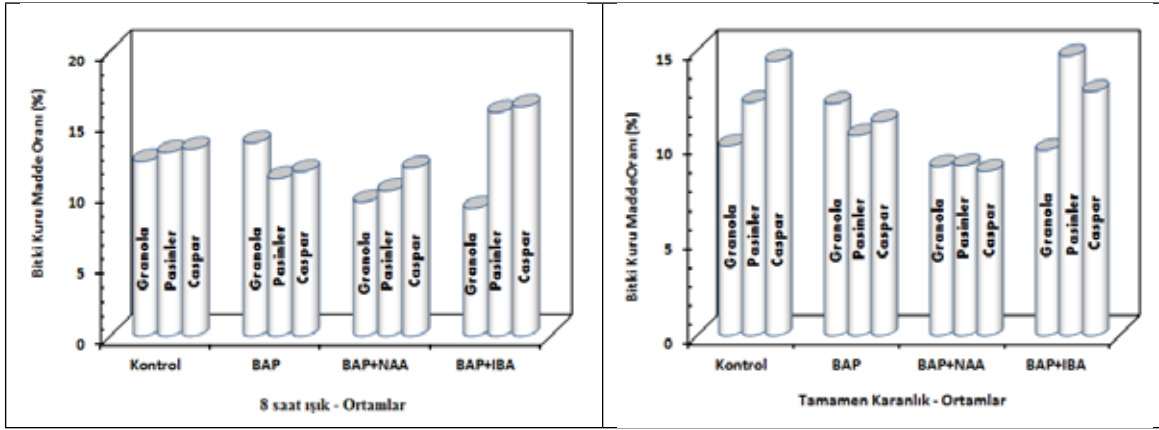
Şekil 7. Bitki yaş ağırlığı üzerine fotoperiyot x çeşit x ortam etkileşiminin etkisi

Bitki Kuru Madde (BKM) Oranı (%)

Fotoperiyot, çeşitler ve ortamlar arasındaki fark ile çeşit x ortam etkileşimleri çok önemli ($p<0.01$) bulunurken, fotoperiyot x çeşit x ortam etkileşimi önemli bulunmuş ($p<0.05$); fotoperiyot x ortam ve fotoperiyot x çeşit etkileşimleri ise önemsiz ($p>0.05$) olarak belirlenmiştir. 8 saat ışık uygulamasının, tamamen karanlık uygulamasına göre,

Caspar çeşidinin Pasinler ve Granola çeşitlerine göre, BAP+IBA ortamının diğer besin ortamlarına göre daha yüksek BKM oranı verdiği kaydedilmiştir (Çizelge 2 ve Şekil 8).

Sonuçlardan; ortama ilave edilen BAP+IBA'nın BKM oranını artırdığı görülmüş, ancak bu kombinasyonun BKM oranını artırmadaki etkisini destekleyecek herhangi bir çalışma bulunmamıştır.



Şekil 8. Bitki KM oranı üzerine fotoperiyot x çeşit x ortam etkisinin etkisi

SONUÇ

Tamamen karanlık şartlarla mukayese edildiğinde, bütün çeşitlerde 8 saatlik fotoperiyodun incelenen birçok karakter açısından büyük bir üstünlüğü olduğu görülmektedir. 8 saatlik ışık şartlarında yaprak sararmasının gecikmesi ve daha fazla kök gelişimi yapraklarda fotosentetik aktivitenin ve oksin sentezinin devam ettiğinin bir göstergesi olabileceği belirtilmiştir (Markarov et al., 1993; Dobranszki, 1999). Daha sonra yapılacak çalışmalarda kısa gün şartlarındaki ışık şiddetinin düzenlenmesi ile daha detaylı çalışmaların yapılması ve pratiğe aktarılacak sonuçların alınabilmesi mümkündür. Genotipin *in vitro* şartlarda bitki ve mikro yumru elde edilmesini etkileyen en önemli faktörlerden olduğu (Gopal et al., 1998; Hossain, 2005), erkenci çeşitlerin geçcilere göre daha erken sürgün gelişimine ve bitki büyüme düzenleyicisi olmazsa dahi bazı bitkilerde bitki gelişiminin görülebileceği (Romanov et al., 2000) belirlenmiştir. Çeşitler bazında incelendiğinde Caspar çeşidinin incelenen birçok karakter yönünden *in vitro* tepkisinin daha iyi olduğu; buna karşın Pasinler ve Granola çeşidinin doku kültürü ortamlarına tepkisinin daha yavaş olduğu görülmektedir.

Doku kültürü ortamlarında herhangi bir büyüme düzenleyici olmazsa dahi kolaylıkla yeni bitkiciklerin meydana gelebileceği (Ahmad et al., 2012; Saker et al., 2012), ancak gelişimin yavaş ve boğum aralarının kısa olduğu durumlarda ortama hormon ilave edilmesinin bitkicik gelişimini hızlandıracağını (Farhatullah and Sayeed, 2007; Yasmin et al., 2011) belirtmişlerdir. İncelenen birçok karakter yönünden hiçbir fitohormon içermeyen kontrol ortamının hormon ilavesi yapılan diğer ortamlara göre daha olumlu sonuç vermiş, bunun

artan sukroz konsantrasyonundan kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Saker et al., 2012). Hoque et al., (1996) patates doku kültüründe en önemli faktörlerden birisinin sukroz olduğunu; artan sukroz seviyesi ile sürgün gelişiminin arttığını, düşük sukroz seviyelerinde ise sürgün gelişim hızının daha yavaş olduğunu göstermiştir. Kullanılan kombinasyonlar içerisinde BAP+IBA uygulamasının incelenen karakterler yönünden olumlu olduğu, homojen ve düzgün şekilli bitkilerin alınmasına katkıda bulunduğu, buna karşın tek başına uygulanan BAP uygulamasının bitki özelliklerine katkıda bulunmada yetersiz kaldığı açıkça görülmektedir. Buradan da besi ortamına yalnızca oksin ya da sitokinin ilavesinin tek başına etkili olamadığı aşıkardır. Bu nedenle optimum bir bitki gelişimi için, oksin ve sitokininler dengeli bir şekilde aynı anda kullanılmalı, ya da bitki gelişiminin farklı safhalarında değişik fitohormonlar kullanarak bitki büyüme düzenleyicilerinin bitki karakteristiklerini kontrol etmeleri sağlanmalıdır. Bu durumda fitohormonlar başlangıçta bitkilerin erken gelişimini sağlayacak ve daha sonraki aşamalarda ise bitkideki değişik fizyolojik olayların dengeli bir şekilde korunmasında etkili olabilecektir.

Oksin ve sitokinin miktarını optimize etmek ve bunları değişen sukroz konsantrasyonları ile dengelemek için yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır. Elde edilen bu sonuçların boğum kesimlerinden alındığı dikkate alındığında, daha sonraki çalışmalarda farklı bitki aksamalarının (stolon, sap parçası ya da mikro yumru) yeni besi ortamlarında denenmesi, tepkilerinin kontrol edilmesi ve olumlu sonuç veren BAP+IBA uygulamasında her iki hormonun farklı konsantrasyonları denenerek yeni araştırmalar yapılması yararlı olacaktır. Melezleme çalışmalarından

elde edilen çeşit adayı hatların ve yeni ticari çeşitlerin *in vitro* şartlara tepkilerinin test edilmesi ve tohumluk üretim programlarında bu sonuçların kullanılması ile tohumluk endüstrisine yeni açılımların kazandırılması mümkün olabilecektir. Ayrıca, *in vitro* çalışmalardan elde edilen bu sonuçlar, ıslah çalışmalarından elde edilen (*in vivo*) bitki morfolojik gözlemleriyle mukayese edilmeli, aradaki korelasyon belirlenmeli ve *in vitro*'dan elde edilen 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.

KAYNAKLAR

- Ahmad, M.Z., Hussain, I., Roomi, S., Zia, M.A., Zaman, M.S., Abbas, Z., Shah, S.H., 2012. *In vitro* response of cytokinin and auxin to multiple shoot regeneration in *Solanum tuberosum* L. American-Euroasian J. Agric. & Environ. Sci., 12 (11): 1522-1526.
- Akhtar, N., Munawwar, M. H., Hussain, M., Mahmood, M., 2006. Sterile shoot production and direct regeneration from nodal explants of potato cultivars. Asian Journal of Plant Sciences, 5 (5): 885-889.
- Ali, M. A., Nasiruddin, K. M., Haque, M. S., Al-Mansur, M. A. Z., 2007. *In vitro* regeneration potentiality of six potato varieties from leaf and internode segments initiated calli with BAP. Bangladesh J. Crop Sci., 18 (1): 33-40.
- Alsadon, A. A., Al-Mohaidib, M., Rahman M. H., Islam, R., 2004. Evaluation of *in vitro* vegetative growth traits of eight cultivars of (*Solanum tuberosum* L.) potato. Bangladesh J. Genet. Biotechnol., 5 (1&2): 61-63.
- Badawi, M. A., El-Sayed, S. F., Edriss, N. H., El-Barkouki, T. M., 1995. Factors affecting production of potato plantlets from nodal cuttings. Egyptian J of Horticulture, 22:2, 117-125.
- Bhatia, A. K., Batra, V. K., Sakha, B. M., Chaudhary, V. K., Batra P., Arora, S. K., 2007. Efficient protocol for *in vitro* micropropagation in elite cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.). Haryana J. Hort. Sci., 36: (3&4): 424-426.
- Belletti, P., Lanteri, S., Lotito, S., Saracco, F., 1994. Production of potato micro-tubers through *in vitro* culture. Acta Horticulturae, 362:141-148.
- Dhital, S. P., Lim, H. T., Manandhar, H. K., 2010. Direct and efficient plant regeneration from different explant sources of potato cultivars as influenced by plant growth regulators. Nepal Journal of Science and Technology, 12: 1-6.
- Dobranszki, J., Tabori, K. M., Frenczy, A., 1999. Light and genotype effects on *in vitro* tuberization of potato plantlets. Potato Research, 42 (3-4): 483-488.
- Farhatullah, Z. A., Sayeed, J. A., 2007. *In vitro* effects of gibberellic acid on morphogenesis of potato explants. International Journal of Agriculture & Biology, 9 (1): 181-182.
- Ghaffoor, A., Shah, G. B., Waseem, K., 2003. *In vitro* response of potato (*Solanum tuberosum* L.) to various growth regulators. Biotechnology, 2 (3): 191-197.
- Gopal, J., Minocha, J. L., Gosal, S. S., 1998. Variability in response of potato genotypes to *in vitro* propagation. J Ind Potato Assoc, 25: 119-124.
- Haque, A. U., Samad, M. A., Shapla, T. L., 2009. *In vitro* callus initiation and regeneration of potato. Bangladesh J. Agril. Res. 34 (3): 449-456.
- Hoque, M. I., Mila, N. B., Khan, M. S., Sarker, R. H., 1996. Shoot regeneration and *in vitro* microtuber formation in potato (*Solanum tuberosum* L.). Bangladesh J Botany, 25:87-93.
- Karadoğan, T. 1994. Patateste doku kültürünün kullanım alanları ve uygulanması. Atatürk Ü. Zir. Fak. Der., 25: (2): 275-290.
- 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.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- Nasiruddin, K. M., Blake, J., 1994. Production of potato microtubers with and without growth regulators. In: Physiology, Growth and Development of Plants in Culture (Eds. P. J. Lumsden, J. R. Nicholas and W. J. Davies). pp.254-260.
- Özkaynak, E. ve Samancı B. 2005. Patateste mikro yumru ve mini yumru üretimi, kullanımı, avantaj ve dezavantajları. Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi, 5-9 Eylül 2005, Antalya, Türkiye, 1: 581-584.
- Pruski, K., 2007. The canon of potato science: *in vitro* multiplication through nodal cuttings. Potato Res., 50: 293-296.
- Rafique, T., Jaskani, M. J., Raza, H., Abbas, M., 2004. *In vitro* studies on microtuber induction in potato. Int J. Agri. Biol., 6 (2): 375-377.
- Romanov, G. A., Aksenova, N. P., Konstantinova, T. N., Golyanovskaya, S. A., Kossman, J., Willmitzer, L., 2000. Effect of indole-3-acetic acid and kinetin on tuberisation parameters of different cultivars and transgenic lines of potato *in vitro*. Plant Growth Regulation, 32: 245-251.
- Saker, M.M., Moussa, T.A.A., Heikal, N.Z., AboEllil, A. H. A., Abdel-Rahman, R. M. H., 2012. Selection of an efficient *in vitro* micropropagation and regeneration system for potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Desiree. African Journal of Biotechnology, 11 (98): 16388-16404.

- Seabrook, J. E. A., Douglass, K and Arnold, D. A. 2004. Effect of leaves on microtubers produced from potato single-node cuttings *in vitro*. Amer J of Potato Res 81: 1-5.
- Shibli, R. A., Abu-Ein, A. M., Ajlouni, M. M., 2002. *In vitro* and *in vivo* multiplication of virus-free Spunta potato clone. Pakistan J. of Agric. Res., 17 (1): 71-75.
- Uddin, N. S., 2006. *In vitro* propagation of elite indigenous potato (*Solanum tuberosum* L. var. Indurkani) of Bangladesh. Journal of Plant Sciences, 1 (3): 212-216.
- Vinterhalter, D., Vinterhalter, B., Calovic, M., Jevtic, S., 1997. The relationship between sucrose and cytokinins in the regulation of growth and branching in potato cv. Desiree shoot cultures. Proc. 1st Balkan Symp. Vegetables and Potatoes (Eds. S. Jevtic and B. Lasic). ActaHorticulturae, 462: 319-323.
- Yasmin, A., Jalbani, A. A., Raza, S., 2011. Effect of growth regulators on meristem tip culture of local potato cvs Desiree and Patrones. Pak. J. Agri., Agril. Eng. Vet. Sci., 27 (2): 143-149.
- Yousef, A. A. R., Suwwan, M. A., Al-Musa, A. M., Abu-Qaoud, H. A., 1997. *In vitro* culture and microtuberization of 'Spunta' potato (*Solanum tuberosum* L.). Dirasat. Agricultural Sciences, 24 (2): 173-181.
- Zaman, M. S., Quaraisi, A., Hassan, G., Din, R. U., Ali, S., Kabir, A., Gul, N., 2001. Meristem culture of potato (*Solanum tuberosum* L.) for production of virus-free plantlets. J Biol Sci., 1: 898-899.
- Zhang, Z., Zhou, W., Li, Huizhen. 2005. The role of GA, IAA and BAP in the regulation of *in vitro* shoot growth and microtuberization in potato.