

**PATATESTE (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) *IN VITRO*  
MİKROTUBERİZASYON ÜZERİNE JASMONİK ASİT-  
GİBERELLİK ASİT ETKİLEŞİMİNİN ARAŞTIRILMASI**

**INVESTIGATION OF JASMONIC ACID-GIBBERELIC  
ACID INTERACTION ON *IN VITRO*  
MICROTUBERIZATION OF POTATO (*SOLANUM  
TUBEROSUM* L.)**

**SERAY KENAR**

**Prof. Dr. RUKİYE TIPIRDAMAZ**

**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim- Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2013

**SERAY KENAR**'ın hazırladığı "**Patateste (*Solanum tuberosum* L.) in vitro Mikrotuberizasyon Üzerine Jasmonik Asit-Giberellik Asit Etkileşiminin Araştırılması**" adlı çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

(Prof. Dr. Şebnem ELLİALTIOĞLU)

Danışman

(Prof. Dr. RUKİYE TIPIRDAMAZ)

Üye

(Prof. Dr. Hüsnü ÇAKIRLAR)

Üye

(Doç. Dr. Füsun EYİDOĞAN)

Üye

(Yrd. Doç. Dr. Cahit DOĞAN)

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

29 / 05 /2013

SERAY KENAR

## ÖZET

### **PATATESTE (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) *IN VITRO* MİKROTUBERİZASYON ÜZERİNE JASMONİK ASİT-GİBERELLİK ASİT ETKİLEŞİMİNİN ARAŞTIRILMASI**

**SERAY KENAR**

**Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. RUKİYE TIPIRDAMAZ**

**Mayıs 2013, 62 sayfa**

Günümüzde ticari patates üretimi, büyük ölçüde tohumluk yumru kullanılarak vejetatif yolla yapılmaktadır. Patateste tuber oluşumu ve gelişimini belirleyen fizyolojik mekanizmalar ve hormonal ilişkiler tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada, ekonomik değeri olan *Solanum tuberosum* L. cv. Marfona'da *in vitro* mikrotuber oluşumu üzerinde eksplant dikim şekli (yatay veya dikey), ortam tipi (katı veya çift fazlı), fotoperiyot (kısa gün veya karanlık) ve ortama ilave edilen agar (%0.5 veya %0.7), JA (0.0, 10 ng/l, 1 µg/l ve 0.2 mg/l), GA<sub>3</sub> (0.0 ve 0.2 mg/l) ve AC (0 ve %0.2)'nin etkisi ve birbiriyle olan ilişkisi araştırılmıştır. Çalışma, *S. tuberosum* tuberlerinin *in vivo* sürgün vermesi, *in vitro* sürgün ucu kültürü, mikroçoğaltım ve mikrotuberizasyon olarak 4 ana aşamada gerçekleştirilmiştir. JA, GA<sub>3</sub> ve ortam tipinin mikrotuberizasyona etkilerinin araştırıldığı deneylerde; tek nod eksplantlarından en iyi mikrotuber oluşumu, kısa gün fotoperiyodunda (8 sa ışık/16 sa karanlık) 0.2 mg/l JA içeren ve GA<sub>3</sub> içermeyen çift fazlı MS ortamında gerçekleşmiştir. AC, JA, agar ve fotoperiyodun mikrotuberizasyona etkilerinin araştırıldığı deneylerde; en yüksek mikrotuber verimi (%137) ve en yüksek ortalama mikrotuber

ağırlığı (183 mg), %0,2 AC, %0,5 agar içeren çift fazlı MS ortamında ve karanlıkta elde edilmiştir. Sonuç olarak mikrotuber oluşumu üzerinde, JA'ın etkisini GA<sub>3</sub>'e antagonistik çalışarak gösterdiği, AC'nin karanlıkta daha etkili olduğu ve JA ile ışık arasında pozitif bir ilişki olabileceği düşünülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Patates (*Solanum tuberosum* L.), *in vitro* Mikrotuberizasyon, ift fazlı ortam, Jasmonik Asit, GA<sub>3</sub>, Aktif Kömür.

## **ABSTRACT**

### **INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SOME FACTORS ON *IN VITRO* MICROTUBERIZATION OF POTATO (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)**

**SERAY KENAR**

**Master of Science, Department of Biology**

**Supervisor: Prof. Dr. RUKİYE TIPIRDAMAZ**

**May 2013, 62 pages**

Today, commercial potato production is mostly made in vegetatif way by using seed tubers (microtuber). The physiological mechanism and hormonal relations which determine the tuber growth and formation of potato is not clearly defined. In this study, the effect of explant planting type (horizontal or vertical), medium type (solid or two-phase), photoperiod (short day or darkness) and the addition of agar (%0.5 or %0.7), JA (0.0, 10 ng/l, 1 µg/l and 0.2 mg/l), GA<sub>3</sub> (0.0 and 0.2 mg/l) and AC (0 and %0.2) and the relationship of eachother was investigated on *in vitro* microtuberization in *Solanum tuberosum* L. cv. Marfona. Study has actualized as 4 main steps; shoot formation of the tubers of *S. tuberosum*, *in vitro* shoot-tip culture, micropropagation and microtuberization. At the experiments which are investigated the effects of JA, GA<sub>3</sub> and medium type on microtuberization, best microtuber formation at the short day photoperiod (8 h light/16 h darkness) from single-node cultures, has been found at the two-phase MS medium which contains 0.2 mg/l JA and does not contain GA<sub>3</sub>. At the

experiments which is investigated the effects of AC, JA, agar and photoperiod on microtuberization, the highest microtuber yield (%137) and the highest microtuber average (183 mg) have obtained at the two-phase MS medium which contains 0,2 AC, %0,5 agar, and at darkness. Consequently it has been considered that JA shows its effect by working antagonistly to GA<sub>3</sub> on the tuber formation, AC is more effective in the dark and there may be a positive relationship between JA and light.

**Keywords:** Potato (*Solanum tuberosum* L.), *in vitro* Microtuberization, two-phase medium, Jasmonic Acid, GA<sub>3</sub>, Activated Charcoal.

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek manevi olarak da büyük destek veren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Rukiye TIPIRDAMAZ'a en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında bilgi ve önerileriyle büyük katkıda bulunan Sayın Prof. Dr. Şebnem ELLİALTIOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Deneylerde kullandığım laboratuvar malzemelerinin sterilizasyonunda her zaman yardımcı olan Teknisyen Vedat MUTLU'ya çok teşekkür ederim.

Laboratuvarda yapılan çalışmalar süresince bana yardım eden arkadaşım Oğuzhan YAŞARKAN'a çok teşekkür ederim.

Çalışmamın istatistiksel analiz aşamasında bana çok yardımcı olan sevgili arkadaşım Erkay ÖZGÖR'e teşekkürü bir borç bilirim.

Her karşılaştığımızda güler yüzünü ve moral desteğini eksik etmeyen arkadaşlarım Özgecan ERDEM'e, Kübra ERKAN'a, Muhammed Hasan AKYIL'a ve oda arkadaşım Gülnur TAŞDEMİR'e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince beni motive eden, ihtiyaç duyduğumda her an yardımına koşan canım arkadaşlarım Gözde KOŞARSOY'a, Gökhan Oğuz AĞÇELİ'ye, Hamideh HAMMAMCHİ'ye ve Ali Rıza ACAR'a çok teşekkür ederim.

Her zaman enerjimi yüksek tutmaya çalışan ve çeviriler konusunda bana yardım eden kardeşim İrem KENAR'a çok teşekkür ederim.

Maddi ve manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, hayatım boyunca her zaman yaptıklarımı destekleyen ve beni bugünlere getiren annem Saliha KENAR'a ve babam Süleyman KENAR'a sonsuz teşekkür ederim.

SERAY KENAR

Ankara, Mayıs 2013



# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal.....	14
3.2. Yöntem.....	14
3.2.1. Tuberlerden sürgün elde edilmesi.....	17
3.2.2. Sürgün ucu kültürlerinin kurulması.....	17
3.2.3. Mikroçoğaltım aşaması.....	17
3.2.4. Mikrotuberizasyon aşaması.....	18
3.2.5. Dış koşullara alıştırma.....	23
3.2.6. Deneysel verilerin değerlendirilmesi.....	23
4. BULGULAR.....	25
4.1. Eksplant dikim şekli, ortam tipi ve ortam bileşiminin mikrotuber oluşumu üzerine etkileri (1. Mikrotuberizasyon Denemelerinin Sonuçları).....	27
4.2. Farklı AC, JA, agar kombinasyonları ve fotoperiyodun mikrotuber oluşumu üzerine etkileri (2. Mikrotuberizasyon Denemelerinin Sonuçları).....	32
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	39
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	61

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

g	Gram
L,l	Litre
mg	Miligram
µg	Mikrogram
ng	Nanogram
M	Molar
µM	Mikromolar
µmol	Mikro mol
°C	Santigrat derece

### Kısaltmalar

JA	Jasmonik Asit
Me-JA	Metil jasmonat
GA <sub>3</sub>	Giberellik Asit
AC	Aktif Kömür
KIN	Kinetin
BAP	6-benzilaminopürin
NAA	naftalenasetik asit
CCC	2-kloroetil trimetilamonyum klorid
ABA	Absisik Asit

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 3.1. Tek-nod eksplantların ortamlara dikim şekilleri.....	19
Şekil 3.2. Mikrotuberizasyon aşamasındaki deneylerin akış şeması.....	22
Şekil 3.3. Deneyin çeşitli aşamalarından görüntüler.....	23
Şekil 4.1. Tuberler üzerinde oluşan a)1-2 haftalık sürgün, b) 3-4 haftalık sürgün.....	25
Şekil 4.2. Sürgün ucu kültüründen elde edilen bitkiler a) 3-4 haftalık, b) 6 haftalık.....	26
Şekil 4.3. Ortam bileşimi ve eksplant dikim şeklinin mikrotuber verimi (elde edilen tuber sayısı/toplam eksplant sayısı) ile ilişkisi.....	29
Şekil 4.4. Ortam bileşimi ve eksplant dikim şeklinin mikrotuber ağırlığı (mg) ile ilişkisi.....	30
Şekil 4.5. a) Ortam dikim şekillerinin mikrotuber verimine etkisini gösteren grafik, b) ortam dikim şekillerinin ortalama mikrotuber ağırlıklarına etkisini gösteren grafik.....	31
Şekil 4.6. a) AOC (Çift fazlı – 0,2mg/l JA) ortamında mikrotuberler, b) KC (Çift fazlı – Kontrol) ortam grubundan elde edilen mikrotuberler, c) BOC (Çift fazlı - 1µg/l JA) ortamında mikrotuberler.....	32
Şekil 4.7.. Ortam bileşimi ve fotoperiyodun mikrotuber verimi (elde edilen tuber sayısı/eksplant sayısı) ile ilişkisi.....	34
Şekil 4.8. Ortam bileşimi ve fotoperiyodun mikrotuber ağırlığı (mg) ile ilişkisi.....	35
Şekil 4.9. FY (Karanlık - %0,2 AC+ %0,5 Agar) ortamında mikrotuberler.....	36
Şekil 4.10. a) Fotoperiyodun mikrotuber verimine etkisi, b) fotoperiyodun ortalama mikrotuber ağırlıklarına olan etkisi.....	37
Şekil 4.11. Saksılara dikilen mikrotuberlerden bitki eldesi (3-4 haftalık bitkiler).....	38

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1. Murashige ve Skoog (1962) (MS) besin ortamı bileşimi...	15
Çizelge 3.2. Deneyin farklı aşamalarında kullanılan DMS ortamlarının bileşimindeki maddeler.....	16
Çizelge 3.3. Mikrotuberizasyon aşamasının ilk deney grubunda kullanılan DMS ortamlarının JA-GA <sub>3</sub> kombinasyonları.....	16
Çizelge 3.4. Mikrotuberizasyon aşamasının ilk deney grubunda kullanılan DMS ortamlarının adlandırmaları.....	16
Çizelge 3.5. Mikrotuberizasyon aşamasının ikinci deney grubunda kullanılan DMS ortamlarının JA-AC-Agar kombinasyonları ve inkübe edildikleri fotoperiyotlar.....	21
Çizelge 4.1. Ortam bileşimi ve bitki dikim şeklinin mikrotuber oluşumu üzerine olan etkisi ile ilgili veriler.....	28
Çizelge 4.2. Ortam içeriği ve fotoperiyodun mikrotuber oluşumuna ve ağırlığına olan etkisi ile ilgili veriler.....	33

# 1. GİRİŞ

Patates (*Solanum tuberosum* L.), dünya nüfusunun beslenmesinde temel gıda kaynakları arasında pirinç, buğday ve mısırdan sonra 4. sırada yer alan önemli bir gıda ve sanayi bitkisidir [1-2]. Solanaceae familyasına ait olduğu bilinen patates bitkisinin, Güney Amerika'da Peru civarındaki dağlık arazilerde doğal olarak yetiştiği ve buradan dünyaya yayıldığı bilinmektedir.

İspanyolların Amerika kıtasında patates bitkisini keşiflerinden önce Amerikadaki yerliler patatesi 2000 yıldır yetiştiriyorlardı. 16.yy'ın sonlarında patates Avrupa'ya götürülmüş ve Avrupa ülkelerinde kısa sürede popüler hale gelmiştir. Sömürgeleştirme sırasında Avrupa'dan diğer kıtalara yayılmıştır.

Günümüzde, dünya ülkelerinin %79'unda yetiştirilen patatesin [3] ekim alanı dünyada toplam 19 milyon hektar ve toplam üretimi ise 308 milyon ton'dur. Türkiye'de ise patates 200.000 hektarlık bir alanda ekilmekte ve yaklaşık 5 milyon ton'luk bir üretim ile dünyada 13. sırada yer almaktadır [4]. Ülkemizde bu üretimin %60'ı doğrudan gıda olarak tüketilmekte, %20'si tohumluk tuberler olarak ayrılmakta ve %1'i de ihraç edilmektedir. Geriye kalan yaklaşık %20'lik kısım ise elverişsiz ve yetersiz depolama imkanları yüzünden kaybedilmektedir.

Patates Türkiye'ye 200 yıl önce Kafkasya'dan getirilmiş ve giderek artan üretimle birlikte ana gıda kaynaklarımızdan birine dönüşmüştür. Günümüzde, patates Türkiye'nin her bölgesinde yetiştirilmektedir. En yüksek verim ise İç Anadolu bölgesindedir ve özellikle Niğde-Nevşehir-Sivas civarından bütün üretimin %50'si karşılanmaktadır.

Patates, bünyesindeki karbonhidrat, protein, mineral maddeler ve vitaminleriyle insan beslenmesinde, özellikle bazı ülkeler için vazgeçilmez bir gıda haline gelmiştir. 100 gram patates yetişkin bir insanın, minimum enerji ihtiyacının %3'ünü, günlük protein ve B<sub>1</sub> vitamini ihtiyacının %10'unu ve eğer patates yeni hasat edilmişse

günlük C vitamini ihtiyacının %50'sini karşılayabilmektedir. Bu bakımdan vitamin kaynağı olarak meyvelerden hemen sonra gelmektedir [5-7]. Ortalama olarak 100 gr pişmemiş patates yumrusunda (tuber) 80 kilokalorilik bir enerji değeri mevcuttur. B ve C vitaminlerine ek olarak, patates demir, magnezyum ve fosfor gibi mineralleri de içermektedir. Bu nedenlerle, patates insan diyeti için değerli bir gıda kaynağı olarak sayılmaktadır. Esas olarak haşlanarak veya kızartılarak taze tüketildiği gibi, gelişmiş ülkelerde; sanayide konserve, dondurulmuş parmak patates, cips, püre, granül ve toz gibi formlarda işlenmekte ve pazarlanmaktadır. Ayrıca yan ürün olarak hayvan yemi, nişasta, un ve alkol yapımında da değerlendirilmektedir.

Yetiştirilen patates bitkisinin yenilebilir kısmı olan patates tuberleri, toprak altında yanal (lateral) olarak gelişmiş bir stolon, bir gövde uzantısı olarak görülebilir. Patates bitkisinin tuberleri hariç, yaprak, çiçek, gövde gibi kısımları, fazla miktarda glikoalkaloid (solanin, kakonin, solamarjin gibi) içerdiğinden zehirlidir ve yenmemesi gerekir, dolayısıyla sürgünleri uzamış olan patatesler içeriğindeki glikoalkaloid miktarının artmış olmasından dolayı tercih edilmemelidir [8-12].

Ülkemizde birçok patates çeşidi yetiştirilmektedir. Bunlardan biri olan Marfona çeşidi, patates üreticileri tarafından en çok tercih edilen çeşitlerden biridir. Bunun nedenleri olarak; olgunlaşma süresinin çok uzun olmaması, tuber şeklinin iri olması, veriminin oldukça yüksek olması, yeşil aksam gelişiminin hızlı olması, susuzluğa ve birçok patates hastalığına karşı dayanıklı olması, ayrıca amino asit içeriğinin birçok patates çeşidine göre çok üst seviyelerde olması gösterilmektedir [13].

Patates ılıman ve serin iklim bitkisidir. Patates yetiştirme mevsimi boyunca ortalama 15-20 °C bir sıcaklık ister. Ancak bu ortalama sıcaklık üzerinde gün uzunluğu ve ışık yoğunluğu etkilidir. Geleneksel patates yetiştiriciliğinde; dikim, İzmir, Adapazarı gibi ılıman yörelerde Ocak-Mart, Niğde ve Nevşehir'de Nisan-Mayıs aylarında yapıldığı halde, yüksek yaylalarda son donlardan kaçınmak amacıyla daha geç

yapılmaktadır. Kural olarak, toprak sıcaklığı 8 °C'nin üzerine çıktığında dikim yapılmalıdır. Patates tuberi dikiminden, belirli bir süre (yaklaşık 1.5 ay) sonra tarla yüzeyinde, genç bitkiyi meydana getirmektedir. Patates bitkisinin daha iyi ve hızlı gelişmesini sağlamak, tuber oluşumunu ve verimi artırabilmek için bazı bakım işlemlerinin (boğaz doldurma, yabancı ot kontrolü, üst gübreleme, sulama, hastalık ve zararlılar ile mücadele) zamanında ve tekniğine uygun olarak yapılması gerekmektedir. Patateste hasat zamanı, dikimden yaklaşık 3-4 ay sonra, genellikle bitkinin yaprak ve saplarının kahverengileşip kuruduğu, stolonların ana bitkiden ayrıldığı, uygun tuber iriliğine ulaşıldığı ve tuber kabuğunun sertleştiği zamandır. Patates, fazla miktarda su içeren bir ürün olduğundan iyi bir şekilde depolanmazsa çok zarara uğrar. Tuberler çürür, pörsür, filiz verir ve değerini kaybeder. Tuberler en iyi şekilde; olgun, zedelenmemiş ve temiz olarak 3-4 °C sıcaklık, %85-90 nisbi nemde ve solunum sonucu meydana gelen karbondioksit, su ve ısıyı uzaklaştırıp oksijen sağlamak için havalandırması iyi olan özel koruma depolarında saklanabilmektedir [3].

Patates, hem vejetatif hem de generatif olarak çoğaltılabilen bir bitkidir. Günümüzde ticari patates üretimi, büyük ölçüde tohumluk tuber kullanılarak vejetatif yolla yapılmaktadır. Patates, geleneksel yöntemlerle tuberleri ile vejetatif olarak çoğaltıldığında ana bitkideki virüsler kolaylıkla gelecek nesillere aktarılmakta ve patates üretiminde büyük zararlara yol açmaktadır. Bu nedenle sağlıklı (hastaliksız), temiz ve istenilen tipte patates tohumluğunun elde edilmesi büyük önem taşımaktadır [14-15].

Patates tarımının en önemli girdisi olan tohumluk, ait olduğu çeşidin özelliklerini taşımalı, dikim anında uygun fizyolojide bulunmalı, hastalıklar ve zararlılardan ari olmalıdır. Özellikle virüs hastalıkları ile bulaşık bir bitkinin tuberleri tohumluk olarak kullanıldığında bunlardan gelişen bitkiler de hastalıklı olacağından tarladaki bulaşıklık oranı yıldan yıla geometrik dizi halinde artar, bitkiler canlı görünümünü kaybeder

ve tohumluğun verim gücü düşer. Tohumluk yozlaşması adı verilen bu olgu nedeniyle yetiştiriciler tohumluklarını belirli aralıklarla sağlam tohumlukla yenilemek zorundadırlar.

Mikroçoğaltım bitki yetiştiriciliği ve genetiği yönünden önemli avantajlar sağlamaktadır. Bu avantajlar; hastalık ve zararlılardan arındırılmış bitkisel materyal elde edilmesi, kitlesel üretimde üretilen bitkilerde fenotipik ve genotipik benzerlik (homojenite) olması, geleneksel yöntemlerden daha kısa kültür süresine ihtiyaç duyulması, zor üretilen türlerin daha kolay üretimi, seçilen üstün genotiplerin hızlı üretimi, üretimde daha az başlangıç materyalinin kullanılması olarak sıralanabilir [16].

Patates gibi vejetatif organları tohumluk olarak kullanılan bitkilerde tohumluğun verime etkisi çok yüksektir. İyi bir tohumluk kullanılmadığı sürece, en iyi yetiştirme teknikleri uygulansa bile tohumluğun patatesin verimine ve kalitesine olan etkisi gözardı edilemez. Patates üretimi konusundaki sorunun özünde de tohumluk ile ilgili sorunlar yatmaktadır [17].

Kültürü yapılan patates bitkisi, tek yıllık olup stolon denen toprak altı gövdesinin büyümesiyle meydana gelen tuberleri hem depo, hem de vejetatif çoğalma organıdır. Dolayısıyla, birim sahadan alınacak verim ve bu verim içinde kaliteli besin elde etmede tuberler özel bir öneme sahiptir ve tüm ıslah, agronomi, fizyoloji, patoloji disiplinlerinin ve tohumluk üretim teknolojisinin odak noktasıdır.

Ancak tohumluk tuber üretiminin çevre koşullarından fazla etkilenmesi, hastalık baskısının fazla olması ve yüksek maliyet gibi olumsuzlukları nedeniyle alternatif tohumluk kaynağı olarak mikrotuber (mikroyumru) kullanımı üzerinde durulmaktadır [18].

Doku kültürü teknikleri kullanılarak bitki üretmek; yani mikroçoğaltım, bir çok bitki türünde olduğu gibi patates bitkisinin de vejetatif olarak



hızlı ve çok miktarda çoğaltılabilmesine olanak sağlayan bir üretim şeklidir.

Son 20 yılda bitki doku kültürü teknikleri kültür bitkilerinde farklı amaçlar için yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Özellikle patates gibi vejetatif olarak çoğaltılan bitkilerde hastaliksız patates tohumluğunun elde edilmesi ve hızlı çoğaltılması için tohumluk üretim programlarında, doku kültürü ile hızlı çoğaltma tekniklerine yaygın başvurulmaktadır. Bitki doku kültürü yöntemlerinden sürgün ucu kültürü, gerek mikroçoğaltım gerekse virüssüz bitkileri elde etmek amacı ile yaygın olarak kullanılmaktadır [19-21]. Böylece hastaliksız bitkiler ve bu bitkilerden de tohumluk mikrotuberler elde edilmektedir.

Uluslararası Patates Araştırma Merkezi (CIP)'nde tohumluk patates üretiminde mikrotuberlerin, temel tohumluğun başlangıcı olan ve fidelikte üretilen minitubere alternatif olarak kullanımının yaygınlaştırılması çalışmaları yapılmaktadır [22]. Böylece *in vitro* elde edilen mikrotuberlerin tohumluk olarak kullanılması hastalık riskini azaltmaktadır [19-21, 23].

Ülkemizde de gerek artan nüfusun beslenmesi, gerekse patatese dayalı sanayinin hammadde isteklerinin karşılanması ile ithalat ve ihracat açısından kaliteli ve fazla ürün elde etmek amacıyla, hastalıklardan arı patates üretiminin yapılması gerekmektedir.

Türkiye'de tohumluk patatesten dışa bağımlılık, fiyatların dövize endeksli olarak sürekli artışına neden olmaktadır. Yerli tohumluk üretim maliyetlerinin de yüksek olması tohumluk patates fiyatlarını daha da artırmaktadır [24].

Patates tohumluk üretim teknolojisi mevcut kültür bitkilerinin içinde, belki de en zor olanıdır ve karmaşık bir işleyişe sahiptir. Böyle bir program; hastalık etmeni taşımayan başlangıç materyalinin elde edilmesiyle başlar. Ancak patates bitkisi tarlada yetiştirildiğinde pek çok virütik, bakteriyel ve fungal hastalıklarla, zararlılara konukçuluk

yapabilmektedir. Temiz başlangıç materyali elde edilmesinde *in vitro* üretim tekniklerinden yararlanan bir yöntem olan "Sürgün ucu Kültürü" kullanılmaktadır.

Sürgün ucu kültürü ile başlayan ve *in vitro*'da çoğaltılan virüssüz bitkiciklerden üretilen mikrotuberlerin patates tohumluğu üretiminde önemli avantajları olduğu kabul edilmektedir. Öncelikle mikrotuber üretim maliyeti, fideliğe göre daha düşüktür ve her mevsim tuber üretimi yapılabilir. Tuberler biyotik ve abiyotik (hastalık, zararlı ve don gibi) çevreye bağlı baskılardan korunmuş olur. Genetik stok virüssüz olarak her zaman çoğaltıma hazır durumdadır, küçük alanlarda çok sayıda tuber üretilebilir ve mikrotuberlerin taşınması daha kolay ve ucuzdur.

Yapılan çalışmalarda *in vitro* mikrotuber oluşumu bir dizi faktöre dayandırılmaktadır. Bunlar arasında besin ortamı bileşimi, kullanılan kimyasallar (Aktif kömür gibi), sakkaroz konsantrasyonu, büyüme düzenleyicileri ile sıcaklık, fotoperiyot, ışık şiddeti gibi çevresel faktörler ve genotip faktörü sayılabilmektedir [25-29].

Besin ortamına ilave edilen aktif kömürün (AC) kültür başarısını etkilediği bilinmektedir [30].

Mikrotuber oluşumu üzerinde büyüme düzenleyicilerinin etkisi önemlidir [31-34]. Mikrotuberlerin oluşum sürecine karışan birçok doğal ürün de (tuberonik asit, glikozidleri veya öncüleri) bulunmaktadır [35-37]. Literatürde, bitki büyüme düzenleyicilerinin Giberellik Asit<sub>3</sub> (GA<sub>3</sub>), Absisik Asit (ABA), Etilen, (2-kloroetil) trimetilamonyum klorid (CCC), Jasmonik asit (JA) birbiriyle ve çevresel faktörlerle olan etkileşimlerinin tuber gibi vejetatif depo organlarının oluşumu ve gelişimi üzerinde etkili olduğu vurgulanmaktadır [38-41]. Patateste tuber büyümesi ve oluşumunu belirleyen fizyolojik mekanizmalar ve hormonal ilişkiler henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

Bitkide gövde büyümesi, tohum çimlenmesi, tomurcuk dormansisinin kırılması, meyve büyümesi gibi birçok fizyolojik süreçte görev alan giberellinler, patatesten tuber oluşumunda da etkilidir [42]. Fotoperiyot gibi (uzama ve ya patatesten tuber oluşumu ile sonuçlanan) çevresel faktörler ve sıcaklık, giberellin biyosentezini düzenlemektedir [43].

Son yıllarda araştırmalar, bunlardan biri olan jasmonik asit (JA) ve metil esterlerinin tuber uyarımındaki etkisi konusunda yoğunlaşmıştır [44-46].

Oxilipinler sınıfından olan jasmonatlar, jasmonik asit ve onun metil esterlerini içine alır. İlk olarak yasemin (*Jasmine-Jasminum*) bitkisinden elde edilmiştir [47]. Jasmonik asidin ( $C_{12}H_{19}O_3$ ) lipoksigenaz enzimi aracılığı ile bitkilerde önemli bir yağ asidi olan linoleik asitten sentezlendiği tespit edilmiştir [48].

Jasmonik asidin patojen saldırılarında bitkinin savunma mekanizmasını harekete geçiren bir sinyal molekülü olduğu genel anlamda kabul görmüş durumdadır [49-51]. Bu işlemde ilk olarak linoleik asidin plazma zarından ayrılarak jasmonik aside dönüştüğü bununla savunma mekanizmasını harekete geçirdiği bildirilmiştir [43, 48]. Böylece bitki dokularındaki konsantrasyonu artan jasmonik asidin lokal ve sistematik olarak alkaloidler ve fenolik maddeler gibi değişik savunma maddelerinin üretimini teşvik ettiği kaydedilmiştir [52]. Ayrıca JA, birçok fizyolojik ve gelişim sürecini de (kök büyümesi, tuberizasyon, senesens, polen gelişimi gibi) düzenlemektedir.

Jasmonik asidin fizyolojik rolleri ile ilgili daha geniş bir literatür bilgisi Günalp'in [53] çalışmasında da verilmiştir.

Jasmonatlar, aynı zamanda vejetatif depo protein geninin ifade edilmesinde potansiyel uyarıcıdır [54]. Vejetatif depo organlarının oluşumunda önemli rolü olan JA'lerin *in vitro* mikrotuberizasyonda da etkili olduğu bildirilmiştir [41, 46, 55-58].

Ancak JA'in mikrotuber oluşumu üzerindeki etkileri ve diğer büyüme düzenleyicileriyle olan ilişkileri hakkındaki bilgiler tam olarak aydınlatılamamıştır. Yapılan çalışmalarda mikrotuber oluşumunun süresi, mikrotuber yetiştirmek üzere sağlanması gereken ortam koşulları ve hangi hormon, kimyasal vs.'nin hangi dozda eklenmesi gerektiği tam olarak belirlenememiştir [45-46, 56, 59-61] Herhangi bir ticari mikrotuber üretimine JA'in dahil edilebilmesi için, tuberizasyon üzerindeki etkisi ve diğer hormonlarla olan ilişkileri hakkında daha fazla bilgiye gereksinim duyulmaktadır.

Bu çalışmada, ekonomik değeri olan *Solanum tuberosum* L. cv. Marfona'da *in vitro* mikrotuber oluşumu üzerinde eksplant dikim şekli, fotoperiyot ve ortama ilave edilen JA, GA<sub>3</sub> ve AC'nin etkisi ve birbiriyle ile olan ilişkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, sürgün ucu kültürü ve devamında mikroçoğaltım yoluyla elde edilmiş patates bitkiciklerinden elde edilen tek nodlar, mikrotuberizasyon aşamasında JA ve GA<sub>3</sub> hormonlarının ve AC'nin farklı kombinasyonlarını (0.0, 10 ng/l, 1 µg/l ve 0.2 mg/l JA, 0.0 ve 0.2 mg/l GA<sub>3</sub>, 0.0 ve 2g/l AC) içeren MS besin ortamlarında kültüre alınmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Koda vd. [56] tuber oluşturmak üzere indüklenmiş patates bitkisinden alınan yapraklardan elde edilen ethanol ekstraktında *in vitro* tuber-indükleyici aktiviteye asidik bir maddenin sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Tuberonik asit olarak tanımlanan bu maddenin tuber oluşumu sırasında benzer seviyelerin elde edildiği JA ile bağlantılı olduğu belirtilmiştir.

Rosell vd. [62], 24-15°C ve 5000 lux devamlı ışık altında Murashige-Skoog (MS) ortamında *in vitro* kültüre alınmış tek nod patates eksplantlarından gelişen bitkiciklerden mikrotuber elde etmişlerdir. Tuber oluşumu, %8 sukroz, 2 mg l<sup>-1</sup> benzilaminopürin (BAP), 2 mg l<sup>-1</sup> naftalenasetik asit (NAA) ve/ve ya 100 mg l<sup>-1</sup> 2-kloroetil trimetilamonyum klorid (CCC) eklenmiş ortamlarda (sıvı ve ya katı MS ve ya White-Nitsch-Morel) araştırılmıştır. 2 ay sonunda sıvı ortamda (790 mg), katı ortama göre daha ağır tuberler (390 mg) elde edilmiştir.

Jackson ve Willmitzer [63] çalışmalarında, tuberizasyon için kısa-gün isteyen *S. andigena* (Juz. and Buk.) ve *S. demissum* (Lindl.) patates çeşitlerini uzun gün koşullarında inkübe etmiş ve bu süreç boyunca dışarıdan spreylenmiş şekilde uygulanan jasmonik asidin bu çeşitlerin tuberizasyonuna etkisini araştırmışlardır. Çeşitler hem uzun gün (16 sa ışık) hem de kısa gün (8 sa ışık) fotoperiyodunda, ancak geceleri yani karanlık periyotta 30 dk ara verilerek tutulmuştur. Her iki çeşitte de tuberizasyon her iki koşulda da inhibe olmuştur. 100 µM jasmonik asitle tekrar tekrar spreyleneşine rağmen tuber oluşumu teşvik edilememiştir.

Caldiz [64], yapraklara spreylenmiş şekilde dışarıdan uygulanan benzilaminopürin (BAP) ve giberellik asit (GA)'in tohumluk patates üretiminde tuber sayısı üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Tarlada yürütülen çalışmada bazı patates çeşitlerine farklı konsantrasyon ve kombinasyonlar şeklinde uygulanan bu büyüme düzenleyicilerinin etkileri tespit edilmiş ve BAP uygulamaları sonucunda tuber veriminin

önemli bir şekilde arttığı belirlenmiştir. Bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanımının tarla ve cam sera koşulları altında Mailen ve Spunta patates çeşitlerinde tohumluk tuber sayısını artırabileceği belirtilmiştir.

Gopal vd. [65], 22 patates genotipinde 6 farklı *in vitro* kültür koşulu altında mikrotuberizasyon üzerine etki eden faktörleri araştırmışlardır. Aksiller tomurcuklardan elde edilen kültürler, kısa (10 sa  $6-12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) veya uzun gün (16 sa  $38-50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) fotoperiyodunda; ayrıca düşük (gündüz  $20^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  ve gece  $18^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) veya yüksek sıcaklıklarda (gündüz  $28^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  ve gece  $25^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) inkübe edilmiştir. Kısa gün-düşük sıcaklık koşulu, uzun gün-yüksek sıcaklık koşuluna göre daha yüksek mikrotuber verimi (255 mg/bitkicik) ve daha fazla sayıda (2 tuber/bitkicik) mikrotuber oluşumuna yol açmıştır. 60 gün boyunca uzun gün fotoperiyodunda inkübe edilen bitkicikler, sonraki 2-3 ay süreli karanlık fotoperiyotta inkübe edildiğinde, çeşitli genotiplerde mikrotuberizasyonun teşvik edildiği belirlenmiştir. Kısa gün fotoperiyodu ve düşük sıcaklık koşulları altında BAP ilavesi, mikrotuber verimini 255 mg'dan 645 mg'a ve ortalama mikrotuber ağırlığını 115 mg'dan 364 mg'a yükseltmiştir. BAP ilavesi, uzun gün ile yüksek sıcaklık ve devamlı karanlık ile düşük sıcaklıkta da benzer bir etki göstermiştir. Mikrotuberler ışık altında, karanlıkta olanlara göre daha fazla sayıda göz oluşturmuştur. Çalışmada ortaya çıkan genotip ile kültürel koşullar arasındaki önemli etkileşim, daha fazla mikrotuberizasyon elde edebilmek için genotipe-öзgü protokollerin oluşturulmasının gerekliliğini göstermiştir.

Beyazova [28], Ausonia, Marfona ve Granola patates çeşitlerinin mikrotuber oluşturma potansiyellerini incelemiştir. Çeşitli mikrotuber üretim yöntemlerinden en iyi verimin iki fazlı katı çoğaltım-sıvı indüksiyon sisteminden alındığı gözlenmiştir. Bu sistemle, Ausonia, Granola ve Marfona çeşitlerinden ortalama ağırlıkları sırasıyla 192, 92 ve 82 mg olan mikrotuberler üretilmiş ve bu çeşitlerde eksplant başına sırasıyla 2, 3 ve 1 mikrotuber olduğu gözlenmiştir. Ortama aktif

kömür eklenmesiyle, verim önemli düzeyde ( $p < 0.005$ ) artırılmıştır. Eksplant başına oluşan mikrotuber sayılarında bir değişiklik olmadıysa da mikrotuber ağırlıkları sırasıyla 310, 132 ve 11 mg'a çıkmıştır. Mikrotuber üretimi için en uygun ortam %8 sukroz ve %0.2 aktif kömür içeren ortam ve en uygun inkübasyon koşulu da 20 °C'de 8 hafta karanlık fotoperiyot olarak belirlenmiştir.

Pruski vd. [66], altı patates çeşidinin *in vitro* mikrotuberizasyonu üzerinde jasmonik asidin etkilerini incelemişlerdir. Tuberizasyon, karanlık veya 8 sa fotoperiyotta vitamin, %8 şeker, %0.6 agar ile 2.5  $\mu\text{M}$  JA içeren ve JA içermeyen MS ortamına (2.5  $\mu\text{M}$  JA ön uygulaması olan ve olmayan olarak ikiye ayrılmıştır) eksplantlar dikilmiştir. Bütün çeşitler, özellikle 8 sa aydınlık fotoperiyotta, karanlık fotoperiyoda göre daha ağır ve fazla sayıda tuber oluşturmuştur. JA'in etkileri, çeşide özgü ve karanlıkta ışıktakinden daha fazla olmuştur.

Debeljak vd. [61], JA ve sukrozun tuber oluşumu üzerine etkilerini, güneybatı Avusturalya kökenli bir orkide olan *Pterostylis sanguinea* (D.L.Jones & M. Clements) üzerinde çalışmışlardır. Tohumlar izole edilmiş ve mikorizal fungusun bulunduğu yulaf ezmesi agarda (OMA) simbiyotik olarak *in vitro*da çimlendirilmiştir. On haftalık fideler JA (0, 0.1, 1, 5 or 10  $\mu\text{M}$ ), sukroz (0, 5, 10 or 20  $\text{g l}^{-1}$ ) ve ya her ikisinin de kombinasyonlarının eklendiği OMA içeren kültür kaplarına transfer edilmiştir. Tüm uygulamalardaki tuber gelişimi tohum ekiminden yaklaşık olarak yirmi altı hafta sonra ortaya çıkmıştır. 5 ve ya 10  $\text{g l}^{-1}$  sukroz ile JA ortama eklenmesi, kontrole göre daha fazla sayıda tuber oluşumuyla sonuçlanmıştır.

Pruski vd. [44], JA'in, Sangre ve Russet Burbank patates çeşitlerinin nodal eksplantlarının *in vitro* tuberizasyonuna etkisini, sıvı ve katı ortam koşullarında ve 0, 8 ve 16 sa fotoperiyot altında test etmişlerdir. 2.5  $\mu\text{M}$  JA ilaveli ortamda gelişmiş stok bitkilerden alınmış olan eksplantlar karanlıkta ilk tuber oluşturanlar olmuşlardır. JA'in öncül uygulamasından (çoğaltım aşamasında 2.5  $\mu\text{M}$  JA bulunan ortamda

gelişen) en iyi sonuçlar, tuberizasyonu inhibe ettiği bilinen 16 sa fotoperiyodu altında inkübe edilen eksplantlardan elde edilmiştir. Sonuç olarak, mikrotuberler hem JA'le ön muamele yapılmış stok bitkilerden hem de JA-içeren tuberizasyon ortamında üretilmiştir. JA içeren ortamda, diğer uygulamalara göre daha homojen ve büyük tuberler elde edilmiştir. En fazla sayıda mikrotuber Sangre çeşidinden 8 sa fotoperiyot altında katı ve sıvı besin ortamlarında elde edilmiştir.

Hoque [67], patatesten *in vitro* mikrotuberizasyonu araştırmıştır. Patates tuberlerinden elde edilen 1 haftalık sürgün uçları MS ortamında 1 ay sonunda 3-4 nodlu bitkiciklere gelişmiştir. Daha sonra bu bitkiciklerden elde edilen tek nodlar, KIN (1, 2, 3 ve 4 mg/l), şeker (%3 ve %6) ilave edilmiş ortamlara dikilmiş ve elde edilen kültürlerin yarısı 16 sa fotoperiyodunda, diğer yarısı da karanlık fotoperiyotta ve  $17\pm 3$  °C'de yaklaşık 50 gün inkübe edilmişlerdir. Bu süre sonunda araştırmacı, mikrotuber oluşumunda karanlık fotoperiyodun aydınlık fotoperiyottan daha iyi etkili olduğunu belirlemiştir. Ayrıca tuber oluşumunda ortam içeriği bakımından en iyi sonuç, %6 şeker ve 4mg/l KIN içeren MS besin ortamı olarak tespit edilmiştir.

Lajayer vd. [68], *S. tuberosum* cv. Agria'da aktif kömür ve hinokitiolün *in vitro* mikrotuberizasyon ve gelişme üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve bu etkileri absisik asit, thidiazuron ve paklobütazolün etkileri ile karşılaştırmışlardır. Denemeler karanlık ve aydınlık koşullarda gerçekleştirilmiştir. Tek nod eksplantlarından gelişen, bitkicik başına oluşan mikrotuber sayısı, mikrotuberin kuru ve yaş ağırlığı, mikrotuber boyutu ve sürgün yaş ve kuru ağırlığı 60 günlük kültürlerde ölçülerek kaydedilmiştir. Karanlık koşullarda elde edilen sonuçlara göre, %0.1 hariç diğer tüm uygulamalarda aktif kömür mikrotuberizasyonu sağlamıştır. Ayrıca ortamda bulunan daha yüksek seviyelerdeki aktif kömür, mikrotuber boyutunu da önemli ölçüde artırmıştır. Aktif kömürün mikrotuberizasyon üzerindeki bu pozitif etkisi, ortamdaki etilenin (tuberizasyon için güçlü bir inhibitör) adsorbe edilmiş olabileceği



ihtimali ile ilişkilendirilmiştir. Buna karşın, daha düşük konsantrasyonda aktif kömür sürgün oluşumunu artırmıştır. Hinokitiol yüksek konsantrasyonda (27 mg/l) mikrotuberlerin sadece boyutunu artırmıştır. En fazla mikrotuber sayısı 2 µM thidiazouron içeren ortamda elde edilmiş, ancak bu mikrotuberler aktif kömür içeren ortamdan elde edilenlerden daha küçük boyutta olmuşlardır. Aktif kömür (%0.1, %0.5 ve %1), paklobütazol (4 µM) ve absisik asit (1 µM) aydınlık koşullarda mikrotuber oluşumunu indüklemiştir. Mikrotuberizasyon ve sürgün gelişimi için en iyi koşul, önce aydınlıkta ve sonrasında karanlıkta üretim olarak belirlenmiştir.

Kianmehr vd. [69], bitki büyüme düzenleyicilerinin *in vitro* patates mikrotuberlerinin üretimine etkisini araştırmışlardır. Çalışmada, patateslerden (Agria, Boren, Sante ve Savalan) alınan tek nod kesitleri, 30 g/l şeker ve 6 g/l agar içeren ve pH'ı 5.8 olan MS besin ortamında kültüre alındıktan sonra 24 °C ve 16 sa aydınlık fotoperiyoduna ayarlanmış iklim odasında 5 hafta boyunca inkübe edilmiştir. Sonrasında Coumarin (15, 20, 25 veya 30 mg/l), Paclobutrazol (0.001, 0.01, 0.1 veya 0.5 mg/l), Thidiazuron (0.01, 0.1, 0.5 veya 1 mg/l) ve Ethephon (0.5, 1, 2 veya 3 mg/l) ilave edilmiş, 30 g/l şeker ve 5.8 g/l agar içeren ortamlara dikilmiştir ve 21 °C ve 16 sa aydınlık fotoperiyoduna ayarlanmış iklim odasında 90 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Mikrotuber sayısını en çok artıran büyüme düzenleyici thidiazouron olarak belirlenmiştir. Ayrıca mikrotuber boyutu ve ağırlığı bakımından en iyi etkiyi ise coumarin (15 mg/l ve 30 mg/l) ve thidiazouron (0.5 mg/l ve 1 mg/l) göstermiştir.

### **3. MATERİYAL ve YÖNTEM**

Bu çalışma, 2011-2013 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı Bitki Doku Kültürü Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

#### **3.1. Materyal**

Deneylerde Doğa Tohumculuk'tan (Nevşehir) temin edilen yazlık hasat döneminde (Temmuz-Ekim arası) toplanan *Solanum tuberosum* L. cv. Marfona'nın yumruları kullanılmıştır.

#### **3.2. Yöntem**

Tez çalışması, 4 ana aşamada gerçekleştirilmiştir; bunlar, *S. tuberosum* yumrularının *in vivo*da sürgün vermesi, *in vitro* sürgün ucu kültürü, mikroçoğaltım ve mikrotuberizasyon. Bu çalışmada, temel besin ortamı olarak değiştirilmiş MS (DMS) besin ortamları kullanılmıştır ve bu ortamlarda yapılan değişiklikler, aşağıda başlıklar halinde verilen her aşama için ayrı ayrı belirtilmiştir. MS [70] ortam bileşimi Çizelge 3.1. ve DMS bileşimleri Çizelge 3.2. ve Çizelge 3.3.'te verilmiştir. Ortam adlandırmaları ise Çizelge 3.4.'te verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Murashige ve Skoog [70] (MS) besin ortamı bileşimi.

<b><u>Bileşenler</u></b>	<b><u>Miktar (mg/l)</u></b>
KNO <sub>3</sub>	1900
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	223
KI	0.83
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8.6
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.025
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.25
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.025
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27.8
Na <sub>2</sub> EDTA	37.3
Nikotinic asit	0.5
Pridoksin-HCl	0.5
Thiamin-HCl	0.1
Glisin	2.0
<i>Myo</i> -inositol	100
Sakkaroz	30000

**Çizelge 3.2.** Deneyin farklı aşamalarında kullanılan DMS ortamlarının bileşimindeki maddeler.

BESİN ORTAMLARI \ KİMYASAL MADDELER	Vitaminler (ml/l)	GA <sub>3</sub> (mg/l)	Kinetin (mg/l)	IAA (mg/l)	BAP (mg/l)	Thiamin (mg/l)	Pridoksin (g/l)	Myo-inositol (mg/l)	Şeker (g/l)
Sürgün ucu kültürü ortamı	1	0,2	0,2	0,2	-	-	-	100	30
Mikroçoğaltım ortamı	-	-	-	1	1	0,4	1	60	30
Mikrotuberizasyon ortamı	1	0-0,2*	-	-	-	-	-	100	80

\*GA<sub>3</sub>'ün yer aldığı besin kombinasyonları şekil 3.2.'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.3.** Mikrotuberizasyon aşamasının ilk deney grubunda kullanılan DMS ortamlarının JA-GA<sub>3</sub> kombinasyonları.

GA <sub>3</sub> \ JA	0	10ng/l	1µg/l	0.2mg/l
0	K*	C <sub>0</sub>	B <sub>0</sub>	A <sub>0</sub>
0.2mg/l	G	C <sub>G</sub>	B <sub>G</sub>	A <sub>G</sub>

K\*= Kontrol grubu

**Çizelge 3.4.** Mikrotuberizasyon aşamasının ilk deney grubunda kullanılan DMS ortamlarının adlandırılmaları.

		YATAY (Y)				DİKEY (D)				ÇİFT FAZLI (Ç)			
JA \ GA <sub>3</sub>		0	A	B	C	0	A	B	C	0	A	B	C
0		K <sub>Y</sub>	A <sub>0Y</sub>	B <sub>0Y</sub>	C <sub>0Y</sub>	K <sub>D</sub>	A <sub>0D</sub>	B <sub>0D</sub>	C <sub>0D</sub>	K <sub>C</sub>	A <sub>0C</sub>	B <sub>0C</sub>	C <sub>0C</sub>
G		-	A <sub>GY</sub>	B <sub>GY</sub>	C <sub>GY</sub>	-	A <sub>GD</sub>	B <sub>GD</sub>	C <sub>GD</sub>	-	A <sub>GC</sub>	B <sub>GC</sub>	C <sub>GC</sub>

### **3.2.1. Tuberlerden sürgün elde edilmesi**

Sürgün oluşumunun sağlanması amacıyla, yazlık hasat döneminde (Temmuz-Ekim arası) toplanan *Solanum tuberosum* L. cv. Marfona tuberleri önce musluk suyu altında yıkandı, daha sonra %15'lik ticari sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisi içinde 20 dk tutulduktan sonra 3 defa steril distile su ile durulanarak [71] yüzey sterilizasyonu yapıldı ve perlit doldurulmuş saksılara dikilerek [72] 30-35 °C sıcaklık, %60-65 nem,  $145 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  şiddetinde ışık ve 16 sa aydınlık 8 sa karanlık fotoperiyoduna ayarlanmış iklim odasında 4 hafta süreyle bekletildi [73].

### **3.2.2. Sürgün ucu kültürlerinin kurulması**

Patates tuberlerinden elde edilen sürgün uçları %70'lik alkolde 1 dk süreyle çalkalandıktan sonra, içine 2 damla Tween-20 (deterjan) damlatılmış %10'luk NaOCl çözeltisinde 7-8 dk bekletilmiş ve 3 kere distile su ile durulanarak sterilize edilmiştir [45, 71]. Steril sürgünlerden alınan sürgün ucu eksplantları 30 g/l şeker, 7 g/l agar, 0,2 mg/l GA<sub>3</sub>, 0,2 mg/l Kinetin, 0,2 mg/l İndol Asetik Asit (IAA) ve 100 mg/l Myo-inositol ilave edilmiş pH'sı 5.8 olan 10'ar ml DMS besin ortamı (Çizelge 3.2.) içeren 15x2.5 cm boyutlarındaki tüplere dikilmiştir [59, 65, 74]. Sürgün ucu kültürleri 20-22 °C sıcaklık,  $145 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  şiddetinde ışık ve 16 sa aydınlık 8 sa karanlık fotoperiyoduna ayarlanmış iklim odasında 2-2,5 ay süreyle inkübe edilmiştir [75].

### **3.2.3. Mikroçoğaltım aşaması**

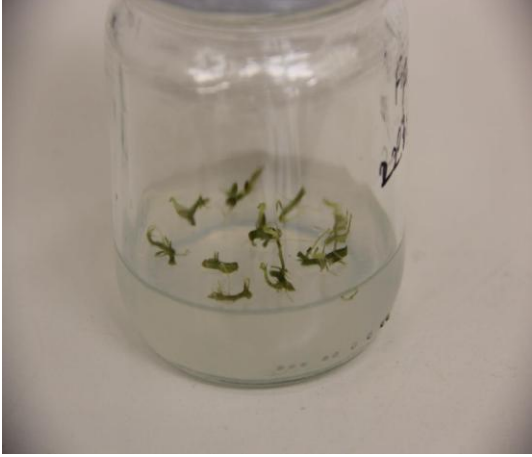
Mikroçoğaltım amacıyla, sürgün ucu kültüründen elde edilen bitkiciklerden alınan tek nodlar eksplant olarak kullanılmıştır. Eksplantlar *in vitro* ve steril gelişen bitkiciklerden alındığından herhangi bir sterilizasyon işlemi yapılmamıştır. Mikroçoğaltım için tek nodlar 1.0 mg/l IAA ve 1.0 mg/l BAP ile 7 g/l agar, 30 g/l şeker, 60 mg/l myo-inositol, 0,4 mg/l thiamine, 1 g/l pridoksin ilave edilmiş pH'sı 5.8 olan 10 ml DMS besin ortamı (Çizelge 3.2.) içeren 15x2.5 cm boyutlarındaki tüplere

dikilmiştir [76]. Kùltürler, 22 °C sıcaklık ve 16 sa aydınlık 8 sa karanlık fotoperiyotta 145  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ışık şiddetinde kontrollü iklim odasında 4-7 hafta süreyle inkübe edilmiştir [65, 75].

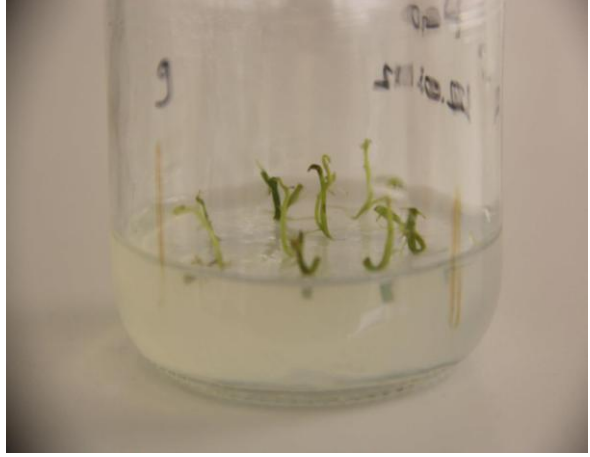
#### **3.2.4. Mikrotuberizasyon aşaması**

Mikrotuberizasyon deneyleri 2 aşamada gerçekleştirilmiştir.

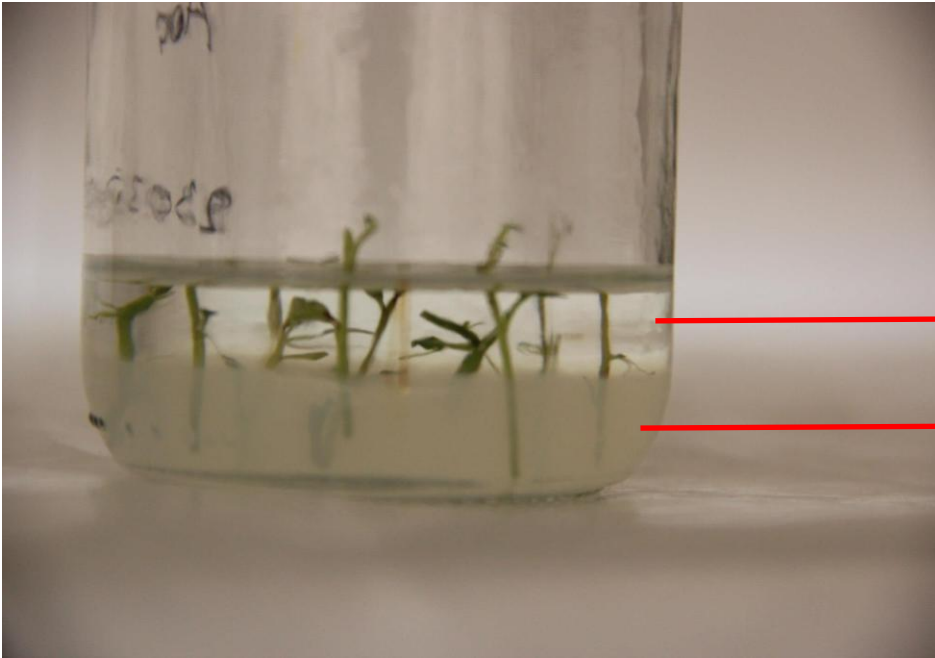
İlk aşamada, tek-nod patates eksplantlarından mikrotuber oluşumu üzerine eksplant dikim şeklinin (Yatay, Dikey), ortam tipinin (Katı, Çift fazlı), ortam bileşiminin etkilerini belirlemek amacıyla, *in vitro* çoğaltılmış bitkilerden kesilerek elde edilen tek nod eksplantları, JA (0.0, 10 ng/l, 1  $\mu\text{g/l}$  ve 0.2 mg/l) , GA<sub>3</sub> (0.0 ve 0.2 mg/l) ve bunların birlikte kombinasyonları (Çizelge 3.3.) ile 80 g şeker , 7 g agar içeren pH'sı 5.7 olan DMS (Çizelge 3.2.) katı ve ya çift fazlı besin ortamlarından 50'şer ml içeren 6.5x7.5 boyutlarındaki cam kavanozlara yatay ve dikey olarak dikilmiştir [28, 46, 61] (Şekil 3.1. ve Çizelge 3.4.). Eksplantlar, her kavanozda 10 eksplant olacak şekilde 5 kavanoza dikilerek denemeler her uygulama için 5 tekrarlı olarak düzenlenmiştir. Daha sonra kùltürler 22-25 °C sıcaklık, 145  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ışık şiddetinde ve 8 sa aydınlık 16 sa karanlık fotoperiyoda ayarlanmış iklim odasında 4-6 hafta süreyle inkübe edilmiştir [22]. Bu süre sonunda tek nodlardan elde edilen eksplant sayısı, mikrotuber elde edilen eksplant sayısı, mikrotuber sayısı, mikrotuber ağırlıkları, eksplant verimi (mikrotuber elde edilen eksplant sayısı/toplam eksplant sayısı) mikrotuber verimleri (mikrotuber sayısı/toplam eksplant sayısı) her grup için belirlenmiştir. Verimler, şekil ve çizelgelerde yüzde (%) olarak belirtilmiştir.



**YATAY**



**DİKEY**



**ÇİFT FAZLI**

**Şekil 3.1.** Tek-nod eksplantların ortamlara dikim şekilleri.

İlk aşamada mikrotuber oluşumu bakımından, en iyi sonucu veren hormon kombinasyonu, ortam tipi ve dikim şekli; ikinci aşamada kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. İkinci aşamada; tek nod eksplantları, JA, AC ve agarın farklı kombinasyonlarını içeren çift fazlı ortamlarda kısa gün (8 sa ışık, 16 sa karanlık) ve sürekli karanlık fotoperiyotlarında inkübe edilerek mikrotuber oluşumu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Mikroçoğaltımla elde edilmiş ve sağlıklı olan bitkilerden elde edilen tek

boğum eksplantları Çizelge 3.5.'te belirtilen JA (0.0 ve 0.2 mg/l), AC (0 ve %0.2) ve agar (%0.5, %0.7) kombinasyonları ile 80 mg/l şeker ilave edilmiş besin ortamından 10'ar ml içeren 15x2.5 cm boyutlarındaki 80'er adet tüpe dikilmiştir [28, 77]. Kùltürler 23 °C sıcaklık ve 145 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> şiddetinde ışıkta, tüplerin bir grubu alüminyum folyo ile tamamen kapatılarak karanlıkta ve diğçer grubu da 8 sa aydınlık 16 sa karanlık fotoperiyoda ayarlanmış iklim odasında 8 hafta inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda mikrotuberler hasat edilerek gözlemler yapılmıştır [78]. Tek nod kùltürlerinden elde edilen toplam eksplant sayısı, mikrotuber elde edilen eksplant sayısı, ortalama mikrotuber ağırlıkları, eksplant verimi (mikrotuber elde edilen eksplant sayısı/toplam eksplant sayısı) ve mikrotuber verimleri (mikrotuber sayısı/eksplant sayısı) her grup için belirlenmiştir. Mikrotuber verimleri yüzde (%) olarak belirtilmiştir.

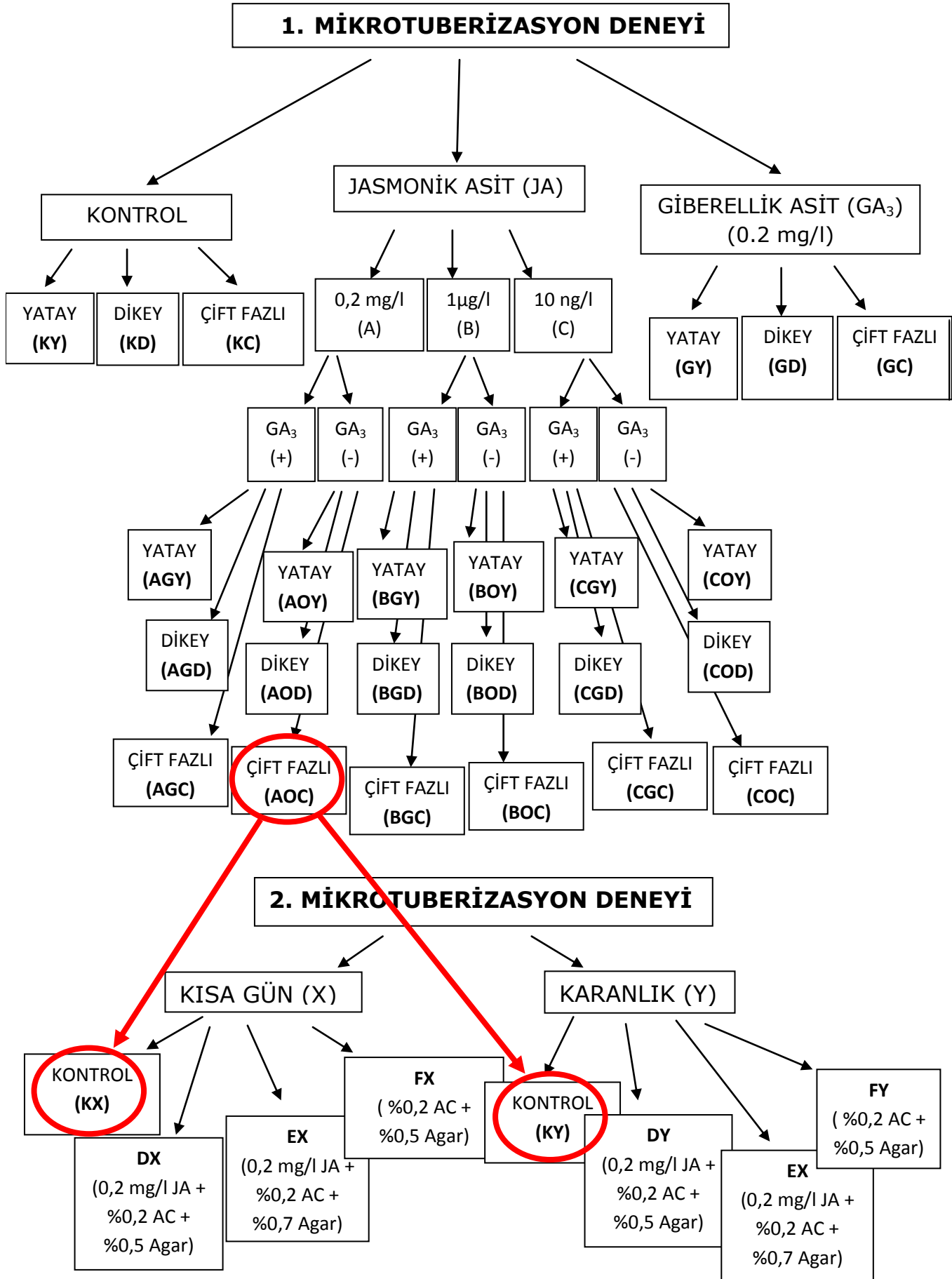
Mikrotuberizasyon deneylerinin tüm aşamaları ile ilgili akış şeması toplu olarak Şekil 3.2.'de verilmiştir.



**Çizelge 3.5.** Mikrotuberizasyon aşamasının ikinci deney grubunda kullanılan DMS ortamlarının JA-AC-Agar kombinasyonları ve inkübe edildikleri fotoperiyotlar.

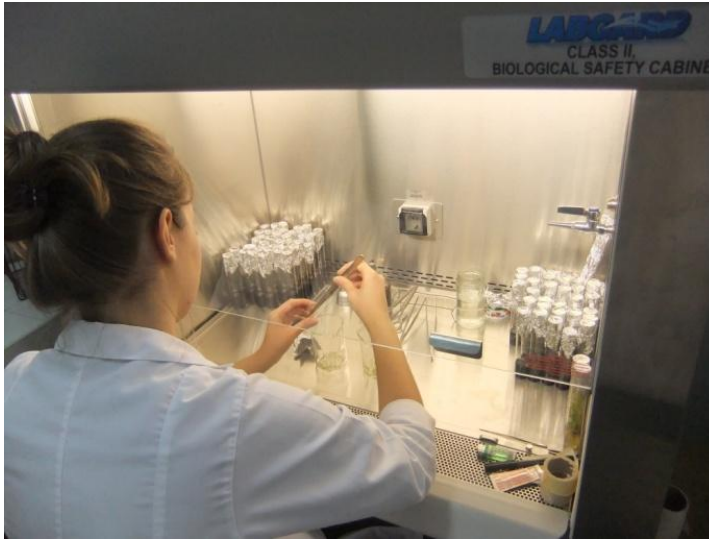
Fotoperiyot	Madde miktarı Ortam adı	Jasmonik Asit (JA)		Aktif Kömür (Aktif Karbon-AC)		Agar	
		0 mg/l	0.2 mg/l	0 mg/l	%0.2	%0.5	%0.7
Kısa gün(X) (8 sa aydınlık- 16 sa karanlık)	K		X	X			X
	D		X		X		X
	E		X		X	X	
	F	X			X	X	
Karanlık(Y)	K		X	X			X
	D		X		X		X
	E		X		X	X	
	F	X			X	X	

**Şekil 3.2.** Mikrotuberizasyon aşamasındaki deneylerin akış şeması.



### 3.2.5. Dış koşullara alıştıırma

Mikrotuberizasyon aşamasından elde edilen mikrotuberler 2:1 torf-perlit karışımı içeren küçük saksılara dikildi ve 22-24 °C sıcaklık, %60 nem, 145  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  şiddetinde ışık ve 16 sa aydınlık 8 sa karanlık fotoperiyoduna ayarlanmış iklim odasına yerleştirilerek gelişmeleri takip edilmiştir [23].



**Şekil 3.3.** Deneyin çeşitli aşamalarından görüntüler.

### 3.2.6. Deneysel verilerin değerlendirilmesi

Patateste *in vitro* mikrotuberizasyon yoluyla elde edilen mikrotuber sayıları ve ağırlıklarıyla ilgili verilerin istatistiksel analizleri SPSS paket programı kullanılarak yapılmıştır. Varyans analizleri ve istatistiksel

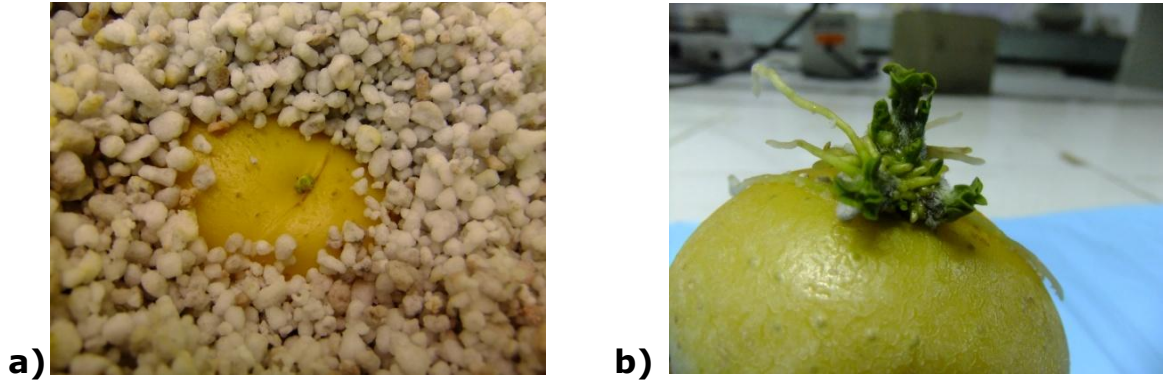
testler sonucunda her bir değişken için en küçük önemli farklılıklar (LSD) %1 ve %5 önem aralıklarında hesaplanmıştır.

Mikrotuberizasyon denemelerinde tüm grup karşılaştırmalarında varyans analizi için Oneway-ANOVA, ve sonrasında grup içi ve gruplar arası karşılaştırmalarda Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır [79]. Yüzde olarak elde edilen verimlerin karşılaştırılmasında ise Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır [80].

## 4. BULGULAR

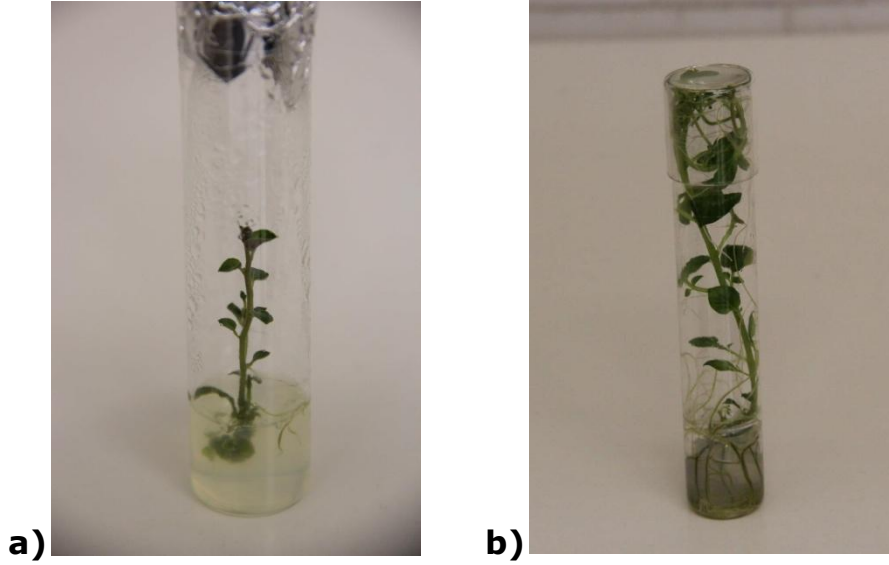
Bu bölümde, *Solanum tuberosum* L. cv Marfona'nın *in vivo* sürgün oluşumu aşaması, sonrasında yapılan *in vitro* sürgün ucu kültürü ve devamındaki mikroçoğaltımdan elde edilen bitkiciklerden kurulan tek nod kültürü aracılığıyla, *in vitro* koşullarda mikrotuber üretimi üzerinde, eksplant dikim şekli, ortam tipi, ortam bileşimi ve fotoperiyodun etkileriyle ilgili sonuçlar verilmiştir.

Yazlık hasat döneminde (Temmuz-Ekim arası) toplanmış olan *S. tuberosum* L. cv. Marfona tuberleri, perlit doldurulmuş saksılara dikilerek 30-35 °C sıcaklık, %60-65 nem, 145  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  şiddetinde ışık ve 16 sa aydınlık 8 sa karanlık fotoperiyoduna ayarlanmış iklim odasında 4 hafta sonunda başarılı bir şekilde sürgün oluşumu sağlanmıştır (Şekil 4.1.).



**Şekil 4.1.** Tuberler üzerinde oluşan **a)** 1-2 haftalık sürgün, **b)** 3-4 haftalık sürgün.

Tuberlerden elde edilen sürgün uçlarından, 30 g/l şeker, 7 g/l agar, 0,2 mg/l GA<sub>3</sub>, 0,2 mg/l Kinetin, 0,2 mg/l IAA ve 100 mg/l Myo-inositol ilave edilmiş pH'sı 5.8 olan DMS besin ortamlarında 20-22 °C sıcaklık, 145  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  şiddetinde ışık ve 16 sa aydınlık 8 sa karanlık fotoperiyotta 2-2,5 ay sonunda patates bitkicikleri elde edilmiştir (Şekil 4.2.).



**Şekil 4.2.** Sürgün ucu kültüründen elde edilen bitkiler **a)** 3-4 haftalık, **b)** 6 haftalık.

Mikroçoğaltım için, sürgün ucu kültürü ile elde edilen bitkiciklerden alınan tek nodlar, 1.0 mg/l IAA ve 1.0 mg/l BAP ile 7 g/l agar, 30 g/l şeker, 60 mg/l myo-inositol, 0,4 mg/l thiamine, 1 g/l pridoksin ilave edilmiş pH'sı 5.8 olan DMS besin ortamı içeren tüplere dikilerek, 22 °C sıcaklık ve 16 sa aydınlık 8 sa karanlık fotoperiyotta 145  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ışık şiddetinde kontrollü iklim odasında 4-7 hafta süreyle inkübe edilmiştir. Böylece, mikrotuberizasyon aşamaları için gerekli olan eksplant sayısının (1. mikrotuber deneyi için 1200 adet ve 2. mikrotuber deneyi için 320 adet) elde edilebileceği kadar sağlıklı patates bitkisi çoğaltılmıştır.

Mikrotuberizasyon çalışmaları 2 aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada, tek-nod patates eksplantlarından mikrotuber oluşumu üzerine eksplant dikim şeklinin (Yatay, Dikey), ortam tipinin (Katı, Çift fazlı), ortam bileşiminin [JA (0.0, 10 ng/l, 1  $\mu\text{g/l}$  ve 0.2 mg/l) ve GA<sub>3</sub> (0.0 ve 0.2 mg/l)] mikrotuber oluşumu üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Bu aşamada mikrotuber oluşumu bakımından, en iyi sonucu veren hormon kombinasyonu, ortam tipi ve dikim şekli; kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. İkinci aşamada; bu kontrol grubuna karşılık tek nod eksplantları, JA (0.2 mg/l), AC (%0.2) ve agarın (%0.5, %0.7) farklı

kombinasyonlarını içeren çift fazlı ortamlarda kısa gün (8 sa ışık, 16 sa karanlık) ve sürekli karanlık fotoperiyotlarında inkübe edilerek mikrotuber oluşumu üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Mikrotuberizasyon deneylerinde kullanılan tüm kombinasyonlar Şekil 3.3.'te verilen deney akış şemasında toplu bir şekilde gösterilmiştir.

Mikrotuberizasyon çalışmalarının her iki aşaması için elde edilen sonuçlar, ayrı başlıklar altında verilmiştir.

#### **4.1. Eksplant dikim şekli, ortam tipi ve ortam bileşiminin mikrotuber oluşumu üzerine etkileri**

##### **(1. Mikrotuberizasyon Denemelerinin Sonuçları)**

Ortam bileşimi ve eksplant dikim şeklinin mikrotuber ağırlığı ve verimi üzerindeki etkileri ile ilgili bulgular Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir.

Ortam tipi, eksplant dikim şekli ve ortam bileşiminin (JA ve GA<sub>3</sub>) etkilerinin ve etkileşimlerinin mikrotuber verimi (elde edilen eksplant başına oluşan mikrotuber sayısı) ve mikrotuber ağırlığı üzerindeki etkilerinin önemli olduğu belirlenmiştir (p<0.05).

Çizelge 4.1. incelendiğinde kontrol grubunda ve JA bulunan ortamlarda mikrotuber oluştuğu, buna karşılık GA<sub>3</sub> bulunan ortamlarda ise neredeyse hiç mikrotuber oluşmadığı gözlenmiştir. Dolayısıyla mikrotuber oluşturmak üzere hazırlanan ortam bileşiminde GA<sub>3</sub>'ün bulunmaması gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Çizelge 4.1.** Ortam bileşimi ve bitki dikim şeklinin mikrotuber oluşumu üzerine olan etkisi ile ilgili veriler.

Ortam grubu	Dikim şekli	JA	GA <sub>3</sub> (0,2 mg/l)	Ortam adı	Toplam eksplant sayısı	M.Tuber elde edilen eksplant sayısı ve eksplant verimi (%)	Mikro Tuber sayısı ve mikrotuber Verimi (%)	Ort. Mikro Tuber Ağırlığı (mg)
K	Yatay	-	-	<b>KY</b>	66	0	0	0
	Dikey	-	-	<b>KD</b>	70	0	0	0
	Çift Fazlı	-	-	<b>KC</b>	55	4 (%7,27)	5 (%9,09)	176±57 <b>c*</b>
A	Yatay	0,2 mg/l	-	<b>AOY</b>	64	12 (%18,75)	13 (%20,31)	37±9 <b>a</b>
			+	<b>AGY</b>	80	0	0	0
	Dikey		-	<b>AOD</b>	68	16 (%23,52)	18 (%26,47)	97±26 <b>ab</b>
			+	<b>AGD</b>	93	0	0	0
	Çift Fazlı		-	<b>AOC</b>	52	16 (%30,76)	19 (%36,53)	118±26 <b>bc</b>
			+	<b>AGC</b>	-	-	-	-
B	Yatay	1 µg/l	-	<b>BOY</b>	48	12 (%25)	15 (%31,25)	35±8 <b>a</b>
			+	<b>BGY</b>	72	0	0	0
	Dikey		-	<b>BOD</b>	40	6 (%13,04)	8 (%20)	45±7 <b>a</b>
			+	<b>BGD</b>	64	0	0	0
	Çift Fazlı		-	<b>BOC</b>	53	15 (%28,3)	24 (%45,28)	55±14 <b>ab</b>
			+	<b>BGC</b>	30	0	0	0
C	Yatay	10 ng/l	-	<b>COY</b>	69	0	0	0
			+	<b>CGY</b>	73	4 (%5,47)	5 (%6,84)	24±5 <b>a</b>
	Dikey		-	<b>COD</b>	69	0	0	0
			+	<b>CGD</b>	65	4 (%6,15)	7 (%10,76)	32±9 <b>a</b>
	Çift Fazlı		-	<b>COC</b>	63	24 (%38,09)	28 (%44,4)	38±8 <b>a</b>
			+	<b>CGC</b>	41	0	0	0
G	Yatay	-	+	<b>GY</b>	66	0	0	0
	Dikey	-	+	<b>GD</b>	70	0	0	0
	Çift Fazlı	-	+	<b>GC</b>	41	0	0	0
Toplam					1412	114 (%8,07)	142 (%10,05)	49±5

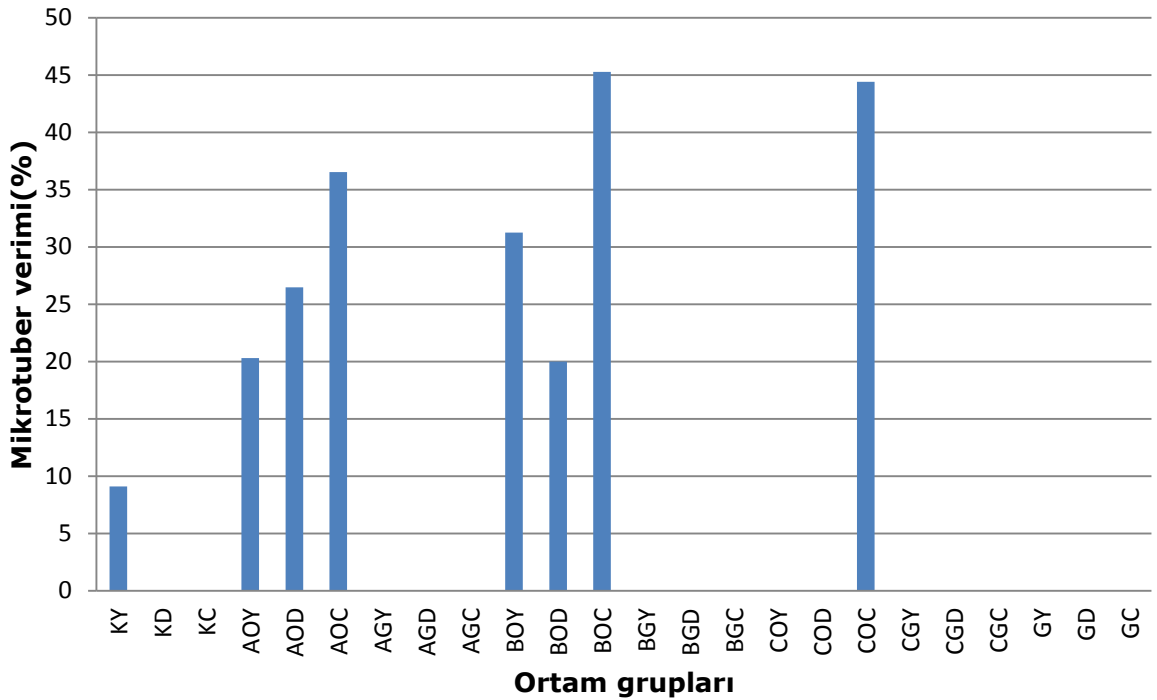
\*Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (  $p < 0.05$  ).

Çizelge 4.1. incelendiğinde eksplant verimi (mikrotuber elde edilen eksplant sayısı/toplam eksplant sayısı) ile mikrotuber verimi (mikrotuber sayısı/toplam eksplant sayısı) arasındaki ilişkinin genellikle



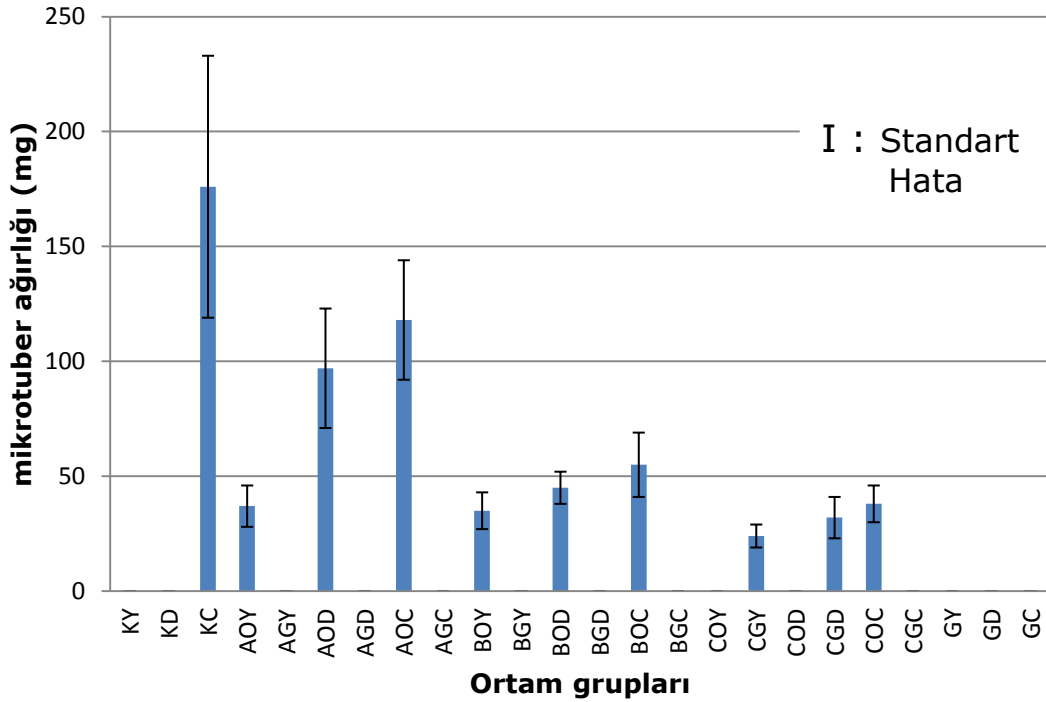
doğru orantılı olarak arttığı gözlenmiştir. Buna göre yüksek mikrotuber verim yüzdesine sahip olan AOC (Çift fazlı - 0,2 mg/l JA)(%36,53), BOC (Çift fazlı - 1 µg/l JA)(%45,28) ve COC (Çift fazlı - 10 ng/l JA)(%44,4) ortam gruplarının mikrotuber elde edilen eksplantlarının verim yüzdesinin de yüksek olduğu (AOC- %30,76, BOC- %28,3), COC- %38,09) belirlenmiştir. Düşük mikrotuber verimine sahip olan KC (Çift fazlı - kontrol)(%9,09), CGY (Yatay- 10 ng/l JA + 0,2 mg/l GA<sub>3</sub>)(%6,84) ve CGD (Dikey-10 ng/l JA + 0,2 mg/l GA<sub>3</sub>)(%10,76) ortam gruplarının eksplant verim yüzdelерinin de düşük olduğu (KC- %7,27, CGY- %5,47, CGD- %6,15) görülmüştür.

Şekil 4.3.'te görüldüğu gibi en yüksek tuber verimleri, BOC (Çift fazlı - 1 µg/l JA)(%45,28), COC (Çift fazlı - 10 ng/l JA)(%44,4) ve AOC (Çift fazlı - 0,2 mg/l JA)(%36,53) gruplarında elde edilmiştir. Buna göre, çift fazlı besin ortamının mikrotuber oluşumu için daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır.



**Şekil 4.3.** Ortam bileşimi ve eksplant dikim şeklinin mikrotuber verimi (elde edilen tuber sayısı/toplam eksplant sayısı) ile ilişkisi.

Çizelge 4.1.'de mikrotuber ağırlıkları ve Şekil 4.4.'te ortam bileşimi ve eksplant dikim şeklinin mikrotuber ağırlığı ile ilişkisini gösteren histogram incelendiğinde; mikrotuber ağırlığı ile ortam bileşimi ve eksplant dikim şekli arasında önemli bir ilişki olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ). Mikrotuber ağırlığı bakımından en yüksek değerler sırasıyla KC (Çift fazlı - kontrol)(176 mg), AOC (Çift fazlı - 0,2 mg/l JA)(118 mg) ve AOD (Dikey - 0,2 mg/l JA)(97 mg) ortam ve dikim koşullarında elde edilmiştir. Yatay ve dikey dikim şekillerinin, ortalama mikrotuber ağırlığı ve mikrotuber verimine etkileri arasında genel olarak önemli bir fark bulunmamıştır.

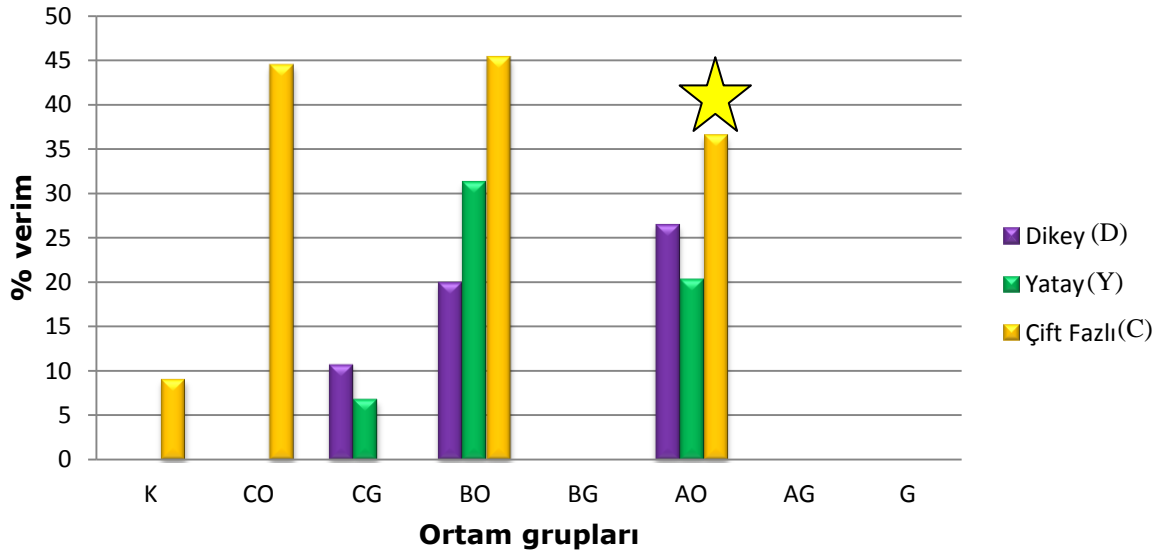


**Şekil 4.4.** Ortam bileşimi ve eksplant dikim şeklinin mikrotuber ağırlığı (mg) ile ilişkisi.

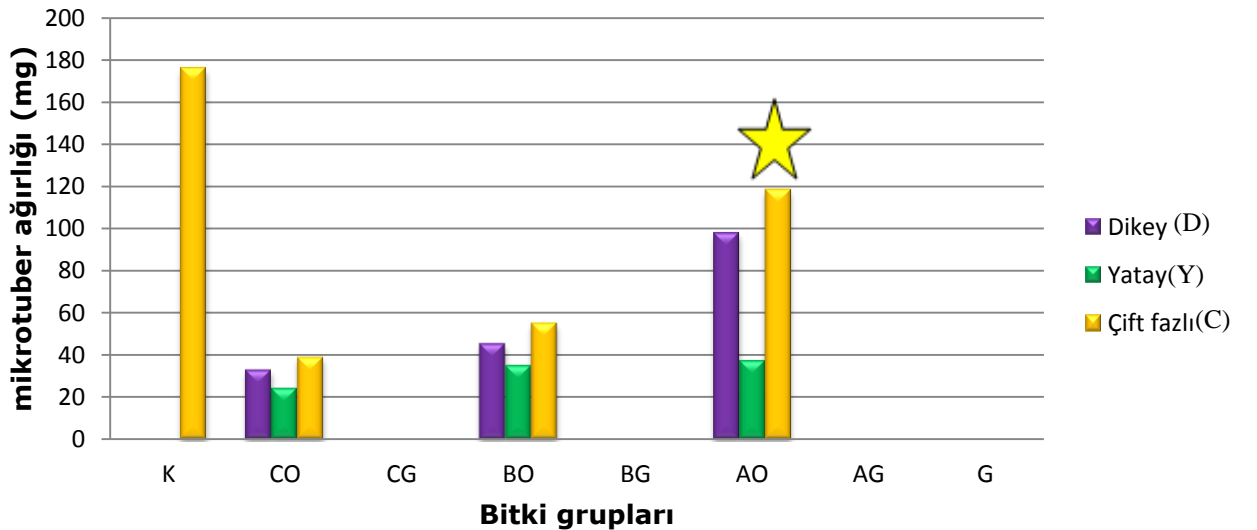
Sonuç olarak, eksplant dikim şekli, ortam tipi ve JA - GA<sub>3</sub> etkileşiminin mikrotuber oluşumuna etkisinin araştırıldığı 1. Mikrotuberizasyon denemelerinde mikrotuber verimi en yüksek grup %45,28 ile BOC (Çift fazlı - 1 µg/l JA) ve mikrotuber ağırlığı bakımından en yüksek değer elde edilen grup 176 mg ağırlık ortalaması ile KC (Çift fazlı - Kontrol)

olarak belirlenmiştir. Ancak bütün veriler ortak paydada incelendiğinde ve tohumluk patates olarak kullanılacak mikrotuber kriterleri göz önünde bulundurulduğunda (Şekil 4.5.) hem mikrotuber verimi hem de mikrotuber ağırlığı açısından yüksek değerlere (Mikrotuber verimi = %36,53 ve Ort. Mikrotuber ağırlığı = 118 mg) sahip olan AOC (Çift fazlı – 0,2mg/l JA) grubu, 2. Mikrotuberizasyon deneylerinde kontrol grubu olarak kullanılmıştır (Şekil 4.6.).

**a)**



**b)**



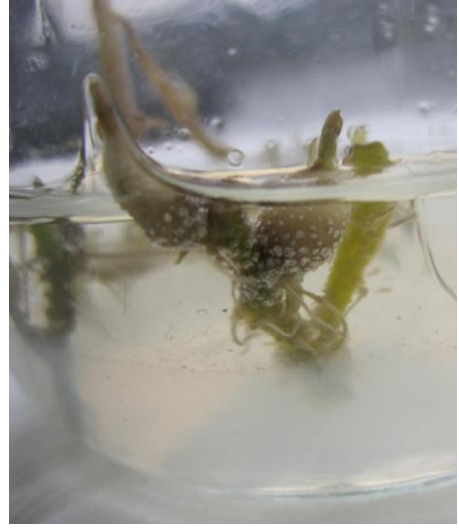
**Şekil 4.5. a)** Ortam dikim şekillerinin mikrotuber verimine etkisini gösteren grafik, **b)** ortam dikim şekillerinin ortalama mikrotuber ağırlıklarına etkisini gösteren grafik.



a)



b)



c)

**Şekil 4.6. a)** AOC (Çift fazlı – 0,2mg/l JA) ortamında mikrotuberler, **b)** KC (Çift fazlı – Kontrol) ortam grubundan elde edilen mikrotuberler, **c)** BOC (Çift fazlı - 1µg/l JA) ortamında mikrotuberler.

#### **4.2. Farklı AC, JA, agar kombinasyonları ve fotoperiyodun mikrotuber oluşumu üzerine etkileri (2. Mikrotuberizasyon Denemelerinin Sonuçları)**

Ortam bileşimi ve fotoperiyodun mikrotuber ağırlığı ve verimi üzerindeki etkileri ile ilgili bulgular Çizelge 4.2.'de gösterilmiştir.

Varyans analiz sonuçları incelendiğinde, ortam bileşimi (JA, AC, Agar) ve fotoperiyodun (Kısa gün, Karanlık) etkilerinin ve etkileşimlerinin

mikrotuber verimine (elde edilen eksplant başına oluşan mikrotuber sayısı) ve mikrotuber ağırlığına etkileri istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ( $p < 0.05$ ).

**Çizelge 4.2.** Ortam içeriği ve fotoperiyodun mikrotuber oluşumuna ve ağırlığına olan etkisi ile ilgili veriler.

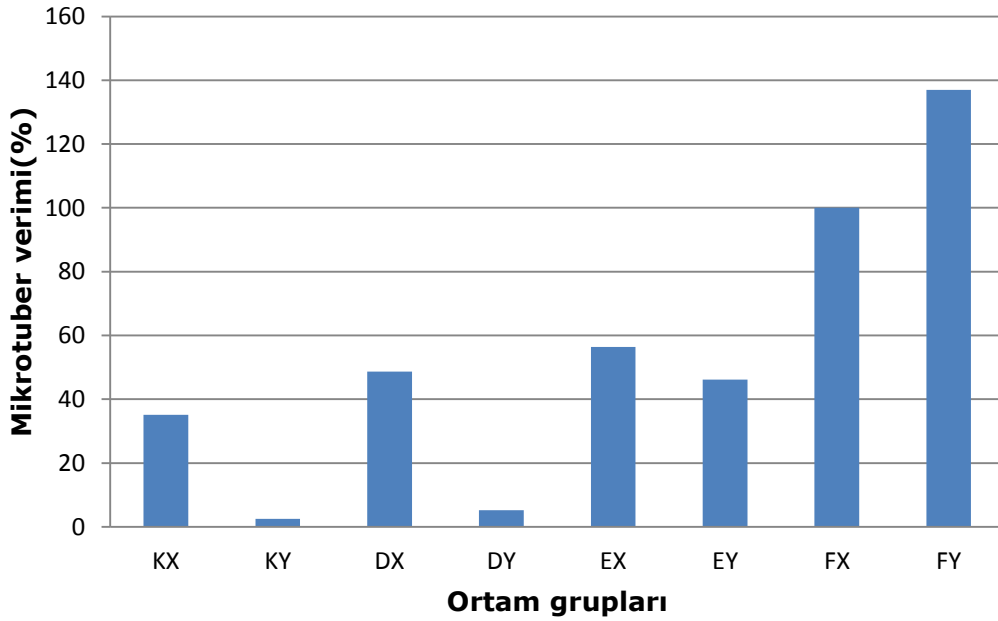
Ortam grubu	Foto-periyot	JA (0,2 mg/l)	AC (% 0,2)	Agar (%)	Ortam adı	Toplam eksplant sayısı	M.Tuber elde edilen eksplant sayısı ve eksplant verimi (%)	Mikro Tuber sayısı ve mikrotuber Verimi (%)	Ort. Mikrotuber Ağırlığı (mg)
K	Kısa gün	+	-	0,7	KX	37	12 (%32,43)	13 (%35,13)	59,2±25,2 <b>ab*</b>
	Karanlık	+	-	0,7	KY	40	1 (%2,5)	1 (%2,5)	9±0 <b>a</b>
D	Kısa gün	+	+	0,7	DX	38	13 (%34,21)	18 (%48,64)	58±11,3 <b>ab</b>
	Karanlık	+	+	0,7	DY	39	2 (%5,12)	2 (%5,12)	68,2±11,1 <b>ab</b>
E	Kısa gün	+	+	0,5	EX	40	9 (%22,5)	22 (%56,41)	47,3±9,4 <b>ab</b>
	Karanlık	+	+	0,5	EY	40	13 (%32,5)	18 (%46,15)	35,3±6,4 <b>ab</b>
F	Kısa gün	-	+	0,5	FX	40	26 (%65)	40 (%100)	127±21,5 <b>ab</b>
	Karanlık	-	+	0,5	FY	35	24 (%68,57)	48 (%137)	183±37,1 <b>b</b>
<b>Toplam</b>						309	100 (%32,36)	162 (%52,42)	106,3±12,9

\*Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $p < 0.05$ ).

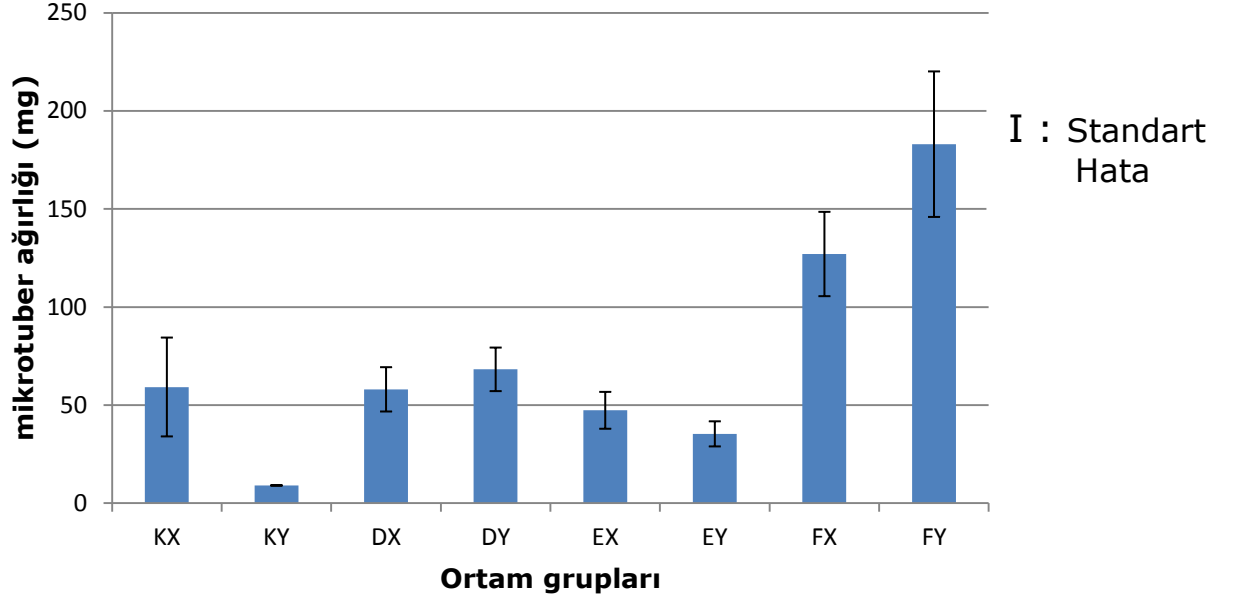
Çizelge 4.2. incelendiğinde eksplant verimi (mikrotuber elde edilen eksplant sayısı/toplam eksplant sayısı) ile mikrotuber verimi (mikrotuber sayısı/toplam eksplant sayısı) arasındaki ilişkinin genellikle doğru orantılı olarak arttığı gözlenmiştir. Buna göre yüksek mikrotuber verim yüzdesine sahip olan FY (Karanlık - %0,2 AC+%0,5 Agar)(%137) ve FX (Kısa gün - %0,2 AC+%0,5 Agar)(%100) ortam gruplarının mikrotuber elde edilen eksplantlarının verim yüzdesinin de yüksek olduğu (FY- %68,57 ve FX- %65); düşük mikrotuber verimine sahip olan KY (Karanlık - 0,2 mg/l JA+%0,7 Agar)(%2,5) ve DY (Karanlık - 0,2 mg/l JA + %0,2 AC+ %0,7 Agar)(%5,12) ortam gruplarının

mikrotuber elde edilen eksplantlarının verim yüzdesinin de düşük olduğu (KY- %2,5 ve DY- %5,12) görülmektedir.

Çizelge 4.2. incelendiğinde kısa gün fotoperiyodu ile mikrotuber ağırlığı arasındaki ilişkinin önemli olduğu fakat karanlık fotoperiyot ile mikrotuber ağırlığı arasındaki ilişkinin önemli olmadığı görülmektedir ( $p < 0.05$ ). Ayrıca denemelerde eksplantların verdiği tuber sayısına göre hesaplanan ve yüzde şeklinde elde edilen verimin, JA (0,2 mg/l) bulunan ortam gruplarında kısa gün fotoperiyodunda karanlık fotoperiyoda göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7.). Bunun sonucu olarak JA'ın etki mekanizmasında ışığın etkili olduğu düşünülmüştür. Diğer yandan AC (%0,2) tek başına ortamda bulunduğu (F grubu) karanlıkta daha yüksek verim elde edildiği gözlenmiştir (Şekil 4.7.). Dolayısıyla AC'nin karanlıkta daha etkili bir şekilde mikrotuber oluşum mekanizmasını desteklediği düşünülmüştür.



**Şekil 4.7.** Ortam bileşimi ve fotoperiyodun mikrotuber verimi (elde edilen tuber sayısı/eksplant sayısı) ile ilişkisi.



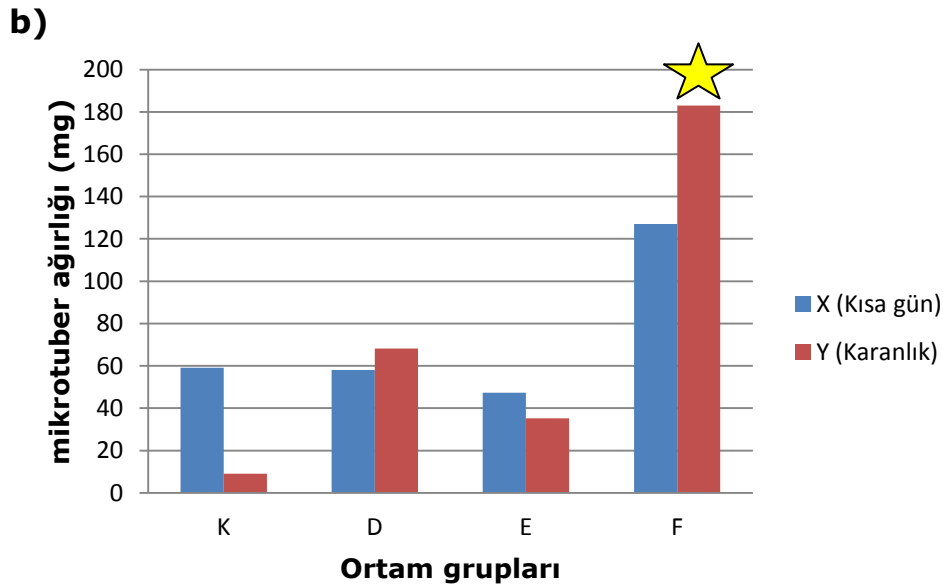
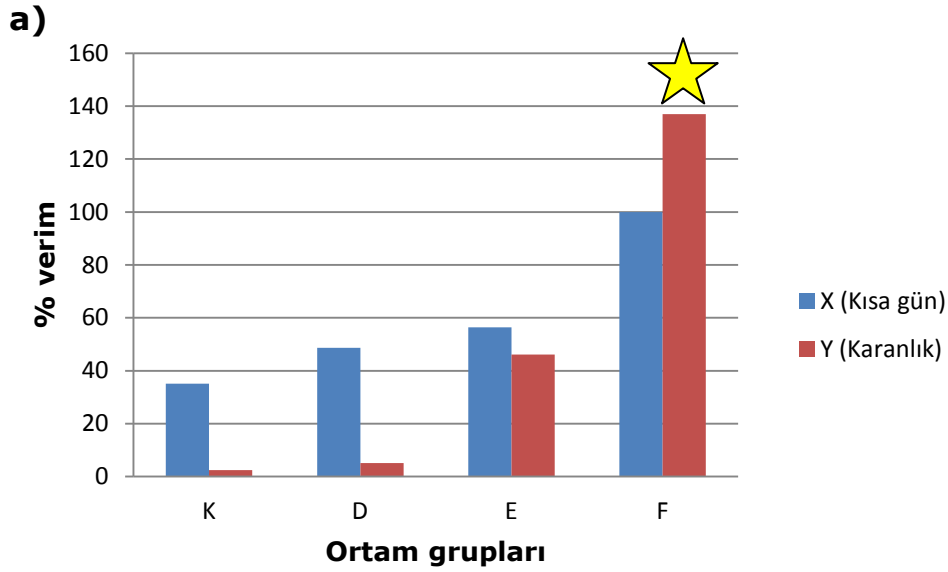
**Şekil 4.8.** Ortam bileşimi ve fotoperiyodun mikrotuber ağırlığı (mg) ile ilişkisi.

Çizelge 4.2. ve Şekil 4.8. incelendiğinde denemelerdeki ortam bileşimi ve fotoperiyot ile mikrotuber ağırlığı arasındaki ilişkinin önemli olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ) ve mikrotuber ağırlığı bakımından en yüksek değerler sırasıyla FY (Karanlık - %0,2 AC, %0,5 Agar)(183 mg) ve FX (Kısa gün - %0,2 AC, %0,5 Agar)(127 mg) gruplarında elde edilmiştir (Şekil 4.9. ve 4.10.). Bu sonuca göre aktif kömürün (AC) tuber ağırlığını artırıcı yönde etkisi olduğu tespit edilmiştir. İstatistiksel testler sonucunda ve aynı ortam grubunun her iki fotoperiyotta da yüksek değer vermesinden de anlaşılmıştır ki; fotoperiyot ile mikrotuber ağırlığı arasındaki ilişki önemli bulunmamıştır.



**Şekil 4.9.** FY (Karanlık - %0,2 AC+ %0,5 Agar) ortamında mikrotuberler.





**Şekil 4.10. a)** Fotoperiyodun mikrotuber verimine etkisi, **b)** fotoperiyodun ortalama mikrotuber ağırlıklarına olan etkisi.

Sonuç olarak; en yüksek mikrotuber verimi %137 ve en yüksek ortalama mikrotuber ağırlığı 183 mg olan grup FY (Karanlık- %0,2 AC, %0,5 Agar) olarak tespit edilmiştir. Mikrotuber oluşumu için en uygun koşulların karanlık fotoperiyotta %0,2 AC ve %0,5 agar eklenmiş çift fazlı MS besin ortamı olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.9. ve Şekil 4.10.).

Ayrıca tohumluk patates olarak kullanılması için üretilen mikrotuberler dış koşullara uyum sağlayıp sağlayamadıkları tespit edilmek üzere

saksılara ekilmiş ve 20-22 °C sıcaklık, 145  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  şiddetinde ışık ve 16 sa aydınlık 8 sa karanlık fotoperiyoduna ayarlanmış iklim odasında inkübe edilerek gözlenmiştir. Daha sonra mikrotuberlerden gelişen bitkilere bakıldığında mikrotuber ağırlığı daha fazla olan, yani daha iri mikrotuberlerden bitki gelişiminin daha hızlı olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.11.).



**Şekil 4.11.** Saksılara dikilen mikrotuberlerden bitki eldesi (3-4 haftalık bitkiler).

## 5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çalışmada ekonomik değeri olan *Solanum tuberosum* L. cv. Marfona'nın *in vivo* sürgün oluşumu, sonrasında yapılan *in vitro* sürgün ucu kültürü ve devamında mikroçoğaltılması ile elde edilen bitkiciklerden, mikrotuber oluşumu üzerinde Jasmonik Asit'in etkisi ve ayrıca farklı ortam tipleri ve fotoperiyotlarda JA'in, GA<sub>3</sub> ve aktif kömür ile olan ilişkisi araştırılmıştır.

İlk olarak, *S. tuberosum* L. cv. Marfona tuberlerinden, iklim odasında perlit doldurulmuş saksılarda 30-35 °C sıcaklık, %60-65 nem, 145 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> şiddetinde ışık ve 16 sa aydınlık 8 sa karanlık fotoperiyotta 4 hafta sonunda sürgün oluşumu sağlanmıştır. Benzer olarak Moeinil vd. [73], 16 sa aydınlık 8 sa karanlık fotoperiyotta, 37 °C sıcaklık, toprak ve kum doldurulmuş saksılardaki patates tuberlerinden sürgün elde etmişlerdir.

Çalışmamızda, tuberlerden elde edilen sürgün uçları, 30 g/l şeker, 7 g/l agar, 0,2 mg/l GA<sub>3</sub>, 0,2 mg/l Kinetin, 0,2 mg/l IAA ve 100 mg/l Myo-inositol ilave edilmiş pH'sı 5.8 olan DMS besin ortamlarında, 20-22 °C sıcaklık, 145 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> şiddetinde ışık ve 16 sa aydınlık 8 sa karanlık fotoperiyotta iklim odasında 2-2,5 ay sonunda bitkicikleri oluşturmuştur. Patateste benzer hormonları kullanmış olan Sangwan vd. [74] ise en iyi sonucu 0.1mg/l Kinetin, 0.1mg/l GA<sub>3</sub> ve 0.5mg/l IAA içeren MS besin ortamında elde etmişlerdir. Diğer yandan Zhang vd. [81], ortama 10 mg/l IAA ve 0.5 mg/l GA<sub>3</sub> ilave etmenin sürgün gelişimini teşvik ettiğini tespit etmişlerdir.

Sürgün ucu kültürü ile elde edilen bitkiciklerden alınan tek nodlar, 1.0 mg/l IAA ve 1.0 mg/l BAP ile 7g/l agar, 30g/l şeker, 60 mg/l myo-inositol, 0,4 mg/l thiamine, 1 g/l pridoksin ilave edilmiş pH'sı 5.8 olan DMS besin ortamlarında, 22 °C sıcaklık ve 16 sa aydınlık 8 sa karanlık fotoperiyotta 145 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> ışık şiddetinde koşullarında çoğaltılmıştır. Gopal vd. [65], mikroçoğaltım amacıyla, sürgün ucu kültürü ile elde edilen bitkiciklerden alınan tek nodları, 1,0 mg/l IAA ve 1,0 mg/l 6-

Benzilaminopürin (BAP) ile 7 g/l agar, 30 g/l şeker, 60 mg/l myo-inositol, 0,4 mg/l thiamine, 1 g/l pridoksin ilave edilmiş pH'sı 5.8 olan DMS besin ortamlarında, 22 °C sıcaklık ve 16 sa aydınlık 8 sa karanlık fotoperiyotta  $145 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ışık şiddeti koşullarında 4-7 hafta süreyle inkübe etmişlerdir.

Çalışmamızda gerek *in vivo*da tuberlerden sürgün oluşumu ve gerekse *in vitro*da sürgün ve bitki gelişimi, 16 sa aydınlık - 8 sa karanlık (uzun gün) fotoperiyotta gerçekleştirilmiştir.

Mikrotuberizasyon denemelerinin ilk aşamasında tek-nod patates eksplantlarından kısa gün (8 sa ışık ve 16 sa karanlık) fotoperiyodunda mikrotuber oluşumu bakımından 0,2 mg/l JA içeren çift fazlı besin ortamı (AOC) ve en iyi sonucu veren ortam olarak belirlenmiş ve ikinci aşamada kontrol grubu olarak ele alınmıştır. Sonraki mikrotuberizasyon denemelerinde JA (0,2 mg/l), AC (%0,2) ve agarın (%0,5, %0,7) farklı kombinasyonlarını içeren çift fazlı ortamlarda kısa gün (8 sa ışık – 16 sa karanlık) ve sürekli karanlık fotoperiyotlarında inkübe edilen tek nod eksplantlarından mikrotuber oluşumu üzerinde en etkili ortam ve koşulların %0,2 aktif kömür (AC) ve %0,5 agar içeren çift fazlı MS besin ortamı ve karanlık fotoperiyot olduğu belirlenmiştir. Mikrotuber denemelerinde besin ortamlarına %8 şeker ilave edilmiştir.

Patateste tuber oluşumu çevresel ve hormonal kontrol altında olan bir süreçtir. Aynı şekilde, mikrotuberizasyonda da *in vitro* büyüme koşulları arasındaki birçok ilişki mikrotuber oluşumunu etkilemektedir.

*In vitro* mikrotuberizasyonu etkileyen önemli faktörler; ortamdaki şeker konsantrasyonu, ortama ilave edilen büyüme düzenleyicilerin dozu, ortam tipi, kültür şekli ve patates kültürlerinin inkübe edildiği ortam koşulları (sıcaklık, fotoperiyot) olarak belirtilmektedir [76, 43, 82, 83].

Çalışmamızda Mikrotuberizasyon ortamına ilave edilen %8 şeker, tuber oluşumunu başarılı bir şekilde desteklemiştir. Benzer olarak, Aslam ve Iqbal [84] yaptıkları çalışmada, mikrotuber oluşumu için %8 şeker

konsantrasyonunun en iyi sonuçları verdiğini tespit etmişlerdir. Aynı şekilde Khuri ve Moorby [85] tarafından, yüksek şeker seviyesinin, kolayca bünyeye alınabilen ve mikrotuber gelişimi için nişastaya dönüştürülebilen iyi bir karbon kaynağı sağlamanın yanı sıra fazlaca şekerden dolayı oluşan yüksek ozmotik potansiyele bağlı olarak kesintisiz bir nişasta sentezi sağladığı belirtilmiştir.

Vreugdenhil vd. [86], kültür ortamının kompozisyonuna bağlı olarak, *in vitro* kültüre alınmış aksiller tomurcukların; %8 sukroz varlığında tuberlere, %1 sukroz varlığında sürgünlere ve %8 sukroz ve 0.5 µM giberellin varlığında stolonlara geliştigi gösterilmiştir. Araştırmada gelişimin farklı evrelerinde şekerin nişastaya dönüşümüne dahil olan içsel şeker, nişasta ve enzim seviyelerinde farklar olduğu; tuber oluşumu sırasında glukoz ve fruktoz miktarının azaldığı, diğer yandan sukroz sentaz, fruktokinaz ve ADP-glukoz pirofosforilaz aktivitelerinin arttığı belirlenmiştir. Bu artış tuberlerle sınırlı olmuş ve tomurcuk taşıyan stolonlarda görülmemiştir.

Patateste tuberizasyonun, karbonhidrat kaynağı, giberellinler ve antigiberellin-benzeri maddeler arasındaki etkileşimler tarafından düzenlendiği bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Harmey [87], giberellik asidin tuber oluşumunu güçlü bir şekilde inhibe ettiğini, indolasetik asit ve maleik hidrazid'in tuberizasyonu desteklediğini ve gövde parçaları karbonhidrat kaynağının yeterli olmadığı az şeker içeren ortamda ortama büyüme düzenleyicilerinin ilavesinin, tuberizasyonu teşvik edemediğini belirlemiştir.

Patateste tuber oluşumu üzerindeki en önemli çevresel faktörlerden biri fotoperiyottur. Kısa günlerin, tuber oluşumunu teşvik ettiği ve bu etkisinin GA<sub>1</sub> seviyesindeki azalma ile ilişkili olduğu bilinmekte ve ayrıca mikrotuberlerin oluşumunda, genotipin ve fotoperiyodik uygulamaların etkili olduğu belirtilmektedir [43, 88].

Carrera vd. [89] tarafından yabancı patateslerde tuberlerin sadece kısa günlerde oluştuğu ve bu tuber oluşumunun giberellin uygulanarak önlenemediği gösterilmiştir. Araştırmacılar ayrıca Giberellin biyosentez geni GA20ox'un transkripsiyonunun aydınlık-karanlık periyodunda azalıp çoğaldığını ve kısa günlerde GA<sub>1</sub> seviyelerinin azalmasına neden olduğunu belirtmektedirler. Nitekim GA20ox genini aşırı ifade eden patates bitkilerinde tuber oluşumu gecikirken, bir antisens gen aktarılarak GA20ox geninin açılması engellenince GA20ox tuber oluşumunu arttırması, patateste tuber oluşumunda bu genin önemini göstermektedir.

Genelde, de-etiyolasyon, ışığa bağımlı tohum çimlenmesi, rozet bitkilerde gövde büyümesinin fotoperiyodik kontrolü ve patateste tuber oluşumuna fitokromlar aracılık eder. Fitokromun kısmen, giberellin biyosentezi ve parçalanması ile ilgili genlerin transkripsiyonundaki değişikliklerle giberellin düzeyini ayarlayarak etki yaptığına ilişkin kanıtlar bulunmaktadır [43].

Tuberlerde göz adı verilen kısımlar dormansi kırılması ile filizlenir. Özellikle uzun gün uygulaması dormansiyi kırar. Tuber oluşumunu kısa gün ve dormansinin kırılmasını sağlayan uzun günün algılanmasının fitokrom tarafından yapıldığı kanısı yaygındır. Ayrıca sürgün büyümesini uyaran faktörler, çiçek, tuber ve meyve gelişimini engellemektedir.

Claassens ve Vreugdenhil [90], patates tuberlerinde dormansinin kırılmasının, tuber oluşumunun başlangıç sürecinin tersi olup olmadığını incelemişler ve sonuç olarak; tuber indüksiyonu ile dormansinin kırılması karşılaştırıldığında, bazı hormonal aktivitelerin zıt olarak çalışabileceğini, yani karbonhidratlar ve enzim aktivitelerinin tersine döndürülmüş olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Diğer bir çalışmada [86] ortama ilave edilen GA<sub>4/7</sub> stolon uzamasını destekleyip tuber oluşumunu inhibe ederken, ABA tuberizasyonu teşvik edip stolon uzamasını engellediği belirlenmiştir. İçsel GA<sub>1</sub> seviyesinin stolon uzaması sırasında yüksek olduğu, GA<sub>1</sub> seviyeleri ile ortamdaki

sukroz konsantrasyonunun negatif ilişkili olduğu ve GA<sub>1</sub>'in tuber oluşumu sırasındaki aktif GA olabileceği sonucuna varılmıştır. İçsel ABA seviyeleri stolon ve tuber gelişiminde düşmüş, ABA seviyeleri ise tuber oluşumunu indükleyen (yüksek sukroz) ve indüklemeyen (düşük sukroz) koşullar altında benzer seviyede kalmıştır. Araştırmacılar; GA'in tuber oluşumunda baskın bir düzenleyici olduğu, ABA'nın GA'in aksine tuberizasyonu teşvik ettiği ve sukrozun tuber oluşumunu GA seviyelerini kontrol altında tutarak düzenlediği sonucuna varmışlardır.

Vreugdenhil ve Sergeeva [91], bitkilerdeki içsel giberellin seviyelerini tuber oluşturmayan koşullar altında yüksek ve tuber oluşturan koşullar altında düşük olarak belirlenmiştir. Giberellin biyosentezi engelleyicileri (CCC, paclobutrazol vb.) uygulandığında tam tersi etki yaparken, ortama ilave edilen giberellinler tuber oluşumunu inhibe etmiştir. Giberellinlerin tuberizasyonda gerçekleşen hücrel olaylarda; yani hücre bölünmesi, hücre genişlemesi ve mikrotübüllerin yerleşiminde rol aldığını belirtmişlerdir.

Giberellin-fotoperiyot etkileşiminin patateste mikrotuberizasyonun kontrolüne etkisinin incelendiği diğer bir çalışmada [92] eksplant olarak kullanılan tek nodlar %2 sukroz içeren MS ortamında 6 hafta boyunca 16 sa aydınlık (uzun gün) fotoperiyodunda ve sonrasında 8 sa (kısa gün) ve 16 sa (uzun gün) fotoperiyotlarında 3 hafta daha inkübe edilmiştir. Daha sonra giberellin içeriği belirlenmiştir. *S. tuberosum ssp. andigena* bitkilerinin, tuber oluşumu için kısa gün fotoperiyoduna ihtiyaç duyduğu ve bu sürecin giberellinler tarafından da kontrol edildiği sonucuna varmışlardır. Ayrıca tuber oluşumunun, her ne kadar yer altı stolonlarında yer alıyor olsa da, fotoperiyodun yapraklarda algılandığını, ancak, fotoperiyoda bağlı tuber oluşumunun belli aşamalarında (tuber-indükleyici sinyallerin genlerini etkilemesi, stolonların tubere dönüşümü gibi) bu karmaşık gelişme işleminin düzenlenmesi için GA'lerin faaliyetine ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır.

Jasmonik asidin tuber indükleyici bir sinyal olarak taşındığını ve tuber oluşumunda ve gelişiminde yer aldığı belirtilmektedir [63]. Ortamda JA bulunduğunda GA<sub>3</sub>'in tuberizasyon üzerindeki inhibe edici etkisinin ortadan kaldırıldığı gözlenmiştir. Bunun nedeni olarak; JA'in GA'lerin etkisini antagonize etmesiyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür [83, 93].

Abdala vd. [94] yaptıkları çalışmada, bitki gelişiminin ilk aşamalarında en yüksek JA konsantrasyonunu yapraklarda tespit etmiş, tuber oluşumu basamağında ise en yüksek içeriğin köklerde olduğunu belirlemişlerdir. Tuber gelişimi basamağında stolonlardaki JA konsantrasyonunda önemli bir düşüş bulunmuştur. Yapraklardaki metil jasmonat (Me-JA), JA ile aynı tabloyu çizmemiştir; Me-JA konsantrasyonunun gelişim basamakları süresince azaldığı, ancak JA konsantrasyonunun yükseldiği gözlenmiştir. Toplamda en fazla miktarda JA+Me-JA şeklinde ifade olan JA, tuber oluşumunda belirlenmiştir. Belirlenen iki GA'ten, GA<sub>3</sub> bütün organlarda en çok bulunan olarak tespit edilmiştir. Tuber oluşumu aşamasında ise GA<sub>1</sub> ve GA<sub>3</sub> en çok stolonlarda bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar; JA ve GA'lerin yüksek seviyedeki konsantrasyonlarının gelişme dönemine bağlı olarak, özellikle stolon büyümesi ve tuber oluşumu aşamalarında farklı dokularda olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda, ortam tipi ve dikim şekli bakımından en iyi mikrotuber verimi ve mikrotuber ağırlığı çift fazlı (katı+sıvı) besin ortamında elde edildiği sonucuna benzer olarak; çeşitli mikrotuber üretim yöntemlerinde en iyi verimin iki fazlı katı çoğaltım-sıvı indüksiyon sisteminden alındığı gözlenmiştir [28]. Yapılan başka bir çalışmada [62] ise, sıvı ve katı ortamda mikrotuber oluşumu karşılaştırılmış ve sıvı ortamda inkübe edilen kültürlerden katı ortamdakilere göre ağırlığı daha fazla olan mikrotuberler elde edilmiştir. Pelacho vd. [95]'nin yaptığı bir çalışmada ise, yarı-katı ortamdan elde edilen tuberizasyon oranı ve tuber ağırlığı değerlerinin, sıvı ortamdan elde edilen değerlere göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda kullanılan ve iyi sonuç



veren çift fazlı (katı+sıvı) besin ortamının tuberizasyon üzerindeki olumlu etkisi, bitkinin, ortamda bulunan ve tuberizasyon için gerekli olan maddeleri daha iyi adsorbe edebilmesine bağlı olabilir.

Çalışmamızın mikrotuber deneylerinin ilk aşamasında, sadece JA bulunan ortamlarda tuber oluşması, JA ile birlikte GA<sub>3</sub>'in bulunduğu ortamlarda tuber elde edilememesinin, GA<sub>3</sub>'in JA üzerindeki antagonistik etkisi nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmüştür.

Benzer bir çalışmada da, giberellinler dışarıdan ilave edildiğinde tuber oluşumunda negatif etkisinin olduğu ve ayrıca içsel GA<sub>3</sub>'in tuber gelişimine destek olduğu görülmüştür [91]. Tuber oluşumu ve devamındaki tuber gelişimi, hücre bölünmeleri ve hücre büyümesinin bir sonucudur. İçsel GA<sub>3</sub>'in bu hücre bölünmelerinde yer aldığı düşünülmektedir [86]. Mikrotuberizasyonla ilişkilendirilen bir glikoprotein olan patatinin salınımına müdahalede bulunan GA<sub>3</sub>'ün dışarıdan ilave edilmesi, bu inhibisyonun tolere edilemeyecek seviyelere çıkmasına ve mikrotuber oluşumunun engellenmesine yol açmaktadır [96]. Ayrıca Jasik ve Mantell [60], JA etkisini 3 yam (*Dioscorea*) çeşidi üzerinde gözlemlemiş ve sonuç olarak; ortama JA ilavesinin mikrotuberizasyonu desteklediğini tespit etmiştir. Başka bir çalışmada [92] araştırmacılar, giberellinlerin, patateste tuberizasyonu teşvik eden 8 sa aydınlık- 16 sa karanlık fotoperiyodunda düzenleyici olarak görev aldığını ve tuber oluşumu ile giberellin varlığının negatif yönde ilişkili olduğunu belirlemişlerdir.

Çalışmamızda 1. Mikrotuberizasyon denemeleri sonucunda; eksplant dikim şekli, ortam tipi ve JA - GA<sub>3</sub> etkileşiminin mikrotuber oluşumuna etkisine bakıldığında en yüksek mikrotuber verimi %45,28 olarak çift fazlı ve 1 µg/l JA içeren ortamda belirlenmiştir. Mikrotuber ağırlığı bakımından ise en yüksek ağırlık ortalaması değeri 176 mg/tuber olarak çift fazlı kontrol ortamında belirlenmiştir. Benzer bir çalışmada [44] araştırmacılar, ortamda JA (2.5 mM) bulunduğunda daha fazla sayıda ve daha ağır mikrotuberler elde etmişlerdir. Patateste tuberizasyon,

stolondaki sub-apikal meristemin genişlemesiyle başlamakta ve jasmonatlar stolonların boyuna uzamasının önüne geçerek sub-apikal meristem genişlemesini teşvik etmektedir. Yapılan bir çalışmada [97], ortama ilave edilen  $3 \times 10^{-5}$  M JA'in tuber ağırlığını iki katına çıkardığı belirlenmiştir.

Tohumluk patates olarak kullanılacak mikrotuber kriterleri göz önünde bulundurulduğunda; çalışmamızda 1. aşamasındaki Mikrotuberizasyon denemelerinin tüm verilerine genel olarak bakıldığında mikrotuber elde etmek amacıyla hem mikrotuber verimi hem de mikrotuber ağırlığı açısından yüksek değerlere (Mikrotuber verimi = %36,53 ve Ort. Mikrotuber ağırlığı = 118 mg) sahip olan 0,2 mg/l JA içeren çift fazlı besin ortamının uygun olduğuna karar verilmiştir (Şekil 4.5.).

2. Mikrotuber deneme sonuçlarına göre; tuber verimi ve ortam içeriği ile fotoperiyot arasındaki ilişki incelendiğinde JA içeren besin ortamlarında, kısa gün fotoperiyodu altında karanlık fotoperiyoda göre daha yüksek değerler elde edilmiştir. Benzer olarak, Pruski vd. [44, 66], JA'in *in vitro* mikrotuberizasyon üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmalar sonucunda; kullandıkları patateslerde 8 sa aydınlık 16 sa karanlık fotoperiyotta, karanlık fotoperiyottan daha iyi mikrotuber oluştuğunu tespit etmişlerdir. Diğer çalışmalardan elde edilen bulgularla, çalışmamızdaki denemelerde bulunan sonuçlar birbirini destekler niteliktedir ve JA ile ışık arasında pozitif bir ilişki olduğuna işaret etmektedir. Bu pozitif ilişkinin mekanizması ise şöyle açıklanabilmektedir; bitkiler yağ asitlerinden önemli sinyal molekülleri oluşturabilmektedir. Sinyalin başlamasındaki anahtar basamak özgül bir fosfolipazın aktifleşmesini içerir. Fosfolipaz (A, C ve D) her biri özel bağlara özgüdür, karakteristik çözünürlük ve kromatografik davranışlara sahip ürünleri oluşturur. Bitkilerde salınan yağ asidi substratı linolenattır. Linolenatın jasmonata çevirildiği metabolik yoldaki ilk basamak bir lipoksigenazla katalizlenir [43, 98]. Lipoksigenaz plastid membranında bulunur ve fotofosforilasyon ile dahil olduğu metabolik

olaylar zincirine enerji sağlayarak teşvik eder. Dolayısıyla ışığa-bağımlı bir reaksiyonla harekete geçen sinyaller zinciri sonucunda jasmonik asit elde edildiğinden, JA ile ışık arasında pozitif bir ilişki olduğu desteklenmektedir.

Patateste mikrotuber oluşumu fotoperiyotla da kontrol edilen bir süreçtir ve bu konu hakkında çeşitli bulgular elde edilmiştir. Garner ve Blake [27] yaptıkları bir çalışmada, 8 sa aydınlık fotoperiyodun, mikrotuber üretimi açısından karanlık fotoperiyottan daha uygun olduğunu belirtmiştir. Aynı şekilde Khuri ve Moorby [99] ile Ranalli [100] de 8 sa kısa gün fotoperiyodunun mikrotuber üretiminde, tamamen karanlığa göre daha iyi sonuç verdiğini gözlemlemişlerdir. Buna karşın Pruski [44] yaptığı çalışmada, karanlık fotoperiyotta inkübe edilen kültürlerde, diğer fotoperiyotlara göre daha erken tuber oluşumu gözlediğini belirtmiştir. Ayrıca, Nistor [78] ve Hoque [67] yaptıkları çalışmalar sonucunda, mikrotuber oluşumunun teşviki ve gelişiminde karanlık fotoperiyodun en iyi sonuçları verdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca patateste mikrotuber oluşumu üzerinde giberellinlerin önemli etkileri vardır. Aktif giberellinlerin ( $GA_1$  gibi) içsel düzeyi, giberellin biyosentez ve parçalanmasını sağlayan enzim genlerinin transkripsiyonunu açarak ya da engelleyerek düzenlenmektedir. Fotoperiyot gibi (uzama veya patateste tuber oluşumu ile sonuçlanan) çevresel faktörler ve sıcaklık ve gövde ucundaki oksin de giberellin biyosentez genlerinin transkripsiyonunu etkileyerek, giberellin biyosentezini düzenlemektedir. Yani ışık, giberellin yıkım geninin transkripsiyonunu düzenleyerek  $GA_1$  biyosentezini düzenlemektedir [43]. Işık ile giberellinlerin sentezi arasında doğru orantı bulunmaktadır. Yani, giberellinlerin sentezi karanlıkta olabildiğince minimum olmakta, dolayısıyla da patateste mikrotuberizasyonu inhibe edici etki azalmakta hatta ortadan kalkmaktadır. Çalışmamızda, karanlık fotoperiyodun mikrotuber verim ve ağırlığının en yüksek değerlere sahip olduğu fotoperiyot olarak tespit edilmesi, bu mekanizmayı destekler niteliktedir.

2. Mikrotuber denemelerinde aktif kömür (AC)(%0,2) tek başına ortamda bulunduğu (F grubu) karanlık fotoperiyotta, 8 sa aydınlık fotoperiyoduna göre daha yüksek verim ve daha ağır mikrotuberler elde edildiği gözlenmiştir (Şekil 4.7.). Dolayısıyla AC'nin karanlıkta daha etkili bir şekilde mikrotuber oluşum mekanizmasını desteklediği kanısına varılmıştır. AC'nin mikrotuberizasyon üzerindeki pozitif etkisinin, etileni (güçlü bir tuberizasyon inhibitörü) adsorbe etmesinden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca, sonuçlar AC'nin hem ışıktaki hem de karanlıkta mikrotuber ağırlığını arttırmada major rol üstlendiğini ortaya koymuştur.

2. Mikrotuber denemelerinde çift fazlı ortamın katı fazında bulunan agar miktarı (%0.5 ve %0.7) ile mikrotuber verimi ve mikrotuber ağırlığı arasındaki ilişkinin önemli olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.2.). Benzer olarak, Tianyul vd. [101] yaptıkları çalışmada ortamdaki agar miktarının tuber indüklenmesini etkilemediğini gözlemlemişlerdir.

2. Mikrotuber denemelerinde AC'nin tek başına ortamda bulunduğu gruplarda (FX ve FY) mikrotuber verimi (FX-%100, FY-%137) ve mikrotuber ağırlığı (FX-127 mg, FY-183 mg) diğer gruplara göre önemli ölçüde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzer olarak, Beyazova [28], ortama aktif kömür eklenmesiyle tüp başına oluşan mikrotuber sayılarında fazla bir değişiklik olmadıysa da mikrotuber ağırlıklarının önemli ölçüde arttığını belirlemiştir.

Besin ortamları içerisinde bulunabilen veya bitki dokularının salgıladığı toksik (muhtemelen fenolik) bileşiklerin aktif kömür tarafından adsorbe edilebildiği ve böylece doku farklılaşması üzerine inhibitör etki yapabilecek maddelerin etkisini ortadan kaldırabileceği görüşü, araştırmacılar tarafından rapor edilmektedir [102]. Aktif kömürün, patatesteki mikrotuber oluşumunu teşvik ettiği birçok araştırmacı tarafından öne sürülmüş ve mikrotuberizasyon üzerindeki bu pozitif etkisi, ortamdaki etilenin (tuberizasyon için güçlü bir inhibitör) adsorbe edilmiş olabileceği ihtimali ile ilişkilendirilmiştir. Buna karşın, daha düşük

konsantrasyonda aktif kömür sürgün oluşumunu artırmıştır [68]. Ayrıca Beyazova [28] yaptığı çalışmada, mikrotuber üretimi için en uygun ortamı, %8 sukroz ve %0.2 aktif kömür içeren ortam ve en uygun inkübasyon koşulunu da 20 °C'de 8 hafta karanlık fotoperiyot olarak belirlemiştir.

Çalışmanın sonuçları özetlenecek olursa;

- Mikrotuber oluşumu için en iyi ortam tipinin çift fazlı besin ortamı olduğu,
- GA<sub>3</sub> ilave edilmiş besin ortamlarında mikrotuber oluşumunun engellendiği,
- JA'nin ortama ilavesinin mikrotuber oluşumu üzerinde olumlu etki gösterdiği ve bu etkiyi de GA<sub>3</sub>'e antagonistik etki yaparak sağladığı,
- JA-GA<sub>3</sub> etkileşimi ve ortam tipinin etkisi bakımından, 0.2 mg/l JA içeren ve GA<sub>3</sub> içermeyen çift fazlı besin ortamı (AOC)'nın en uygun olduğu,
- Mikrotuberizasyon için en uygun fotoperiyodun karanlık fotoperiyot olduğu ve buna içsel GA<sub>3</sub> sentezinin, dolayısıyla konsantrasyonunun azalmasıyla ilişkili olabileceği,
- Mikrotuber oluşumu üzerinde agar konsantrasyonunun (%0,5 ve %0,7) etkileri arasında önemli bir farkın bulunmadığı,
- 2. Mikrotuberizasyon deneyinde kısa gün ve karanlık JA ilave edilmiş ortamlardan hasat edilen mikrotuberlerin verimine bakıldığında kısa gün fotoperiyodunda, karanlıktan daha iyi sonuç verdiği ve dolayısıyla da JA ile ışık arasında pozitif bir ilişki olduğu,
- AC'nin mikrotuber oluşumunu JA'ten daha olumlu bir şekilde etkilediği,
- Tüm deneylerin sonucunda *in vitro* koşullarda *S. tuberosum* L. cv. Marfona'nın mikrotuberizasyonu için en uygun ortam koşullarının;

%0,2 aktif kömür (AC) ve %0,5 agar içeren çift fazlı MS besin ortamı ve karanlık fotoperiyot olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada, *Solanum tuberosum* L. cv. Marfona'da mikrotuberizasyon üzerine JA, GA<sub>3</sub>, AC, ortam tipi ve fotoperiyodun etkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar, literatüre muhtemelen önemli bir katkı sağlayacaktır. Bundan sonraki çalışmalarda, bu maddelerin (JA, GA<sub>3</sub>, AC) daha farklı konsantrasyonlarının ve daha başka tuberizasyon teşvik edici maddelerin araştırılması ve bunların daha farklı ortam koşullarının denenmesi, konunun daha net bir şekilde açıklanması ve tohumluk mikrotuber üretim mekanizmasının geliştirilmesi açısından yararlı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- [1] Zaman, M.S., Quraishi, A., Hassan, G., Raziuddin, Ali, S., Khabir, A., Gul, N., Meristem culture of potato (*Solanum tuberosum* L.) for production of virus-free plantlets, *Online Journal of Biological Sciences*, 1(10), 898-899, **2001**.
- [2] Güner, Ü., Ülkemizde Patateslerde Yapılmış Virüs Hastalıkları ile İlgili Araştırmalar, *IV. Ulusal Patates Kongresi Bildiriler Kitabı Özetleri* <http://www.patates.gov.tr/download.php?lng=tr> (Mayıs, **2013**).
- [3] Onaran, H., Ünlünen, L.A., Doğan, A., Patates Tarımı, Sorunları ve Çözüm Yolları, *T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Niğde Patates Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü*, Niğde, **2000**.
- [4] FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO) Statistical Data bases, <http://www.fao.org>, (Mayıs **2010**).
- [5] Esendal, E., Patates, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Samsun, 49, **1990**.
- [6] Er, C., Uranbey, S., Nişasta ve Şeker Bitkileri, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ders kitabı 458, Ankara, **1998**.
- [7] Dane, E., Pratt, M.G., *Exploring Intuition and its Role in Managerial Decision Making Academy Management Review*, **32**, 1, 33-54, **2007**.
- [8] Hansen, H.J., *Studies on Arthropoda II. On the comparative morphology of the appendages in the Arthropoda. A. Crustacea*, Copenhagen, Denmark, **1925**.
- [9] Jadhav, S.J., Salunkhe, D.K., Wyse, R.E., Daduis, R.R. Solanum alkaloids: Biosynthesis and inhibition by chemicals, *Journal of Food Science*, 38, 453, **1973**.
- [10] Dalvi, R.R., Bowie, W.C., Toxicology of sotanine: an overview Glycoalkaloid, potato plant *Solanum tuberosum*, *Veterinary Hltman Toxicology*, 25,13-15, **1983**.

- [11] Phillips, B.J., Hughes, J.A., Phillips, J.C., Walters, D.G., Anderson, D., Tahourdin, C.S.M., A study of the toxic hazard that might be associated with the consumption of green potato tops, *Food Chemistry and Toxicology*, 34, 439-448, **1996**.
- [12] Burrows, G.E., Tyrl R.J., Toxic Plants of North America, *Iowa State University Press*, 1342, **2001**.
- [13] Oruna-Concha, M.J., Duckham, S.C., Ames, J.M., Comparison of volatile compounds isolated from the skin and flesh of four potato cultivars after baking, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2414-2421, **2001**.
- [14] Khalid, S., Iftikhar, S., Munir, A., Ahmad, I., Potato disease in Pakistan, *Published by Pakistan Agricultural Research Council*, 11-15, 32-36, 37-42. **2000**.
- [15] Shojaei, T.R., Sepahvand, N.A., Omid, M., Abdi, H.R., Naraghi, M.S., The effect of plant growth regulators, cultivars and substrate combination on production of virus free potato minitubers, *African Journal of Biotechnology*, 8 (19), 4864-4871, **2009**.
- [16] Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S., Mikroçoğaltım, Bitki Biyoteknolojisi I, Doku Kültürü ve Uygulamaları, *S. Ü. Vakfı Yayınları*, Konya, 262-281, **2001**.
- [17] Kumlay, A.M., Patateste (*Solanum tuberosum* L.) In Vitro Şartlarda Mikro Yumru Elde Edilmesinde Değişik Fotoperiyot Uygulamaları ve Besin Ortamlarının Etkisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2005**.
- [18] Çalışkan, M.E., Arıoğlu, H., Kuşman, N., Çalışkan, S., Gerçek Patates Tohumu Teknolojisinin Türkiye'de Verim Potansiyeli Ve Uygulanabilirliği, *IV. Ulusal Patates Kongresi Bildiriler Kitabı Özetleri*, <http://www.patates.gov.tr/download.php?lng=tr>, **2006**.
- [19] Jones, E.D., A Current Assessment of *in vitro* Culture and Other Rapid Multiplication Methods in North America and Europe, *American Potato Journal*, 65, 209-220, **1988**.
- [20] Struik, P.C., Lommen, W.J.M., Production, Storage and Use of Micro and Minitubers, *In Proceedings 11<sup>th</sup> Triennial Conference of*



*European Association for Potato Research*, Edinburgh, 122-133, **1990**.

- [21] Lommen, W.J.M., *Basic Studies on the Production and Performance of Potato Minitubers*, Thesis Landbouw Universiteit Wageningen, **1995**.
- [22] Yıldırım, Z., Tugay, E., Beş Patates Genotipinin *in vitro* Koşullarda Mikro Yumru Oluşturması Üzerinde Bir Araştırma, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 39(1), 41-45 , **2002**.
- [23] Özkaynak, E., Samancı, B., Farklı Yetiştirme Ortamlarının Sera ve İklim Odası Koşullarında Patates (*Solanum tuberosum* L.) Mini Yumru Üretimine Etkileri ,Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 17(2), 109-114 , **2004**.
- [24] Engiz, A., Türkiye’de Patates Tohumluğu Üretimine Ekonomik Yönden Değerlendirilmesi – Nevşehir Örneği, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2007**.
- [25] Hussey, G., Stacey, N.J., Factors Affecting The Formation of *in vitro* Tubers Of Potato (*Solanum tuberosum* L.), *Annals of Botany*, 53, 565-578, **1984**.
- [26] Ortiz-Montiel, G., Lozoya-Saldana, H., Potato Minitubers: Technology Validation in Mexico, *American Potato Journal*, 64, 535-544, **1987**.
- [27] Garner, N, Blake, J., The Induction And Development Of Potato Microtubers *in vitro* On Media Free Of Growth Regulating Substances, *Annals of Botany*, 63, 663-674, **1989**.
- [28] Beyazova, S., Production of Microtubers in Potato (*Solanum tuberosum*), Yüksek Lisans Tezi, Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Ankara, **1999**.
- [29] Öztürk, G., Patateste (*Solanum tuberosum* L.) *In Vitro* Koşullarda Mikro Yumru Üretimine Farklı Besin Ortamlarının Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2003**.

- [30] Chevre, A.M., Gill, S.S., Mouras, A., Salesses, G., *In vitro* Vegetative Multiplication Of Chestnut, *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 58, 23-29, **1983**.
- [31] Palmer, C.E., Smith, O.E., Cytokinins And Tuber Initiation In Potato *Solanum tuberosum* L., *Nature*, 221, 279-280, **1969**.
- [32] Wang, P., Hu, C., *In vitro* Mass Tuberization And Virus-Free Seed-Potato Production in Taiwan, *American Potato Journal*, 59, 33-37, **1982**.
- [33] Estrada, R., Tovar, P., Dodds, J.H., Induction of *in vitro* Tubers in a Broad Range of Potato Genotypes, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 7, 3-10, **1986**.
- [34] Vecchio, V., Ferraro, S.G., Pagano, M.T., Andrenelli, L., Effect of Saccharose and CCC [(2-chloroethyl) trimethylammonium chloride] on *in vitro* Production of Microtubers of Potato Cultivars (*Solanum tuberosum* L.), *Sementi-Elette*, 40, 63-68, **1994**.
- [35] Koda, Y., Omer, E.A., Yoshihara, T., Shibata, H., Sakamura, S., Okazawa, Y., Isolation of a Specific Potato Tuber-inducing Substance From Potato Leaves, *Plant Cell Physiology*, 29, 1047-1051, **1988**.
- [36] Yoshihara, T., Omer, E.A., Koshino, H., Sakamura, S., Kikuta, Y., Koda, Y., Structure of a Tuber-inducing Stimulus From Potato Leaves (*Solanum tuberosum* L.), *Agricultural Biology Chemistry*, 53, 2835-2837, **1989**.
- [37] Kiyota, H., Saitoh, M., Oritani, T., Yoshiara, T., Synthesis and Potato Tuber-inducing Activity of methyl 5',5',5'-trifluorojasmonate, *Phytochemistry*, 42, 1259-1262, **1996**.
- [38] Zaib-Un Nissa, A., Rafiq, A., Effect of ABA and GA<sub>3</sub> on Tuberization and Some Chemical Constituent of Potato, *Plant Cell Physiology*, 21, 1343-1346, **1980**.
- [39] Bhatia, A.K., Pandita, M.L., Khurana, S.C., Plant Growth Substances and Sprouting Conditions-II. Effect on Tuber Yield and Multiplication Rate in Seed Potato Production, *Journal of Indian Potato Association*, 19, 154-156, **1992**.
- [40] Kim, S.K., Kim, J.T., Jang, S.W., Lee, S.C., Lee, B.H., Lee, I.J., Exogenous Effect of Gibberellins and Jasmoate on Tuber

- Enlargement of *Dioscorea opposita*, *Agron Resource*, 3, 39-44, **2005**.
- [41] Jasik, J., de Klerk, G.J., Effect of Methyl Jasmonate on Morphology and Dormancy Development in Lily Bublelets Regenerated *in vitro*, *Journal of Plant Growth Regulation*, 25, 45-51, **2006**.
- [42] Campbell, N.A., Reece, J.B., Biology (çev: Gündüz, E., Demirsoy, A., Türkan, İ.), Palme Yayıncılık, Ankara, **2006**.
- [43] Taiz, L., Zeiger, E., Bitki Fizyolojisi, 3. Baskıdan Çeviri (Çeviri editorü: Türkan, İ.), Palme Yayıncılık, Ankara, **2008**.
- [44] Pruski, K., Duplessis, P., Lewis, T., Astatkie, T., Nowak, J., Struik, P.C., Jasmonate Effect on *in vitro* Tuberization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Cultivars Under Light and Dark Conditions, *Potato Research*, 44, 315-325, **2002**.
- [45] Zhang, Z.J., Li, H.Z., Zhou, W.J., Takeuchi, Y., Yoneyama, K., Effect of 5-aminolevulinic Acid on Development and Salt Tolerance of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Microtubers *in vitro*, *Plant Growth Regulation*, 49, 27-34, **2006**.
- [46] Rayirath, U.P., Lada, R.R., Caldwell, C.D., Asideu, S.K., Sibley, K.J., Role of Ethylene and Jasmonic Acid on Rhizome Induction and Growth in Rhubarb (*Rheum rhabarbaum* L.), *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 105, 253-263, **2011**.
- [47] Fan, X., Mattheis, J.P., Methyl Jasmonate Promotes Apple Fruit Degreening Independently of Ethylene Action, *Hortscience*, 34(2), 310-312, **1999**.
- [48] Sembdner, G., Parthier, B., Biochemistry, Physiological and Molecular Actions of Jasmonates, *Annual Review of Plant Physiology*, 44, 569-589, **1993**.
- [49] Koda, Y., Possible Involvement of Jasmonates in Various Morphogenic Events, *Physiologia Plantarum*, 98, 407-412, **1997**.
- [50] Biondi, S., Formale, S., Oksman-Caldentey, K.M., Eeva, M., Agostani, S., Bagni, N., Jasmonates Induce Over-accumulation of Methylputrescine and Conjugated Polyamines in *Hyoscyamus muticus* L. Root Cultures, *Plant Cell Reports*, 19, 691-697, **2000**.

- [51] Schaller, F., Schaller, A., Stinzi, A., Biosynthesis and Metabolism of Jasmonates, *Journal of Plant Growth Regulation*, 23, 179-199, **2005**.
- [52] Redman, A.M., Cipollini, D.F., Schultz, J.C., Fitness Cost of Jasmonic Acid-induced Defense in Tomato, *Lycopersicon esculentum*, *Oecologia*, 126, 380-385, **2000**.
- [53] Günalp, B., *Patlıcan (Solanum melongena L.) Embriyo Kültüründe Jasmonik Asit ve Tuz Stresi Etkileşiminin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara, **2011**.
- [54] Lorenzo, O., Solano, R., Molecular players regulating the jasmonate signaling network, *Curr Opin Plant Biol*, 8, 532-540. **2005**
- [55] Van den Berg, J.H., Ewing, E.E., Jasmonates and Their Role in Plant Growth and Development With Special Reference To The Control of Potato Tuberization: A Review, *American Potato Journal*, 68, 781-794, **1991**.
- [56] Koda, Y., Kikuta, Y., Tazaki, H., Tsujino, Y., Sakamura, S., Yoshihara, T., Potato Tuber inducing Activities of Jasmonic Acid and Related Compounds, *Phytochemistry*, 30, 1435-1438, **1991**.
- [57] Pelacho, A.M., Mingo-Castel, A.M., Jasmonic Acid induces Tuberization of Potato Stolon Cultured *in vitro*, *Plant Physiology*, 97, 1253-1255, **1991**.
- [58] Ravinkar, M., Vilhar, B., Gogala, N., Stimulatory Effects of Jasmonic Acid on Potato Node and Protoplast Culture, *Journal of Plant Growth Regulation*, 11, 29-33, **1992**.
- [59] Zhang, W., Curtin, C., Kikuchi, M., Franco, C., Integration of Jasmonic Acid and Light Irradiation For Enhancement of Anthocyanin Biosynthesis in *Vitis Vinifera* suspension Cultures, *Plant Science*, 162, 459-468, **2002**.
- [60] Jasik, J., Mantell, S.H., Effects of Jasmonic Acid and its Methyl ester on *in vitro* Microtuberization of Three Food Yam (*Dioscorea*) Species, *Plant Cell Reports*, 19, 863-867, **2000**.
- [61] Debeljak, N., Regvar, M., Dixon, K.W., Sivasithamparam, K., Induction of Tuberisation *in vitro* With Jasmonic Acid and

- Sucrose in an Australian Terrestrial Orchid, *Pterostylis sanguinea*, *Plant Growth Regulation*, 36, 253–260, **2002**.
- [62] Rosell, G., Bertoldi, F.G., Tizio, R., In vitro Mass Tuberisation As a Contribution to Potato Micropropagation, *Potato Research*, 30, 1, 111-116, **1987**.
- [63] Jackson, S.D., Willmitzer, L., Jasmonic Acid Spraying Does Not Induce Tuberisation in Short-Day-Requiring Potato Species Kept in Non-inducing Conditions, *Planta*, 194, 2, 155-159, **1994**.
- [64] Caldiz, D.O., Seed Potato (*Solanum tuberosum* L.) Yield and Tuber Number Increase After Foliar Applications of Cytokinins and Gibberellic Acid Under Field and Glasshouse Conditions, *Plant Growth Regulation*, 20, 3, 185-188, **1996**.
- [65] Gopal, J., Minocha, J.L., Dhaliwal, H.S., Microtuberization in Potato (*Solanum tuberosum* L.), *Plant Cell Reports*, 17, 794-798, **1998**.
- [66] Pruski, K., Duplessis, P., Lewis, T., Astatkie, T., Nowak, J., Jasmonate Effect On *in vitro* Tuberization Of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Cultivars Under Light And Dark Conditions, *Potato Research* 44 315-325, **2001**.
- [67] Hoque, M.E., *In vitro* Tuberization in Potato (*Solanum tuberosum* L.), *Plant Omics Journal*, 3(1), 7-11, **2010**.
- [68] Lajayer, H.M., Esmailpour, B., Chamani, E., Hinokitiol And Activated Charcoal Influence The Microtuberization And Growth Of Potato (*Solanum Tuberasum* Cv. Agria) Plantlets *in vitro*, *Australian Journal of Crop Science*, 5(11), 1481-1485, **2011**.
- [69] Kianmehr, B., Parsa, M., Otroshy, M., Mohallati, M.N., Moradi, K., Effect Of Plant Growth Regulators During *in vitro* Phase Of Potato Microtuber Production, *Journal of Agricultural Technology*, 8(5), 1745-1759, **2012**.
- [70] Murashige, T., Skoog, F., A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures, *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497, **1962**.
- [71] Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S., Bitki Biyoteknolojisi, *S.Ü. Vakfı Yayınları*, Konya, **2001**.
- [72] Özkaynak, E., Samancı, B., Farklı Mini Yumru Büyüklüklerinde Patates (*Solanum tuberosum* L.) Çeşitlerinde Verim ve Verim

Komponentleri Arasındaki İlişkiler, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 17(2), 127-133, **2004**.

- [73] Moeinil, M.J., Armin, M., Asgharipour, M.R., Yazdi, S.K., Effects of Different Plant Growth Regulators and Potting Mixes on Micro-propagation and Mini-tuberization of Potato Plantlets, *Advances in Environmental Biology*, 5(4), 631-638, **2011**.
- [74] Sangwan, R.S., Detrez, C., Sangwan-Norreel, B.S., In Vitro Culture Of Shoot-Tip Meristems In Some Higher Plants, *Symposium on In Vitro Problems Related to Mass Propagation of Horticultural Plants*, **1987**.
- [75] Grigoriadou, K., Leventakis, N., Large Scale Commercial Production Of Potato Minitubers, Using *in vitro* Techniques, *Potato Research*, 42, 607-610, **1999**.
- [76] Romanov, G.A., Aksenova, N.P., Konstantinova, T.N., Golyanovskaya, S.A., Kossman, J., Willmitzer, L., Effect of indole-3-Acetic Acid and Kinetin On Tuberation Parameters Of Different Cultivars and Transgenic Lines Of Potato *in vitro*, *Plant Growth Regulation*, 32, 245-251, **2000**.
- [77] Tican, A., Chiru, N., Ianosi, M., Ivanovici, D.E., Sand, C., In Vitro Culture And Micro / Mini Tubers Behavior Of Romanian Potato Varieties Christian And Roclas On Microtubers Production, *17th Triennial Conference Of European Association For Potato Research*, July 6-10, Braşov, Romania, **2008**
- [78] Nistor, A., Campeanu, G., Atanasiu, N., Chiru, N., Karácsonyi, D., Influence of Potato Genotypes on "in vitro" Production of Microtubers, *Romanian Biotechnological Letters*, 15, 3, **2010**.
- [79] Sokal, R., Rohlf, F.J., *Biometry*, The Principles and Practice of Statistics in Biological Research, Third Edition, W.H. Freeman and Co., New York, USA, **1995**.
- [80] Kruskal, W.H., Wallis, W.A., Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis, *Journal of the American Statistical Association*, 47, 260, 583-621, **1952**.
- [81] Zhang, Z., Zhou, W., The Role of GA, IAA and BAP in The Regulation of *in vitro* Shoot Growth and Microtuberization in potato, *Acta Physiologiae Plantarum*, 27, 3B, 363-369, **2005**.

- [82] Ewing, E.E., The role of hormones in potato (*Solanum tuberosum* L.) tuberization, In: Davies, P.J., (ed) Plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Molecular Biology, *Dordrecht: Kluwer Academic Publishers*, 698-724, **1995**.
- [83] Castro, G., Guillermina, A., Agüero, C., Tizio, R., Interaction Between Jasmonic And Gibberellic Acids On *in vitro* Microtuberization Of Potato Plantlets, *Potato Research*, 43, 83-88, **2000**.
- [84] Aslam, A., Iqbal, J., Combined Effect Of Cytokinin And Sucrose On *in vitro* Tuberization Parameters Of Two Cultivars, Diamant And Red Norland Of Potato (*Solanum Tuberosum*) , *Pakistan Journal of Botany*, 42, 2, 1093-1102, **2010**.
- [85] Khuri, S., Moorby, J., Investigations into the Role of Sucrose in Potato cv. Estima Microtuber Production *in vitro*, *Annals of Botany*, 75, 295-303, **1995**.
- [86] Vreugdenhil, D., Xu, X., Lammeren, A.A.M., Cell Division And Cell Enlargement During Potato Tuber Formation, *Journal of Experimental Botany*, 49, 320, 573-582, **1998**.
- [87] Harmey, M.A., Ikuma, H., Bonner, W.D., Near Ultra-violet Spectrum of White Potato Mitochondria, *Nature*, 209, 174-175, **1966**.
- [88] Seabrook, J.E.A., Colpman S., Levy, D., Effect of Photoperiod on *in vitro* Tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.), *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 34, 1, 43-51, **1993**.
- [89] Carrera, E., Bou, J., Garcia- Martinez, J.L., Prat, S., Changes in GA 20-oxidase Gene Expression Strongly Affect Stem Length, Tuber Induction and Tuber Yield of Potato Plants, *The Plant Journal*, 22, 3, 247-256, **2000**.
- [90] Claassens, M.J., Vreugdenhil, D., Is Dormancy Breaking of Potato Tubers the Reverse of Tuber Initiation?, *Potato Research*, 43, 347- 369, **2000**.
- [91] Vreugdenhil, D., Sergeeva, L.I., Gibberellins and Tuberization in Potato, *Potato Research*, 42, 471 -481, **1999**.
- [92] Martinez-Garcia, J.F., Garcia-Martinez, J.L., Bou, J., Prat, S., The Interactionm of Gibberellins and Photoperiod in the Control of

- Potato Tuberization, *Plant Growth Regulation*, 20, 377-386, **2002**.
- [93] Jackson, S.D., Multiple Signaling Pathways Control Tuber Induction in Potato, *Plant Physiology*, 119, 1-8, **1999**.
- [94] Abdala, G. , Castro, G., Miersch, O., Pearce, D., Changes in Jasmonate and Gibberellin Levels During Development Of Potato Plants (*Solanum tuberosum*), *Plant Growth Regulation*, 00, 1-6, **2000**.
- [95] Pelacho, A.M., Martin-Closas, L., Sanfeliu, J.L.I., *In vitro* Induction of Potato Tuberization by Organic Acids, *Potato Research* 42, 585-591, **1999**.
- [96] Hannapel, D.J., Miller, J.C., Park, W.D., Regulation Of Potato Tuber Protein Accumulation By Gibberellic Acid, *Plant Physiology*, 78, 700-703, **1985**.
- [97] Takahashi, K., Fujino, K., Kikuta, Y., Koda, Y., Expansion of Potato Cells in Response To Jasmonic Acid, *Plant Science*, 100, 3-8. **1994**.
- [98] Nelson, D.L., Cox, M.M., Lehninger Biyokimyanın İlkeleri, 3. Baskıdan çeviri, (çev: Kılıç, N.), *Palme yayıncılık*, **2005**.
- [99] Khuri, S., Moorby, J., Nodal Segments or Microtubers As Explants For *in vitro* Microtuber Production Of Potato, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 45, 215-222, **1996**.
- [100] Ranalli, P., Innovative Propagation Methods in Seed Tuber Multiplication Programmes, *Potato Research*, 40, 439-453, **1997**.
- [101] Tianyu, Z., Junlian, Z., Di, W., Li, W., Yansen, C., Ximei, D., Yuhui, L., Youzhong, L., Study on the Optimization of Inducing Potato Microtuber System in Different Varieties, *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 10, **2006**.
- [102] Pierik, R.L.M., *In Vitro* Culture of Higer Plants, *Martinus Nijhoff Publishers*, Dordrect, 344, **1987**.



# ÖZGEÇMİŞ

## Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: SERAY KENAR

Doğum Yeri: İSTANBUL

Medeni Hali: BEKAR

E-posta: [kenar05@hacettepe.edu.tr](mailto:kenar05@hacettepe.edu.tr)

Adresi:

## Eğitim

Lise: Metin-Nuran Çakallıklı Anadolu Lisesi

Lisans: Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi

Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı

## Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce- Advanced (ileri)

## İş Deneyimi

-

## Deneyim Alanları

-

## Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

-

## Tezden Üretilmiş Yayınlar

-

## **Tezden Üretilmiş Tebliğ**

Kenar, S., Tıyrıdamaz, S., Patateste (*Solanum tuberosum* L.) *in vitro* mikrotuberizasyon üzerine bazı faktörlerin etkilerinin araştırılması, *Kırgızistan Birinci Uluslararası Biyoloji Kongresi*, 24-26 Eylül, Bişkek, KIRGIZİSTAN, **2012**.