T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PORTEKİZ GANDERA YEREL TATLI PATATES (*IPOMOEA BATATAS* (L.) Lam) GENOTİPİNİN *İN VİTRO* MİKROÇOĞALTILMASI ÜZERİNE BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNİN VE BESİ ORTAMLARININ ETKİSİ

Gülbahar BAYDEMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

Şubat 2021

T.C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DİYARBAKIR

Gülbahar BAYDEMİR tarafından yapılan "Portekiz Gandera Yerel Tatlı Patates (*Ipomoea Batatas* (L.) Lam) Genotipinin *İn Vitro* Mikroçoğaltılması Üzerine Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin ve Besi Ortamlarının Etkisi" konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Vedat PİRİNÇ

Üye : Prof. Dr. Ahmet ONAY

Üye : Prof. Dr. Hakan YILDIRIM

Üye : Doç. Dr. …..

Üye : Yrd. Doç. Dr. …..

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 16/02/2021

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../.....

Prof. Dr. …..

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bütün hayatım boyunca yanımda olan, çalışmalarımı destekleyen ve bana güven veren aileme tüm kalbimle sonsuz saygılarımı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Yüksek lisans eğitimim boyunca danışmanlığımı üstlenen ve yardımlarını benden esirgemeyen kıymetli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Vedat PİRİNÇ hocama sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmamı yürütmüş olduğum Coimbra Politeknik Üniversitesi'nde ikinci danışmanlığımı üstlenen, tez konumun belirlenmesinde ve yürütülmesinde her türlü maddi manevi desteklerini benden esirgemeyen, istatistik analizlerimde bana yardımcı olan, bilgi ve tecrübelerinden faydalanma imkanı bulduğum değerli Prof. Dr. Filomena Gomes hocama en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmamı yapmam için bana her zaman yardımda bulunan, hem göstermiş oldukları sabırlarından dolayı hem de yakın arkadaşlıklarından dolayı Mafalda Simoes, Fabio Castro ve Barbara Gomes'e, tez yazım aşamasında teknik sorunlarıma hiç sıkılmadan yardımda bulunan değerli arkadaşım Bilgisayar Yük. Müh. Bartosz Grzybowski'ye sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

GÜLBAHAR BAYDEMİR

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR…….. I

İÇİNDEKİLER……..... II

ÖZET……..... IV

ABSTRACT……..... V

KISALTMA VE SİMGELER.……..……..... VI

ÇİZELGE LİSTESİ……..……..... VII

ŞEKİL LİSTESİ……..... VIII

1. GİRİŞ…….……..... 1

2. KAYNAK ÖZETLERİ…….. 9

2.1. Tatlı Patates ile ilgili Yapılan *İn Vitro* Çalışmalar……..... 9

2.2. Tatlı Patates ile ilgili Yapılan Diğer Çalışmalar…..……..... 22

3. MATERYAL ve METOT…….. 25

3.1. Materyal……..... 25

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Eksplant…….……..... 25

3.2. Metot……...……. 26

3.2.1. Sterilizasyon Teknikleri…… 26

3.2.1.1. Cam Malzeme ve Ekipmanların Sterilizasyonu…… 26

3.2.1.2. Metal Malzeme ve Ekipmanlarının Sterilizasyonu……...…… 26

3.2.1.3 Kağıt Malzemelerin Sterilizasyonu…….…….. 27

3.2.1.4 Kültür Kabinlerinin Hazırlanması ve Sterilizasyonu……..…….. 27

3.2.1.5. Besi Ortamlarının Sterilizasyonu……...…..... 27

3.2.2. Besi Ortamlarının Hazırlanması……..... 27

3.2.3. İklim (Kültür) Odası…….……..... 30

3.2.4. Uygulamalar Kapsamında Test Edilen Parametreler……..... 31

3.2.5. *İn vitro*'da Eksplantların Kültürlenmesi ve Gelişmesi ...…….. 32

3.2.5.1. Farklı Dozlarda BBD İçeren ½MS Ortamlarının Karşılaştırılması..... 34

3.2.5.2. Deneme Gruplarının Kontrol FS ve MS ile Karşılaştırılması……... 34
3.2.5.3. Farklı Ortamların Bitki Gelişimi Üzerindeki Etkisi……. 34
Farklı BA Dozlarının ve Diğer BBDlarla Kombinasyonda Gelişime Etkisi.. 34
GA_3'ün Farklı Dozlarının Diğer BBDlarla Kombinasyonda Gelişime Etkisi. 35
NAA'nın Farklı Dozlarının Diğer BBDlarla Kombinasyonda Gelişime Etkisi……. 35
3.2.5.4. Uygulama Sonuçlarına Göre Kök/Sürgün Oranlarının Karşılaştırılması……. 35
- Farklı dozlarda BA'nın kök/sürgün oranına etkisi…… 35
- Farklı dozlarda GA_3'ün kök/sürgün oranına etkisi…… 35
- Farklı dozlarda NAA'nın kök/sürgün oranına etkisi…… 36
3.2.6. Verilerin Analizi…… 36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI…… 37
4.1. Farklı Dozlarda BBD İçeren ½MS Ortamlarının Karşılaştırılması…..…… 37
4.2. Deneme Gruplarının Kontrol FS ve MS ile Karşılaştırılması…….. 41
4.3. Farklı Ortamların Bitki Gelişimi Üzerindeki Etkisi……. 45
4.3.1. Farklı BA Dozlarının ve Diğer BBDlarla Kombinasyonda Gelişime Etkisi... 46
4.3.2. GA_3'ün Farklı Dozlarının Diğer BBDlarla Kombinasyonda gelişime etkisi… 47
4.3.3. NAA'nın Farklı Dozlarının Diğer BBDlarla Kombinasyonda Gelişime Etkisi 48
4.4. Uygulama Sonuçlarına Göre Kök/Sürgün Oranlarının Karşılaştırılması……. 49
4.4.1. Farklı Dozlarda BA'nın Kök/Sürgün Oranına Etkisi…… 50
4.4.2. Farklı Dozlarda GA_3'ün Kök/Sürgün Oranına Etkisi…… 51
4.4.3. Farklı Dozlarda NAA'nın Kök/Sürgün Oranına Etkisi…… 52
5. TARTIŞMA VE SONUÇ…….……..... 53
6. KAYNAKLAR.……..... 57
ÖZGEÇMİŞ……..... 63

ÖZET

PORTEKİZ GANDERA YEREL TATLI PATATES (*IPOMOEA BATATAS* (L.) Lam) GENOTİPİNİN *İN VİTRO* MİKROÇOĞALTILMASI ÜZERİNE BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNİN VE BESİ ORTAMLARININ ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gülbahar BAYDEMİR

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

2021

Bu çalışma, ESAC/IPC'deki biyoteknoloji laboratuvarında 2019/2020 yılında, Portekiz Gandera yerel tatlı patates genotipinin (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) *in vitro* mikro çoğaltılmasına bitki büyüme düzenleyicilerinin ve farklı besi ortamlarının etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Üç farklı besi ortamına eklenen bitki büyüme düzenleyicilerinin, kumlu topraklarda yetiştirilen bölgesel bir tatlı patates genotipinin (Gandera) *in vitro* çoğalması üzerindeki etkisini incelemek amaçlanmıştır. Bu besi ortamı kültürlerine, farklı konsantrasyonlarda, tek başına veya kombinasyon halinde Benziladenin (BA), Gibberellik asit (GA_3) ve 1-Naftalin asetik asit (NAA) gibi farklı bitki büyüme düzenleyicileri eklenmiştir.

Kültür besi ortamları ve bitki büyüme düzenleyicilerinin *in vitro* kültürlerin çoğalması üzerindeki etkisini değerlendirmek için sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, kallus derecesi, kök sayısı, kök uzunluğu, bitki ağırlığı ve kök/sürgün oranı gibi parametreler incelenmiştir.

Sürgün sayıları D besi ortamı ve MS kontrol ortamında sırasıyla, 2.95±0.26 ve 3.00±0.53 olarak kaydedilmiştir. MS kontrol besi ortamında daha yüksek sayıda kök (2.25±0.45) oluştuğu da gözlenmiştir. Bu sonuçlar, MS kontrol grubunda bu nedenle daha yüksek bir bitki ağırlığı (0.150±0.03 g) gözlemlendiğini göstermiştir. NAA büyüme düzenleyicisinin besi ortamlarına eklenmesi kallus varlığını arttırırken sürgün uzunluğunu azalttığı tespit edilmiştir.

Bu çalışma sonucunda, sırasıyla 0.5, 2.0 ve 0.05 mg/l'lik konsantrasyonlarda BA, GA_3 ve NAA ile desteklenmiş besi ortamı D (½MS) ve MS (Murashige ve Skoog, 1962) kontrol ortamında daha yüksek sayıda sürgün gözlendiği belirlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen verilerin tatlı patatesin diğer genotip ve çeşitlerin *in vitro* mikro çoğaltılmasında kullanılabilecek nitelikte olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler : Bitki Büyüme Düzenleyicileri, Gandera, *Ipomoea batatas* (L.) Lam., *İn Vitro*, Mikro çoğaltım

ABSTRACT

EFFECT OF PLANT REGULATORS AND MEDİUM CULTURE ON *IN VITRO* MICROPROPAGATION OF PORTUGAL GANDERA LOCAL SWEET POTATO (*IPOMOEA BATATAS* (L.) LAM) GENOTYPE

MASTER THESIS

Gülbahar BAYDEMİR

DEPARTMENT OF HORTICULTURAL CROPS
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF DICLE

2021

This work accomplished at the micropropagation laboratory at ESAC/IPC in 2019/2020. Different culture media prepared to test the *in vitro* micropropagation of a local genotype of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) used at the Gandera region of Portugal. Objective of this study the effect of plant regulators added to three different medium culture, on *in vitro* propagation of a regional genotype of sweet potato (Gandera) cultivated at sandy soils. To these media culture, it is added different regulators as Benzyladenine (BA), Gibberellic acid (GA_3) and 1-Naphthalene acetic acid (NAA), at different concentrations singly or in combination.

To evaluate the effect of the media culture and plants regulators on multiplication of *in vitro* cultures the following parameters recorded: number of shoots, length of shoots, degree of callus, number of roots, length of roots, plant weight and root/shoot rate.

Number of shoots observed 2.95±0.26 in media culture D and 3.00±0.53 in MS control. A higher number of roots was observed (2.25±0.45) at the medium culture control MS. These results showed that MS control were observed consequently with a higher weight (0.150±0.03 g). The addition of NAA to the media culture increased the presence of callus and reduced the shoot length.

This study results showed that a higher number of shoots was observed at the media culture D (½MS) which supplemented with BA, GA_3 and NAA, at the following concentrations 0.5, 2.0 and 0.05 mg/l, respectively and MS control. It is consider that the results obtained from this study can be used in *in vitro* micro propagation of sweet potato varieties and other sweet potato genotypes.

Key Words: Plant Growth Regulators, Gandera, *Ipomoea batatas* (L.) Lam, *İn Vitro*, Micropropogation

KISALTMA VE SİMGELER

IPC	: Instituto Politecnico de Coimbra (Coimbra Politeknik Üniversitesi)
ESAC	: Escola Superior Agraria de Coimbra (Coimbra Ziraat Fakültesi)
FS	: De Fossard ve diğerleri, 1974
MS	: Murashige ve Skoog (1962)
½MS	: Yarı sertlikte MS
BA	: Benziladenin
GA_3	: Gibberellik asit
NAA	: 1-Naftalen asetik asit
HCl	: Hidroklorik asit
KOH	: Potasyum Hidroksit
mg/l	: Miligram/litre
g	: Gram
cm	: santimetre
M	: Molar
pH	: Power of Hydrogen
IBA	: İndol-3-butirik asit
BAP	: 6-Benzilaminopurin
TDZ	: Thidiazuron
2İP	: N-izopentil adenin
IAA	: Indol-3-asetik asit
KIN	: Kinetin
BBD	: Bitki Büyüme Düzenleyicileri
PCA	: Principal Components Analysis (Temel Bileşenler Analizi)

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No		Sayfa
Çizelge 1.1.	2018 yılı önemli üretici ülkeler ve dünya tatlı patates üretimi	1
Çizelge 1.2.	Tatlı patatesin depo köklerinde bulunan besin maddeleri	4
Çizelge 1.3.	Tatlı patatesin depo köklerinde bulunan mineral maddeler	4
Çizelge 1.4.	Tatlı patatesin depo köklerinde bulunan vitaminler	4
Çizelge 3.1.	Makro besinler, mikro besinler ve vitaminlerin eklendiği besi ortamları	28
Çizelge 3.2.	Besi ortamlarının bileşenleri	28
Çizelge 3.3.	Besi ortamlarına ilave edilen bitki büyüme düzenleyicileri ve konsantrasyonları	29
Çizelge 3.4.	Denemede kullanılan ortamların içeriği	33
Çizelge 4.1.	Kültür ortamlarının sürgün sayısı, kök sayısı, bitki ağırlığı, kallus varlığı ve sürgün uzunluğu (toplam veriler) üzerindeki etkisi	46
Çizelge 4.2.	Farklı BA konsantrasyonlarının sürgün sayısı, kök sayısı, bitki ağırlığı, kallus varlığı ve sürgün uzunluğu (toplam veriler) üzerindeki etkisi	47
Çizelge 4.3.	Farklı GA_3 konsantrasyonlarının sürgün sayısı, kök sayısı, bitki ağırlığı, kallus varlığı ve sürgün uzunluğu (toplam veriler) üzerindeki etkisi	48
Çizelge 4.4.	Farklı NAA konsantrasyonlarının sürgün sayısı, kök sayısı, bitki ağırlığı, kallus varlığı ve sürgün uzunluğu (toplam veriler) üzerindeki etkisi	49
Çizelge 4.5.	Ortam kültürünün sürgün uzunluğu (tek tek bitkiler) ve kök uzunluğu (toplam / bitki) üzerindeki etkisi.	50
Çizelge 4.6.	BA'nın farklı konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu (tek tek bitkiler) ve kök uzunluğu (toplam / bitki) üzerindeki etkisi	51
Çizelge 4.7	GA_3'ün farklı konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu (tek tek bitkiler) ve kök uzunluğu (toplam / bitki) üzerindeki etkisi	51
Çizelge 4.8.	NAA'nın farklı konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu (tek tek bitkiler) ve kök uzunluğu (toplam / bitki) üzerindeki etkisi	52

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.1.	Tatlı patates türleri	5
Şekil 3.1.	İklimlendirme odası ve denemede kullanılacak eksplantlar	26
Şekil 3.2.	Manyetik karıştırıcı üzerindeki besi ortamı ve masa tipi pH metre	29
Şekil 3.3.	Eksplantların hazırlanışı	30
Şekil 3.4.	Farklı kombinasyonlardaki ½MS ortamında kültürlenen tatlı patates eksplantları	33
Şekil 4.1.	BBD kombinasyonlarının sürgün sayısı üzerindeki etkisi	37
Şekil 4.2.	BBD kombinasyonlarının kök sayısı üzerindeki etkisi	38
Şekil 4.3.	BBD kombinasyonlarının kallus oluşumu üzerindeki etkisi	39
Şekil 4.4.	BBD kombinasyonlarının ağırlık (tüm bitki) üzerindeki etkisi	39
Şekil 4.5.	Farklı BBD kombinasyonlarından (A,B,C,D,E,F,G deneme gruplarından) ortalama iki ay sonunda elde edilen bitkicikler	40
Şekil 4.5.	Farklı BBD kombinasyonlarından (A,B,C,D,E,F,G deneme gruplarından) ortalama iki ay sonunda elde edilen bitkicikler (devamı)	41
Şekil 4.6.	Besi ortamlarının sürgün sayısı üzerindeki etkisi	42
Şekil 4.7.	Besi ortamlarının kök sayısı üzerindeki etkisi	43
Şekil 4.8.	Besi ortamlarının sürgünlerin uzunluğunun toplamı (mm) üzerindeki etkisi	44
Şekil 4.9.	Besi ortamlarının bitki ağırlığı (g) üzerindeki etkisi	44
Şekil 4.10.	Besi ortamlarının kallus varlığı (0-5) üzerindeki etkisi	45

1.GİRİŞ

Sarmaşıkgiller (*Convolvulaceae*) familyasının bir üyesi olan tatlıpatates (*Ipomoea batatas*) Latin Amerika kökenli bir bitkidir. Tatlı patates, familyasından ortalama 50 cins ve 1000'den fazla tür içinde kayda değer tek tarım bitkisidir. Benzer bir ismi paylaşsa da patates (*Solanum tuberosum*) ile herhangi bir akrabalığı bulunmamaktadır. Tatlı patatesin depo köküne ilaveten, yaprakları ve uzun dalları arasındaki yaprak köklerinin kabuklarının üzerindeki sert lifleri temizlenerek yenebilirken, patatesin yumruları hariç diğer bölümleri tüketilmemektedir. Çok yıllık, otsu ve sarıcı bir bitki olsa da genellikle tek yıllık olarak yetiştirilir (Mukhopadhyay, 2011).

Dünya'da tropik, yarı-tropik ve ılıman iklim bölgelerinde 100'den fazla ülkede yetiştirildiği bilinmektedir. FAO'nun 2018 verilerine göre 8.072.512 ha alanda 92.181.668 ton tatlıpatates üretimi gerçekleşmiştir. 53.245.657 ton üretimle ilk sırada bulunan Çin'in ardından Malavi, Cezayir, Tanzanya, Etiyopya, Endonezya, Uganda ve Hindistan tatlı patatesin en çok üretildiği ülkeler arasındadır (FAOSTAT 2018). Çizelge 1.1.'de Dünya'da tatlı patates üretiminde ilk onda olan ülkelerin üretim miktarı (ton) ve hasat edilen alan (ha) miktarları sırasıyla verilmiştir.

Çizelge 1.1. 2018 yılı önemli üretici ülkeler ve dünya tatlı patates üretimi

	Ülkeler	Hasat edilen alan (ha)	Üretim (ton)
1	Çin	2.379.319	53.245.657
2	Malavi	283.187	5.668.543
3	Nijerya	1.712.363	4.029.909
4	Tanzanya Birleşik Cumhuriyeti	766.494	3.834.779
5	Etiyopya	216.449	1.834.619
6	Endonezya	90.707	1.806.389
7	Uganda	363.017	1.529.608
8	Hindistan	122.336	1.400.281
9	Vietnam	117.933	1.374.664
	Dünya	**6.051.805**	**74.724.449**

(FAO, 2020)

Çalışmanın yürütüldüğü Portekiz'de tatlıpatates üretimi 2017 verilerine göre 555 ha alanda 11.736 ton olarak gerçekleştirilmiştir (Estatísticas Agrícolas 2017). FAO'nun

2018 verilerine göre ise Portekiz'de 923 ha alandan 23.470 ton tatlı patates üretimi yapılmıştır (FAOSTAT, 2018).

Ülkemizde ise üretim alanlarının (Hatay, İskenderun, Kahramanmaraş, Gaziantep ve kısmen de Adana) sınırlı olması nedeniyle tatlı patates üretimi ile ilgili yeterli istatistiksel kayıtlar bulunmamakla birlikte (Özelçam, 2013) TÜİK verilerine göre 344 da alandan 495 ton tatlı patates üretimi gerçekleştirilmiştir (TÜİK, 2019). Tatlı patatesin Türkiye' ye 19. yüzyılın ikinci yarısı ile 20. yüzyılın başlarında Kıbrıs üzerinden girdiği tahmin edilmektedir (İşler, 2019).

Çalışkan ve ark. (2015), yaptıkları incelemeler sonucunda Hatay'da tatlıpatates tarımı yapılan köylerde üretim alanının 1000–1500 da, toplam üretim miktarının ise 1.5–2 bin ton civarında olduğunu bildirmektedir. Türkiye'de Hatay yöresinde, değişik tadı, besleyici ve doyurucu özellikleri ile oldukça sevilen tatlı patates, gereken önemin verilmemesi nedeniyle ülkenin diğer bölgelerine yayılma imkanı bulamamıştır. Bu köylerde Hatay Yerlisi, Hatay Kırmızısı, Havuç, Kalem ve Sarı Patates gibi isimlerle adlandırılan farklı kabuk ve iç rengine sahip çeşitler yetiştirilmektedir. Tatlı patates üretimi genel olarak küçük ölçekli aile işletmeciliği şeklinde yapılmakta ancak üreticisine yüksek getiri sağlayabilmektedir (Çalışkan ve ark., 2011).

Yapılan çalışmalar sonucunda, tatlı patatesin sulanan Akdeniz kıyıları ve yarı kurak ortamlarda büyük bir adaptasyon ve verim potansiyeline sahip olduğunu, Adana, Diyarbakır ve Şanlıurfa gibi geleneksel olmayan üretim alanlarının tatlıpatates üretimi için yüksek verim potansiyeli nedeniyle geleneksel üretim yeri olan Hatay'dan daha uygun olabileceğini göstermiştir (Çalışkan ve ark., 2007).

Türkiye'de tatlı patates üretiminin düşük olması insanımızın damak tadına yabancı olması, insan sağlığı açısından faydalarının bilinmemesi, sanayide hammadde olarak kullanılabilirliğinin yanında hayvan beslemede alternatif kaba yem kaynağı olarak kullanılabileceği konularında fazla bilgiye sahip olunmaması hususlarına dayandırılmaktadır (Özelçam, 2013).

Besin değerleri açısından önemli potansiyele sahip olan tatlı patatesin yetiştirilmesi ve tüketilmesiyle ilgili çalışmalar son yıllarda giderek artmıştır (Yamakawa

ve Yoshimoto, 2002). İnsan beslenmesinde önemli bir yeri bulunan tatlıpatates, nişasta ve alkol hammaddesi yönüyle de önemli bir endüstri bitkisidir (Geren ve ark., 2010).

Tatlı patatesin depo kökleri %70 nişasta, %10 şeker, %5 protein içermekte olup (Yıldırım ve ark., 2007) ayrıca tatlı patates depo kökleri, karoten (provitamin A), askorbik asit (vitamin C), B vitamini kompleksi ve E vitamini açısından mükemmel bir kaynak durumundadır (İşler, 2019). Taze tatlı patates yumruları %29 kuru madde içerir, bu kuru madde içindeki brüt enerji 17 MJ/kg ve %6 ham protein, tatlı patates asması %15 kuru madde içerirken, kuru maddede 14MJ/kg brüt enerji ve %18 ila %20 ham protein içeriği bulunmaktadır (Godoy ve Elliot, 1981; An, 2004).

Büyümede en önemli vitaminlerden olan zengin A vitamini içeriği, kolay sindirilmesi ve düşük alerji riski özelliğiyle tatlı patates bebek beslenmesinde önerilen ilk ve en önemli besinlerden birisidir. Tatlı patates vücutta A vitamini üretimine yardımcı olan betakaroten bakımından zengindir. A vitamini, C vitamini, yoğun olarak B6 vitamini ile diğer B kompleks vitaminlerini içerir. Ayrıca bakır, manganez, lif, fosfor ve potasyum içerir. İç kısmının rengi sarı veya turuncu olan bir tatlı patates çeşidinin 100 gramı bir kişinin ortalama günlük A vitamini ihtiyacının %100'den fazlasını, C vitamini ihtiyacının ise %50'den fazlasını karşılamaktadır. Sahip olduğu bu zengin ve dengeli besin içeriği nedeniyle az gelişmiş ülkelerdeki yetersiz ve dengesiz beslenme sorunlarını azaltmak için tatlı patatesin üretim ve tüketiminin artırılması yönünde projeler geliştirilmektedir (Anonim, 2017). Fenolik bileşikler ve antioksidanlar açısından zengin gıdaların, kansere, kalp rahatsızlıklarına ve şeker hastalıklarının azalması üzerine olumlu etkisinin olduğunu bildirilmiştir (Kohlmeıer ve Hastıngs, 1995; Russell, 1998; Van Popoel ve Goldbohm, 1995; Scalbert ve ark., 2005). Tatlı patatesin toprak üstü yaprak ve dal aksamları da hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır (Peters ve ark., 2009; An ve ark.,2004).

Tatlı patatesin 100 gramında bulunan besin maddeleri Çizelge 1.2.'de, mineral maddeler Çizelge 1.3'te ve vitamin miktarları Çizelge 1.4.'te gösterilmiştir (Şalk ve ark., 2008).

Çizelge 1.2. Tatlı patatesin depo köklerinde bulunan besin maddeleri (Şalk ve ark., 2008)

BESİN MADDELERİ (g/100g)			
Protein	Yağ	Toplam Şeker	Karbonhidratlar
1.5-2.0	0.6	30.4	24

Çizelge 1.3. Tatlı patatesin depo köklerinde bulunan mineral maddeler (Şalk ve ark., 2008)

MİNERAL MADDELER (mg/100g)		
Kalsiyum (Ca)	Demir (Fe)	Fosfor (P)
25.8	0.6	42.1

Çizelge 1.4. Tatlı patatesin depo köklerinde bulunan vitaminler (Şalk ve ark., 2008)

VİTAMİNLER (mg/100g)				
Vit. A IU*	B_1	B_2	Niacin	Vit. C
6615	0.082	0.05	0.62	15-30

Tatlı patatesin, nişasta ve alkol sanayinde hammadde olarak işlenirken yumruların %60–70 kadarının posa olarak ele geçtiği, özellikle protein ve karotenoidlerce zengin yeşil aksamlarının (6-8 ton/da) da hayvan beslemede alternatif yem kaynağı olarak kullanılabileceği bildirilmektedir (Vural ve ark., 2000; Yıldırım, 2009).

Tatlı patatesin kabuk ve iç kısmı çeşitli renklerde olan pek çok türü vardır. Tatlı patatesin içindeki etli kısmının rengi beyaz, sarı, turuncu veya mor, kabuk kısmının rengi ise beyaz, sarı, mor, kırmızı veya kahverengi olanları vardır (Şekil 1.1.). En yüksek beta karoten içeren içi turuncu renkli olan tatlı patateslerdir. Türkiye'de yetiştirilen tatlı patateslerin çoğunun içleri beyaz ve sarımsı renklidir (Anonim, 2017).



Şekil 1.1. Tatlı patates çeşitleri

Tatlı patates yumruları et renklerine göre farklı oranlarda karoten içermektedir. Tatlı patates yumrularının 100 g taze materyalinde karoten içeriği, Tayvan'da 17 yerli çeşidin ortalaması olarak 0.400 mg, Amerikan çeşitlerinde 24.8 mg; Filipinlerde ise yerli çeşitlerde 11.45 mg, Amerikan çeşitlerinde ise 2.55 - 6.73 mg olarak belirlenmiştir. Aynı 10 şekilde yaprakların karotenoid içeriği 100 g taze materyalde 3.61 mg, β-karoten içeriği ise 2.7 mg olarak bildirilmiştir (Woolfe, 1992).

Çalışkan ve ark. (2007), dokuz introdüksiyon çeşidi ve iki yerel çeşidin, iki bölge (Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz bölgeleri) ve dört lokasyonda (Diyarbakır, Şanlıurfa ve Adana, Hatay) adaptasyon potansiyelini araştırdıkları çalışmalarında, depo köklerin toplam karotenoid içeriklerini lokasyonlara göre 2.67, 0.23, 1.70 ve 1.90 mg/100g olarak tespit etmişlerdir.

Tatlı patates, birçok bitkiye göre kuraklığa daha dayanıklı olmasına ve yarı kurak bölgelerde hiç sulanmadan ekonomik değer ifade eden ürün oluşturabilme özelliğine

rağmen, genel olarak yıllık yağışı 1000 mm ve üzerinde olan bölgelerde yetiştirilmektedir (İşler, 2019). Yıllık yağışın 900 mm'nin altında olduğu bölgelerde istenen düzeyde verim alabilmek için sulama yapılması zorunludur. Türkiye'de yaz aylarında yeterli yağış almaması nedeniyle, tatlı patates yetiştiriciliğinde sulama yapılması verim elde etme açısından önemlidir.

Tatlı patates sıcağı ve bol güneşi seven bir bitkidir. Işık yoğunluğu yüksek olan yerlerde daha iyi gelişir. İyi bir depo kök gelişimi ve verim sağlanması için ortalama sıcaklığın 25ºC ve üzeri olması gerekir. Bitki yetişme döneminde depo kök gelişimi teşviki için gündüz sıcaklıklarının 30-35ºC, gece sıcaklıklarının 20ºC civarında olması idealdir. Gece sıcaklıklarının çok yüksek olması depo kök büyümesini ve vejetatif gelişmeyi azaltır. Gece sıcaklıklarının düşük olması da depo kök oluşumunu azaltmaktadır. 10ºC'nin altında gerçekleşen sıcaklıklarda bitkide büyüme durmasının yanında soğuk zararı da oluşabilmektedir. Tatlı patates yetiştiriciliğinde başarılı sonuçlar alınması için, en az 4-6 aylık, don zararı oluşmayan bölgeler uygundur (Yılmaz ve Karan, 2014).

Gün uzunluğu tatlı patateste çiçeklenmeyi ve depo köklerinin oluşumunu etkilemektedir. 11 saatin altındaki gün uzunlukları çiçeklenmeyi teşvik etmekte, 13.5 saatin üzerindeki gün uzunlukları ise, çiçek oluşumunu büyük ölçüde engellemektedir (İşler, 2019). Bu nedenle, 30 derece kuzey ve güney enlemlerinden daha yüksek enlemlerde yer alan ılıman bölgelerde, yaz aylarında gün uzunluğunun fazla olmasına bağlı olarak çiçeklenme ya çok az olmakta veya hiç olmamaktadır. Tropik bölgelerde ise, çoğunlukla çiçek oluşturmamaktadır. Kısa gün koşulları çiçeklenme gibi depo köklerinin oluşumunu da teşvik etmektedir. Tatlıpatates çiçeği, kaliks, korolla, erkek ve dişi organdan oluşan bir tam çiçektir. Çiçek durumu genelde ikili salkım şeklindedir. Düşük ışık yoğunluğu ile birlikte kısa gün koşulları, depo köklerinin oluşumunu teşvik ederken, uzun gün koşulları, sap gelişimini artırmaktadır (İşler, 2019).

Tatlı patates üretimi için yüksek organik madde içerikli, süzek, kumlu, kumlu-tınlı, tınlı ve alt kısımları killi-tınlı yapıdaki topraklar en ideal topraklardır. Bu özellikteki topraklarda, depo kökler çok fazla irileşmediği gibi yüzeyleri de daha düz olur. Siltli-tınlı topraklarda yetiştiriciliğinde genellikle, iyi sonuçlar alınmakta olup, ağır killi yapıdaki topraklar tatlı patates için uygun değildir. Bu tip topraklarda, yetişen bitkilerde depo

kökler düzensiz şekil ve pürüzlü yüzeyli olmaktadır. Tatlı patates çok hafif ve derin topraklarda ince, uzun depo kökleri oluşturduğundan bu özellikteki topraklar da bitki için uygun değildir. Tatlı patatesin yetiştirileceği yerde iyi bir drenaj gereklidir. Tatlı patates için hafif ve orta derecede asidik (pH 5.2-6.7) topraklar, en uygundur. Fazla asitli pH derecesi 5.0'den düşük olan topraklarda, asitliği azaltılmak için kireç uygulaması yapılmalıdır (İşler, 2019).

Tatlı patates ticari olarak, kök parçaları, depo köklerinin filizlendirilmesi ile elde edilen sürgün ve çelikler (sürgün çeliği ve sap çeliği) kullanılarak vejetatif yolla çoğaltılmaktadır (Valverde ve ark., 2007). Bunlara ek olarak günümüzde önem arz eden ve çalışmaların hızla arttığı biyoteknolojik yöntemlerle *in vitro* koşullarda yapılan mikroçoğaltım, ekolojik koşullardan bağımsız olarak yapılmakta ve klasik yöntemlerle çoğaltmaya alternatif bir yaklaşım sağlamaktadır. Büyük boyutlarda yapılan mikroçoğaltım çalışmaları yüksek potansiyel sağlayıp hız, zaman ve yerden kazanç sağlamaktadır (Aka-Kaçar ve ark., 2001).

Gelişmekte olan kültürlerle karşı karşıya olduğumuzu varsayarak, son yıllarda Portekiz'deki tatlı patatesler az sayıda zararlı ve hastalık kaydetmiştir ve bitki sağlığı sorunları nadiren tespit edilmiştir. Bununla birlikte yumruların kalitesini etkileyen yaprak zararlısı, *Empoasca fabalis*, kırmızı örümcek akarlarının ve bazı mantarların saldırılarının yanı sıra *Agriotes* spp. cinsinden küçük koleopter böceklerin larvalarının varlığına ilişkin kayıtlar mevcuttur (AJAP, 2021). Ferreira (2021), bu zararlıların yanı sıra virüslerin neden olduğu hastalıkların Portekiz ve Dünya'daki temel bitki sağlığı sorunlarını oluşturduğunu belirtmiştir. Tatlı patateste, Tatlı patates tüylü benek virüsü (TPTBV), Tatlı patates klorotik bodur virüsü (TPKBV) ve bu iki virüsün birlikte enfeksiyonu sonucu Tatlı patates virüsü hastalığı (TPVH) zararları görülür ve ayrıca Tatlı patates virüsü 2 (TPV2), Tatlı patates benek virüsü (TPBV) çeşitleri de tatlı patates zararlıları arasındadır. Yaprak biti, Tatlı patates kısa mermer virüsü (TPKMV)'nün, Beyaz sinek ise Tatlı patates virüsü 2 (TPV2)'nin vektörleri olarak bilinir. Tüm bu virüslerin etkileri sonucu cüce, bozuk ve klorotik yapraklar oluşur.

İyi kültür koruma uygulamaları olarak;

-Parazitoid böceklerin ve virüs vektörlerinin avcılarının erken varlığını teşvik etmek için mahsulün çevresindeki çitlerin korunması,

-Virüslerin ve vektörlerinin deposu olan yabani otların kaldırılması,

-Tatlı patates virüs vektörleri olan yaprak bitleri ve beyaz sineklerle kültür kolonizasyonunun izlenmesi,

-Sağlıklı bitkilerden fidanlık kurulumu,

-Kullanılacak bitki materyalinin tercihen *in vitro* kültür olması önerilmektedir (Ferreira, 2021).

Üretim hattındaki tatlıpatates çeşitlerinin virütük hastalıklardan dolayı kitlesel üretim kayıplarına neden olacağı için mikroçoğaltılan ama indeskleme sonucu bulaşıksız olduğu bilinen hatların klonal mikroçoğaltılması ile bu sorunlar giderilebilir. Bu çalışma ile tatlı patatesin *in vitro* yöntemlerle çoğaltılmasında kullanılabilecek besi ortamlarına farklı dozlarda büyüme düzenleyicileri eklenerek çoğaltım performanslarının değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Çalışma ile elde edilen sonuçlar doğrultusnda bu genotipe ait *in vitro* mikro çoğaltım metodunda kullanılmak üzere en etkin BBD belirlenerek diğer etmenlerin optimize edilmesine katkı sunacaktır. Çalışma ile diğer tatlı patates genotip ve çeşitlerinin *in vitro* çoğaltım metodunun geliştirilmesine katkı sunacağı ve zemin hazırlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca Portekiz yerel genotip için elde edilen çalışma sonuçları, Ülkemiz tatlı patates yerel genotiplerinin *in vitro* çoğaltımda kullanılabilecek nitelikte olduğu söylenebilir.

2.KAYNAK ÖZETLERİ

2.1.Tatlı Patates ile ilgili Yapılan *İn Vitro* Çalışmalar

Litz ve Conover (1978), yapacakları deneyde kullanmak üzere 3 mm uzunluğundaki eksplantları iki tatlı patates çeşidinin apikal ve aksiller tomurcuklarından ayırmıştır. Daha sonra eksplantları oksin grubundan IAA (Indol-3-asetik asit), sitokinin grubundan olan BAP (6-Benzilaminopurin) ve KIN (Kinetin) bitki büyüme düzenleyicileriyle takviye edilmiş MS ortamına yerleştirmişlerdir. Bitki büyüme düzenleyiciler çeşitli konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda kullanılmıştır. Sürgünlerin gelişmesinden önce kallus oluşumu meydana gelmiştir. Beş hafta içinde ' White Star ' çeşidi, 1 mg dm-3 BAP içeren ortamda en fazla sürgün (8.5) üretirken, PI 315443' klonu, 1 mg dm^{-3} IAA ve 1 mg dm^{-3} KIN içeren ortamda en yüksek çoğalma oranına (5.1) ulaştığı görülmüştür. Köklendirme ortamında oluşan kökler sürgünlerin tabanında ve kallusta gelişme göstermiştir. Apikal tomurcuklar 8 hafta sonra bitkilere dönüşürken, aksiller tomurcuklar apikal tomurcuklardan 2-3 hafta sonra dönüşebildiği gözlenmiştir.

Templeton ve Collins (1985), tatlı patateste 12 ebeveynden gelen açık tozlu bir döl popülasyonu, ve 12 ebeveyni *in vitro* büyüme ve rejenerasyon özellikleri açısından incelemişlerdir. Farklı ortamları içeren dört farklı doku kültürü prosedürü ve kültürleri başlatmak için farklı eksplantlar kullanmışlardır. Genç yapraklardan alınan yaprak sapı, kallus kültürlerinin başlatılması için eksplant olarak kullanılmıştır. Bunlar morfogenetik potansiyelin değerlendirilmesi için üç farklı rejenerasyon ortamının her birine aktarılmadan önce kallus büyüme hızı, kırılganlık ve kallus rengi ve dokusu açısından değerlendirilmiştir. Aynı büyüme özellikleri açısından değerlendirilen ve büyüme düzenleyici serbest rejenerasyon ortamına aktarılan kallus kültürlerini başlatmak için küçük sürgün uçları da kullanılmıştır. Rejenerasyon, kök rejenerasyounu, filiz rejenerasyonu veya embriyogenez yoluyla gerçekleşmiştir. Hem ikinci hem de üçüncü alt kültürlerde kallus büyüme hızı için dar anlamda kalıtsallık tahminleri, seçim prosedürleri için ebeveyn hatlarının değerlendirilmesi için yeterince yüksek görülmüştür (sırasıyla 0.35 ve 0.63). Tüm morfogenetik yanıtlar ve çoğu kallus büyüme özellikleri için önemli, kalıtsal genetik farklılıklar bulunmuştur. Genel olarak, aileler arasında, aileler içinde döl ve takip edilen farklı doku kültürü protokollerini temsil eden uygulamalar arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Takip edilen dört farklı doku kültürü protokolü

nedeniyle önemli farklılıklar olmuştur. Dört rejenerasyon protokolünden sadece ikisi somatik embriyogenez yoluyla rejenerasyon ile sonuçlanmıştır. Dört uygulamanın tümü düşük filiz yenilenmesi ile sonuçlanmıştır. Kök rejenerasyonu uygulamaları arasında önemli bir fark görülmemiştir. Aile etkileşimleri, kallus pigmentasyonu dışında herhangi bir morfogenetik yanıt veya çoğu kallus büyüme özellikleri için anlamlı olmamıştır. Bu çalışmayla Templeton ve Collins (1985), standart tatlı patates yetiştirme hatları, ikincil doku kültürlerinden daha iyi rejenerasyon için bir yetiştirme programı için potansiyel bir temel sağlayabilir, önerisinde bulunmuşlardır.

Paula ve ark. (1990), Glomus clarum'un tatlı patates (*Ipomoea batatas*), şeker kamışı (Saccharum spp.) ve tatlı sorgum (Sorghum vulgate) bitkileri içerisinde Acetobacter diazotrophicus ile etkileşimleri adlı çalışmalarında mikro çoğaltılmış tatlı patates bitkilerini (cv. Rosinha de Verd~), pH 6.3'te % 0.6 C, %0.06 N, 10 ppm ekstrakte edilebilir P (Mehlich I) içeren bir toprak - kum karışımına (1: 1) ekmişlerdir (Alves ve ark. 1989). 7 kg'lık kaplarda, metil bromür ile fumigasyona tabi tutup ve 10 ml filtre edilmiş, diğer toprak mikroorganizmaları içeren VAM-spor içermeyen toprak süspansiyonu ile yeniden aşılamışlardır. Aşılama için bitki deliğine 2 ml spor ve / veya bakteri süspansiyonu yerleştirmişlerdir. Aşılayıcı, bitki başına 150 spor ya da 10^7-10^8 bakteri içermekteydi. Dikimden yirmi, kırk ve altmış gün sonra, (NH4) 2SO4 olarak 10mg N kg^{-1} toprak ile birlikte, N veya P'siz 10 ml Hoagland çözeltisi uygulamışlardır. Her muamele için dört tekrar yapılmış ve bitkiler ekimden 90 gün sonra toplanmıştır. VAM sporlarının A. diazotrophicus tarafından tatlı patates bitkilerinin enfeksiyonundaki rolü ve bu iki endofit arasındaki etkileşimler ilk deneyde incelenmiştir. Sonuçlar, A.diazotrophicus içeren G. clarum sporlarının, saf patates kültürü veya karışık diazotrop zenginleştirme kültürü ile aşılama olarak tatlı patates köklerine çok sayıda bakteri geçişi sağladığını göstermiştir. Ek olarak, yapılan gözlemlerdeki veriler VAM mantarlarının A.diazotrophicus'un bitkinin hava kısımlarına translokasyonunu arttırdığını göstermektedir. A. diazotrophicus ayrıca toprakta ve özellikle köklerde G. clarum'un sporülasyonunu arttırmıştır. En büyük etkiler, bakterileri içeren sporların aşılanması ile gözlenmiştir.

Zobayed ve diğ. (1999) yaptıkları bu çalışmayla klorofil bitkilerinin büyük ölçekli fotootrofik mikroçoğaltımı için zorunlu havalandırma sistemi geliştirmişlerdir. Sistemin temel amacı, büyük bir kültür kabı (volmne 3480 ml) içinde tek tip bir CO2

kaynağıyla bitkiciklerin tek tip büyümesini sağlamaktır. Sistem, uzun süreli kültür için gerekli olan kültür dönemi boyunca steril besin çözeltisi sağlanabilecek şekilde tasarlanmıştır. Tatlı patates (*Ipomoea batatas* L. Lam., Ev. 'Beniazuma') büyük kaplarda durgun ve durgun olmayan besin çözeltisi ile fotoototrofik kültür için model bir bitki olarak kullanılmıştır. Fidelerin büyüme ve net fotosentetik oranları, fotoototrofik koşullar (doğal havalandırma ile) ve geleneksel fotomixotrofik koşullar altında küçük bir kapta yetiştirilen fidelerinki ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, zorunlu havalandırma sistemine sahip büyük kabın, bitkiciklerin büyüme, tekdüzeliği ve net fotosentez oranını artırmada etkili olduğunu göstermiştir. Fotoototrofik koşul altında (hem zorlamalı hem de doğal havalandırma) yetiştirilen bitkiler, geleneksel fotomixotrofik sistemde yetiştirilenlerden daha kuvvetli sürgünler ve kökler üretmiştir. Fotoototrofik zorunlu havalandırma uygulması altındaki besin çözeltisi durumu, bitkiciklerin taze kütlesini önemli ölçüde arttırmıştır; bununla birlikte, kuru kütle yüzdesi durgun olmayan besin çözeltisi uygulamasında en yüksek bulunmuştur. Sonuçlar, geleneksel fotomixotrofik kültür sisteminin ciddi şekilde büyüme ve gelişmeyi engellemeye neden olabileceğini göstermiştir.

Zobayed ve ark. (1999), beş farklı destekleyici materyal içinde *in vitro* kültürlenen tatlı patates bitkiciklerinin (*Ipomoea batatas* L. (Lam), cv. Beniazuma) vejetatif büyümesini optimize etmek için karşılaştırmalı bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışma düğüm eksplantlarından tatlı patatesin mikro çoğaltılmasının fotoototrofik koşullar altında gerçekleştirilebileceğini kanıtlamıştır. Düğümlü ve tek bir yapraklı sürgün parçasından oluturulan eksplantlar, sükroz veya vitamin içermeyen MS ortamlarını içeren özel kaplara yerleştirilmiştir. Tek düğümlü kesimler, MS bazal ortamında 21 gün boyunca fotoototrotik olarak (ortam içinde herhangi bir şeker olmadan ve zenginleştirilmiş CO2 ve yüksek fotosentetik foton akısı ile) kültürlenmiştir. Bitkiler, steril koşullarda, güçlü ışık altında, düzenlenmiş hava değişimi ve artan CO2 konsantrasyonu ile geliştirilmiştir. Ortam, agar veya gelrit kullanılarak katılaştırılmıştır veya alternatif olarak eksplantlar, vermikülit, selüloz lifleri veya her ikisinin bir karışımı olan ortamlar üzerine ekilmiştir. 21 gün sonunda vermikülit ve selüloz lif destek maddesi olarak kullanıldığında fideler en yüksek büyümeyi göstermiştir. Yaprak, kök taze ve kuru kütlesi, agar matrisinde yetiştirilen bitkilerinkinden sırasıyla 2.4 × ve 2.9 × ve 2.2 × ve 2.8 × daha büyük olduğu tespit edilmiştir (kontrol). Selüloz dolgu destek maddesi ile kültürlenen bitkikicikler,

vermikülit ve gellan sakızı destekleyici maddelerine göre daha etkili sonuçlar göstererek ikinci en büyük taze ve kuru yaprak ve kök kütlesine sahip olmuştur. Zobayed ve ark. (1999), vermikülit ve selüloz lif uygulamasında ana adventif kökten çok sayıda ince yan köklerin gelişmesini en ilginç özellik olarak belirtmişlerdir. Uygulamalar arasında en yüksek net fotosentetik oran vermikülit ve selüloz lif ile desteklenen ortamda yetiştirilen bitkilerde görülmüştür. Destekleyici maddelerden gözeneklilik yüzdesi en yüksek selüloz dolgu, ardından vermikülit-selüloz lif ve vermikülit olarak belirtilmiştir. Çalışmanın sonuçları gözenekliliğin vermikülit-selüloz lif destekleyici maddelerin bulunduğu ortamda büyüme gelişimine katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Zobayed ve ark. (1999), fotoototrofik kültürlerden steril tatlı patates bitkilerini kompost ve vermikülit karışımı olan saksılara naklederek bir seraya yerleştirmişlerdir. Bitkilerin canlılığı beş gün sonra değerlendirilmiş ve bu canlılık oranının bitki rejenerasyonu sırasında kullanılan destekleyici maddelere bağlı olduğu bulunmuştur. Bir vermikülit ve selüloz lif karışımı kullanıldığında, bitkiler sağlamlaştırma işleminden sonra %97 oranıyla hayatta kalmıştır. Agar katılaştırılmış ortam üzerinde rejenere edilen bitkiler için bu oran %79 olarak tespit edilmiştir.

Zobayed ve ark. (2000), bitkiciklerin *in vitro* fotoototrofik mikro-çoğalması için bir destek maddesi olarak vermikülit (sulu silikatlar) ve kağıt hamuru (kağıt endüstrisinin atık ürünü) karışımı kullanmışlardır. Fidanların optimum düzeyde büyümesi için vermikülit ve kağıt hamurunun uygun oranını bulmada model bitki olarak tatlı patatesi seçmişlerdir. Geleneksel destekleyici materyal olan Agar (8 gl^{-1}; Kanto Chemical Co., Inc. Japonya) kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Destekleyici malzemeler (kap başına 45 ml) %100 vermikülit ve %10, 17, 30, 50, 70 veya %90 (w / w) oranlarında kağıt hamuru ile karıştırılmış vermikülit olarak hazırlanmıştır. Gelişen bitkicikler 21. günde toplanmıştır ve büyüme, yaprak sayısı ve alanı, yaprakların taze ve kuru kütlesi, kökleri ve sapları açısından incelenmiştir. Çalışma, %30 (w / w) kağıt hamuru ile karıştırılmış vermikülit içinde yetiştirilen bitkicilerin tüm yönleriyle en yüksek büyüme performansını sergilediğini ortaya koymuştur. Sürgün ve kök taze kütlesi, agarda (kontrol) yetiştirilen bitkiciklere oranla × 2.7 daha büyük olduğu gözlenmiştir; yaprak, gövde ve kök kuru kütlesi de bu uygulamada kontrol grubuna kıyasla daha büyük ve en az iki kat olmuştur. Bitki başına net fotosentetik oran, bu uygulamada en yüksek olarak görülmüştür ve 20. günde 15.3 mmol CO_2 h-l, kontrol grubunda ise 9.8 mmol CO_2 h-1 olarak ölçülmüştür.

Sürgün ve köklerin her ikisinin de büyümesi, destekleyici malzemedeki kağıt hamurunun yüzdesinin artması veya azalmasıyla yavaş yavaş azalmıştır. Genel olarak, %100 vermikülitte yetiştirilen bitkilerdeki büyüme, %30 kağıt hamuru ile karıştırılmış vermikülitte olduğundan daha zayıf görümüştür, fakat yine de kontrolden daha büyük olduğu kaydedilmiştir. Destek malzemelerinin gözenekliliği, destek malzemesindeki kağıt hamuru yüzdesindeki artışla artmıştır. Dış ortama nakledildikten sonra hayatta kalma oranı yüzdesi, sadece %73 olan kontrol grubu dışında uygulamalar arasında önemli ölçüde değişiklik göstermemiştir (%90-100). 9, 18 ve 30. günlerde gövde yüksekliği ve katlanmamış yaprak sayısı kaydedilmiştir. Katlanmamış yaprakların sayısı ve gövde yüksekliği, kontrol grubundaki bitkicikler dışında uygulamalar arasında benzerlik göstermiştir.

Mukherjee (2002) tarafından yapılan araştırmada, aksiller tomurcuklardan geliştirilen tatlı patates sürgünlerinin çoğalma oranının sodyum klorür stresi altında arttırılabileceğini göstermiştir. Mukherjee (2002), aksiller tomurcuklarından ve adventif tomurcuklardan geliştirilen ve bununla birlikte somatik embriyolardan üretilen bitkilerden geliştirilen tatlı patates sürgünlerini araştırmıştır. 3 ila 5 mm uzunluğunda 4 tatlı patates çeşidinin tomurcuk eksplantları, MS ortamının temel bileşenlerini içeren 6 indüksiyon ortamına yerleştirilmiştir. Birbirinden ayrı ortamlar, büyüme düzenleyicileri ve NaCl konsantrasyonları mevcudiyetinde farklılık göstermiştir. NAA 0.5 mg dm^{-3} konsantrasyonunda kullanılmıştır, GA_3 – 0.05 mg dm^{-3} konsantrasyonunda kullanılırken BAP 1 mg dm^{-3} oranında kullanılmıştır. NaCl, 0.5, 1 ve 2 mg dm^{-3} konsantrasyonlarda ortamlara ilave edilmiştir. 4 haftalık kültürleme sonrasında sürgün çoğaltım oranları, çeşide ve ortamın bileşimine bağlı olarak değişmiştir. BBD'siz ortamlarda, iki çeşit hiç sürgün üretmemiştir. Geriye kalan iki çeşidin gelişme durumunda sürgün üreten eksplantların yüzdesi sırasıyla %10 ve 8 olarak gözlenmiştir. Dört çeşidin tamamında, sürgün geliştiren eksplantların yüzdesi, tüm BBD'leri ve 0.5 mg dm^{-3} NaCl içeren ortamda en yüksek olarak ölçülmüştür (% 44-100). Aynı zamanda, bu koşullarda sürgünler en hızlı şekilde gelişme göstermiştir. En yüksek çoğalma oranı (3.5-5.2), 1 mg dm^{-3} NaCl ile BBD destekli ortamdan elde edilmiştir. Çoğaltılan bitkicikler sağlamlaştırılıp Hoagland ortamının %0.01'lik çözeltisi ile hidroponik bir düzenekte köklendirilmiştir. Daha sonra bitkicikler açık alana nakledilmiştir.

Hirai ve ark. (2002) osmo koruması için koşulları optimize ederek tatlı patatesin [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] basitleştirilmiş şekilde dondurulması üzerine yaptıkları çalışmada ‘‘Beniazuma’’, ‘‘Chikou-1gou’’ ve ‘‘Kogane-sengan’’ olmak üzere üç çeşit kullanmışlardır. Tatlı patatesin sürgün uçları, bir kapsülleme vitrifikasyon yöntemi kullanılarak başarılı bir şekilde dondurularak saklanmıştır. Kapsüllenmiş sürgün uçları, 24 g için 30 g/l sükroz içeren sıvı Murashige-Skoog ortamında önceden inkübe edilmiştir, daha sonra 16 saat boyunca sükrozla zenginleştirilmiş ortamda (0.3 M sükroz) önceden kültürlenmiştir. Sürgün uçlarının, 25°C'de 1 saat yüksek konsantrasyonda bir vitrifikasyon çözeltisi (PVS2) ile kurutulmadan önce 3 saat boyunca 2 M gliserol ve 1.6 M sükroz karışımı ile ozmo koruması yapılmıştır. Kapsüllenmiş ve susuz bırakılmış sürgün uçları, 2 ml'lik bir kriyotüp içine aktarılıp, 0.5 ml PVS2 içerisinde süspanse edilmiştir ve doğrudan sıvı azota daldırılmıştır. Hızla ısıtılan sürgün uçları, bir kurtarma ortamına dikildikten sonra herhangi bir morfolojik anormallik olmaksızın 21 gün içinde normal sürgünler ve kökler geliştirmiştir. Üç tatlı patates çeşidi için yüksek seviyelerde (ortalama yaklaşık %80) sürgün oluşumu elde edilmiştir. Hirai ve ark. (2002), bu kapsülleme vitrifikasyon yöntemini tatlı patates germplazmının dondurularak korunması için umut verici olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Oggema ve ark. (2007) tarafından yenilenen doku kültürü ile geleneksel olarak çoğaltılan tatlı patates çeşitleri arasında büyüme ve verim özelliklerini karşılaştırmak için bir çalışma yapılmıştır. Yerel olarak adepte edilmiş beş tatlı patates çeşidi Mugande, SPK004, Kemb10, Japon tresmesino ve Zapallo, dolaylı ve doğrudan embriyogenez yöntemleri ile *in vitro* olarak rejenere edilmiş ve üç kez çoğaltılan bir RCBD'de tarla koşulları altında büyütülmüştür. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, konvansiyonel çoğaltılan bitkilerin doku kültürü ile rejenere edilen bitkilerden daha yüksek % bitki standart sayısına ve hayatta kalma oranına sahip olduğunu ortaya koyarak, doku kültürü kaynaklı tatlı patates bitkilerinin iklimlendirme ex vitro'ya karşı son derece hassas olduğunu ortaya koymuştur. Bunun sebebini yenilenen bitkilerin çok küçük oluşu ve geleneksel çoğaltılan bitkilerin aksine ilk kez toprağa transfer edilmesine bağlamışlardır. Lyndsey ve Alderson (1986) rejenere bitkilerin hassas bir sürgün ve kök sistemine sahip olmasından dolayı bu performansın beklendiğini ve dolayısıyla daha fazla ex vitro bitki ölümüyle sonuçlandığını bildirmiştir (Oggema ve ark. 2007). Doku kültürü rejenere bitkileri dış ortam koşullarına karşı hassas olduğundan dolayı su ve mineraller, ışık ve

fiziksel koşullar için yoğun rekabet karşısında daha yavaş bir oranda kurulduğu Lineberger (2006) tarafından belirtilmiştir (Oggema ve ark. 2007). Benzer şekilde, doku kültürü rejenere bitkilerin ortalama bitki boyu, dal sayısı ve yaprak alanı, kültürlenmemiş konvansiyonel çoğaltılan bitkilerinkinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Geleneksel çoğaltılmış bitkilerde, ekim malzemesi, daha büyük boyutlu ve enerji kaynağına sahip olan kök çelikleri ile hızlı bir sürekli büyümeye neden olmuştur (CVPG, 2003). Doku kültürü ile yenilenen bitkiler, dış yerel çevre koşullarına duyarlılıkları nedeniyle çok daha sonra kök salmıştır. Büyüme ve verim değişkenleri için test çeşitleriyle rejenerasyon yöntemi arasında anlamlı ($P < 0.05$) etkileşim saptanmıştır. En yüksek yumru sayıları ve pazarlanabilir verim Zapallo ile kaydedilmiştir. Konvansiyonel çoğaltma yöntemi en yüksek büyüme oranlarını verirken konvansiyonel çoğaltma ve doku kültürü ile çoğaltılan bitkiler arasındaki verim farkı önemli ölçüde değişmemiştir ($P < 0.05$). Benzer şekilde, ELISA tarafından SPFMV için virüs tespiti, tarla bitkilerinin, doku kültürü rejenere bitkilere kıyasla daha yüksek bir virüs titresine sahip olduğunu tespit etmiştir. Bu çalışma ile Oggema ve ark. (2007), konvansiyonel bitkiler olarak uygun agronomik performans gösterdiklerinden bitki doku kültürü temiz materyalinin yararlı olduğu ve yumru sayılarının artması ve ardından pazarlanabilir yumru verimi ile sonuçlandığı sonucuna varmıştır.

Dugassa ve Feyissa (2011), Viral hastalık, tatlı patateste önemli verim kaybına neden olan ana faktördür. Doku kültürü tekniği ile hastalıksız klon üretimi çiftçilerin verimini ve gelirini artırmaktadır. Üç çeşit tatlı patatesten elde edilen meristemler, MS bazal ortamında farklı BAP, GA3 ve NAA kombinasyonlarında kültüre alınmıştır. Kombinasyonlar arasında, Awassa yerel tipi için 1 mg/l BAP, 2 mg/l GA_3 ve 0.01 mg/l NAA kullanılarak %63.33 sürgün indüksiyonu elde edilirken, 1 mg/l BAP ve 1 mg/l GA_3 ile 0.01 mg/l NAA, Awassa-83 ve Guntute için %66.67 sürgün indüksiyonu ile sonuçlanmıştır. NCM-ELISA tekniği kullanılarak gözlendiği üzere meristem kültürü ile her üç çeşitten de %100 tatlı patates virüs eliminasyonu olmuştur. Awassa-83 ve Awassa yerel için 37°C'de 31 gün süreyle sürgün termoterapisi yapılmış ve iki çeşit için sırasıyla, %88.89 ve %100 SPFMV ve SPCSV virüs eliminasyonu sağlanmıştır. En iyi sürgün çoğalması Awassa-83 (5.26 ± 0.02 sürgün/eksplant) ve Awassa yerel (5.12 ± 0.02 sürgün/eksplant) için 2 mg/l BAP içeren MS ortamında elde edilmiştir. Guntute için 3 mg/l BAP'da 2.48 ± 0.03 sürgün/eksplant elde edilmiştir. En iyi kök uzunluğu Awassa-

83, Awassa yerel ve Guntute için büyüme düzenleyiciler içermeyen ½MS ortamında, sırasıyla, 9.5 ± 0.10 cm, 9.68 ± 0.02 cm ve 11.03 ± 0.02 cm olarak bulunmuştur. Sürgün başına en yüksek kök sayısı (6.34 ± 0.01) 0.1 mg/l IBA ile Awassa-83'ten elde edilmiştir. Dış ortama aktarılan bitkilerden hayatta kalma oranları, Guntute, Awassa-83 ve Awassa yerel için sırasıyla %100, %91.11 ve %90.10 olarak elde edilmiştir. Bu çalışma, tatlı patatesin virüssüz ekim materyalleri üretmek için meristem kültürü ve termoterapi kullanan bitki doku kültürünün pratik uygulanabilirliğini göstermektedir.

Ogero ve ark. (2012), bu araştırmanın amacı, uygun fiyatlı alternatif besin kaynakları kullanarak tatlı patates doku kültürü besin maddelerinin maliyetini azaltmaktır. Murashige ve Skoog (MS) tuzlarının geleneksel kaynakları, hem makro hem de mikro besinleri içeren Easygro® bitkisel gübre ile değiştirilmiştir. İki gram gübre 30 g/L sofra şekeri ve 9 g/L agar ile desteklenmiştir. 30 g/L sükroz ve 3 g/L gelrit ile takviye edilmiş geleneksel MS ortamı kontrol olarak kullanılmıştır. İki çiftçinin tercih ettiği tatlı patates çeşitleri, Kemb-36 ve Tainurey iki medyada kültüre alınmıştır. Ortalama düğüm sayısı, yaprak, kök ve bitki boyu belirlenmiş ve iki ortam arasında karşılaştırmalar yapılmıştır. Medya hazırlığında kullanılan besin maddelerinin maliyetinde %96.9 azalma olduğu belirlenmiştir. Düşük maliyetli ortam üzerinde kültürlenen küçük bitkilerin her bir küçük bitki için dört düğüm üreten iki ortam üzerinde Kemb-36 tarafından üretilen düğüm sayısında önemli farklılıklar tespit edilirken, geleneksel MS ortamı üzerinde kültürlenen bitkilerin ortalama beş düğüm noktası olduğu gözlemlenmiştir. Tainurey'in ürettiği düğüm sayısı üzerinde iki ortam arasında önemli farklılıklar saptanmamıştır. Geliştirilen düşük maliyetli ortamın, uygun fiyatlı hastalıksız tatlı patates fidelerinin üretimini arttırmak için kullanılabilir olduğu Ogero K.O. ve ark (2012) tarafından ifade edilmiştir.

DoliĔski ve ark. (2013), *in vitro* kültürleme yoluyla çok sayıda düzgün, köklü tatlı patates bitkisinin üretim potansiyelini tahmin etmek amacıyla yürüttükleri çalışmada ‘‘Carmen Rubin’’ ve ‘‘White Triumph’’ olmak üzere iki çeşit tatlı patates kullanmışlardır. Düğüm eksplantları, MS ortamının temel bileşenlerini ve büyüme düzenleyicilerini içeren iki farklı büyüme ortamına yerleştirilmiştir. İlk ortama 1 mg dm^{-3} gibberellin ve 0.1 mg dm^{-3} kinetin eklenirken ikincisine 0.5 mg dm^{-3} IAA eklenmiştir. Organogenezin indüksiyonu ve bitkilerin rejenerasyonu aynı ortam üzerinde, hiç geçiş olmadan gerçekleştirilmişir. ‘‘Carmen Rubin’’in birincil eksplantları 4 gün sonra organlar geliştirmeye başlarken, ‘‘White Triumph’’ olanlar yaklaşık 3 gün sonra gelişme

göstermiştir. Çoğu durumda, sürgünler ve kökler aynı anda gelişme göstermiştir. Dört hafta içinde, tüm birincil eksplantlar bir veya iki sürgün, eksplant ve köklerden oluşan bitkilere dönüşmüştür. Her iki çeşidin sayısız eksplantının bir dizi sürgün geliştirmeye başladığı, ancak bu sürgünlerden sadece birinin daha büyük (normal) bir boyuta ulaştığı, geri kalanının genellikle tomurcuklar şeklinde kaldığı gözlemlenmiştir- 0.5 cm'den küçük yapılar ve bazıları 2-3 cm uzunluğa ulaşan sürgünler. 2 sürgünlü bitkilerin yüzdesinin, çeşide ve ortamın bileşimine bağlı olduğu gözlemlenmiştir. ‘‘Carmen Rubin’’in baskın sürgünleri daha uzun saplarla karakterize edilirken, düğüm sayısı her iki çeşitte de benzerlik göstermiştir. Kök sistemleri genellikle bir uzun kök ve birkaç kısa kökten oluşmuştur. Benzer uzunlukta iki kök veya tek bir uzun kök çok nadiren gözlenmiştir. Ortalama olarak, ‘‘Carmen Rubin’’ bitkilerinin ‘‘White Triumph’’ bitkilerinden daha fazla kök oluşturduğu belirlenmiştir. İki çeşit arasındaki baskın kökün uzunluğu arasında fark görülmemiştir. Sitokinin ve gibberellin ortamında yetiştirilen bitkiler, oksin ortamında rejenere edilenlerden daha fazla kök ve daha uzun gövdeye sahip olmuştur. Medyanın BBDal kompozisyonunun düğüm sayısı üzerinde hiçbir etkisi görülmemiştir. İkinci deneyde, sürgünlerin ve köklerin gelişmesinin başlangıcı (%5 eksplantlar) 10 gün sonra ‘‘Carmen Rubin’’ bitkilerinde ve bundan 4 gün sonra ‘‘White Triumph’’ bitkilerinde gözlenmiştir. Sürgün geliştiren bitkilerin her biri sadece bir sürgün oluşturmuştur; sürgünsüz eksplantlarda kallus üzerinde az sayıda kısa kök gelişmiştir. Bitkilerin ağırlığı, daha önce birincil eksplantlardan yetiştirilen bitkilerden çok daha küçük gelişmiştir. 9 hafta içinde, iki çoğaltma döngüsünde her bir ana eksplanttan 4 bitki üretilmiştir. Bitkiciklerin özellikleri, çeşide, eksplantların ağırlığına ve ortamın bileşimine bağlı görülmüştür. ‘‘Carmen Rubin’’ bitkilerinin ortalama ağırlığının ‘‘White Triumph’’ bitkilerininkinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, ‘‘Carmen Rubin’’ bitkileri daha uzun sürgünler ve daha gelişmiş kök sistemleri üretmiştir. Tatlı patates mikro bitkileri kolaylıkla iklimlendirme özelliği göstermişlerdir.

Masekesa ve ark. (2016) tarafından, yerel bir tatlı patatesin (cv Brondal) virüssüz ekim materyalinin üretimi için meristem uç kültürü tekniğini benimseme çabası içinde, Benzilamino purin (BAP), 1-Naftaleneasetik asit (NAA) ve Gibberellik asitin (GA_3) (tek başına veya kombinasyon halinde) kültürlenmiş Brondal meristemler üzerindeki etkisini değerlendirmek için bir çalışma yapılmıştır. Farklı BBD uygulamaları, meristem kültüründen on hafta sonra eksplant rejeneratif kapasitesi, çoklu bitkicik üretimi, sürgün

uzunluğu, sürgün başına ortalama yaprak sayısı ve sürgün başına ortalama nod sayısı gibi parametreler üzerinde değerlendirilmiştir. BAP (1 mg/l) ve GA_3 (5 mg/l, 10 mg/l veya 20 mg/l'de) kombinasyonunu içeren tüm uygulamalar diğer uygulama kombinasyonlarıyla karşılaştırıldığında, %33-66 gibi önemli ölçüde ($p < 0.01$) daha yüksek bitki rejeneratif kapasitesine sahip bulunmuştur. Sadece, 10 mg/l GA_3 + 1 mg/l BAP ve 20 mg/l GA_3 + 1 mg/l BAP uygulamaları, sırasıyla ortalama üç bitki / meristem ve iki bitki / meristem üreten çoklu bitki oluşumunu gerçekleştirebilmiştir. Genel olarak, 10 mg/l GA_3 + 1 mg/l BAP işlemi, kullanılan uygulamaların geri kalanına kıyasla önemli ölçüde ($p < 0.01$) daha uzun sürgünler (20 mm) oluşturmuştur. Sürgün başına ortalama yaprak sayısı için, 1 mg/l BAP ile desteklenen tüm GA_3 uygulamalarında (5 mg/l, 10 mg/l veya 20 mg/l), uygulamaların geri kalanına oranla önemli ölçüde ($p < 0.01$) daha fazla yaprak (altı yaprak/sürgün) gözlenmiştir. 10 mg/l GA_3 + 1 mg/l BAP ve 20 mg/l GA_3 + 1 mg/l BAP işlemleri, sürgün başına ortalama üç nod üreterek, sürgün başına en yüksek nod sayısına yol açmıştır. BAP ve GA_3'ün kombinasyonunu içeren işlemlerin tam tersine, BAP ve NAA'nın kombinasyonunu içeren tüm uygulamalar, Brondal tatlı patates çeşidinin bitki rejenerasyonu için test edilen bütün parametrelerde zayıf performans göstermiştir. Sonuç olarak, Brondal meristemlerin kültürlenmesi için en iyi BBDal uygulamanın 10 mg/l GA_3 + 1 mg/l BAP olduğunu kanıtlanmıştır.

Guillermo ve ark. (2017) yaptıkları çalışmayla, köklerin direkt organogeneziyle yeni bitki genotipinin gelişmesine yol açan varyasyonun indüksiyonu olarak, *I. Batata*'da farklı bir doku kültürü yöntemi geliştirmeyi amaçlamıştır. Bu çalışmada, 16 saatlik bir fotoperiyod altında sıvı ortamda kültürlenen tatlı patates (*Ipomoea batatas*) kök eksplantlarından geliştirilen tomurcuklar için BAP ve ZEA kullanımı, 2iP'den daha tesadüfi tomurcukların gelişimini teşvik etmiştir. Genel olarak, sonuçlar, morfolojik özelliklerinde anlamlı değişken olmamasına rağmen, çoğu olguda somaklones'in kontrol gruplarından daha güçlü olduğu belirtilmiştir. Diğer taraftan, somaklonal varyasyonun indüksiyonu için, adventif tomurcukları oluşturan kök eksplantlarının rejenerasyonu için yüksek konsantrasyonda BAP (2.0 mg/l) veya ZEA (2.0 mg/l) uygulanmıştır, bu da önceki çalışmaların raporuyla uygun sonuçlar olarak değerlendirilmiştir. Verimli sürgünler rejenerasyon ve somaklonal varyasyon için BAP yüksek gereksinimi diğer araştırmacılar tarafından da gözlenmiştir. Örneğin, Li ve ark. (2010), rejenerasyon ortamını MS'in 1.0 mg/l BA, 0.2 mg/l NAA ve 0.5 mg/l GA_3 ile destekleyip, kallustan

türetilen olgunlaşmamış embriyolardan bitki yenilenmesi için bu ortamın uygun olduğunu gözlemlerken Biswas ve ark. (2009), çilekte, kültür ortamındaki yüksek BAP konsantrasyonunun somaklonal varyasyonun indüksiyonuna başarıyla yol açtığını ve benimsenen doku kültürü teknikleri arasında en çok somaklonal varyasyonun indüksiyonunda etkili olduğunu bildirmiştir.

Abubakar ve ark. (2018), yaptıkları çalışmayla, çiftçilere bitki yetiştirme materyallerinin yanı sıra genetik iyileştirme temeli sağlamak amacıyla tatlı patatesin *in vitro* rejenerasyonu için basit bir protokol oluşturmayı amaçlamaktadır. Bu çalışmada, tatlı patates bitkilerinin (King J ve Mothers Delight çeşitlerinin) aksiller tomurcukları kesilmiş ve 6-benzil aminopurin (BAP), gibberellik asit (GA_3) ve naftalin asetik asit (NAA) ile tek başına veya kombinasyon halinde takviye edilmiş Murashige ve Skoog (MS) bazal ortamları üzerinde kültürlenmiştir. İki çeşidin her biri için yedi farklı ortam kombinasyonu hazırlanmıştır. Çalışmanın sonunda sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, kallus miktarı, kallus derecesi, kök sayısı, kök uzunluğu, yaprak sayısı ve hayatta kalma oranı gibi parametreler ölçülmüştür. Sürgün uzunluğu ve yaprak sayısı çeşitler arasında önemli ölçüde farklılık göstermiştir. Sonuçlar ayrıca çeşitler arasında King J'nin en yüksek ortalama değerleri kaydettiği önemli bir fark ($p < 0.01$) göstermiştir. Organogenez ve elde edilen sürgünlerin sayısı açısından ortam kombinasyonunda da önemli farklılıklar ($p < 0.05$) kaydedilmiştir. Kültürlerin sonuçları ayrıca doğrudan sahaya aktarılan eksplantlarda ve kum ve biyokömür (3:1) karışımı içinde kademeli olarak şaşırtılan bitkilerde %33.33 başarı göstermiştir.

Alula ve ark. (2018), farklı uygulamalar, her biri (BAP ve Kn) orantılı olarak 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 ve 0.25, 0.5, 0.5, 0.75 ile 0.0 mg/l (kontrol) kombinasyonuyla ve oksin (IBA ve NAA) orantılı olarak 0, 0.5, 0.5, 1.0, 1.0 mg/l ile 0, 0.25, 0.5, 0.5 ve 1.0 mg/l kombinasyonda sırasıyla üç çeşit (Beletech, Awassa-83 ve Belela) meristem kültürü için MS bazal ortamda BAP, Kn, IBA ve NAA konsantrasyonlarını optimize etmek için kullanılmıştır. Deney CRD'de faktöriyel düzenlemede üç replikasyonla ortaya konmuştur. Bitki büyüme düzenleyici kombinasyonları arasından, 0.5 mg/l BAP ile 0.5 mg/l Kn ve ardından 0.75 mg/l BAP ile 0.5mg/l Kn üç çeşit için tüm sürgün indüksiyon ve büyüme parametreleri için en iyi kombinasyon olarak tespit edilmiştir. Kök indüksiyonuna minimum günler, 0.5 mg/l IBA ile 0.5 mg/l NAA ile takviye edilmiş besiyerinde kültürlenen Beletech sürgünleri için 3.167 gün ve 1.0 mg/l IBA ve 0.5 mg/l

NAA ile desteklenmiş ortamlarda kültürlenen Awassa-83 sürgünleri için 3.83 gün olarak kaydedilmiştir. Oysa Belela çeşidinin sürgünleri, 1.0 mg/l IBA ve 1.0 mg/l NAA içeren ortamlarda 3.83 günde uyarılmıştır. Sürgün başına en yüksek kök sayısı (11.7) 1.0 mg/l IBA ile 0.5 mg/l NAA kombinasyonu ile desteklenen MS besi ortamından elde edilirken 0.75 mg/l IBA ile 0.5 mg/l NAA içeren MS besi ortamı ikinci en yüksek kök sayısını vermiştir. Maksimum kök uzunluğu IBA 0.75 mg/l ile NAA 0.5 mg/l kombinasyonu ile kültürlenen Awassa-83 (3.43cm) ve ikinci sırada Beletech (3.4cm) tespit edilmiştir. 0.5 mg/l IBA ile 0.5 mg/l NAA ve daha üstü 1.0 mg/l IBA ile 0.5 mg/l NAA'ya kadar takviye edilmiş besi yerlerinde köklenme için aktarılan tüm sürgünlerin kökle ilgili parametreleri için daha iyi yanıt alındığını göstermiştir. İklimlendirme sırasında Beletech için %90, Awassa-83 ve Belela çeşitleri için %80 hayatta kalma oranı elde edilmiştir. Alula ve ark. (2018), bu deneyin sonucuna göre sürgün uzunluğu için uygun BAP ve Kn konsantrasyonunu bilmek her üç çeşit için de hayati önem taşıdığını bildirmişlerdir. Çünkü konsantrasyondaki daha fazla artış olumsuz etkiye sahiptir ve üç çeşit için de sürgün uzunluğu azalalacaktır. Şimdiye kadar, büyüme düzenleyicilerinin bitki başına sürgünlerin uzunluğu üzerindeki etkisi ile ilgili olarak tatlı patates hakkında yeterli çalışma raporu bulunmamaktadır (Alula ve ark. 2018). Ancak, Mulugeta ve Stedany (2004), bu büyüme regülatörlerinin sürgün ucundan alınan eksplantlara bitki oluşması üzerindeki etkisinin 2,5 mg/l BAP olan ortamda 3-5 cm sürgün uzunluğu rapor ettiğini bildirmiş ve bu sonuç Alula ve ark.'nın (2018) yaptığı deneyde bildirilen sürgün uzunluğundan daha azdır.

Parvin ve ark. (2018), çalışmada nodal segment eksplantları ve farklı büyüme düzenleyicileri kombinasyonları, tatlı patatesin *in vitro* rejenerasyonu için kullanılmıştır. BAP (6- benzilamino purin) ve KIN (Kinetin) *in vitro* sürgün rejenerasyonu için, IBA (Indol-6- Butirik Asit) ile NAA (Naftalen Asetik Asit) *in vitro* kök rejenerasyonu için kullanılmıştır. Tüm sürgün başlatma parametreleri için farklı konsantrasyon ve BAP ile KIN kombinasyonunun etkisi üzerindeki sonuçlar önemli değişkenlik göstermiştir. BAP 1.5 mg/l + KIN 0.1 mg/l ile desteklenen MS ortamında kültüre alınan nodal segment eksplantlarında, en yüksek sürgün başlangıcı yüzdesi (91.30), sürgün başlangıcı için en düşük gün sayısı (9.00), en yüksek sürgün/bitkicik sayısı (11.00), en yüksek sürgün uzunluğu (4.38 cm) olarak gözlemlenmiştir. Buna karşın, BAP 3.5 mg/l + KIN 0.5 mg/l içeren MS ortamında *in vitro* sürgün rejenerasyonu durumunda tüm parametreler için en

düşük değeri üretmiştir. Diğer taraftan, IBA 0.5 mg/l + NAA 0.1 mg/l ile desteklenen MS ortamında en yüksek kök başlangıcı yüzdesi (94.12), kök başlangıcı için en düşük gün sayısı (6.00), en yüksek kök/bitkicik sayısı (9.33) ve en yüksek kök uzunluğu (11.13 cm) olarak ölçülmüştür. Rejenere edilmiş sürgünlerden sağlıklı kök sisteminin indüksiyonu, bitkiciklerin başarılı bir şekilde gelişmesinin önemli bir parçası olduğunu belirten Parvin ve ark. (2018), IBA 0.5 mg/l + NAA 0.1 mg/l konsantrasyonunu diğer uygulamalara göre daha fazla hücre bölünmesini ve kök uzamasını hızlandırdığı için bitkicik başına daha fazla sayıda köke neden olduğunu belirtmişlerdir. Rejenere edilmiş bitkiler 5 gün boyunca iklimlendirilip 6-7 gün transplantasyonla toprağa uyum sağlamıştır.

Ye ve ark. (2020) tarafından, biyokimyasal ve mekanik parçalanmanın *in vitro* gastrik sindirim sırasında buharda pişirilmiş tatlı patateslerin (BTP) ve kızarmış tatlı patateslerin (KTP) β-karoten salınımı üzerindeki rolü, araştırılmıştır. Araştırmacılar, buharda pişirilmiş ve kızartılmış tatlı patates mikroyapısı, gıda matrisinin yumuşamasında, parçalanmasında ve ayrıca *in vitro* gastrik sindirim sırasında β-karoten salınmasında önemli bir rol oynadığına değinmişlerdir. Tek başına mide suyunun, 4 saatlik mide sindiriminden sonra bile buharda pişirilmiş/kızartılmış tatlı patates hücre duvarlarının tamamen parçalanması üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığına dikkat etmek önemlidir. Araştırma sonucunda, midenin oluşturduğu mekanik kuvvetlerin yokluğunda, biyokimyasal sindirimin hücre duvarlarının parçalanması üzerinde büyük bir etkisi olmamıştır ve buharda pişirilmiş veya kızartılmış tatlı patateste β-karoten salınımı benzer bulunmuştur. Mikroskobik gözlemler ayrıca, kızartılmış örneklerde mide suyunun gözenekli gıda matrisi içine hızla yayıldığını, ancak hücrelere girmediğini, muhtemelen hücre duvarları etrafında birikmiş olan kanola yağı nedeniyle mide suyu tarafından hücre duvarlarının bozulmasını engellediğini vurgulamıştır. Bu nedenle, asit, nem ve pepsin içeren mide suyunun, karbonhidrat bazlı gıdalardan besinlerin sindirimi ve salınımı üzerinde büyük bir etkiye sahip olmayabildiği düşünülmüştür. Bitki besinindeki hücre duvarı, mide suyunun etkisine ve besinlerin mide sindirimine salınmasına karşı fiziksel bir "bariyer" görevi görebildiği vurgulanmıştır. Kızartma, hücre düzenlemesinin bozulmasına ve gözenekli bir ağın oluşmasına neden olurken, buharlama daha kompakt ve daha yoğun bir yapı oluşturmuştur. Böylelikle KTP matrisi, BTP'nin kompakt ve daha yoğun yapısına kıyasla *in vitro* gastrik sindirim sırasında daha hızlı yumuşama ve çökme geçirmiştir. Böylece, insan midesinin mekanik kuvvetlerinin varlığında, KTP hücresel

matrisinin BTP'ye göre daha hızlı hücre duvarı parçalanmasına ve ardından β-karoten salımına yol açabildiği sonucuna varılmıştır.

2.2.Tatlı Patates ile ilgili Yapılan Diğer Çalışmalar

Dasgupta vd. (2008), laboratuvar koşullarında 15 tatlı patates genotipinin tuzluluğa toleransları ve buna bağlı olarak antioksidan enzimlerinin (süperoksit dismutaz -SOD, glutatyon peroksidaz -GPX ve katalaz -CAT) aktivitelerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışmada 8 hafta boyunca farklı NaCl tuzu oranları (%0, 0.5 ve 1) içeren 3 farklı besi ortamında kültüre alınan tatlı patates sürgün uçlarını kullanmışlardır. Araştırma sonucunda artan tuz konsantrasyonlarının yaprak sayısı, sürgün sayısı, kök sayısı, sürgün ve kök uzunluğu gibi büyüme parametrelerinde belirgin bir azalmaya ancak antioksidan enzim aktivitelerinde ise belirgin oranda artışa neden olduğunu saptamışlardır.

Afaf vd. (2009) yapmış olduğu çalışmada %10, %30 ve %50 oranında deniz suyu karışımlarından meydana gelen 3 farklı sulama suyu kullanarak, 3 yeni tatlı patates ve yerel çeşidinin (Minufiya 6/96, 2/96 ve 171/96 ve yerel çeşit Mabrouka) büyüme, kimyasal bileşimi ve verimi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Seçilen tatlı patates çeşitlerinin büyüme parametreleri değerlendirildiğinde, %10 ve %30 deniz suyu karışımı tuzluluklarında bitki boyu, bitki başına düşen yaprak ve dal sayısı ve sürgünlerin kuru ağırlıklarının önce arttığı ve daha sonra azaldığı bildirilmiştir. Tuzluluk ve su ilişkisi incelendiğinde toplam su içeriği, bağlı su/serbest su ve bağıl su içeriğinin genel olarak düşük ve orta dereceli tuzluluk seviyeleri (%10 ve %30) altında arttığı ancak yaprak su açığının azaldığı belirtilmiştir. Buna ilaveten düşük ve orta dereceli tuzluluk seviyelerinin (%10 ve %30), tatlı patates yapraklarında klorofil (a+b), karotenoidler ve toplam karbonhidratları arttırdığı ve toplam karbonhidrat, çözünür şeker ve nişasta içerikleri %10 deniz suyu karışımında önemli ölçüde artarken orta ve yüksek tuzluluk seviyelerinde (%30 ve %50) ise azaldığı gözlemlenmiştir. Yapraklarda en yüksek N, P, K ve Ca değerleri sırasıyla Minufiya 6/96, Minufiya 2/96 ve Minufiya 171/96 çeşitlerinde, en düşük ise Mabrouka çeşidinde ortaya çıktığı belirlenmiştir. En yüksek tuzlulukta (%50) Minufiya 6/96, Minufiya 2/96 ve Minufiya 171/96 çeşitlerinin en düşük Na içeriğine, Mabrouka çeşidinin ise en yüksek Na içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre üç Minufiya çeşidinin en iyi büyümeye, düşük ve orta dereceli tuzluluk seviyelerinde

en yüksek verim ve besin değerine sahip olduğu bu nedenle de Minufiya çeşitlerinin Mabrouka çeşidine kıyasla tuzluluğa karşı daha toleranslı olduğu belirlenmiştir.

Poss vd. (2010) bitkisel materyal olarak seçtikleri altı Kentucky Bluegrass çeşidinin (Baron, Brilliant, Cabernet, Eagleton, Midnight ve A01-856) 2 ile 22 dS/m arasında değişen toprak suyu tuzluluklarında tuz toleransı ve kanopi yansımalarını inceledikleri çalışmada çimlerin nispi ve mutlak kümülatif biyokütle büyüme oranı, yaprak klorür konsantrasyonu ve hiperspektral kanopi yansıma değerlerini ölçmüşlerdir. Çalışma sonucunda uzaktan algılama endekslerinin mutlak kuru ağırlık ile doğrusal olarak ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Normalize edilmiş vejetatif değişim indeksinin üç varyasyonu (NDVIred, NDVIprotein ve NDVIinfra), çim kanopilerinde tuzluluk stresinin sebep olduğu değişimlerin artmasıyla azalırken; su indeksinin ise çeşitler arasında farklılık olmaksızın artan tuzluluk derecesine bağlı olarak azaldığını belirtmişlerdir. Mutlak ve göreceli biyokütle, büyüme hızı ve uzaktan algılamaya verileri sonucunda Baron, Brilliant ve Eagleton çeşitlerinin Cabernet, Midnight ve AO1-856 çeşitlerine göre tuz stresine daha dayanıklı olduklarını rapor etmişlerdir.

Rodríguez ve Delfín (2012) üç farklı sulama suyu tuzluluk düzeyi (2.0, 3.0 ve 3.5 dS/m) ve iki farklı sulama aralığının (W1:2 gün ve W2:4 gün) iki tatlı patates çeşidinde (Huambachero ve Untacip) verim, prolin içeriği, toplam klorofil içeriği ve N, Mg ve Na alımına etkisini belirlemek amacıyla bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda, benzer sonuçlar göstermekle beraber, genel olarak, her iki tatlı patates çeşidinde dört gün sulama aralığında üç farklı sulama suyu tuzluluk düzeyinde de yaprak alanı ve yaprak kuru ağırlığının azaldığı; su stresine maruz kalmadan Huambachero çeşidinde 3.0 dS/m tuzlulukta yaprak kuru ağırlığı ve yaprak alanının önemli düzeyde bir artış gösterdiği; her iki tatlı patates çeşidinde tuzluluk seviyelerinin artışı verimi önemli ölçüde düşürdüğü; Untacip çeşidinin yapraklarında toplam klorofil miktarının tuzluluk arttıkça belirgin şekilde arttığı; aynı zamanda her iki çeşit için yaprak ve yumru köklerde prolin içeriğinin tuzluluk stresine bağlı olarak önemli ölçüde arttığı; dört gün sulama aralığında tuzluluk artışının Untacip çeşidinde N alımını daha az etkilediği bildirilmiş ve buna göre Untacip çeşidi Huambachero çeşidine göre tuz stresine daha toleranslı olduğu ifade edilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma IPC/Eschola Superior Agraria de Coimbra'da Bitki Biyoteknoloji Laboratuvarında 2019-2020 yılları arasında *in vitro* koşullarda yürütülmüştür. Çalışmada ESAC/IPC'nin bitki biyoteknoloji laboratuvarında *in vitro* koşullarda daha önceden mikroçoğaltımı yapılmış olan tatlı patates genotipi (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) kullanılmıştır.

Çalışmanın amacı üç farklı besi ortamına eklenen bitki büyüme düzenleyicilerinin, kumlu topraklarda yetiştirilen bölgesel tatlı patates genotipinin *in vitro* çoğalması üzerindeki etkisini incelemektir.

3.1. Materyal

Çalışmada Portekiz Kuzey Littoral'de kumlu topraklarda ekilen bir tatlı patates genotipi (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) bitkisel materyal olarak kullanılmıştır. Buradan alınan iki veya üç yapraklı bitkicik kısımları eksplant olarak alınıp çalışmada bitki materyali olarak kullanılmıştır. Bu genotip ESAC/IPC'nin mikro-çoğaltma laboratuvarında *in vitro* koşullarda çoğaltılmıştır.

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Eksplant

Çalışmada kullanılan bitki materyalleri, mikro çoğaltımı yapılmış ve 6-7 ay boyunca iklim odasında gelişmeye bırakılmış olan tatlı patates bitkiciklerinin bulunduğu kaplardan seçilerek bunlardan mevcut çalışma için her kap içerisine 4 eksplant olacak şekilde 34 kap içerisinde FS ortamlarında kültüre alınmıştır. Bu şekilde elde edilen 2-3 yapraklı 0.5-1 cm uzunluğundaki 136 adet eksplant ortalama 1 ay süreyle iklimlendirme odasında gelişmeye bırakılmıştır (Şekil 3.1.).

İlk eksplant sayısı: 34 kap x 4 eksplant / kap = 136 eksplant



Şekil 3.1. İklimlendirme odası ve denemede kullanılacak eksplantlar

3.2. Metot

3.2.1. Sterilizasyon Teknikleri

3.2.1.1. Cam Malzeme ve Ekipmanlarının Sterilizasyonu

Kültür esnasında kullanılan malzemelerin (cam kültür kapları, cam tüpler, steril su şişeleri, ve boş kavanozlar) 121°C sıcaklık ve 1.2 kg/cm^2 basınç altında 15 dakika süre ile otoklavda bekletilerek sterilizasyonları yapılmıştır.

3.2.1.2. Metal Malzeme ve Ekipmanlarının Sterilizasyonu

Kullanılan pens çeşitleri, bistüri vb. metal malzemeler %96'lık ethanol ile silindikten sonra alüminyum folyolara sarılarak etüvde 180°C sıcaklıkta 2 saat boyunca bekletilerek sterilizasyonu sağlanmıştır.

3.2.1.3. Kağıt Malzemelerin Sterilizasyonu

Kabinde çalışma esnasında kültür hazırlamada çok amaçlı olarak kullanılan filtre kağıtları belirli ebatlarda kesilip parşömen kağıtları ile sarılıp etüvde 150-180°C sıcaklıkta 2 saat bekletilerek sterilizasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.4. Kültür Kabinlerinin Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Doku kültürü çalışmalarında ilk ve en önemli adım olan aseptik şartları sağlamak üzere laboratuvar, kullanılan alet ve malzemelerinin sterilizasyonu için gerekli tüm işlemler yapılmıştır ve rutin olarak her çalışma öncesi işlemler tekrarlanmıştır.

Her çalışma öncesi transfer odası 2-3 saat önceden aktif hale getirilip kabinlerin içerisindeki ultraviyole lambalar açılarak odanın steril kalması sağlanmıştır. Kabinin iç kısmı ve çevresi alkolle pamuk kullanılarak temizlenmiştir. Kabin içerisinde kullanılan pens ve bistüriler her kullanım öncesi alkole batırılıp 300 derecelik elektrikli sterilizatör ile steril edilmiştir. Otoklav işlemi daha önceden tamamlanmış olan malzemeler steril kabine alkolle temizlenerek alınıp, kültür aşamalarına geçilmiştir. Eller alkolle temizlenip çalışma süresince kabin içerisinden çıkarılmadan, çıkarılınca veya başka bir şeye dokunulması durumunda tekrardan alkolle steril edilerek çalışmalara devam edilmiştir.

3.2.1.5. Besi Ortamlarının Sterilizasyonu

Hazırlanan besi ortamları ayrı ayrı her biri dört ayrı kaba bölüştürülmüştür (her gruptan ayrıca birer adet fazladan hazırlanmıştır). Hazırlanan besi ortamlarının kapakları kapatılarak 121 derecede 1.02 atm basınç altındaki otoklavda 60 dakika süre ile sterilize edilmiştir (20-25 ml/kap 36 kap=4 kapx9 ayrı muamele A-G + (FS, MS) ile her kap başına muameleyi (100 ml; A-G ve FS, MS) bölüp- 121 derecede 60 dk).

3.2.2. Besi Ortamlarının Hazırlanması

Yapılan çalışmalarda besi ortamı MS ve yarı sertlikte ayarlanmış MS (Murashige & Skoog 1962; ½MS olarak adlandırılır) ve genellikle bu çeşitlerin mikro-çoğalması için kullanılan kontrol ortamı olan Fossard ortamı (De Fossard ve diğerleri, 1974; FS olarak adlandırılır) kullanılmıştır.

Her iki bazal ortama MS'in (Murashige & Skoog 1962) mikrobesinleri ve Fossard ortamının vitaminleri (De Fossard ve diğerleri, 1974) aşağıdaki çizelgede gösterildiği gibi

eklenmiştir (Çizelge 3.1.). Besi ortamı bileşenleri Çizelge 3.2.'de gösterildiği gibi ilave edilmiştir.

Çizelge 3.1. Makro besinler, mikro besinler ve vitaminlerin eklendiği besi ortamları

Ortam	Makro besinler	Mikro besinler	Vitaminler
½ MS	½ MS	MS	FS
FS	FS	MS	FS

Çizelge 3.2. Besi ortamlarının bileşenleri

1	reaktifler	Ana solüsyon	Ana solüsyon	MS/2		MS/2
		g/1L	g/250ml	mg/L	mik.mg/1L	mik.mg/750ml
KNO_3	N 09	95	23.75	950	10	7.5
KH_2PO_4	D 06	17	4.25	85	5	3.75
$CaCl_2 2H_2O$	C 11	44	11	220	5	3.75
$MgSO_4 7H_2O$	2 10	74	18.5	185	2.5	1.875
NH_4NO_3	N 06	330	82.5	825	2.5	1.875
Na Fe EDTA	E 02	4	1	40	10	7.5
Eserelementler (skoog)					1	0.75
Vit.Fossard C					20	15

Kullanılan tüm maddeler g/L ve/veya mg/L olarak ifade edilmiştir. Ortam hazırlığında kullanılacak maddeler tablodaki sıraya uygun olacak şekilde ilave edilerek besi ortamları hazırlanmıştır. C vitamininin ve sakkarozun (30 g/l) da ortama eklenmesiyle hazır olan besi ortamı kültürleri 7 ayrı erlenmayere 100 ml olacak şekilde bölüştürülmüştür. Sekizinci besi ortamı olarak genellikle kullanılan Fossard ortamı (De Fossard ve diğerleri, 1974; FS olarak adlandırılır) ve son olarak MS (Murashige & Skoog 1962) kontrol grupları olarak kullanılmıştır.

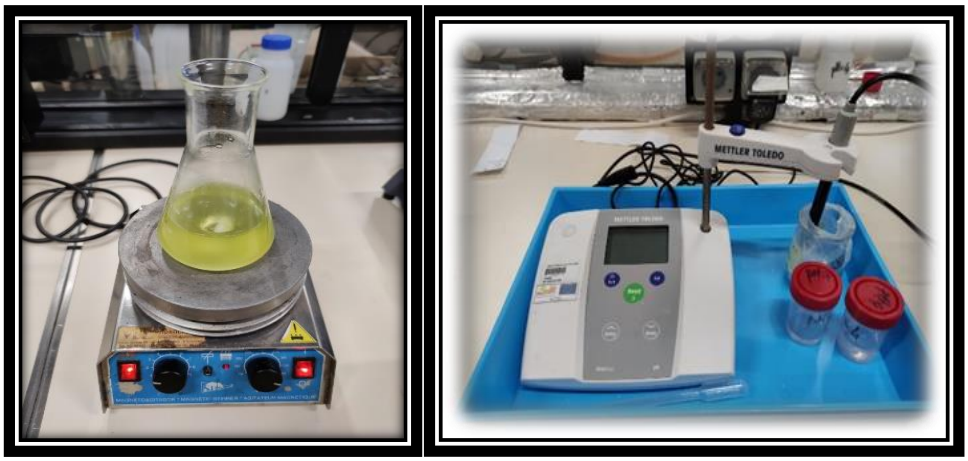
Bu besi ortamı kültürlerine, Çizelge 3.3'te gösterildiği gibi her bir deneme ortamına (A-G) ve kontrol ortamlarına farklı konsantrasyonlarda Benziladenin (BA), Gibberellik asit (GA_3) ve 1-Naftalin asetik asit (NAA) gibi farklı bitki büyüme düzenleyiciler ilave edilmiştir.

Çizelge 3.3. Besi ortamlarına ilave edilen bitki büyüme düzenleyicileri ve konsantrasyonları

Besi ort.	Bitki gr (mg/l); youğunluk µl/100ml								
	BA(100mg/100ml)		GA_3(100mg/100ml)		NAA(10mg/100ml)				
	mg/l	µl/100ml	mg/l	µl/100ml	mg/l	µl/100ml	sakkaroz	pH	Agar (8g/l)
A	0.5	50	0.0		0.05	50	3	5.65	0.8
B	0.6	50	0.5	50	0.05	50	3	5.65	0.8
C	0.7	50	1.0	100	0.05	50	3	5.65	0.8
D	0.8	50	2.0	200	0.05	50	3	5.65	0.8
E	0.1	10	0.1	10	0.01	10	3	5.65	0.8
F	0.25	25	0.01	1	0.2	200	3	5.65	0.8
G	0.2	20	0		0		3	5.65	0.8
FS-kont	0.2	20					3	5.65	0.8
MS-kont	0.2	20					3	5.65	0.8

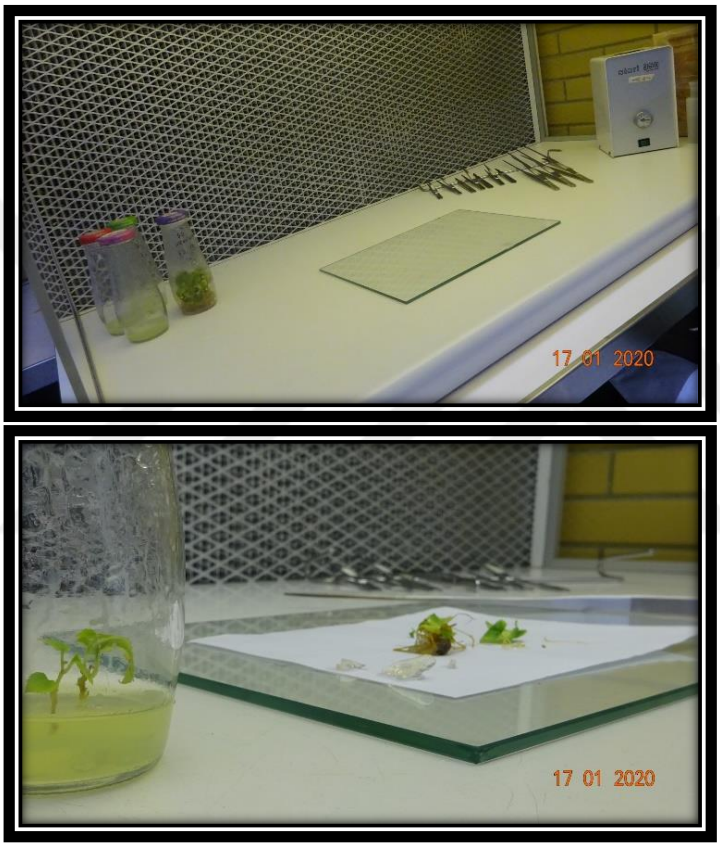
Şekil 3.3.'te gösterildiği miktarlarda bitki büyüme düzenleyicileri hassas teraziyle ölçülerek erlenmayer içerisine her bir deneme grubu için ayrı ayrı eklenmiştir. Manyetik karıştırıcı üzerine koyulan erlenmayer içerisine eklenen maddeler iyice karıştırılmıştır (Şekil 3.2.).

Ortam hazırlanırken bütün kimyasallar eritildikten sonra, 1 M HCl ve 1 M KOH kullanılarak masa tipi pH metre ile pH 5.65 (± 0,02)'e ayarlanmıştır (Şekil 3.2.). Ortam katılaştırıcı olarak 0,8 gr/l agar kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Manyetik karıştırıcı üzerindeki besi ortamı ve masa tipi pH metre

Farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicilerinin eklendiği ortamlar ayrı ayrı hazırlanarak her biri dört ayrı kaba bölüştürülmüştür (her gruptan ayrıca birer adet fazladan hazırlanmıştır). Hazırlanan besi ortamlarının kapakları kapatılarak 121 derecede 1.02 atm basınç altındaki otoklavda 60 dakika süre ile sterilize edilmiştir (20-25 ml/kap 36 kap=4 kapx9 ayrı muamele A-G + (FS, MS) ile her kap başına muameleyi (100 ml; A-G ve FS, MS) bölüp- 121 derecede 60 dk).



Şekil 3.3. Eksplantların hazırlanışı

3.2.3. İklim (Kültür) Odası

Eksplantlar farklı besi ortamlarına transfer edildikten sonra iklim odasına gelişmeye bırakılmıştır. İklim odasının sıcaklığı 20-25 derece aralığında tutulup 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyotta ayarlanmıştır. Işık spektrumu olarak beyaz led ışıklar ve ultraviyole ışıklar kullanılmıştır. Böylece bitkilerin gelişimi için optimum koşullar sağlanmıştır.

3.2.4. Uygulamalar Kapsamında Test Edilen Parametreler

Denemede üç farklı besi ortamı (½MS, MS, FS) ve bu ortamlara eklenmiş olan farklı konsantrasyonlarda Benziladenin (BA; 0.1, 0.2, 0.25, 0.5 mg/l), Gibberellik asit (GA_3; 00.1, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg/l) ve 1-Naftalin asetik asit (NAA; 0.01, 0.05, 0.2 mg/l) gibi farklı büyüme düzenleyiciler ilave edilmiştir.

Ortam kültürü ve bitki büyüme düzenleyicilerinin *in vitro* kültürlerin çoğalması üzerindeki etkisini değerlendirmek için aşağıdaki parametreler kaydedilecektir;

-Hayatta kalma oranı,

-Sürgün sayısı,

-Sürgün uzunluğu,

-Kallus oluşturma derecesi,

-Kök sayısı,

-Kök uzunluğu,

-Bitki ağırlığı.

Hayatta kalma oranı: Kültüre alınan mikro çeliklerden canlı kalanların oranını temsil eder.

Sürgün sayısı (adet): Her uyguluma için elde edilen sürgün sayıları belirlenmiştir.

Sürgün uzunluğu (cm): Her bir deneme yönteminde ayrı ayrı gelişen bitkiciklerinin sürgün uzunluğu ölçülmüştür. Sürgün sayısına göre sürgün uzunluklarının ortalamaları alınmıştır.

Kallus oluşturma derecesi (adet): Kültüre alınmış bitkicikler üzerinde meydana gelen kallus miktarının farklı besi ortamları ve farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin kombinasyonunda karşılaştırmalı ölçümü yapılmıştır.

Kök sayısı (adet): Her bir deneme yönteminde ayrı ayrı gelişen bitkiciklerinin kök sayıları belirlenmiştir.

Kök uzunluğu (cm): Her uygulama için elde edilen köklerin uzunlukları ölçülmüştür. Kök sayılarına göre kök uzunluklarının ortalaması alınarak hesaplamalar yapılmıştır.

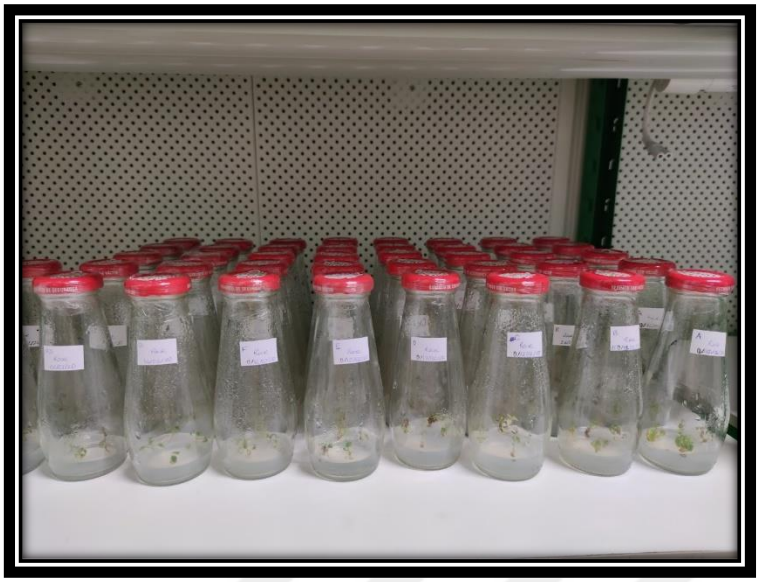
Bitki ağırlığı (g): Kaplar içerisinde gelişen bitkicikler tek tek tartılarak uygulama başına ortalamaları belirlenmiştir.

3.2.5. *In vitro*'da Eksplantların Kültüre Alınması ve Gelişmesi

Daha önceden IPC (Coimbra Politeknik Üniversitesi) biyoteknoloji laboratuvarında *in vitro* koşullarda mikro çoğaltımı yapılmış olan bitkiciklerden alınan mikro çelikler ortalama bir ay süreyle FS ortamında gelişmeye bırakılmıştır. Bu bitkiciklerden alınan (0.5-1.0 cm uzunluğunda) sürgünler ana ekplant kaynağı olarak farklı besi ortamlarına kültürü yapılmıştır. Denemeye alınan uygulamalarda her uygulama için 4 kültür kabında 16 eksplant kullanılmıştır (4 eksplant/ kap x 4 kap = 16 eksplant).

Toplam 9 ayrı uygulama için kullanılmış olan eksplant sayısı 144'tür (Toplam eksplant=16 eksplant (4 kap) her bir uygulama için x 9 işlem = 144 eksplant (36 kap)). Şekil 3.4.'te iklimlendirme odasındaki kaplar sunulmuştur.

Bitki büyüme düzenleyicilerden BA, GA_3 ve NAA' nın farklı konsantrasyonları kullanılmıştır. Denemede kullanılan besi ortamları ve içerikleri Çizelge 3.4.'te verilmiştir.



Şekil 3.4. Farklı kombinasyonlardaki ½MS ortamında kültürlenen tatlı patates eksplantları

Çizelge 3.4. Denemede kullanılan ortamların içeriği

Besi Ortamları	Bazal Ortam	Bitki Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		
		BA	GA_3	NAA
A	½ MS	0.5	0.0	0.05
B	½ MS	0.5	0.5	0.05
C	½ MS	0.5	1.0	0.05
D	½ MS	0.5	2.0	0.05
E	½ MS	0.1	0.1	0.01
F	½ MS	0.25	0.01	0.2
G	½ MS	0.2	0	0
Kontrol-FS	FS	0.2	0	0
Kontrol-MS	MS	0.2	0	0

Denemelerin her grubunda farklı dozlarda kullanılan sitokinin grubu BBD olan BA (Benziladenin)'e ek olarak en bilindik Giberellik asit olan GA_3 ve oksin grubundan NAA (1-Naftalen asetik asit)'in farklı dozları eklenerek kombinasyonlarının etkileri araştırılmıştır.

Deneme sonunda gelişen bitkicikler besi ortamından çıkarılarak hayatta kalma oranı, sürgün sayısı (adet) ve sürgün uzunluğu (cm), kallus oluşturma derecesi (adet), kök sayısı (adet), kök uzunluğu (cm) ve bitki ağırlığı (g) ölçülmüştür.

3.2.5.1. Farklı Dozlarda BBD İçeren ½MS Ortamlarının Karşılaştırılması

Bu analiz yöntemiyle farklı dozlarda ve kombinasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri içeren ½MS besi ortamlarında gelişmeye bırakılan kültürlerin; sürgün sayısı, kök sayısı, kallus varlığı ve bitki ağırlığı gibi farklı parametrelerinin değerlendirmesi yapılıp kıyaslanmıştır. Bu parametreler üzerinden yarı sertlikte MS besi ortamları arasındaki farklılıklar ve önem derecesi belirlenip grafikler üzerinden gösterilmiştir.

3.2.5.2. Deneme Gruplarının Kontrol FS ve MS ile Karşılaştırılması

Bu aşamada ½MS besi ortamlarından elde edilen sonuçların kontrol amacıyla kurulan MS ve FS besi ortamlarıyla karşılaştırmalı analizleri yapılarak en iyi sonuçların alındığı gruplar belirlenmiştir. Bu kültürlerin; sürgün sayısı, kök sayısı, ortalama sürgün uzunlukları, bitki ağırlığı ve kallus varlığı gibi farklı parametreler üzerinden değerlendirilmesi yapılıp ortamlar arasındaki farklar kıyaslanmıştır.

3.2.5.3. Farklı Ortamların Bitki Gelişimi Üzerindeki Etkisi

½MS, MS ve FS besi ortamlarına ilave edilen farklı dozlarda sitokinin grubu BBD ve ½MS ortamına ilave edilen farklı dozlarda giberellik asit ve oksin grubu BBD kullanılarak bitki gelişimi üzerinde etkileri araştırılmıştır. Bu analiz; sürgün sayısı, kök sayısı, bitki ağırlığı, kallus varlığı ve sürgün uzunluğu ortalamaları gibi parametreler üzerinden yapılmıştır.

Farklı BA Dozlarının ve Diğer BBD Kombinasyonlarıyla Gelişime Etkisi

Farklı dozlarda BBD'ler ve bunların kombinasyonlarında bitkilerin gelişimini test etmek amacıyla hazırlanan protokolde, ½MS, MS ve FS besi ortamlarına ilave edilen farklı dozlarda sitokinin grubu BBD ve ½MS ortamına ilave edilen farklı dozlarda giberellik asit ve oksin grubu BBD kullanılarak etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada her uygulama için (7 deneme (A-G) ve FS, MS kontrol) BA kullanılarak üç grupta yalnızca BA'nın etkisine bakılmıştır (G, FS ve MS kontrol), bir grupta BA'nın NAA (oksin) ile kombinasyonuna (A) ve diğer gruplarda GA_3 (giberellik asit) ve NAA (oksin) ile

kombinasyonlarının etkilerine bakılmıştır. Bu deneyde üzerinde durulan nokta kullanılan BA'nın doz etkisidir.

GA3'ün Farklı Dozlarının Diğer BBD Kombinasyonlarıyla Gelişime Etkisi

Bu deneyde ½MS besi ortamına ilave edilen GA_3, 5 uygulama için her kaba 4 ekplant olacak şekilde 80 ekplantta etkileri incelenmiştir. 5 gruba 0.01, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg/l olacak şekilde farklı dozlarda eklenerek BA ve NAA ile birlikte kombinasyonları hazırlanmıştır.

NAA'nın Farklı Dozlarının Diğer BBD Kombinasyonlarıyla Gelişime Etkisi

Denemenin birinci grubunda (A) ½MS içerisinde bulunan 0.5 mg/l'lik BA'ya ek olarak kullanılan 0.05 mg/l NAA'nın BA ile kombinasyonda etkileri incelenmiştir. Takip eden beş grupta ise (B-F) MS ortamına eklenen BA ve GA_3 ile kombinasyonlarının etkilerini incelemek amacıyla 0.01, 0.05, 0.2 mg/l dozlarında ilave edilmiştir.

3.2.5.4. Uygulama Sonuçlarına Göre Kök/Sürgün Oranlarının Karşılaştırılması

Deneme grupları (A-G) ve kontrol grupları (MS, FS) için kültür sonuçlarının tamamında kök sayısı, kök uzunluğu, sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu belirlenerek ortalamaları alınmıştır. Her grup için oluşan kök miktarının sürgünlere oranı belirlenmiştir. Bu oran ‘‘% (yüzde)’’ olarak ifade edilmiştir.

Farklı Dozlarda BA'nın Kök/Sürgün Oranına Etkisi

Denemenin bu aşamasında, her uygulama için test edilen (toplam 144 eksplant) BA BBDunun farklı dozlarının etkileri ölçülmüştür. Her doz miktarı için (0.1, 0.2, 0.25, 0.5 mg/l) bitkilerin kök sayısı-uzunluğu ve sürgün sayısı-uzunluğu belirlenerek ortalaması alınmıştır. Bu sonuca göre bitkilerin kök/sürgün oranı belirlenip ‘‘%’’ olarak ifade edilmiştir.

Farklı Dozlarda GA_3'ün Kök/Sürgün Oranına Etkisi

Bu denemeyle beş farklı gruba eklenen farklı dozlarda GA_3'ün diğer BBD konsantrasyonlarıyla beraber 80 eksplantta oluşan kök/sürgün oranının etkilerine bakılmıştır. Farklı miktarlarda kullanılan her doz için (0.0, 0.01, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg/l) kök sayısı, kök uzunluğu ve sürgün sayısı, sürgün uzunluğu belirlenerek ortalaması alınmıştır. Bu sonuçlara göre kök/sürgün oranı ‘‘%’’ olarak ifade edilmiştir.

Farklı Dozlarda NAA'nın Kök/Sürgün Oranına Etkisi

Altı grupta kullanılan farklı dozlarda NAA ilk uygulamada (A) BA ile kombinasyonda kullanılmıştır. Takip eden beş uygulamada (B-F) NAA'nın 0.01, 0.05 ve 0.2 mg/l'lik dozları BA ve GA_3 ile kombinasyonda kullanılmıştır. NAA'nın farklı dozlarının (0.01, 0.05 ve 0.2 mg/l) bitkicikler üzerindeki kök/sürgün oranına bakılmıştır. Bu sonuçlara göre kök/sürgün oranı ''%'' olarak ifade edilmiştir.

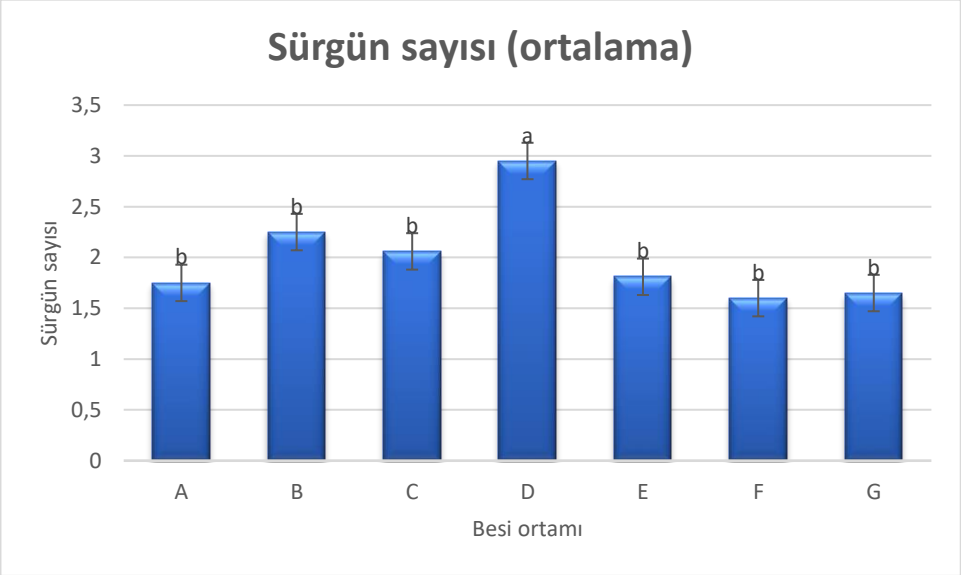
3.2.6. Verilerin Analizi

İstatistik analizi, üç tamamlayıcı yaklaşımın uygulandığı STATISTICA 7 kullanılarak gerçekleştirildi: varyans analizi (ANOVA) ve ortalamalar, çoklu doğrusal regresyon ve temel bileşenler analizi (PCA), Duncan testi ($P < 0.05$) (Duncan <1955) kullanılarak karşılaştırıldı. Değişken kallus varlığının değerlendirilmesi (0-5'ten, yani parametrik olmayan verilerden) gibi değişkenler anormal olarak dağıtıldığında, ortalamalar Kruskal-Wallis testi kullanılarak karşılaştırıldı (Zar, 1996).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Farklı Dozlarda BBD İçeren ½MS Ortamlarının Karşılaştırılması

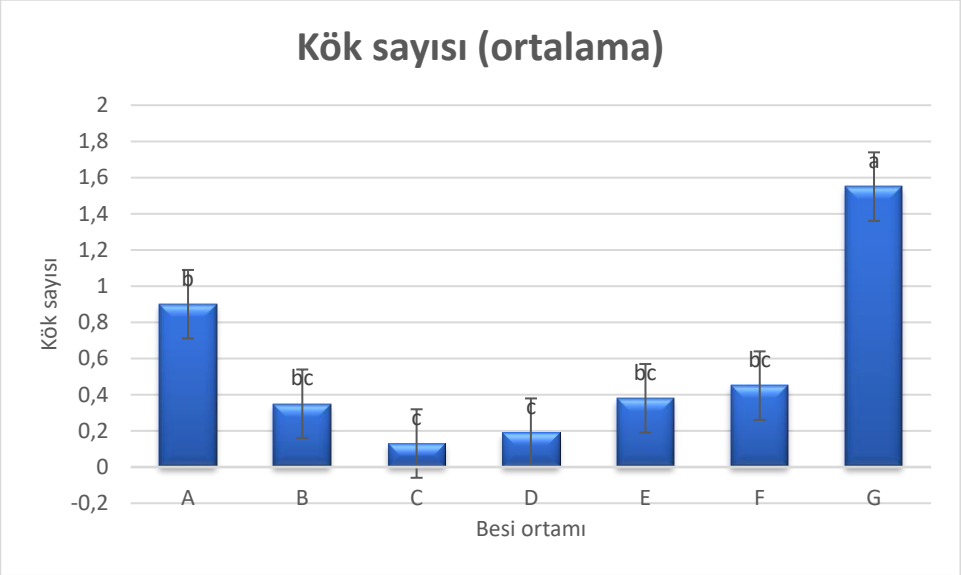
Farklı kültür ortamlarıyla denemeler yapılmasından iki ay sonra farklı parametrelerin değerlendirmesi yapılmıştır. Bu değerlendirme ile farklı BBD dozları ve kombinasyonlarının A,B,C,D,E,F ve G ortamlarında kültüre alınan eksplantlar üzerindeki sürgün sayısı, kök sayısı, kallus varlığı ve bitki ağırlığı arasındaki farklar ve önem dereceleri ölçülmüştür. Test edilen farklı bitki büyüme düzenleyicilerine (BBD) ve kombinasyonlarına göre sürgün sayısı sonuçları Şekil 4.l.'de, kök sayısı sonuçları Şekil 4.2.'de, kallus oluşturma dereceleri Şekil 4.3.'te ve bitki ağırlığı Şekil 4.4.'te sunulan grafikler üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.1. BBD kombinasyonlarının sürgün sayısı üzerindeki etkisi Not: farklı harfler önemli farklar gösterir (P<%5)

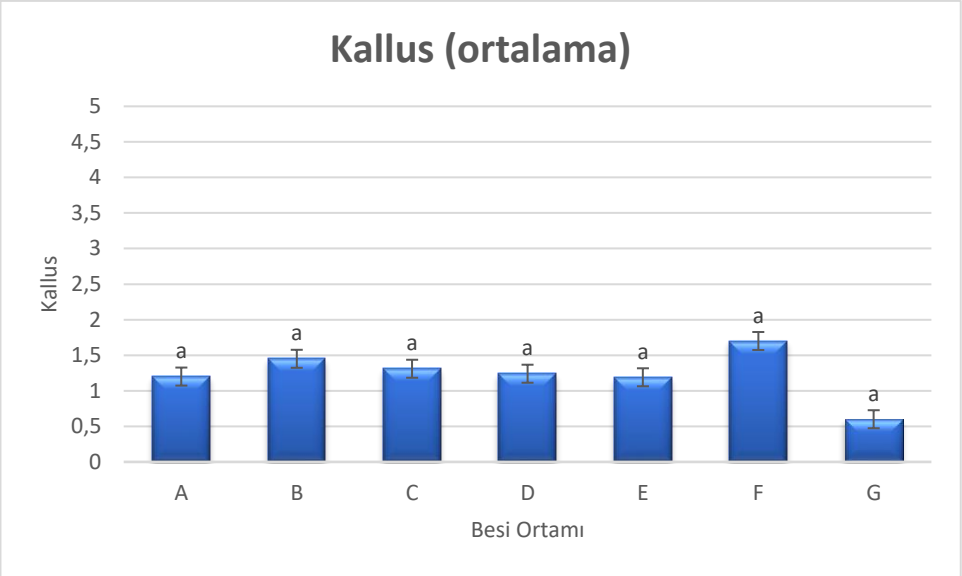
Şekil 4.1.'de analiz sonucu oluşturulan grafiklere göre; D ortam kültüründe (P <% 5) BA, GA_3 ve NAA ile sırasıyla 0.5, 2.0 ve 0.05 mg/1 konsantrasyonlarında daha fazla sürgün sayısı gözlenmiştir. BA ve GA_3'ün (sırasıyla 0,5 ve 2.0 mg/1) kullanıldığı diğer deneme gruplarına oranla en yüksek konsantrasyonlara sahip kültür besi ortamı (D) sürgünlerin test edilen diğer gruplardan daha yüksek sayıda olduğunu göstermiştir; ayrıca NAA bitki büyüme düzenleyicisi test edilen kombinasyonlar arasında bulunmaktadır (0-0.2 mg/1). F besi ortamında ise (BA, GA_3 ve NAA; sırasıyla 0.25, 0.01, 0.2 mg/l) diğer

gruplarla arasında anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte en düşük sürgün sayısına sahip olduğu gözlenmiştir.

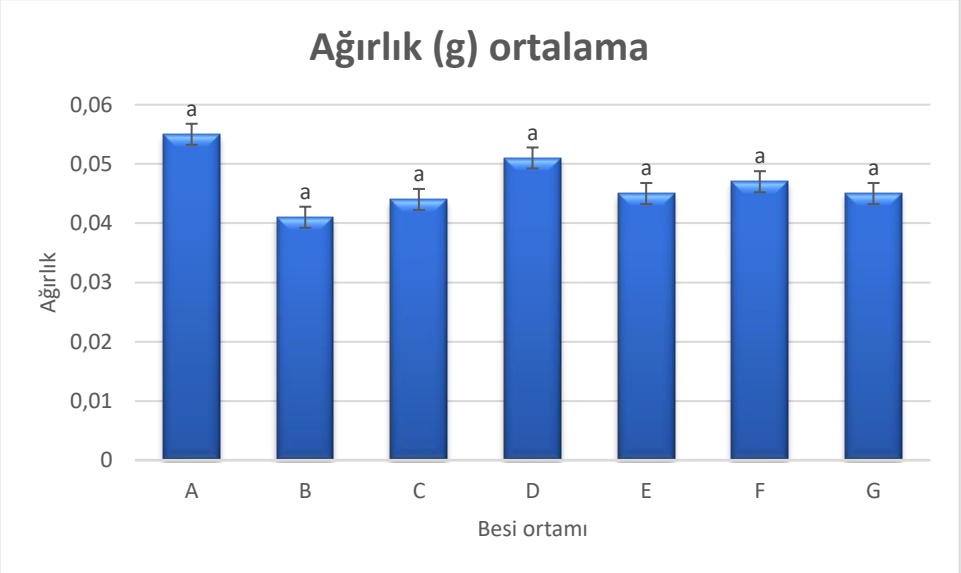


Şekil 4.2. BBD kombinasyonlarının kök sayısı üzerindeki etkisi Not: farklı harfler önemli farklar gösterir (P<%5)

Sadece BA'nın kullanıldığı (0.2 mg/1, GA_3 ve NAA olmadan) olan kültür besi ortamı G'de (P <%5) diğer gruplara oranla daha fazla sayıda kök gözlenmiştir, bunu takiben benzer şekilde GA_3 olmadan ve sırasıyla 0.5 ve 0,05 mg/1'de BA ve NAA ile takviye edilmiş ortam A'da ikinci olarak yüksek kök oluşumu gözlenmiştir. GA_3'ün ortam kültüründe (B-F) bulunmasından itibaren köklerin sayısının daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2.). Test edilen bu gruplar içerisinde en düşük kök sayısını C (BA, GA_3 ve NAA; sırasıyla 0.5, 1.0, 0.05 mg/l) ve D (BA, GA_3 ve NAA; sırasıyla 0.5, 2.0, 0.05 mg/l) ortamları vermiştir; bu etki, daha yüksek GA_3 konsantrasyonuna sahip kültür besi ortamı (C & D) ve bu durumda G ve A (GA_3 bulunmayan) ortamlarından önemli farklılıklar tespit edilmesinin belirleyici sebebi olmuştur.

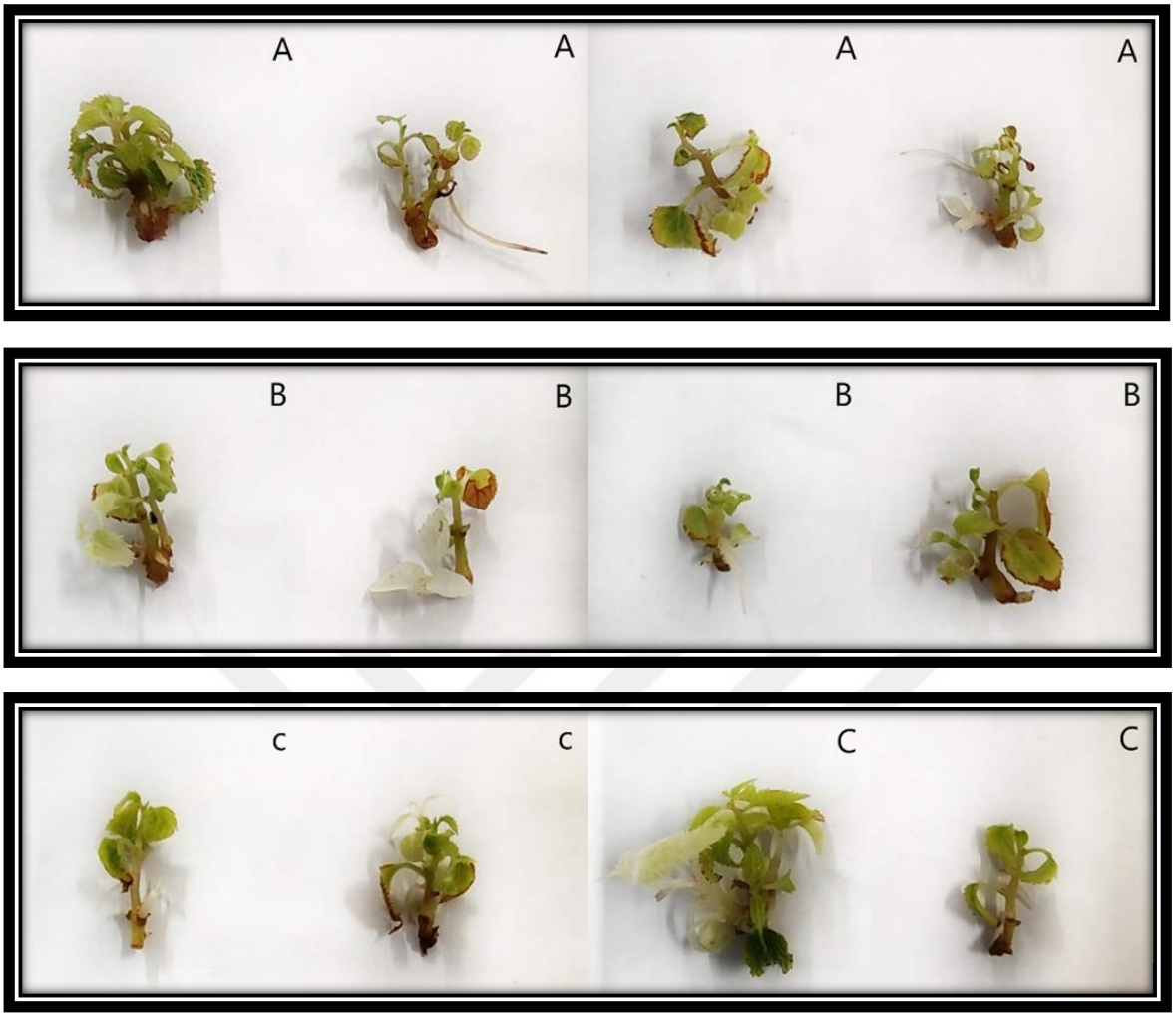


Şekil 4.3. BBD kombinasyonlarının kallus oluşumu üzerindeki etkisi Not: farklı harfler önemli farklar gösterir (P<%5)

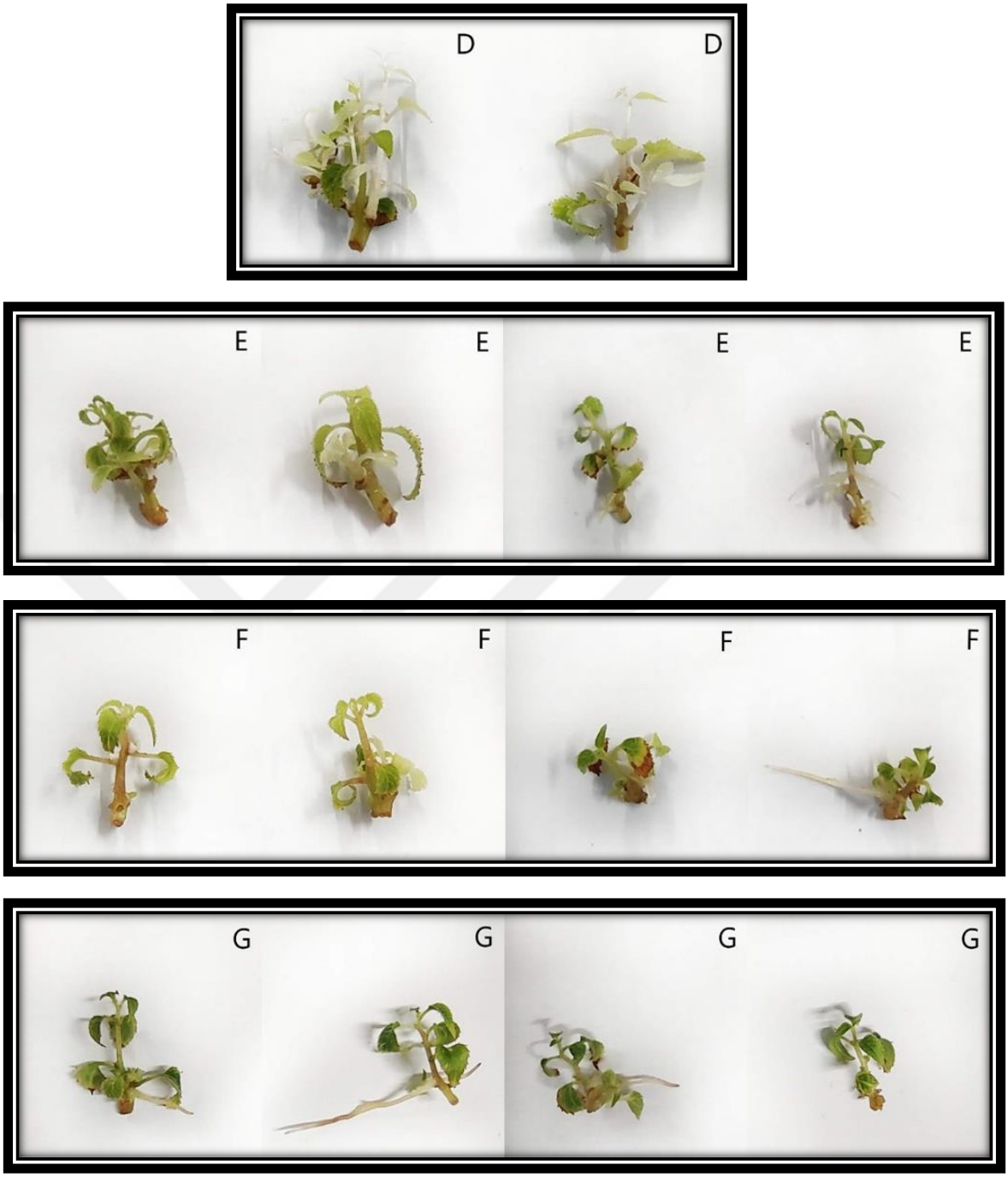


Şekil 4.4. BBD kombinasyonlarının ağırlık (tüm bitki) üzerindeki etkisi Not: farklı harfler önemli farklar gösterir (P<%5)

Test edilen farklı ortamlarda kallus varlığında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.3.); benzer şekilde, farklı kültür ortamlarının bitki ağırlığı üzerinde de anlamlı bir farkı bulunmamıştır (Şekil 4.4.) (P<%5).



Şekil 4.5. Farklı BBD kombinasyonlarından (A,B,C,D,E,F,G deneme gruplarından) ortalama iki ay sonunda elde edilen bitkicikler

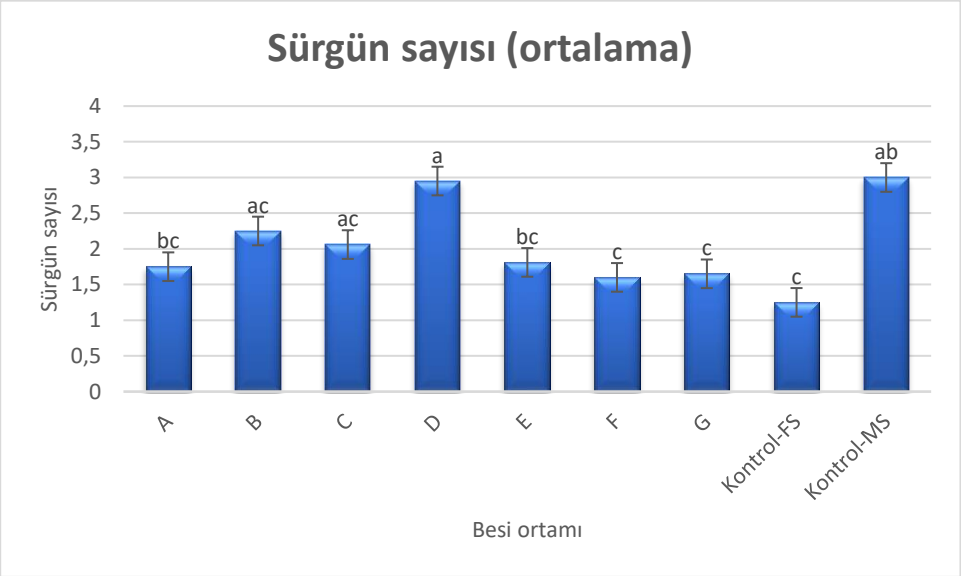


Şekil 4.5. Farklı BBD kombinasyonlarından (A,B,C,D,E,F,G deneme gruplarından) ortalama iki ay sonunda elde edilen bitkicikler (devamı)

4.2. Deneme Gruplarının Kontrol FS ve MS ile Karşılaştırılması

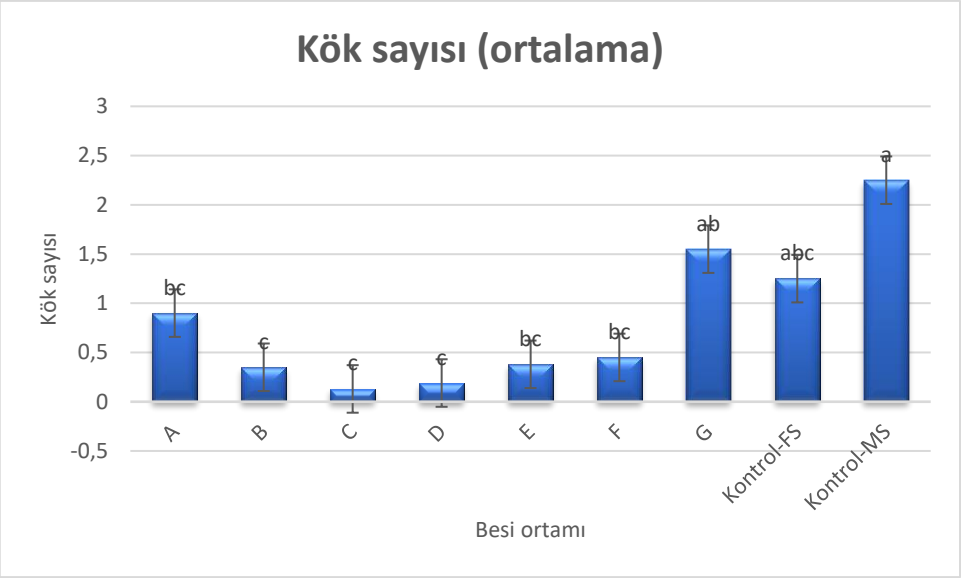
Farklı kültür ortamlarıyla denemelerin oluşturulmasından iki ay sonra, ölçülen farklı parametrelerin değerlendirilmesi yapılmıştır.

Kültür ortamının sürgün sayısı ve kök sayısı üzerindeki etkisini değerlendirmek için yapılan varyans analizi, ana faktör ortam kültürü olmak üzere önemli farklılıklar göstermektedir (Tablo 1, Ek3). Test edilen farklı ortam kültürlerine göre sürgün sayısının ve kök sayısının sonuçları Şekil 4.6. ve Şekil 4.7.'de gösterilmektedir.



Şekil 4.6. Besi ortamlarının sürgün sayısı üzerindeki etkisi Not: farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıklar gösterir (P <%5)

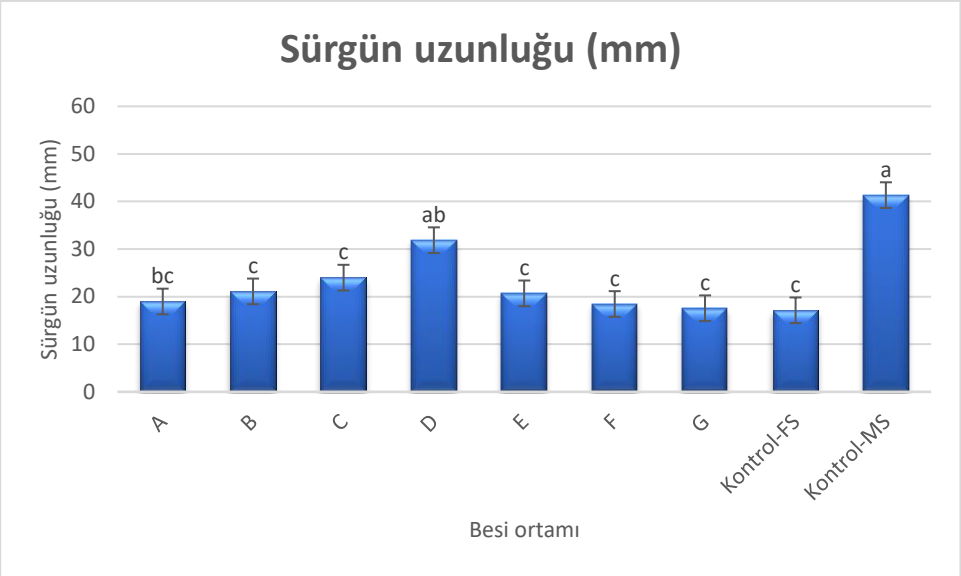
Şekil 4.6.'da, D besi ortamı ve MS kontrol grubu diğer gruplara oranla daha yüksek sayıda sürgün gözlemlendiğini göstermektedir (P <%5). Bazal besi ortamı D'ye (1/2 MS), 3 bitki düzenleyicisi eklenerek test edilmiştir (BA, GA_3 ve NAA, sırasıyla; 0.5, 2.0 ve 0.05 mg/l konsantrasyonlarda). D ortamında istatistiksel olarak en yüksek sayıda sürgün gözlendiği belirtilmiştir (MS kontrolüne kıyasla daha düşük bir standart hata ile). D besi ortamı, en yüksek BA ve GA_3 konsantrasyonları (sırasıyla 0.5 ve 2.0 mg/l) ile denemeye alınmıştır; ayrıca NAA bitki büyüme düzenleyicisi de, test edilen kombinasyonlar arasındaydı (0-0.2 mg/l konsantrasyonlarında).



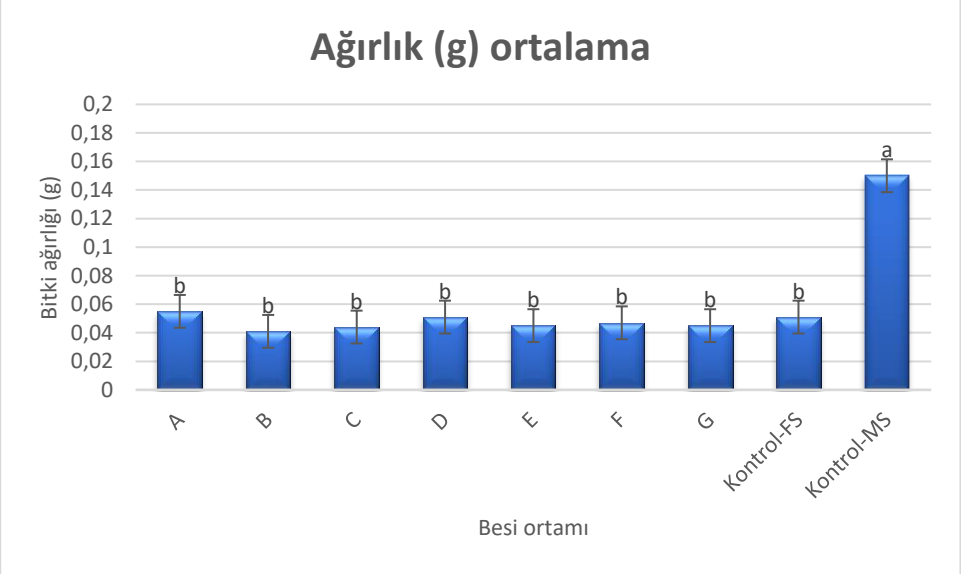
Şekil 4.7. Besi ortamlarının kök sayısı üzerindeki etkisi Not: farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıklar gösterir (P <%5)

Şekil 4.7., FS kontrol ve G ortam kültüründen önemli farklılıklar olmaksızın, MS kontrol grubunda daha yüksek sayıda kök oluştuğunu göstermiştir. Bu üç ortam kültürü ortak olarak GA_3 ve NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin bulunmadığı besi ortamı gruplarını oluşturur. En yüksek kök sayısı benzer şekilde GA_3 olmadan ve sırasıyla 0.5 ve 0.05 mg/l'de BA ve NAA ile A kültür ortamında tespit edilmiştir. GA_3, ortam kültürlerinde (B-F) mevcut olduğundan itibaren, kök sayısı daha düşük oranlarda tespit edilmiştir; bu etki, daha yüksek GA_3 konsantrasyonuna sahip ortam kültürleri (C & D) incelendiğinde daha belirgin görülmüştür.

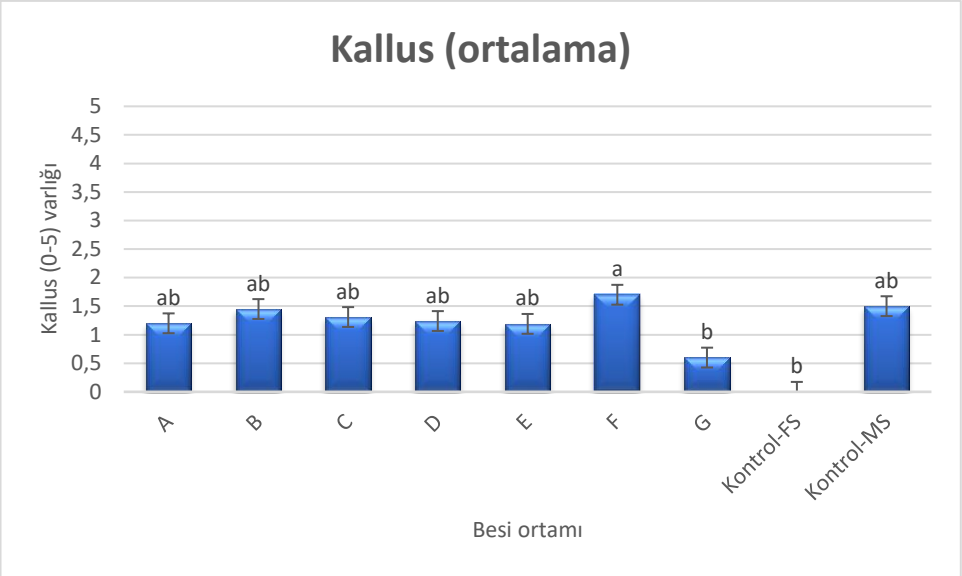
Test edilen farklı besi ortamlarına göre sürgün uzunluğu toplamı Şekil 4.8.'de, bitki ağırlığı Şekil 4.9.'da ve kallus mevcudiyetinin sonuçları Şekil 4.10.'da gösterilmektedir. Varyans analizi bu parametreler üzerinde önemli farklılıklar göstermiştir (Tablo 1, Ek3).



Şekil 4.8. Besi ortamlarının sürgünlerin uzunluğunun toplamı (mm) üzerindeki etkisi Not: farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıklar gösterir (P <%5)



Şekil 4.9. Besi ortamlarının bitki ağırlığı (g) üzerindeki etkisi Not: farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıklar gösterir (P <%5)



Şekil 4.10. Besi ortamlarının kallus varlığı (0-5) üzerindeki etkisi Not: farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklar gösterir (P <%5)

Sürgünlerin sayısını gösteren sonuçlara benzer şekilde, Şekil 4.8. grafiğinde, sürgünlerin uzunluklarının toplamının, D besi ortamından önemli farklılıklar olmaksızın kültür besi ortamı MS kontrol grubunda önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir (P <%5). Bununla birlikte, MS kontrol grubu, test edilen tüm gruplara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek bir bitki ağırlığı göstermiştir (Şekil 4.9.) Bu sonuçlar, MS kontrol grubunda daha fazla sayıda sürgün, daha uzun sürgün ve sonuç olarak daha yüksek bir bitki ağırlığı gözlemlendiğini göstermiştir. Kallus varlığı, test edilen farklı gruplar içerisinde, ortam kültürü FS kontrol grubunda önemli ölçüde daha düşük tespit edilmiştir (Şekil 4.10.).

4.3. Farklı Ortamların Bitki Gelişimi Üzerindeki Etkisi

Test edilen tüm grupların karşılaştırmalı analizlerinde elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre; sürgün sayısı en yüksek 2,95±0,26 ile D ortamından elde edilmiştir. Bunu takiben sırasıyla MS kontrol, B ve C grupları gelmektedir. Kök sayısında en yüksek değeri MS ortamı 2,25±0,45 değeriyle verirken, 1,55±0,32 değeriyle G ortamı ikinci en yüksek kök sayısını vermektedir. Kallus varlığı 0,60±0,22 değeriyle diğer test edilen ortamlarla arasında anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen yine G ortamında düşük olarak gözlenirken FS ortamından kallus oluşumu hiç gerçekleşmemiştir. Sürgün uzunluğu yine en yüksek sürgün sayısının gözlemlendiği MS ortamında tespit edilmiştir. 31,87±3,21 mm değeriyle sürgün sayısının en yüksek olduğu

ikinci grup D ortamı olmuştur. Bitki ağırlığı sürgün sayısı, kök sayısı ve sürgün uzunluğuna bağlı olarak en yüksek MS ortamından elde edilmiştir (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. Kültür ortamlarının sürgün sayısı, kök sayısı, bitki ağırlığı, kallus varlığı ve sürgün uzunluğu (toplam veriler) üzerindeki etkisi

Kültür ortamı	N	Sürgün Sayısı	Kök Sayısı	Ağırlık (g)	Kallus (0-5)	∑ Sürgün Uzunluğu (mm)
		Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Otalama±SS
A	20	1.75 ± 0.20 ^{bc}	0.90 ± 0.19 ^{bc}	0.055 ± 0.01 ^{b}	1.20 ± 0.34 ^{ab}	18.98 ± 1.50 ^{c}
B	20	**2.25 ± 0.16** ^{ac}	**0.35 ± 0.15** ^{c}	0.041 ± 0.00 ^{b}	1.45 ± 0.23 ^{ab}	21.11 ± 1.18 ^{c}
C	16	**2.06 ± 0.30** ^{ac}	**0.13 ± 0.09** ^{c}	0.044 ± 0.01 ^{b}	1.31 ± 0.31 ^{ab}	24.00 ± 3.01 ^{bc}
D	21	**2.95 ± 0.26** ^{a}	**0.19 ± 0.11** ^{c}	0.051 ± 0.01 ^{b}	1.24 ± 0.24 ^{ab}	**31.87 ± 3.21** ^{ab}
E	16	1.81 ± 0.25 ^{bc}	0.38 ± 0.18 ^{c}	0.045 ± 0.01 ^{b}	1.19 ± 0.31 ^{ab}	20.70 ± 1.59 ^{c}
F	20	1.60 ± 0.18 ^{c}	0.45 ± 0.17 ^{c}	0.047 ± 0.01 ^{b}	1.70 ± 0.32 ^{a}	18.46 ± 1.15 ^{c}
G	20	1.65 ± 0.17 ^{c}	**1.55 ± 0.32** ^{ab}	0.045 ± 0.00 ^{b}	0.60 ± 0.22 ^{ab}	17.57 ± 1.38 ^{c}
FS	8	1.25 ± 0.25 ^{c}	**1.25 ± 0.75** ^{ac}	0.051 ± 0.01 ^{b}	**0.00 ± 0.00** ^{b}	17.14 ± 0.61 ^{c}
MS	8	**3.00 ± 0.53** ^{ab}	**2.25 ± 0.45** ^{a}	**0.150 ± 0.03** ^{a}	1.50 ± 0.42 ^{ab}	**41.34 ± 7.38** ^{a}

Not: Farklı harfler önemli bir fark gösterir (P <%5); Değerler ortalama ± standart hatadır

Çizelge 4.1.'deki bu veriler, ortam kültürünün *in vitro* kültür üzerindeki etkisine ilişkin önceki gözlemlere uygundur (Şekil 4.1.-Şekil 4.4. ve Şekil 4.6.-Şekil 4.10.).

Aşağıdaki çizelgeler, izole edilen her faktöre (test edilen BBD ve ilgili konsantrasyon) göre bağımlı değişkenler için gözlenen farklılıkları göstermektedir.

4.3.1. Farklı BA Dozlarının ve Diğer BBD Kombinasyonlarıyla Gelişime Etkisi

Yapılan bu analizde, izole edilen BA faktörüne (test edilen BA ve konsantrasyon; 0.1, 0.2, 0.25 ve 0.5 mg/l) göre bağımlı değişkenler için farklılıklar test edilmiştir. Bu tabloya göre BA konsantrasyonu 0.1 ve 0.2 mg/l kullanılan BA'dan önemli farklılıklar olmaksızın 0.5 mg/l olarak test edildiğinde 2,27±0,12 değeriyle en yüksek sürgün sayısını

vermektedir. BA'nın 0.2 mg/l'lik dozunda en yüksek kök sayısı (1,64±0,26) tespit edilmiştir. Bitki ağırlığında 0.1 ve 0.25 mg/l'lik dozlarla arasında önemli fark bulunmamakla beraber en yüksek 0.2 mg/l ilave edilen ortamdan ölçülmüştür. Kallus varlığı, 0.1 ve 0.5'lik dozlarla arasında büyük bir fark bulunmamakla beraber en düşük 0.2'lik dozda tespit edilmiştir. Sürgün uzunluğu en yüksek sürgün sayısının tespit edildiği 0.5 mg/l'lik dozda ölçülmüştür. Bunu takiben en yüksek sürgün uzunluğunu veren BA sırasıyla 0.1 ve 0.25 mg/l konsantrasyonlarında ölçülmüştür (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Farklı BA konsantrasyonlarının sürgün sayısı, kök sayısı, bitki ağırlığı, kallus varlığı ve sürgün uzunluğu (toplam veriler) üzerindeki etkisi

(BA mg/l)	N	Sürgün Sayısı	Kök Sayısı	Ağırlık (g)	Kallus (0-5)	∑ Sürgün Uzunluğu (mm)
		Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS
0.1	16	**1.81 ± 0.25** ^{ab}	0.38 ± 0.18 ^{b}	**0.048 ± 0.01** ^{ab}	1.19 ± 0.31 ^{ab}	20.70 ± 1.59 ^{a}
0.2	36	**1.86 ± 0.19** ^{ab}	**1.64 ± 0.26** ^{a}	**0.070 ± 0.01** ^{a}	**0.67 ± 0.17** ^{b}	22.76 ± 2.42 ^{a}
0.25	20	1.60 ± 0.18 ^{b}	0.45 ± 0.17 ^{b}	**0.047 ± 0.01** ^{ab}	1.70 ± 0.32 ^{a}	18.46 ± 1.15 ^{a}
0.5	77	**2.27 ± 0.12** ^{a}	0.40 ± 0.08 ^{b}	0.045 ± 0.003 ^{b}	1.30 ± 0.14 ^{a}	24.09 ± 1.30 ^{a}

Not: Farklı harfler önemli farklılıklar gösterir (P <%5); Değerler ortalama ± standart hatadır

4.3.2. GA_3'ün Farklı Dozlarının Diğer BBD Kombinasyonlarıyla Gelişime Etkisi

GA_3 konsantrasyonlarına göre (0, 0.01, 0.1, 0.5, 1.0 ve 2.0 mg/l) bağımlı değişkenler için gözlenen farklılıklar analiz edilmiştir. GA_3'ün 2.0 mg/1 test edildiği ortamda, diğer yüksek seviyedeki GA_3'ten önemli farklar olmadan, en yüksek sürgün sayısı değerini 2.95 ± 0.26 ile vermiştir (0-2 mg/l konsantrasyonları arasından). GA_3'ün hiç kullanılmadığı ortamda en yüksek kök sayısı elde edilmiştir (1,38±0,19). Ağırlık parametresinde kullanılan dozlar arasında istatistiki olarak bir fark bulunmamasına rağmen, GA_3'ün hiç kullanılmadığı ortam ve GA_3'ün en yüksek dozu olan 2.0 mg/l kullanıldığında bitkilerin en yüksek ağırlığa ulaştığı görülmüştür. Kallus varlığı diğer dozlarla arasında anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen en düşük olarak GA_3'ün bulunmadığı ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu en yüksek sürgün sayısının tespit

edildiği konsantrasyonda (2.0 mg/l) 31,87±3,21 mm değeriyle elde edilmiştir (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Farklı GA_3 konsantrasyonlarının sürgün sayısı, kök sayısı, bitki ağırlığı, kallus varlığı ve sürgün uzunluğu (toplam veriler) üzerindeki etkisi

(GA_3 mg/l)	N	Sürgün Sayısı	Kök Sayısı	Ağırlık (g)	Kallus (0-5)	∑ Sürgün Uzunluğu (mm)
		Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS
0	56	1.82 ± 0.14 [b]	**1.38 ± 0.19 [a]**	***0.064 ± 0.01 [a]***	0.86 ± 0.17 [a]	21.41 ± 1.65 [b]
0.01	20	1.60 ± 0.18 [b]	0.45 ± 0.17 [b]	0.047 ± 0.01 [a]	1.70 ± 0.32 [a]	18.46 ± 1.15 [b]
0.1	16	1.81 ± 0.25 [b]	0.38 ± 0.18 [b]	0.045 ± 0.01 [a]	1.19 ± 0.31 [a]	20.70 ± 1.59 [b]
0.5	20	**2.25 ± 0.16 [ab]**	0.35 ± 0.15 [b]	0.041 ± 0.00 [a]	1.45 ± 0.23 [a]	21.11 ± 1.18 [b]
1	16	**2.06 ± 0.30 [ab]**	0.13 ± 0.09 [b]	0.044 ± 0.01 [a]	1.31 ± 0.31 [a]	**24.00 ± 3.01 [ab]**
2	21	**2.95 ± 0.26 [a]**	0.19 ± 0.11 [b]	***0.051 ± 0.01 [a]***	1.24 ± 0.24 [a]	**31.87 ± 3.21 [a]**

Not: Farklı harfler önemli farklılıklar gösterir (P <%5); İtalik sayılar, önemli farklar olmadan ilgili farklılıkları gösterir. Değerler ortalama ± standart hatadır

4.3.3. NAA'nın Farklı Dozlarının Diğer BBD Kombinasyonlarıyla Gelişime Etkisi

İzole edilen NAA faktörüne (test edilen NAA ve konsantrasyonu; 0.0, 0.01, 0.05 ve 0.2 mg/1) göre bağımlı değişkenler için farklılıklar test edilmiştir. Test edilen 0.05 mg/l'lik NAA en yüksek sürgün sayısı değerini 2,27±0,12 ile gösterirken; 0.0 ve 0.01 mg/l'lik konsantrasyonlarda bunu takip ederek en yüksek sürgün sayılarını vermiştir. En yüksek 0.2 mg/l konsantrasyonda ise en düşük sürgün sayısı değerini göstermiştir. En yüksek kök sayısı NAA'nın kullanılmadığı ortamdan elde edilirken bitki ağırlığı bu faktör için en yüksek sürgün sayısı ve kök sayısına bağlı olarak NAA'sız ortamda bulunmuştur. Kallus varlığı en düşük NAA'sız ortamdan elde edilirken, düşük NAA konsantrasyonları (0.01, 0.05 mg/l) için düşük değerleri vermiştir (p<%5). Sürgün sayısının en yüksek bulunduğu 0.05 mg/l'lik ortamda diğer ortamlarla önemli fark bulunmaksızın en yüksek sürgün uzunluğu 24,09±1,30 değeri ile bulunmuştur. Ayrıca NAA'nın kullanıldığı üç farklı dozda da yüksek sürgün uzunluğu değerleri elde edilmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Farklı NAA konsantrasyonlarının sürgün sayısı, kök sayısı, bitki ağırlığı, kallus varlığı ve sürgün uzunluğu (toplam veriler) üzerindeki etkisi

(NAA, mg/l)	N	Sürgün Sayısı Ortalama±SS	Kök Sayısı Ortalama±SS	Ağırlık (g) Ortalama±SS	Kallus (0-5) Ortalama±SS	∑ Sürgün Uzunluğu (mm) Ortalama±SS
0	36	**1.86 ± 0.19 ab**	**1.64 ± 0.26 a**	**0.070 ± 0.01 a**	**0.67 ± 0.17 a**	22.76 ± 2.42 a
0.01	16	**1.81 ± 0.25 ab**	0.38 ± 0.18 b	0.045 ± 0.01 ab	**1.19 ± 0.31 ab**	20.70 ± 1.59 a
0.05	77	**2.27 ± 0.12 a**	0.40 ± 0.08 b	0.048 ± 0.00 b	**1.30 ± 0.14 ab**	24.09 ± 1.30 a
0.2	20	1.60 ± 0.18 b	0.45 ± 0.17 b	0.047 ± 0.01 ab	1.70 ± 0.32 b	18.46 ± 1.15 a

Not: Farklı harfler önemli farklılıklar gösterir (P <%5); Değerler ortalama ± standart hatadır

Değişken bitki ağırlığı için çoklu regresyon, bu değişkenin, sürgün sayısı, kök sayısı ve BA konsantrasyonu ile pozitif bir katsayı; GA_3 konsantrasyonu için negatif bir katsayı ile önemli ölçüde bağımlı olduğunu göstermektedir.

4.4. Uygulama Sonuçlarına Göre Kök/Sürgün Oranlarının Karşılaştırılması

Bu analiz, besi ortamı kültürünün sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu üzerindeki etkisini göstermektedir (toplam / bitki).

Test edilen farklı grupların karşılaştırmalı kök/sürgün (%) yüzde oranı analizlerinde, sürgün uzunluğu üzerinde farklı grupların istatistiksel olarak FS ve MS kontrol gruplarında yüksek olduğu görülmüştür. Kök uzunluğu en yüksek G ortamından ortalama 23,07±5,40 mm (ortalama) değeriyle ikinci olarak MS kontrol grubundan 20,44±1,55 mm (ortalama) değeriyle elde edilmiştir. Bunu takiben; E,F,A ortamlarından ortalama kök uzunluğu değerleri önemli farklılıklar olmaksızın yüksek sonuçlar göstermiştir. Kök/sürgün oranının 93,8 değeriyle en yüksek bulunduğu MS kontrol ortamını takiben 51,4 değeriyle A, 42,4 değeriyle G ortamı yüksek oranları vermiştir (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Ortam kültürünün sürgün uzunluğu (tek tek bitkiler) ve kök uzunluğu (toplam / bitki) üzerindeki etkisi

Kültür Ortamı	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu (mm) Ortalama±SS	Kök Sayısı	∑ Kök Uzunluğu (mm) Ortalama±SS	(Kökler/Sürgün) %
A	35	10.85 ± 0.75 ^{c}	**18**	8.35 ± 1.27 ^{bc}	**51.4**
B	45	9.38 ± 0.61 ^{c}	9	5.55 ± 0.93 ^{c}	20.0
C	33	11.64 ± 0.90 ^{bc}	2	4.50 ± 0.36 ^{c}	6.1
D	62	10.80 ± 0.72 ^{c}	6	6.01 ± 0.75 ^{c}	9.7
E	29	11.20 ± 1.05 ^{bc}	5	10.01 ± 2.13 ^{bc}	17.2
F	32	11.54 ± 0.82 ^{bc}	7	8.40 ± 2.13 ^{bc}	21.9
G	33	10.65 ± 0.88 ^{c}	**14**	**23.07 ± 5.40** ^{a}	**42.4**
FS	8	**17.14 ± 0.61** ^{ab}	3	2.40 ± 2.25 ^{c}	37.5
MS	16	**16.56 ± 1.42** ^{ab}	15	**20.44 ± 1.55** ^{ab}	**93.8**
	293		79		

Not: Farklı harfler önemli farklar gösterir (P <%5). Değerler ortalama ± standart hatadır

4.4.1. Farklı Dozlarda BA'nın Kök/Sürgün Oranına Etkisi

Bu analizde 0.1, 0.2, 0.25 ve 0.5 mg/l konsantrasyonlarında kullanılan BA'nın sürgün uzunluğu, kök uzunluğu ve kök/sürgün oranlarına bakılmıştır. Sürgün uzunluğu 0.2 mg/l BA konsantrasyonunda en yüksek değeri göstermiştir. Aynı şekilde, kök uzunluğu en yüksek 0.2 mg/l'lik BA dozunun uygulandığı ortamdan 17,46±2,62 mm (ortalama) değeriyle elde edilmiştir. Kök/sürgün oranı da bu sonuçlara bağlı şekilde 0.2 mg/l BA kullanılan ortamdan en yüksek oranı vermiştir. Bu durumda, BA'nın 0.2 mg/l dozunda sürgünlerin %56.1'inde kök oluşumu gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.6. BA'nın farklı konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu (tek tek bitkiler) ve kök uzunluğu (toplam / bitki) üzerine etkisi

(BA mg/l)	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu (mm) Ortalama±SS	Kök Sayısı	∑ Kök Uzunluğu (mm) Ortalama±SS	(Kökler /Sürgün) %
0.1	29	11.20 ± 1.05 [ab]	5	10.01 ± 2.75 [ab]	17.2
0.2	57	**13.22 ± 0.76 [a]**	**32**	**17.46 ± 2.62 [a]**	**56.1**
0.25	32	11.54 ± 0.82 [ab]	7	8.40 ± 2.13 [ab]	21.9
0.5	175	10.60 ± 0.38 [b]	35	7.09 ± 0.75 [b]	20.0
	293		79		

Not: Farklı harfler önemli farklar gösterir (P <%5). Değerler ortalama ± standart hatadır

4.4.2. Farklı Dozlarda GA_3'ün Kök/Sürgün Oranına Etkisi

Bu analiz yönteminde kullanılan GA_3 konsantrasyonları için sürgün ve kök uzunluğu ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Kök sayısı en yüksek GA_3 bulunmayan ortamda tespit edilmiştir. Aynı şekilde kök/sürgün oranı da en yüksek GA_3'ün bulunmadığı ortamdan elde edilmiştir. Bu tabloya göre 0.0 GA_3 olan ortamdan sürgünlerin %54,3'ünde kök oluşumu gözlenmiştir.

Çizelge 4.7. GA_3'ün farklı konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu (tek tek bitkiler) ve kök uzunluğu (toplam / bitki) üzerine etkisi

(GA_3 mg/l)	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu (mm) Ortalama±SS	Kök Sayısı	∑ Kök Uzunluğu (mm) Ortalama±SS	(Kökler /Sürgün) %
0	92	12.32 ± 0.56 [a]	**50**	14.71 ± 1.89 [a]	**54.3**
0.01	32	11.54 ± 0.82 [a]	7	8.40 ± 2.13 [a]	21.9
0.1	29	11.20 ± 1.05 [a]	5	10.01 ± 2.75 [a]	17.2
0.5	45	9.38 ± 0.61 [a]	9	5.55 ± 0.93 [a]	20.0
1	33	11.64 ± 0.90 [a]	2	4.50 ± 0.36 [a]	6.1
2	62	10.80 ± 0.72 [a]	6	6.01 ± 0.75 [a]	9.7
	293		79		

Not: Farklı harfler önemli farklar gösterir (P <%5). Değerler ortalama ± standart hatadır

4.4.3. Farklı Dozlarda NAA'nın Kök/Sürgün Oranına Etkisi

NAA'nın sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu üzerindeki etkisi negatif yönde olup, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. NAA'nın ilave edilmediği ortamda daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu ortalamalarının en yüksek olduğu ortamdan kök/sürgün oranı %56,1 ile en yüksek sürgün başına kök oluşumu gösteren doz olmuştur (NAA 0 mg/l).

Çizelge 4.8. NAA'nın farklı konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu (tek tek bitkiler) ve kök uzunluğu (toplam / bitki) üzerine etkisi

(NAA, mg/l)	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu (mm) Ortalama±SS	Kök Sayısı	∑ Kök Uzunluğu (mm) Ortalama±SS	(Kökler /Sürgün) %
0	57	**13.22 ± 0.76 [a]**	**32**	**17.46 ± 2.62 [a]**	**56.1**
0.01	29	11.20 ± 1.05 [ab]	5	10.01 ± 2.75 [ab]	17.2
0.05	175	10.60 ± 0.38 [b]	35	7.09 ± 0.75 [b]	20.0
0.2	32	11.54 ± 0.82 [ab]	7	8.40 ± 2.13 [ab]	21.9
	293		79		

Not: Farklı harfler önemli farklar gösterir (P <%5). Değerler ortalama ± standart hatadır

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan bu çalışma Portekiz Kuzey Littoral'de kumlu topraklarda ekilen bir tatlı patates çeşidi (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) için uygun *in vitro* yönteminin belirlenmesi için yapılmıştır. Çalışmada farklı besi ortamları, bitki büyüme düzenleyicileri ile bunların farklı konsantrasyon ve kombinasyonları kullanılmıştır. Bunların sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, kök sayısı, kök uzunluğu, bitki ağırlığı ve kallus oluşumu üzerine etkileri incelenmiştir.

Mevcut çalışmaya yakın bir çalışma olarak, Abubakar ve ark. (2018), bazal ortam olarak MS kullanıp tatlı patates çeşitlerinin *in vitro* çoğalmasını karşılaştırmış ve bitki büyüme düzenleyicileri olarak, BA (0.1- 5 mg/l), GA_3 (0- 2mg/l) ve NAA (0- 0.2 mg/l)'nın belirli konsantrasyonlarını kullanmıştır. BAP, GA_3 ve NAA ile desteklenmiş ortamda tatlı patatesin başarılı bir şekilde rejenerasyonu Mukherjee (2002) ve Onwubiko ve diğ. (2015) tarafından da rapor edilmiştir.

Sürgünlerin sayısı, mevcut çalışmamızda test edilen bitki büyüme düzenleyicilerine bağlı bulunmuştur (P <%5): GA_3 konsantrasyonu, 2mg/l test edildiğinde, test edilen diğer yüksek seviyelerdeki GA_3'ten (0.5-1 mg/l) önemli farklar olmaksızın; en yüksek 2.95 ± 0.26 değeriyle doğrudan bir varyasyon göstermiştir (test edilen 0-2 mg/l konsantrasyonları arasından). BA konsantrasyonu, 0,1 mg/l ve 0,2 mg/l'de kullanılan BA'dan önemli farklılıklar olmaksızın 0,5 mg/l test edildiğinde 2,27 ± 0,12 ile en yüksek değerini göstermiştir. NAA test edilen konsantrasyonlar arasından, 0,05 mg/l'lik ara test düzeyinde en yüksek sürgün sayısı değerini verirken; en yüksek 0,2 mg/l konsantrasyonunda düşük sürgün sayısı değerini göstermiştir. Sürgün sayısı ile BA ve GA_3 arasındaki pozitif korelasyon, Brondal tatlı patates çeşidinin bitki rejenerasyonu için Masekesa ve ark. (2016) tarafından da bildirilmiştir. Abubakar ve ark. (2018), en yüksek sürgün sayısı değeri (1.30) için aynı bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonuna (MS + 0.5mg/l BAP + 0.0mg/l GA_3 + 0.05mg/l NAA) kendi çalışmalarında değinmiştir. Bu sonucu, 3 bitki büyüme düzenleyicisinin (0.1 mg / l BAP + 0.1 mg / l GA_3 + 0.01 mg / l NAA) ilave edildiği aynı bazal ortam (MS) ile test edilen diğer ortam kültürleri takip etmiştir. Ayrıca bu, 1 mg / l BAP + 1 mg / l GA_3 + 0.01 mg / l NAA ve 1 mg / l BAP + 2 mg / l GA_3 + 0.01 mg / l NAA uygulamalarının Etiyopya'daki bazı tatlı patates çeşitlerinde

(Awassa-83 ve Awassa yerel) en yüksek sürgün indüksiyon oranı verdiğini bildiren Dugassa ve Feyissa'nın (2011) çalışmaları ile desteklenmektedir.

Sürgün uzunluğu toplamının sonuçları, daha önce değinilen, deneyde test edilmiş GA_3 konsantrasyonu (2.0 mg/l) (P <%5) ile doğrudan bir varyasyon gösteren sürgün sayısının değişkenliği ile uyumlu sonuçlar vermiştir. Abubakar ve ark. (2018), en yüksek ortalama sürgün uzunluğu değerine (P>%5); 0.5 mg/l BAP + 0.0 mg/l GA_3 + 0.05 mg/l NAA kombinasyonu ile sahip olunduğunu belirtmektedir. Bununla birlikte, test edilen çeşitler arasında önemli farklılıklar bulunduğuna ve bunun da genotipin mikro çoğaltmayla olan ilişkisini ortaya koyduğuna değinmiştir. Bizim çalışmamızda en iyi sonuçlar (P <%5) sırasıyla 0.5, 2.0 ve 0.05 mg/l konsantrasyonlarıyla BA, GA_3 ve NAA ilave edilmiş D kültür ortamıyla ve 0.2 mg/l BA eklenmiş MS kontrol ortamıyla elde edilmiştir.

Kök sayısının, test edilen PGR'ye bağlı olduğu tespit edilmiştir (P <%5). 0.2 mg/l konsantrasyonunda BA ile GA_3 ve NAA bulunmayan ortam için en yüksek kök sayısı değerini göstermiştir. Bitki başına kök uzunluğu ile ilgili olarak, test edilen ortam kültürü ve PGR nedeniyle önemli farklılıklar gözlenmiştir. Kök uzunluğu, deneme grupları içerisinde G kültür ortamında en iyi sonuçları göstermiştir (G grubu, 0,2 mg/l'de BA ile; GA_3 ve NAA olmadan). Bu sonuçlar MS kontrol ortamından önemli ölçüde farklılık göstermemiştir.

Kök uzunluğu, uygulanan NAA konsantrasyonlarına göre dolaylı bir değişiklik göstermiş olup NAA'sız ortam kültürü üzerinde en iyi sonuçları göstermiştir. Üstelik bu durumda sürgünlerin %56.1'i kök oluşturmuştur. Sürgünlerinin %54.3'ünün kök gösterdiği GA_3'ün test edildiği ortamlarda (P>%5) benzer sonuçlar gözlenmiştir.

Kallus varlığı, test edilen PGR'ye bağımlı bulunmuştur; NAA'nın düşük konsantrasyonlu (P<%5) ve GA_3'süz (P>%5) ortam kültürü için en düşük değerleri göstermiştir. Benzer şekilde Addae-Frimpomaah ve ark. (2014), düşük konsantrasyonda BAP veya kinetin (KIN) ile desteklenen ortamda kallus elde etmiştir. NAA'nın ortam kültürüne eklenmesi kallus varlığını arttırırken sürgün uzunluğunu azaltmıştır. Bu gözlemler, Brondal tatlı patates çeşidinin bitki rejenerasyonu için Masekesa ve ark. (2016) tarafından da elde edilmiştir. Abubakar ve ark. (2018), BA (5.0 mg/1) veya NAA

(0.2 mg/1) için test edilen en yüksek konsantrasyonların, sürgün gelişimi olmaksızın %100 kallus oluşumunu uyardığını bildirmiştir.

Kök/sürgün oranını belirlemede yapılan analizlere göre; FS ve MS ortamlarında sürgünlerin ayrı ayrı önemli ölçüde daha yüksek sürgün uzunluğu gösterdiği belirtilmektedir. Bununla birlikte, sürgünlerin sayısı FS ortamında önemli ölçüde daha düşük görülmüştür.

BA 0.2 mg/l konsantrasyonu, hem sürgün uzunluğu, sürgün başına kök sayısı (%56.1) hem de bitki başına kök uzunluğu için en iyi sonuçları göstermiştir.

Bir ortamdaki bitki büyüme düzenleyicilerinin genotipleri, doğası ve konsantrasyonunun, tatlı patates de dahil olmak üzere farklı bitki türlerinin büyüme doğasının yanı sıra üreme oranını etkilediği bildirilmiştir (Shaibu ve ark., 2016). Bu çalışma ile *in vitro* kültürün sağlıklı tatlı patates ekim materyallerinin rejenerasyonunda yapılmış olan diğer çalışmaların da sonuçları ile değerlendirilmiş olup önemli bir yöntem olduğu onaylanmıştır. Sürgün ve kök indüksiyonu aynı ortam üzerinde gerçekleştiği için ortam geçişine gerek olmadığını tespit eden Abubakar ve ark.'nın (2018) çalışması bu denemeyle de desteklenmiştir.

Bu çalışmada, en yüksek sürgün değerleri 0.2 mg/l BA içeren MS kontrol ortamı ve 0.5 mg/l BA, 2.0 mg/l GA_3 ve 0.05 mg/l NAA ile desteklenmiş ½MS içeren D besi ortamından elde edilmiştir. Ayrıca sürgün başına kök oluşturma yüzdesi %93.8 ile yine MS kontrol besi ortamından elde edilmiştir. Bu iki besi ortamından tatlı patates mikroçoğaltımı için başarılı sonuçlar elde edilebileceği mevcut denemeyle gösterilmiştir. Tatlı patatesin ekonomik anlamda üretimi yapılan ülkelerde virüsten ari bitki materyallerinin eldesi ve bölgesel olarak değişen çeşit ve genotiplerde mikro çoğaltımının yapılması doku kültürünün bu tür için de önemini arttırmaktadır. Portekiz'de yer alan Gandera bölgesinin yerel bir genotipi için yapılan bu çalışmanın ülkemizde yetiştiriciliği yapılan tatlı patates tip ve çeşitleri için de uygun olabileceği düşünülmektedir. Kurağa dayanaklı bir bitki olan tatlı patates aynı zamanda düşük tarımsal girdi gerektirir. Bu şekilde elde edilen sağlıklı tatlı patates üretim materyallerinden daha yüksek oranlarda verim alınması, düşük gelirli çiftçiler için alternatif bir ürün kaynağı olabilir.

6. KAYNAKLAR

Abubakar, A. S., Yahaya, S. U., Shaibu, A. S., Yahaya, S. U., Ibrahim, H., Ibrahim, A. K., Isa, A. M., 2018. *In vitro* propagation of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cultivars. ***Agricultural Science Digest - A Research Journal***, 38(00), 17–21.

Afreen-Zobayed F., Zobayed S.M.A., Kubota C., Kozai T., Hesegawa O., 1999. Supporting material affects the growth and development of *in vitro* sweet potato plantlets cultured photoautotropically. *In vitro* ***Cell Develop. Biol. Plant***. 35, 470–474.

AJAP, 2021. Manual Boas Praticas Para Culturas Emergentes/A Cultura da Batata-Doce. www.ajap.pt, erişim tarihi:16.01.2021.

Aka Kaçar, Y., Yalçın Mendi, Y., Yılmaz, N., Küden, A., Çetiner, S. 2001. *In vitro* Besi Ortamında Kullanılan Değişik Katılaştırıcıları Maddelerinin ve Farklı pH Düzeylerinin Bazı Kiraz (*Prunus avium* L.) Anaçlarının Çoğaltılması Üzerine Etkileri. I. Sert Çekirdekli Meyveler Sempozyumu, 25-28 Eylül 2001, 161-166, Yalova.

Alula K., Zeleke H., Manikandan M., 2018. *In vitro* propagation of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) through apical meristem culture. ***Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2018***; 7(1):2386-2389.

Anonim, 2017 https://publins.com/tr/blog/tatli-patates-sever-misiniz (Erişim Tarihi: 22 Şubat 2020).

An, L.V. ve J.E. Lindberg, 2004. Ensiling of sweet potato leaves (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) and nutritive value of sweet potato leaf silage for growing pigs. ***AsianAus.J.Anim.Sci.*** 17:497-503.

AN, L.V., 2005. Sweet potato leaves for growing pigs. Doktora tezi, Dept. of Animal Nutrition and Management, SLU. Acta Universitatis agriculturae Suecia. Agraria vol. 470.

Çalışkan, M.E., Ertürk, E., Söğüt, T., Boydak, E. ve Arıoğlu, H., 2007. Genotype × environment interaction and stability analysis of sweetpotato (*Ipomoea batatas*) genotypes. ***New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science***, 2007, Vol: 35:87-99.

Çalışkan, M.E., Can, E., Çalışkan, S., Gazel, M., 2011. Tatlı Patates Tohumluk Üretim Sisteminin Oluşturulması Üzerine Çalışmalar, Türkiye IV. Tohumluk Kongresi, 14-17 Haziran 2011, Samsun.

Çalışkan, M.E., Söğüt, T., Demirel, U., Arıoğlu, H., 2015, Nişasta ve Şeker Bitkileri Üretiminde Değişimler ve Yeni Arayışlar, TMMOB Ziraat Mühendisliği Odası, Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı-1, 12-16 Ocak 2015 Ankara

De Fossard, R. A., Nitsch, C., Cresswell, R. J., & Lee, H. C. M., 1974. Tissue and Organ Culture of Eucalyptus. N. Zeal. J. For. Sci., 4, 267–278

DoliĔski R., Olek A., 2013. Micropropagation of Sweet Potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) From Node Explants. ***Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus*** 12(4) 2013, 117-127.

Dugassa G., Feyissa T., 2011. *In Vıtro* Productıon Of Vırus-Free Sweet Potato [*Ipomoea Batatas* (L.) Lam] By Merıstem Culture and Thermotherapy. ***Ethiop. J. Sci.,*** 34(1): 17–28, 2011.

Duncan, D. B., 1955. Multiple range and multiple F tests. Biometry, 11, 1–42.

Estatísticas Agrícolas 2017- Instituto Nacional De Estatistica Statistics Portugal.

FAOSTAT, 2018. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü İstatistikleri. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC. (Son erişim tarihi: 01.11.2020).

Ferreira M.E., 2021. Boas Praticas na Cultura da Batata-Doce. www.iniav.pt, erişim tarihi:16.01.2021.

Geren, H., Öztürk, G., Kavut, T.Y., Yıldırım, Z., 2010. Bornova Koşullarında Yetiştirilen Bazı Tatlıpatates (*Ipomoea batatas* L.) Genotiplerinin Topraküstü Aksamlarının Silolanabilirlik Olanakları Üzerine Bir Araştırma, ***Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi***, 2010, 47(2):171-179, İzmir.

Godoy, R. Elliot, R. 1981. Efecto de cinco forrajes tropicales sobre algunos parámetros de la función ruminal y flujo de nutrientes al deudeno de bovinos alimentados a base de melaza-urea. ***Prod. Anim. Trop.*** 6 (2):177–184. (as cited in Pérez 1997).

Guillermo E D.P., Consuelo R.I., Jorge C.C., Eny IS F. and Walter H. 2017. Development and Agronomic Evaluation of *In vitro* Somaclonal Variation in Sweet Potato Regenerated Plants from Direct Organogenesis of Roots. ***Asian Journal of Plant Science and Research,*** 7(1):39-44.

Hirai, D., Sakai, A. 2002 Simplified cryopreservation of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] by optimizing conditions for osmoprotection. ***Cell Biology and Morphogenesıs*** (2003) 21:961–966.

İşler, N., 2009. Tatlıpatates, http://www.mku.edu.tr/files/898-beb83317-d033-46c0-8c9d-243289a43abc.pdf, erişim tarihi: 28.03.2020.

Kohlmeier, L.and Hastings, S.B., 1995. Epidemiologic evidence of a role of carotenoids in cardiovascular disease prevention. ***Am J Clin Nutr.*** 1995 Dec;62(6 Suppl):1370S-1376S.

Litz R.E., Conover R.A., 1978. *In vitro* propagation on sweet potato. ***HortSci.*** 13(6), 659–660.

Masekesa, R. T., Gasura, E., Matikiti, A., Kujeke, G., Ngadze, E., Icishahayo, D., Robertson, A., 2016. Effect of BAP, NAA and GA_3, Either Alone or In Combination, ON Meristem Culture and Plantlet Establishment In Sweet Potato (CV BRONDAL). ***African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development***, 16(1), 10653–10669.

Mukherjee A., 2002. Effect on NaCl on *in vitro* propagation of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). ***App. Biochem. Biotech***. 102/103, 431–441.

Mukhopadhyay S.K., Chattopadhyay A., Chakraborty I., 2011. Crops that feed the world 5. Sweetpotato. Sweetpotatoes for income and food security. ***Food Security*** 3(3):283-305.

Murashige, T., 1974. Plant propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant Physiol., 25, 135–166.

Murch, S.J., Choffe, K.L., Victor, J.M.R., Slimmon, T.Y., KrishnaRaj, S., Saxena, P.K. 2000. Thidiazuron-induced plant regeneration from hypocotyl cultures of St. John's wort (*Hypericum perforatum* cv 'Anthos'). ***Plant Cell Reports***, 19, 576–581.

Morzadec, J.M. and Hourmant, A. 1997. *In vitro* rooting improvement of globe artichoke (cv. Camus de Bretagne) by GA3. ***Sci. Hortic.,*** 72(1): 59-62.

Ogero K.O., Mwangi M., Mburugu G.N., Ngugi M.M. ve Ombori O. 2012. Low Cost Tissue Culture Technology in the Regeneration of Sweet Potato (*Ipomoea batatas* (L) Lam). ***Research Journal of Biology*** 2012;2(2):51-58.

Oggema J.N., Kinyua M.G., Ouma J.P., Owuoche J.O. 2007. Agronomic performance of locally adapted sweet potato (*Ipomoea batatas* (L) Lam.) cultivars derived from tissue culture regenerated plants. ***African Journal of Biotechnology*** Vol. 6 (12):1418-1425.

Özelçam, H., 2013. Tatlı Patates Yapraklarının (*Ipomaea batatas*) Yapraklarının Hayvan Beslemede Kullanımı, ***Ege Zoptekni Derneği Hayvansal Üretim Degisi***, Cilt:54, Sayı:1 44-4 s., İzmir.

Parvin J., Robbani M., Hasan M.F. ve Hoque F., 2018. Standardization of plant growth regulators for successful tissue culture of sweet potato. ***J Bangladesh Agril Univ*** 16(2):178-181.

Paula M.A., Reis V.M., Döbereiner J., 1991. Interactions of Glomus clarum with Acetobacter diazotrophicus in infection of sweet potato (*Ipomoea batatas*), sugarcane (*Saccharum* spp.), and sweet sorghum (*Sorghum vulgate*). ***Biology and Fertility of Soils volume*** 11(1991):111–115.

Peters, D., Tinh N.T., ve Thach P.N., 2009. Sweet potatoroot silage fermentation and guality, Svedish University of Agricultural Sciences, Deparment of Animal Nutrition and ManagementUppsala, 46p.

Pirinç, V., (2004). Diyarbakır Karpuzunun (*citrullus lanatus* cv. "Sürme") Mikroçoğaltılması. Doktora tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 141.

Russell, R.M., 1998. Physiological and clinical significance of carotenoids. ***International Journal of Vitamin and Nutrition Research***, 68, 349-353.

Salata, A. and Gruszecki, R. 2010. The Quantitative Analysis of Poliphenolic Compounds in Different Parts of The Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Depending on Growth Stage of Plants. ***Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus***, 9(3): 175-181.

Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L., 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. ***Critical Reviews in Food Science and Nutrition,*** 45, 287–306.

Şalk, A., Arın, L., Deveci, M., Polat, S., 2008. Özel Sebzecilik. Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, 276, Tekirdağ.

Templeton-Somers K. M., Collins W. W., 1985. Heritability of regeneration in tissue cultures of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). ***Theor Appl Genet*** (1986) 71:835-841.

TUİK, 2019. Türkiye İstatistik Kurumu. https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1 (erişim tarihi:10.03.2020)

Valverde, R.A., Clark, C.A., Valkonen, J.P.T., 2007. Viruses and virus disease compluxes of sweetpotato. ***Plant Viruses*** 1: 116-126.

Van Poppel, G., Goldbohm, R.A., 1995. Epidemiological evidence for β-carotene and cancer prevention. ***American Journal of Clinical Nutrition***, 62, 1393-1402.

Vural, H. D. Eşiyok ve İ. Duman, 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme), Ege Üniv. Basımevi, s:253-260.

Woolfe, J.A., 1992. Sweet potato: an untapped food resource, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 634s.

Yamakawa, O., and Yoshimoto, M., 2002. Sweet potato as food material with physiological functions. ***Acta Horticulturae***, 583: 179-185.

Ye, A., Singh, J., Somaratne G., Nau F., Ferrua M.J., Dupont, D., Singh R.P., 2020. Role of biochemical and mechanical disintegration on β-carotene release from steamed and fried sweet potatoes during *in vitro* gastric digestion. ***Food Research International***, 136 (2020): 1-8.

Yıldırım, Z., Ö. Tokuşoğlu, G. Öztürk ve H. Aygün, 2007. Ege Bölgesine Uygun Tatlı Patates (*Ipomoea batatas* L.) Genotiplerinin Belirlenmesi, Türkiye 7.Tarla Bitkileri Kogresi 25-27.06.2007, Erzurum, s:450-453.

Yıldırım, Z., 2009. Tatlı Patates Yetiştiriciliği, ***Tarım Türk Dergisi***, Sayı:15, s:70-71.

Yılmaz E., 2005. Yazlık kabakta (*Cucurbita pepo* L.) Ovaryum Kültürü Yoluyla Haploid Bitki Elde Edilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.

Yılmaz, G. ve Karan, Y.B., 2014. Tatlı Patates (*Ipomoea batatas* L.). ***Harman Time Dergisi.*** Yıl:2, Sayı:13. Sayfa: 58-64.

Zar, J. H. (1996). Biostatistical Analysis (4th Ed.). In Prentice-Hall (Ed.), Prentice-Hall (3rd ed.). Upper Saddle River: Prentice-Hall.

Zobayed, S. M. A., Kubota, C. & Kozai, T., 1999. Development of a forced ventilation micropropagation system for large-scale photoautotrophic culture and its utilization in sweet potato. ***In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant volume*** 35, pages350–355.

Zobayed, F.A., Zobayed, S.M.A., Kubota, C., Kozai, T., Hasegawa, O., 1999. Supporting Material Affects the Growth and Development of *in vitro* Sweet Potato Plantlets Cultured Photoautotrophically. ***In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*** 35:470-74.

Zobayed, F.A., Zobayed, S.M.A., Kubotaa, C., Kozai, T., Hasegawa, O., 2000. A combination of vermiculite and paper pulp supporting material for the photoautotrophic micropropagation of sweet potato. ***Plant Science Volume*** 157, Issue 2, 22 August 2000, Pages 225-231.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ İNTİHAL FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ	
ADI VE SOYADI	Gülbahar BAYDEMİR
ÖĞRENCİ NO	18809001
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2020/2021
YARIYIL	☒ Güz ☐ Bahar
ANABİLİM DALI	Bahçe Bitkileri
PROGRAM	Yüksek Lisans
TEZ KONUSU	Portekiz Gandera Yerel Tatlı Patates (*Ipomoea Batatas* (L.) Lam) Genotipinin *İn Vitro* Mikroçoğaltılması Üzerine Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin ve Besi Ortamlarının Etkisi
İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ	
RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	74
BENZERLİK ORANI	%16
RAPORLAMA TARİHİ	11/03/ 2021

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 74 sayfalık kısmına ilişkin, 11/03/2021 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 16 'dır.

Uygulanan filtrelemeler:

☐ Kabul/Onay sayfaları hariç,
☐ Kaynakça hariç
☐ Alıntılar hariç/dâhil
☐ Diğer

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Gülbahar BAYDEMİR
(İMZA/11.03.2021)

Dr. Öğr. Üyesi Vedat PİRİNÇ **Tez Danışmanı** (İMZA/11.03.2021)	Prof. Dr. Gültekin ÖZDEMİR **Anabilim Dalı Başkanı** (İMZA/11.03.2021)

Formdaki bilgiler bilgisayar ortamında doldurulmalıdır. El yazısı ile doldurulan formlar geçersiz sayılmaktadır.