

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PYRODWARF ARMUT ANACINDA YÜZEN PERLİT YATAĞINDA
MİKRO ÇELİKLERİN EX VİTRO KÖKLENMESİ ÜZERİNE
FARKLI İBA DOZLARININ ETKİLERİ VE MİKRO ÇOĞALTILMIŞ
BİTKİLERİN GELİŞİM PERFORMANSI

Farangis NAWANDISH

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2023

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PYRODWARF ARMUT ANACINDA YÜZEN PERLİT YATAĞINDA MİKRO ÇELİKLERİN EX VİTRO KÖKLENMESİ ÜZERİNE FARKLI IBA DOZLARININ ETKİLERİ VE MİKRO ÇOĞALTILMIŞ BİTKİLERİN GELİŞİM PERFORMANSI

Farangis NAWANDISH

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hatice DUMANOĞLU

Bu tez çalışmasında, Pyrodwarf armut anacında (*Pyrus communis*) mikro çeliklerin yüzen perlit yatağında ex vitro köklenmesi üzerine kontrol ve 25, 50, 100 ve 150 mg/L IBA dozlarının ve ex vitro köklendirmede etkili bulunan bazı uygulamaların bitki gelişim performansı üzerine etkileri araştırılmıştır. İlk denemede mikro çelikler yüzen perlit yatağına dikilmeden önce kontrol dışında IBA solüsyonlarına 10 saniye süreyle daldırılmıştır. Kùltürler 16 saat aydınlık ($35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), 8 saat karanlık fotoperiyodun uygulandığı $25\pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıktaki iklim odasında 4 hafta tutulmuştur. İkinci denemede, önceki denemenin bulgularına göre etkili bulunan bazı uygulamalarla (kontrol, 25 ve 50 mg/L IBA) yüzen perlit yatağında köklendirilmiş bitkicikler torf ve perlit karışımına dikilmiş ve sera koşullarında Haziran-Kasım ayları arasında geliştirilmiştir.

İlk denemede köklenme oranları ($77.8\pm 2.2\%$ - $81.1\pm 4.0\%$), kök sayısı (1.9 ± 0.2 - 2.5 ± 0.2 adet/mikro çelik) ve en uzun kökün uzunluğu (22.8 ± 0.2 - 36.8 ± 0.2 mm) bakımından uygulamalar arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık ortaya çıkmamıştır. Bu uygulamaların vejetasyon periyodunda bitki boyu, yaprak ve boğum sayısı üzerine etkileri genel olarak benzer olmuştur. Vejetasyon sonunda da bitki boyu (111.7 ± 6.6 - 118.7 ± 4.1 mm) bakımından uygulamalar arasında önemli bir farklılık belirlenmemiştir. Ancak diğer özelliklerde önemli bir farklılıkla en yüksek değerler 50 mg/L IBA uygulamasında saptanmıştır. Bu uygulamada gövde çapı 4.5 ± 0.1 mm, yaş ve kuru kök ağırlıkları sırasıyla 1173.0 ± 126.0 ve 196.5 ± 12.8 mg/bitki, yaş ve kuru sürgün ağırlıkları da 1547.8 ± 30.6 ve 704.7 ± 16.7 mg/bitki olarak kaydedilmiştir.

Sonuç olarak, Pyrodwarf anacının mikro çeliklerinin ex vitro köklendirilmesi ve eş zamanlı olarak dış koşullara alıştırılmasında yüzen perlit yatağı tekniği etkilidir ve dikim öncesi mikro çeliklerin 50 mg/L IBA solüsyonuna 10 saniye süreyle daldırılması ileri aşamalarda mikro çoğaltılmış bitkilerin gelişim performansını artırmaktadır.

Haziran 2023, 33 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Pyrus*, mikro çoğaltım, IBA, dış koşullara alıştırma, vejetatif gelişim

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTS OF DIFFERENT DOSES OF IBA ON EX VITRO ROOTING OF MICROCUTTINGS IN THE FLOATING PERLITE BED AND GROWTH PERFORMANCE OF MICRO-PROPAGATED PLANTS IN PYRODWARF PEAR ROOTSTOCK

Farangis NAWANDISH

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Hatice DUMANOĞLU

In this study, the effects of control and IBA doses of 25, 50, 100 and 150 mg/L on ex vitro rooting of micro cuttings of Pyrodwarf pear rootstock (*Pyrus communis*) in floating perlite bed, and some treatments that were effective in ex vitro rooting on plant growth performance were investigated. In the first experiment, micro cuttings were dipped for 10 seconds in IBA solutions except control before planting in floating perlite bed. The cultures were kept for 4 weeks in a climate chamber at $25\pm2^{\circ}\text{C}$ with a photoperiod of 16 hours light ($35\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) and 8 hours darkness. In the second experiment, plantlets rooted in the floating perlite bed with control, 25 and 50 mg/L IBA were planted in a mixture of peat and perlite, and developed under greenhouse conditions from June to November.

In the first trial, there was no statistically significant difference between treatments in rooting percentages ($77.8\pm2.2\%$ - $81.1\pm4.0\%$), number of roots (1.9 ± 0.2 - 2.5 ± 0.2 roots/micro cuttings) and length of the longest root (22.8 ± 0.2 - 36.8 ± 0.2 mm). The effects of the treatments on plant height, number of leaves and internodes were generally similar during the vegetation period. At the end of the vegetation period, there was no significant difference between the treatments in plant height (111.7 ± 6.6 - 118.7 ± 4.1 mm). However, the highest values were found in 50 mg/L IBA treatment with a significant difference in other traits. Stem diameter was 4.5 ± 0.1 mm, fresh and dry root weights were 1173.0 ± 126.0 and 196.5 ± 12.8 mg/plant, and fresh and dry shoot weights were 1547.8 ± 30.6 and 704.7 ± 16.7 mg/plant, respectively.

In conclusion, the floating perlite bed technique is effective in ex vitro rooting and simultaneous acclimatization of micro cuttings of Pyrodwarf rootstock, and dipping of micro cuttings in 50 mg/L IBA solution for 10 seconds before planting improves the growth performance of micropropagated plants at later stages.

June 2023, 33 pages

Key Words: *Pyrus*, micropropagation, IBA, acclimatization, vegetative growth

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince rehberliği, desteği ve paha biçilmez mentorluğu için Danışman Hocam Prof. Dr. Hatice DUMANOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Derin bilgisi, uzmanlığı ve özverisi, tez projemin sonucunu şekillendirmede hayati bir rol oynamıştır. Saygıdeğer hocamın gözetimi altında çalışma fırsatına sahip olmak benim için inanılmaz bir şans olup rehberliği akademik ve profesyonel yolculuğum üzerinde kalıcı bir etkiye sahip olacaktır.

Yüksek Lisans eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen babam Muhammad Yunus NAWANDISH ve annem Suraya NAWANDISH'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu süreçte her aşamasında yanımda olan kardeşlerim Maria NAWANDISH, Wida NAWANDISH, Shahrukh Mirza NAWANDISH, Mustafa Kemal NAWANDISH ve özellikle tez süreci boyunca her türlü desteği eksik etmeyen Diana NAWANDISH'e hep minnettar kalacağım.

Farangis NAWANDISH

Ankara, Haziran 2023

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	6
2.1 Pyrodwarf Armut Klon Anacında Mikro Çelikleri Köklendirme ve Dış Koşullara Alıştırma Çalışmaları	6
2.2 <i>Pyrus</i> türlerinde Mikro Çelikleri Ex Vitro Köklendirme ve Dış Koşullara Alıştırma Çalışmaları	8
2.3 Yüzen Perlit Yatağında Mikro Çelikleri Ex Vitro Köklendirme ve Dış Koşullara Alıştırma Çalışmaları	10
3. MATERYAL ve YÖNTEM	13
3.1 Materyal	13
3.2 Yöntem	13
3.2.1 Eksplantların kültüre alınması, sürgün çoğaltımı ve mikro çeliklerin hazırlanması	13
3.2.2 Mikro çelikleri yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirme denemeleri ..	15
3.2.3 Bitkicikleri sera koşullarında geliştirme denemeleri	16
3.2.4 Deneme planı ve verilerin istatistik analizi	17
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	18
4.1 Pyrodwarf Armut Anacında Mikro Çelikleri Yüzen Perlit Yatağında Ex Vitro Köklendirme Bulguları	18
4.2 Pyrodwarf Armut Anacında Vejetasyon Döneminde Bitkiciklerin Gelişimine Ait Bulgular	20
4.3 Pyrodwarf Armut Anacında Vejetasyon Sonunda Bitkiciklerin Gelişimine Ait Bulgular	21
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	25
KAYNAKLAR	29
ÖZGEÇMİŞ	33

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
g	Gram
ha	Hektar
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mm	Millimetre
μM	Mikromolar
μmol·m ⁻² ·s ⁻¹	Mikromolar·metre ⁻² ·saniye ⁻¹

KISALTMALAR DİZİNİ

BA	Benzil adenin
FAO	Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
GA ₃	Gibberellik asit
IAA	İndol asetik asit
IBA	İndol bütirik asit
MS	Murashige ve Skoog
NAA	Naftalen asetik asit
OHxF	Old Home x Farmingdale
QL	Quorin ve Lepoivre
TDZ	Thidiazuron
v/v	Hacim/hacim
w/v	Ağırlık/hacim

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1	Pyrodwarf anacının bitkisi	14
Şekil 3.2	Yüzen perlit yatağı, ex vitro koşullarda köklendirilmek üzere yüzen perlit yatağına dikilmiş Pyrodwarf mikro çelikleri ve nemin korunması için dikim yapılan leğenin yerleştirildiği kapaklı büyük plastik şeffaf saklama kabı	15
Şekil 4.1	Pyrodwarf armut anacında uygulamalara göre yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirilmiş mikro çelikler	19
Şekil 4.2	Pyrodwarf armut anacında vejetasyon sonunda 5 aylık bitkilerin ex vitro köklendirme aşamasında yapılan uygulamalara göre gelişim performansı	22
Şekil 4.3	Pyrodwarf armut anacında vejetasyon sonunda kaplarından çıkartılmış 5 aylık bitkilerin ex vitro köklendirme aşamasında yapılan uygulamalara göre gelişim performansı	23

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1	Ülkelere göre dünya armut üretim miktarı, alanı ve verim değerleri	2
Çizelge 1.2	Ülkelere göre dünya armut ihracatı	3
Çizelge 4.1	Pyrodwarf armut anacında uygulamalara göre mikro çeliklerin yüzen perlit yatağında ex vitro köklenme değerleri	18
Çizelge 4.2	Pyrodwarf armut anacında ex vitro köklendirme aşamasındaki uygulamaların vejetasyon döneminde aylara göre bitkiciklerin gelişimi üzerine etkileri	20
Çizelge 4.3	Pyrodwarf armut anacında ex vitro köklendirme aşamasındaki uygulamaların vejetasyon sonunda 5 aylık bitkilerin gelişimi üzerine etkileri	21

1. GİRİŞ

Armut, Rosales takımı, Rosaceae familyası, Maloideae (Pomoideae) alt familyası *Pyrus* cinsine dâhildir. Dünyada ticari olarak yetiştiriciliği yapılan önemli meyveler arasında yer alan armudun bilinen 30'dan fazla türü bulunmaktadır. Yaygın olan iki armut türü *P. communis* (Avrupa armudu) ve *P. pyrifolia* (Asya armudu), Avrupa, Amerika, Asya ve Avustralya kıtalarının ılıman iklim kuşaklarında ve bazı genotipler subtropikal bölgelerde yetiştirilmektedir. Avrupa armudunun aksine, Asya armudu meyve eti dokusu ve görünümü açısından elmaya benzemekte ve tüketim için meyveleri ayrıca yeme olumuna getirmeye gerek bulunmamaktadır (Hussain vd. 2021).

Dünyada önemli armut üreticisi ülkeler arasında yer alan Türkiye'de, Avrupa armudu grubuna giren çok sayıda standart ve yerel armut çeşidi tüm bölgelerde yetiştirilmektedir. Son yıllarda meyvelerine olan talebin artması ve ateş yanıklığı hastalığına (*Erwinia amylovora*) kısmen de olsa dayanıklılıkları nedeniyle önemli Asya armut çeşitlerinin tarımının da Türkiye'de yaygınlaşmaya başladığı görülmektedir (Ekici ve Yıldırım 2017).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) 2021 yılı verilerine göre armut üretiminde lider konumdaki ülke yaklaşık 19 milyon ton ile dünya üretiminin %73.96'sını karşılayan Çin'dir. Bu ülkeyi sırasıyla Amerika Birleşik Devletleri (%2.48), Arjantin (%2.47) ve Türkiye (%2.07) izlemektedir. Armut üretim alanları bakımından da Çin %70.49'luk pay ile (986.5 bin hektar) dünyada yine ilk sırada yer almaktadır. Bu ülkeyi 42.000 ha (%3.0) ile Hindistan, 26.790 ha (%1.91) ile İtalya ve 25.155 ha (%1.80) ile Türkiye takip etmektedir. Verim yönünden 3.8 ton/da ile ilk sırada bulunan Güney Afrika Cumhuriyeti ve Amerika Birleşik Devletleri'ni, 3.5 ton/da ile Şili, 3.4 ton/da ile Belçika ve Hollanda izlemektedir. Dekara 2.1 ton olan Türkiye'nin armut verim değeri ise dünya ortalamasının (1.4 ton/da) üzerindedir. Her ne kadar armut üretim alanında 2019-2021 periyodunda %4.35 oranında bir azalma ortaya çıkmış ise de Türkiye'nin dekar başına verim değeri %4.46 oranında artmış ve üretim miktarında çarpıcı bir değişim olmamıştır (Çizelge 1.1) (Anonymous 2023).

Çizelge 1.1 Ülkelere göre dünya armut üretim miktarı, alanı ve verim değerleri
(Anonymous 2023)

ÜLKE	ÖZELLİK	2019	2020	2021
Çin	Üretim (Ton)	17.404.532	17.916.750	18.978.144
	Alan (Hektar)	961.358	967.273	986.479
	Verim (ton/da)	1.8	1.8	1.9
Amerika Birleşik Devletleri	Üretim (Ton)	648.637	595.110	636.390
	Alan (Hektar)	18.009	17.564	16.876
	Verim (ton/da)	3.6	3.4	3.8
Arjantin	Üretim (Ton)	594.143	659.000	634.000
	Alan (Hektar)	20.432	21.435	24.802
	Verim (ton/da)	2.9	3.1	2.2
Türkiye	Üretim (Ton)	530.723	545.569	530.349
	Alan (Hektar)	26.299	26.071	25.155
	Verim (ton/da)	2.0	2.1	2.1
Güney Afrika Cumhuriyeti	Üretim (Ton)	408.289	434.589	459.532
	Alan (Hektar)	11.063	11.540	11.964
	Verim (ton/da)	3.7	3.8	3.8
Belçika	Üretim (Ton)	332.420	382.590	355.680
	Alan (Hektar)	10.370	10.660	10.450
	Verim (ton/da)	3.2	3.7	3.4
Hollanda	Üretim (Ton)	373.000	400.000	340.000
	Alan (Hektar)	10.090	10.000	10.070
	Verim (ton/da)	3.7	4.0	3.4
İspanya	Üretim (Ton)	330.670	323.730	316.270
	Alan (Hektar)	20.620	20.220	20.020
	Verim (ton/da)	1.6	1.6	1.6
Hindistan	Üretim (Ton)	300.000	290.000	276.000
	Alan (Hektar)	42.000	43.000	42.000
	Verim (ton/da)	0.7	0.7	0.7
İtalya	Üretim (Ton)	429.290	619.470	273.450
	Alan (Hektar)	28.710	26.600	26.790
	Verim (ton/da)	1.5	2.4	1.0
Portekiz	Üretim (Ton)	198.470	131.000	225.360
	Alan (Hektar)	11.330	11.330	11.160
	Verim (ton/da)	1.7	1.2	2.0
Şili	Üretim (Ton)	253.884	244.723	218.049
	Alan (Hektar)	7.387	7.062	6.241
	Verim (ton/da)	3.4	3.5	3.5
Güney Kore	Üretim (Ton)	200.732	132.580	210.293
	Alan (Hektar)	9.615	9.091	9.675
	Verim (ton/da)	2.1	1.5	2.2
Japonya	Üretim (Ton)	238.600	198.200	206.200
	Alan (Hektar)	12.600	12.100	11.700
	Verim (ton/da)	1.9	1.6	1.8
DÜNYA	Üretim (Ton)	24.266.773	24.986.262	25.658.713
	Alan (Hektar)	1.382.159	1.387.490	1.399.484
	Verim (ton/da)	1.8	1.8	1.8

Dünya armut ticareti incelendiğinde ise FAO’ya göre ihracat miktarının 2.8 milyon ton ve elde edilen gelirin 2.8 milyar dolar olduğu görülmektedir (Çizelge 1.2) (Anonymous 2023). En büyük ihracatçı ülke 516 bin ton üründen (%18.6), 614 milyon dolar gelir (%21.8) elde eden Çin’dir. Hollanda, Belçika, Arjantin ve Güney Afrika Cumhuriyeti ise 392-247 bin ton arasında değişen ihraç edilen ürün miktarları (%14.0-8.9) ve 480-205 milyon dolar arasında değişen ihracat gelirleri (%17.0-7.2) ile diğer önemli ülkelerdir. Türkiye, 2021 yılı verilerine göre yaklaşık 82 bin ton armut ihracatından 51 milyon dolar gelir elde etmiş, 2019-2021 periyodunda armut ihracat miktarını %91.9, gelirini ise %114.0 oranında artırmıştır (Çizelge 1.2) (Anonymous 2023).

Çizelge 1.2 Ülkelere göre dünya armut ihracatı (Anonymous 2023)

ÜLKE	İHRACAT	2019	2020	2021
Çin	Miktar (Ton)	477.605	545.305	516.271
	Gelir (1000 Dolar)	583.769	675.726	614.244
Hollanda	Miktar (Ton)	363.729	387.937	392.092
	Gelir (1000 Dolar)	364.899	480.814	479.973
Belçika	Miktar (Ton)	314.425	312.388	353.020
	Gelir (1000 Dolar)	204.791	277.180	313.709
Arjantin	Miktar (Ton)	306.700	337.537	305.422
	Gelir (1000 Dolar)	239.656	252.104	216.156
Güney Afrika	Miktar (Ton)	224.862	226.687	247.116
	Gelir (1000 Dolar)	182.734	191.000	204.675
İspanya	Miktar (Ton)	138.429	116.616	133.643
	Gelir (1000 Dolar)	119.280	111.497	133.902
Şili	Miktar (Ton)	131.548	113.933	126.798
	Gelir (1000 Dolar)	129.455	122.925	132.078
Polonya	Miktar (Ton)	73.440	98.462	119.870
	Gelir (1000 Dolar)	30.791	37.292	50.513
Amerika Birleşik Devletleri	Miktar (Ton)	147.493	112.979	112.182
	Gelir (1000 Dolar)	168.513	137.913	154.501
Portekiz	Miktar (Ton)	103.492	95.539	91.369
	Gelir (1000 Dolar)	90.022	93.756	96.381
Türkiye	Miktar (Ton)	42.719	63.807	81.971
	Gelir (1000 Dolar)	23.701	42.025	50.721
İtalya	Miktar (Ton)	107.954	92.093	71.366
	Gelir (1000 Dolar)	148.015	136.259	125.101
DÜNYA	Miktar (Ton)	2.701.565	2.725.988	2.775.857
	Gelir (1000 Dolar)	2.535.421	2.799.759	2.822.182

Aşı ile çoğaltılan meyve türlerinden birisi olan armutta fidan üretiminde uygun anacın kullanılması yetiştiricik açısından önemli bir konudur. Armutlarda anaç, aşı uyumsuzluğu sorunu, gelişme kuvveti, biyotik ve abiyotik stres unsurlarına tepki, toprağa tutunma kuvveti, gençlik kısırlığı süresi, verim ve meyve kalitesi, çoğaltım yöntemi, dip sürgünü oluşturma gibi birçok özellik dikkate alınarak genellikle farklı *Pyrus* türleri ve ayva türüne (*Cydonia oblonga* L.) dâhil genotipler arasından seçilebilmektedir. Ayva anaçları, üzerine aşılanan armut çeşitlerinin meyve verim ve kalitesini artırdığı ve gelişme kuvvetini sınırlandırdığı için yoğun bahçelerde tercih edilmektedir. Ancak bazı çeşitler ile arasındaki aşı uyumsuzluğu, ateş yanıklığı hastalığı ile kış soğukları ve kireçli topraklara duyarlılığı, yoğun dip sürgünü oluşturma gibi nedenler kullanımını sınırlandırmaktadır (Lombard ve Westwood 1987, Watson vd. 2012, Aleksandrova ve Dimitrova 2021a, Öztürk 2021). Bundan dolayı armut çeşitleriyle uyuşur, bodur gelişme özelliğinde, biyotik ve abiyotik stres unsurlarına dayanıklı, *Pyrus* türlerine dâhil yeni armut klon anaçları elde etmeye yönelik ıslah çalışmaları geçmişte olduğu gibi günümüzde de devam etmektedir (Raman vd. 2023).

Pyrodwarf® armut anacı, yoğun armut bahçeleri için yeni klon anaçların geliştirilmesi amacıyla *Pyrus communis* türünde Almanya'da Geisenheim Araştırma Enstitüsü'nde 1980 yılında başlatılmış olan melezleme çalışmaları kapsamında ıslah edilmiş olan günümüzde giderek yaygınlaşan önemli bir armut klon anacıdır. Armut çeşitleriyle uyumsuzluk sorunu olmayan bu anacın kireçli topraklara ve düşük kış sıcaklıklarına toleransı da yüksektir (Jacob 1998, Federico vd. 2009, Sharif vd. 2018). Pyrodwarf anacının da diğer armut klon anaçlarında olduğu gibi kitlesel üretimi sadece mikro çoğaltım yöntemiyle yapılabilmektedir (Necas ve Kosina 2008, Kaviani vd. 2023).

Mikro çoğaltım yönteminde genel olarak uygun protokollerin geliştirilmesiyle alt kültürler yapılarak mikro sürgünler aseptik koşullarda yoğun olarak çoğaltılabilmekte ve bu sürgünlerden hazırlanan mikro çelikler in vitro ya da ex vitro koşullarda köklendirilebilmektedir. Elde edilen bitkicikler daha sonra dış koşullara alıştırılmakta ve bahçe koşullarında geliştirilmektedir. Mikro çoğaltımda başarıyı doğrudan etkileyen en kritik aşamalar köklenme, dış koşullara alıştırma ve gelişme aşamalarıdır. Bu aşamalardaki düşük başarı oranları anaçların çoğaltımında ve fidanlık koşullarına

adaptasyonunda önemli ekonomik kayıplara yol açabilmektedir. Mikro çoğaltımda genellikle mikro çelikler in vitro koşullarda köklendirilmekte ve bitkicikler serada sisleme veya fog sistemleri altında giderek azaltılan yüksek nem koşullarında 2-4 haftalık periyotda dış koşullara alıştırılmaktadır. Ancak bu yöntemler ile bitkilerde önemli kayıplar ortaya çıkabilmektedir (Hartmann vd. 2011, Soumare vd. 2021). Ex vitro köklendirmede ise mikro çelikler kök oluştururken aynı zamanda dış koşullara da alıştığı için bu köklendirme yöntemi zaman ve üretim maliyetini azaltan önemli bir uygulama olarak karşımıza çıkmaktadır (Yeo ve Reed 1995, Aygun ve Dumanoglu 2015, Oakes vd. 2016). Ancak bilinen ex vitro koşullarda köklendirmede başlangıçta mikro çeliklerden nem kaybını engellemek üzere fog ya da mist sistemlerine sahip sera ya da plastik tünellere, nem oranı ayarlanabilen bitki yetiştirme ünitelerine veya üzeri kapatılan kaplar ile sürekli yüksek nemli koşulların sağlanmasına ihtiyaç bulunmaktadır. Köklenme ile birlikte bu sistemlerde nem koşulları kademeli olarak azaltılmakta ve bitkiler dış koşullara alıştırılmaktadır. Gelişmiş altyapı ve düzeneklere ihtiyaç duyan bu yöntemler yerine plastik küvet ya da leğenlere konulan çeşme suyu üzerine serili tarımsal perlit yatakları kullanılarak mikro çeliklerin ex vitro köklendirilmesi ve aynı zamanda dış koşullara alıştırılması oldukça kolay, ucuz ve etkili bir yöntem olarak tanımlanmaktadır (Clapa vd. 2013a). Yüzen perlit yataklarında perlitin bir kısmı su içerisinde kalmakta ve alttan emilen su ile perlitin yüzeyi nemlenmekte, aynı zamanda perlit gözeneklerindeki boşluklar sayesinde havanın da korunduğu uygun bir dikim ortamı haline gelmektedir. Diğer kültürlerden farklı olarak yetiştirme ortamında herhangi bir gübre, bitki büyüme düzenleyici madde veya biyostimülatör kullanılmamakta, yüzen perlit yatağı kültürlerinin bulunduğu ortamda hava nispi nemi de sürekli olarak mekanik veya otomatik olarak ayarlanmamaktadır (Clapa vd. 2013a).

Bu tez çalışması, Pyrodwarf armut klon anacında mikro çeliklerin yüzen perlit yatağında ex vitro köklenmesi üzerine kontrol ve hızlı daldırma yöntemiyle 25, 50, 100 ve 150 mg/L IBA'nın ve ex vitro köklendirmede etkili bulunan kontrol, 25 ve 50 mg/L IBA uygulamalarının sera koşullarında bitki gelişim performansı üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Pyrodwarf Armut Klon Anacında Mikro Çelikleri Köklendirme ve Dış Koşullara Alıştırma Çalışmaları

Pyrodwarf armut anacının mikro sürgünlerinin ex vitro köklenmesi konusunda literatürde daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu anacın in vitro köklendirilmesi ve bilinen yöntemlerle dış koşullara alıştırılması ile ilgili yapılmış çalışmalar ise literatürde yer almaktadır.

De Paoli vd. (2002), fotoototrofik koşullarda Pyrodwarf anacının in vitro kök gelişimi üzerine farklı konsantrasyonlarda sakaroz ilavesi ve değişik kombinasyonlarda agar, vermikulit, torf, ponza taşı+vulkanit modifikasyonlarının etkisini araştırmışlardır. Genel olarak iyi bir köklenme sağlanan bu ortamlar arasında vermikulit+torf karışımında aseptik koşullarda köklenme oranı diğerlerine göre daha düşük bulunmuştur. Sakarozun olmadığı ortamlarda köklenme oranı ve bitki gelişimi iyi düzeyde olmamıştır. Agarın çeşitli maddelerle ve özellikle vermikulit veya torf ile desteklendiği ortamlarda köklenme artmıştır.

Ruzic vd. (2011), Pyrodwarf armut anacında mikro sürgünlerin in vitro köklenmesi üzerine sürgün çoğaltma aşamasında besin ortamına katılan sitokinin tipinin etkili olduğunu bildirmiştir. Çalışmada köklenme ortamı olarak 5 μ M (~1 mg/L) IBA ve 0.3 μ M (~0.1 mg/L) GA₃ (gibberellik asit) ilave edilmiş mikro elementleri ½ düzeyinde olan Murashige ve Skoog (MS) (Murashige ve Skoog 1962) temel besin ortamı kullanılmıştır. Sürgün çoğaltma aşamasında sitokinin olarak benzil adeninin (BA) esas alındığı kültürlerden sağlanan mikro sürgünlerde 28 gün sonra köklenme oranı %96, köklenen sürgünlerde kök sayısı 4.88 adet, kök uzunluğu 1.83 cm ve bitki boyu 1.35 cm olarak kaydedilmiştir. Bu değerler sitokinin olarak thidiazuron (TDZ) kullanılan ortamdan gelen mikro sürgünlerde sırasıyla %80 köklenme oranı, 3.92 adet kök sayısı, 0.30 cm kök uzunluğu ve 0.68 cm bitki boyu olarak önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur. İn vitro bitkicikler steril bir yetiştirme ortamına (Steckmedium-Klasmann) dikilerek serada mist altında 2 haftalık periyotta dış koşullara alıştırılmıştır. Aklimatizasyon sonrasında canlı bitki oranı %90.9 olarak kaydedilmiştir.

Vujovic (2012), Pyrodwarf'ın da aralarında olduğu bazı meyve anaçları üzerinde yürüttükleri in vitro çalışmalarda mikro sürgünlerde in vitro köklendirme denemelerinde mineral maddeleri ½ düzeyindeki MS ortamını kullanmışlardır. Bu ortama 1.0 mg/L IBA + 0.1 mg/L GA₃ ya da 1.0 mg/L NAA (naftalen asetik asit) + 0.1 mg/L GA₃ ilave etmişlerdir. 1.0 mg/L IBA + 0.1 mg/L GA₃ uygulamasında köklenme oranı %90, kök sayısı 4.4 adet, kök uzunluğu 1.48 cm ve sürgün boyu 1.89 cm olarak kaydedilmiştir. 1.0 mg/L NAA + 0.1 mg/L GA₃ uygulamasında ise bu değerler istatistiksel anlamda önemli düzeyde farklılıkla %40 köklenme oranı, 1.1 adet kök sayısı, 1.48 cm kök uzunluğu ve 1.26 cm sürgün boyu olarak saptanmıştır. Araştırmacılar köklenen sürgünleri steril toprak içeren plastik saksılarda sera koşullarında mist altında iki haftada dış koşullara alıştırmışlardır.

Nourmohammadi vd. (2015), Pyrodwarf anacının mikro çeliklerinin in vitro köklenmesi üzerine MS ve QL (Quorin ve Lepoivre 1977) temel besin ortamlarının etkili olduğunu belirlemişlerdir. Bu ortamlara ilave edilen 0.0, 0.5 ve 1.0 mg/L IBA dozlarında köklenmenin sağlandığı ancak 1.0 mg/L IBA katılan MS ortamının daha yüksek kök sayısı ve kök uzunluğuna neden olduğu bildirilmiştir.

Kandi vd. (2018), Pyrodwarf armut anacının mikro çoğaltımında MS, ½ MS, 0.0, 1.5, 3.0 ve 4.5 mg/L dozlarında IBA ya da NAA'nın ve 3-4 gün karanlık uygulamasının köklenme üzerine etkilerini araştırmışlardır. En yüksek in vitro köklenme oranı (%100) ve kök sayısı (3.04 adet/sürgün) 4.5 mg/L IBA ilave edilmiş ½ MS ortamında belirlenmiştir. Kök kalitesi 3 gün karanlık uygulamasıyla iyileşmiştir. Bitkilerin dış koşullara alıştırılmasında kaba ve ince perlit, torf, torf+perlit kullanılmış ve en yüksek aklimatizasyon oranı ve bitkiciklerin yaşama oranı kaba perlit ortamı üzerinde kaydedilmiştir.

Sharifi vd. (2018), Pyrodwarf anacının mikro sürgünlerinin in vitro köklenmesi üzerine 1 mg/L IAA (indol asetik asit) ilave edilmiş ½ kuvvetindeki MS ortamının en iyi sonucu verdiğini bildirmişlerdir. Bu ortamda kök sayısının 8.5 adet, kök uzunluğunun 2.33 cm, bitki yüksekliğinin 6 cm, yaprak sayısının 33 adet ve kuru madde miktarının 104.15 mg olduğu belirtilmiştir.

Kaviani vd. (2023), Pyrodwarf armut anacının in vitro çoğaltımının optimizasyonu konusunda yaptıkları çalışmada in vitro köklendirme denemelerini MS temel besin ortamına 0, 0.5 ve 1 mg/L dozlarındaki IAA ve IBA'nın ilave edilmesiyle gerçekleştirmişlerdir. Aklimatizasyon aşamasında ise önce in vitro bitkicikler perlit ve kokopit karışımı (1:3) doldurulan 6 cm çapındaki plastik saksılara Eylül-Ekim aylarında dikilmiş ve su kaybını önlemek için saksıların üzerine şeffaf plastik bir kap yerleştirilmiştir. Saksılar 20 gün boyunca 16 saat aydınlık ($100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) fotoperiyodun uygulandığı $25\pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklık ve 70 ± 5 bağıl neme sahip iklim odasında tutulduktan sonra sera koşullarına taşınmış ve bitkilere iki hafta arayla 20:20:20 oranında azot, fosfor, potasyum içeren bir sıvı gübre verilmiştir. Aklimatizasyon verileri bu koşullarda 1 ay sonra alınmıştır. Araştırmada en yüksek in vitro köklenme bulguları 1 mg/L IAA ile elde edilmiştir. Bu uygulamada köklenme oranı %95, kök sayısı 5.5 adet, kök uzunluğu 2.39 cm ve aklimatizasyon oranı %90 olarak kaydedilmiştir. Oksin içermeyen besin ortamlarında köklenme sağlanamamıştır. Besin ortamına IBA ilave edildiğinde 0.5 mg/l ve 1.0 mg/L dozlarında sırasıyla %20 ve %45 oranlarında köklenme meydana gelmiştir. Bu uygulamalar ile köklendirilmiş bitkiciklerin aklimatizasyon oranları çok düşük (%15 ve %20) bulunmuştur.

2.2 *Pyrus* türlerinde Mikro Çelikleri Ex Vitro Köklendirme ve Dış Koşullara Alıştırma Çalışmaları

Mikro çoğaltımda ex vitro koşullarda köklendirmede eş zamanlı olarak bitkicikler dış koşullara da alıştırıldığından zaman tasarrufu sağlanmakta ve maliyet azaltılmaktadır. Üretim süreci basitleştirildiğinden verimlilik artmaktadır. Ayrıca bitkiciklerin in vitrodan dış koşullara nakli sırasında kök hasarı riski de ortadan kalkmaktadır. Son zamanlarda bu teknolojinin birçok otsu ve odunsu türde başarıyla uygulandığı görülmektedir (Dimitrova ve Nacheva 2021). Bu kapsamda ex vitro köklendirmenin, mikro çoğaltılmış çay bitkilerinde (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz) üretim maliyetini geleneksel in vitro köklendirmeye göre %71 oranında azalttığı bildirilmektedir (Ranaweera vd. 2013). Literatürde bazı *Pyrus* genotiplerinin mikro çeliklerinde ex vitro köklendirme çalışmalarının gerçekleştirilmiş olduğu görülmektedir.

Al-Maarri vd. (1994), bazı armut çeşitlerinin ex vitro köklendirme performansını, mikro çelikleri 2°C'de 1 ay soğuklattıktan sonra 1 saat süreyle 10, 50 veya 100 mg/L NAA uygulayarak araştırmış, Passe Crassane çeşidinde tüm NAA dozlarında köklenme sağlarken Williams çeşidinde 100 mg/L NAA dozunun iyi sonuç verdiğini belirlemişlerdir.

Yeo ve Reed (1995), Oregon Pear Rootstock (OPR) 157 (*P. calleryana*), OPR 260 (*P. betulifolia*) ve OHxF 230 (Old Home x Farmingdale 230) (*P. communis*) armut anaçlarında mikro çeliklerde ex vitro köklendirme denemelerinde 1:1 (v/v) su ve Dip'N Grow (%1 IBA, %0.5 NAA) solüsyonuna daldırmanın mikro çeliklerde köklenmeyi teşvik etmediğini saptamışlardır.

Shibli vd. (1997), yabani armudun (*P. syrica*) mikro sürgünlerinin ex vitro köklendirilmesinde 0, 5, 10, 15 veya 20 mg/L dozlarındaki oksin solüsyonlarına 1 saat süreyle daldırma uygulamasının başarılı olmadığını belirtmişlerdir.

Zhu vd. (2003), BP10030 (*P. communis*) armut anacının *rolB* geni aktarılmış 4 klonunda ex vitro köklendirme çalışmalarında yüksek köklenme oranları (%71-100) ve kök sayısı (11-17 adet/sürgün) kaydederken kontrolde sadece %5 köklenme oranı ve 3 adet/sürgün kök sayısı saptamışlardır.

Saadat vd. (2012), armut (*P. glabra*) mikro çeliklerini 50 mg/L IBA ilave edilmiş makro elementleri yarı kuvvette olan MS besin ortamında in vitro koşullarda kültüre alarak 1 gün karanlıkta tutmuş ve Jiffy-7 ortama dikerek %90-95 nem içeren ex vitro koşullara taşımışlardır. Ex vitro köklenme oranının %100 olarak kaydedildiği bu çalışmada sürgün başına kök sayısı 6.1 adet, kök uzunluğu 3.12 cm olarak belirlenmiştir.

Aygun ve Dumanoglu (2015), ahlát (*P. elaeagrifolia* Pallas) mikro çeliklerini ex vitro köklendirme denemelerinde NAA ve IBA'yı 0, 10, 20, 30 ve 40 mM (0, 1000, 2000, 3000, 4000 mg/L) dozlarında kullanmışlardır. Mikro çelikler oksin solüsyonlarına 10 saniye süreyle daldırılmıştır. Ex vitro köklendirmede en iyi sonuçlar %55 köklenme oranı ve çelik başına 1.8 adet kök sayısı ile 10 mM IBA uygulamasında saptanmıştır.

Dimitrova ve Nacheva (2021), OHxF 333 armut klon anacının ex vitro köklendirilmesinde 1 g/L NAA ve bir doğal bitki biyostimulatörü olan Charkor'u sıvı formda 0.5 mL/L dozunda 3 veya 6 saat süreyle ve ayrıca aynı konsantrasyonda Charkor'u toz formda denemişlerdir. Uygulamalardan sonra mikro sürgünler yarı yarıya torf ve perlit karışımına dikilmiş ve %96'dan daha fazla neme sahip bitki büyütme kabininde nem oranı tedrici olarak %60'a indirilerek 2 hafta tutulmuştur. Aklimatizasyon oranı, bitki başına ortalama kök sayısı, sürgün ve kök uzunluğu, yaprak sayısı 90 gün sonra belirlenmiştir. Bu süre sonunda en yüksek canlılık oranı %86 ile 6 saat Charkor uygulamasından ve en düşük %31 ile kontrolde saptanmıştır.

2.3 Yüzen Perlit Yatağında Mikro Çelikleri Ex Vitro Köklendirme ve Dış Koşullara Ağıştırma Çalışmaları

Mikro çoğaltımda ex vitro köklendirme ve/veya bitkiciklerin dış koşullara ağıştırılmasında bilinen yöntemler yerine yüzen perlit tekniğinde dikim, su üzerinde yüzen bir perlit yatağına yapılmaktadır. Böylece üretim maliyetinin azaltılması, zamandan tasarruf ve yüksek üretim başarısı hedeflenmektedir (Clapa vd. 2013a).

Clapa vd. (2013a), yüzen perlit yatağında mikro sürgünlerin ex vitro köklendirilmesinde başarının genotiplere göre değiştiğini bildirmişlerdir. Bu teknik ile ex vitro köklendirme oranları *Rubus fruticosus* x *Rubus idaeus* (tayberi) genotipinde %78.12, *Amelanchier canadensis* (taş armudu) genotipinde %97.14, *Rubus fruticosus* (böğürtlen) 'Chester' çeşidinde %94.73, *Rubus idaeus* (ahududu) 'Erntesegen' çeşidinde %93.57, 'Willamette' çeşidinde %80.75, *Vaccinium macrocarpon* (turnayemişi) 'Pilgrim' çeşidinde %98.15, *Vaccinium corymbosum* (maviyemiş) 'Duke' çeşidinde %98.38, 'Elliot' çeşidinde %84.52, 'Hannah's Coice' çeşidinde %94.57 ve *Rosa hybrida* (kesme gül) 'Cristiana' çeşidinde %87.65 olarak bildirilmiştir.

Clapa vd. (2013b), Gisela 5 kiraz anacının mikro sürgünlerinin yüzen perlit yatağında ex vitro köklenme başarısını %67.01 olarak belirtmişlerdir.

Fira vd. (2014), ‘Čačanska Bestrna’, ‘Chester Thornless’, ‘Loch Ness’ ve ‘Navaho’ böğürtlen çeşitlerinin mikro çoğaltımında yüzen perlit yöntemi ile ex vitro köklenme oranlarını %57.3 ile %93.75 arasında bildirmişlerdir.

Clapa vd. (2014), *Paulownia* türlerinde mikro sürgünlerde in vitro köklenmeyi bertaraf etmek üzere çoğaltma ortamından elde ettikleri sürgünleri ex vitro koşullarda yüzen perlit yatağında doğrudan köklendirdikleri çalışmalarında genotiplere göre canlılık oranının %80-100 ve köklenme oranının ise %74.16-98.83 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar köklenmeyi teşvik etmek üzere herhangi bir uygulama yapmamışlardır. Ex vitro köklenme ve aynı zamanda aklimatizasyon sürecinde sürgün ve kök gelişiminin iyi olduğunun belirtildiği çalışmada bu yöntemin dört haftalık süreçte *Paulownia* mikro sürgünlerinde %90’ın üzerinde köklenme ve aklimatizasyon başarısı sağladığı öne sürülmüştür.

Clapa vd. (2015), ‘Loch Ness’ böğürtlen çeşidinde mikro sürgünleri yüzen perlit yöntemi ile sera ve iklim odasında ex vitro koşullarda köklendirmişlerdir. Köklenme ve aklimatizasyon başarısı sera koşullarında %91.35 ve iklim odasında %94.87, kök uzunluğu ise sera koşullarında 8.14 cm, iklim odası koşullarında 5.45 cm olarak belirlenmiştir. Yüzen perlit ile ex vitro köklenme ve aklimatizasyonu çok etkili bir yöntem olarak tanımlamışlardır.

Fira vd. (2015), ‘Royal Gala’ elma çeşidinin in vitro çoğaltımı konusunda yaptıkları çalışmada mikro sürgünleri büyümeyi düzenleyici madde kullanmadan yüzen perlit yöntemiyle ex vitro koşullarda %93.92 ile %99.45 arasında köklendirmişlerdir. Köklenme oranları sürgün çoğaltma aşamasında kullanılan ortamın yapısına göre değişmiştir.

Clapa vd. (2016), bazı elma anaçlarının mikro çoğaltımında ex vitro köklenmeyi sera koşullarında yüzen perlit yöntemiyle gerçekleştirmişlerdir. Büyümeyi düzenleyici maddenin kullanılmadığı çalışmada anaçlarda 1-1.5 aylık periyotda köklenme oranları anaçlara göre sırasıyla %93.6, %98.16 ve %93.01; sürgün uzunluğu 3.09 cm, 4.18 cm ve

3.5 cm; kök uzunluğu 6.52 cm, 6.30 cm ve 5.01 cm ve kök sayısı 12, 18, 12.8 adet olarak kaydedilmiştir.

Orsolya vd. (2017), ‘Sensation’ leylak çeşidinin (*Syringa vulgaris* L.) mikro çoğaltımında mikro sürgünleri yüzen perlit ortamına büyümeyi düzenleyici madde ilave etmeden veya 1 mg/L IBA ilave ettikten sonra laboratuvar koşullarında ex vitro köklendirmişlerdir. En yüksek köklenme ve aklimatizasyon oranı IBA içeren yüzen perlit ortamında %90 olarak kaydedilmiştir. IBA içermeyen ortamda bu oran %60 olarak belirlenmiştir. Kök sayısı ve kök uzunluğu IBA içeren ortamda sırasıyla 2.5 adet ve 5 cm ile IBA içermeyen ortama göre (3.5 adet ve 11 cm) daha düşük olarak saptanmıştır.

Yüzen perlit yatağı tekniğinden farklı olarak Aleksandrova ve Dimitrova (2021b), OHxF 333 armut anacının (*P. communis* L.) in vitro bitkiciklerini torf ve perlit (2:1) ile doldurulmuş strafor kaplara dikmişler ve daha sonra Knopp, Hellriegel veya Pryanishnikov gibi farklı besin çözeltileriyle doldurulmuş tepsilere daldırmışlardır. Besin çözeltisi olmadan torf ve perlit (2:1) karışımına dikilen bitkicikler kontrol olarak kullanılmıştır. Tüm bitkiler bir hafta boyunca yüksek nem koşulları altında bir serada yetiştirilmiş ve ardından nispi nem oranı kademeli olarak azaltılmıştır. Gövde ve kök uzunluğu, taze ve kuru ağırlık, fotosentetik pigment içeriği ile ilgili veriler ex vitro koşullara taşındıktan 45 gün sonra toplanmıştır. Çalışmada yüzen sistemdeki tüm uygulamaların yüksek başarılı aklimatizasyon oranına ve daha iyi büyümeye neden olduğu öne sürülmüştür. Knopp çözeltisi ile yüzer sistemde yetiştirilen bitkiler en yüksek kuru maddeye, yaprak sayısına ve fotosentetik pigment içeriğine sahip bulunmuştur.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışması, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji II Laboratuvarı, İklim Odası ve Bilgisayar Kontrollü Araştırma Serası'nda 2021-2023 yılları arasında yürütülmüştür.

3.1 Materyal

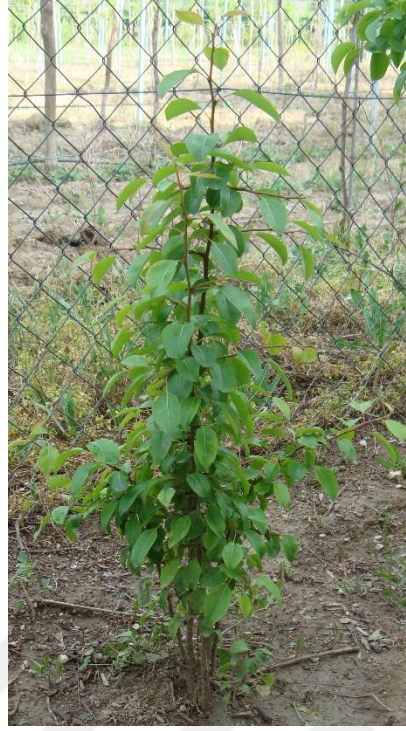
Tez çalışmasında bitkisel materyal olarak Pyrodwarf armut klon anacının (*P. communis* L.) in vitro alt kültürlerinden elde edilen mikro sürgünler kullanılmıştır.

Pyrodwarf armut anacı, yoğun armut bahçeleri için yeni klon anaçların geliştirilmesi amacıyla *Pyrus communis* türünde 1980 yılında başlatılmış olan melezleme çalışmaları kapsamında Almanya'da Geisenheim Araştırma Enstitüsü'nde ıslah edilmiş olup bir "Gute Luise (Bonne Louise d'Avranches)" x "Old Home" armut melezidir. Rhenus 1 adıyla 1999 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde patent almış olan bu anacın gelişme kuvveti, ayva genotipleri Provence BA 29 ve East Malling Quince A anaçlarına (*C. oblonga*) benzerdir. Pyrodwarf anacının, ayva anaçlarının aksine armut çeşitleriyle aşı uyumsuzluğu sorunu bulunmamaktadır. Ayrıca düşük kış sıcaklıkları, kireç ve yüksek pH düzeyleri gibi ayva anaçları için uygun olmayan koşullara uyum kabiliyeti yüksektir. Üzerine aşılanan armutlar erken verime başlamakta, verimliliği yüksek ve meyveleri birörnek olmaktadır. Toprağa tutunması iyidir ve destek sistemine ihtiyaç duymamaktadır. Dip sürgünü vermeyen bu anaç, ateş yanıklığı hastalığına orta düzeyde dayanıklıdır (Jacob 1998, Federico vd. 2009, Anonymous 2021).

3.2 Yöntem

3.2.1 Eksplantların kültüre alınması, sürgün çoğaltımı ve mikro çeliklerin hazırlanması

Bu tez çalışmasında Pyrodwarf armut anacı (Şekil 3.1), 2021 yılı vejetasyon döneminde sürgün ucu kültürü ile in vitro koşullarda kültüre alınmıştır.



Şekil 3.1 Pyrodwarf anacardium bitkisi

Bu kapsamda bahçe koşullarındaki iki yaşlı bitkilerin taze sürgünlerinden aktif gelişme döneminde sürgün uçları yaklaşık 2 cm uzunlukta koparılmış ve laboratuvarında yarım saat boyunca akan musluk suyu altında yıkanmıştır. Daha sonra içerisine 1-2 damla Tween 20 ilave edilmiş sodyum hipoklorit solusyonunda (%15) 15 dakika süreyle dezenfekte edilmiş ve ardından aseptik koşullarda 3 kez 5'er dakika steril saf su ile çalkalanmıştır. Eksplantlar steril kabinde sürgün uçlarından yaklaşık 1 cm uzunlukta hazırlanarak besin ortamına dikilmiştir. Başlangıç aşamasında eksplantlardan gelişen sürgünler 4 hafta sonra alt kültüre alınmıştır. Sürgün çoğaltımı amacıyla alt kültürler 4 hafta aralıklarla tekrarlanmıştır. Kültürler 16 saat aydınlık ($35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), 8 saat karanlık fotoperiyodun uygulandığı $25\pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıktaki iklim odasında inkübe edilmiştir.

Başlangıç ve sürgün çoğaltım aşamalarında temel besin ortamı olarak, amonyum nitrat düzeyi 1/3 olan MS temel besin ortamı kullanılmıştır. Bu ortama 1.0 mg/L BA, 0.3 mg/L GA₃ ve %3 sakaroz ilave edilmiş, ortamın pH'sı 5.8'e ayarlanmış ve %0.7 agar ile katılaştırılmıştır. Başlangıç aşamasında besin ortamı 2.5 cm çapında ve 15 cm boyundaki payreks cam tüplere 10'ar mL ve sürgün çoğaltma aşamasında 250 mL'lik erlenlere 50'er mL dağıtıldıktan sonra 121°C 'de 1 atmosfer basınç altında 20 dakika

otoklavlanmıştır. Başlangıç aşamasında tüplere 1'er adet eksplant (sürgün ucu) ve sürgün çoğaltma aşamasında alt kültürlerde her erlene 8'er adet mikro sürgün dikilmiştir.

Mikro çelikler, alt kültürlerden alınan mikro sürgünlerden laboratuvar ortamında ex vitro koşullarda yaklaşık 2 cm uzunlukta hazırlanmıştır. Hazırlanan mikro çelikler, çapı ve yüksekliği 2.5 cm olan küçük cam kaplar içerisine 50'şer adet dik olarak yerleştirilmiştir. Mikro çeliklerden nem kaybı olmaması için cam kaplar, dibinde az miktarda su bulunan magenta kaplar içerisine konulmuş ve kapağı kapatılmıştır.

3.2.2 Mikro çelikleri yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirme denemeleri

Tez çalışmasında mikro çelikleri ex vitro köklendirme çalışmaları yüzen perlit yatağında gerçekleştirilmiştir (Clapa vd. 2013a). Yüzen perlit yatağı, 25 cm genişlik, 11 cm derinlik ve 6 litre hacme sahip kare şeklindeki plastik leğene doldurulan 3 litre çeşme suyunun yüzeyine 3 litre tarım perlitinin (3-6 mm çapında) eşit olarak ve batmasını önlemek için yavaş bir şekilde serilmesiyle hazırlanmıştır. Mikroorganizma gelişimine karşı ışık geçişini engellemek üzere plastik leğenin dış kısmı siyah plastik örtü ile kaplanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Yüzen perlit yatağı, ex vitro koşullarda köklendirilmek üzere yüzen perlit yatağına dikilmiş Pyrodwarf mikro çelikleri ve nemin korunması için dikim yapılan leğenin yerleştirildiği kapaklı büyük plastik şeffaf saklama kabı

Mikro çeliklerde kök oluşumunun uyarılması amacıyla tez çalışmasının 1. denemesinde kontrol dışında 25, 50, 100 veya 150 mg/L IBA (w/v) solüsyonu kullanılmıştır. Her IBA dozu için 20'şer mL IBA solüsyonu hazırlanmıştır. Bu amaçla dozlara göre sırasıyla 0.5 mg, 1.0 mg, 2.0 mg ve 3.0 mg IBA (Sigma 15386) hassas terazide (Sartorius BP121S, max. 120 g, d=0.1 mg) tartılmış, ışık geçişine karşı folyo ile kaplanmış 30 mL'lik

beherlerde 2'şer mL %96'lık etil alkolde çözülmüş ve 20 mL son hacime deiyonize saf su ile tamamlanmıştır. IBA'yı çözmek için kullanılan %96'lık etil alkol miktarı, mikro çeliklerde yanıklığa neden olmaması için son hacmin %10'u kadar (2 mL) düşük tutulmuştur.

Her doz için hazırlanan IBA solüsyonları ex vitro koşullarda mikro çeliklerin 50'şer adet yerleştirildiği 2.5 cm çapındaki küçük cam kaplara 5'er mL olacak şekilde dökülmüştür. Böylece toplu olarak mikro çeliklerin yaklaşık 0.5 cm'lik dip kısımları 10 saniye süreyle bu solüsyon içerisinde kalmıştır. Bu sürenin sonunda mikro çelikler küçük cam kaplardan topluca bir filtre kâğıdı üzerine çıkartılmış ve bekletilmeden yüzen perlit yatağına 1/3'lük kısmı perlit içerisinde kalacak şekilde dikilmiştir. Yüzen perlit yatağının yer aldığı leğen, 30 L hacme sahip kapaklı büyük plastik şeffaf saklama kabı (30 x 40 x27 cm) içine yerleştirilmiş ve nemin korunması için kapağı kısmen kapatılmıştır (Şekil 3.2). Mikro çeliklerin dikildiği yüzen perlit kültürleri, 16 saat aydınlık ($35 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), 8 saat karanlık fotoperiyodun uygulandığı $25\pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıktaki iklim odasında 4 hafta süreyle inkübe edilmiştir. Leğenin yerleştirildiği kapaklı büyük plastik şeffaf saklama kabının kapağı iklim odasında inkubasyonun 2. haftasının sonunda tamamen açılmıştır.

Mikro çeliklerin köklenmesi üzerine kontrol ve IBA dozlarının etkileri mikro çeliklerde canlılık oranı (%), köklenme oranı (%), köklenen mikro çeliklerde kök sayısı, en uzun kökün uzunluğu (mm), köklenme düzeyi (1= zayıf, 2= orta, 3= iyi, 4= çok iyi), kallus çapı (mm), kuru ve yaş kök ağırlığı (mg/mikro çelik) ile belirlenmiştir. Ayrıca köklenen mikro çeliklerde bitki boyu, yaprak sayısı, yaş ve kuru sürgün ağırlığı da saptanmıştır. Kök ve sürgünler 65°C sıcaklıktaki etüvde 3 gün tutularak kurutulmuştur. Bu deneme iki kez tekrar edilmiştir.

3.2.3 Bitkicikleri sera koşullarında geliştirme denemeleri

Tez çalışmasının 2. denemesinde yüzen perlit yatağında ex vitro koşullarda köklendirme denemeleri sonunda köklenme ve bitki gelişiminin iyi olduğu bazı uygulamalar (kontrol, 25 ve 50 mg/L IBA) kullanılarak bu defa uzun periyotda bitkiciklerin sera koşullarında gelişimi üzerine bu uygulamaların etkileri araştırılmıştır. Mikro çelikler bu uygulamalar

esas alınarak yüzen perlit yatağında tekrar ex vitro köklenmeye alınmıştır. İklim odasında 4 haftalık inkübasyonun sonunda köklenmiş ve aynı zamanda iklim odasında dış koşullara alışmış bitkicikler içerisinde 3:1 oranında torf ve perlit (v/v) karışımının bulunduğu 100 mL’lik beyaz plastik bardaklara 10 Haziran 2022 tarihinde dikilmiş ve seraya taşınarak tezgâh üzerine yerleştirilmiştir. İklim odasından çıkartılmış olan bitkicikleri serada yüksek ışık yoğunluğunun zararlı etkilerinden ilk aşamada korumak için tezgâhın 1 m yukarısından bir gölgeleme tülü (%55’lik) çekilmiş ve 1 hafta sonra bu tül, bitkiler sera koşullarına alıştığı için kaldırılmıştır. Serada bitkiler toplam 5 ay tutulmuş bu sürede sulama ve gübreleme işlemleri aksatılmadan yapılmıştır. Gübre olarak sıvı solucan gübresi solüsyonu (50 mL/L) dikimin 2. gününde, 3. ve 12. haftalarda olmak üzere toplam 3 kez bitki başına 5’er mL olarak uygulanmıştır.

Haziran-Ekim arasında vejetasyon periyodu kapsamındaki 4 ay boyunca her ay bitkilerin boyu (mm), boğum ve yaprak sayısı saptanmıştır. Vejetasyonun sonunda 5. ayda (Kasım) bardaklardaki yetiştirme ortamından ayrılan bitkilerde kök boğazından uç kısma kadar bir cetvelle bitki boyu (mm) ve kök boğazının 10 cm yukarısından bir kumpas ile gövde çapı (mm) ölçülmüştür. Ayrıca her bitkide ayrı ayrı kök ve yapraksız sürgünlerin yaş ve kuru ağırlıkları (mg/bitki) saptanmıştır.

3.2.4 Deneme planı ve verilerin istatistik analizi

Tez çalışmasındaki tüm denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Mikro çeliklerin ex vitro köklendirilmesinde 5 uygulama (kontrol, 25, 50, 100 ve 150 mg/L IBA) x 3 tekerrür x 15 mikro çelik = 225 adet mikro çelik kullanılmıştır. Bitkilerin sera koşullarında geliştirilmesi denemesinde 3 uygulama (kontrol, 25 ve 50 mg/L IBA) x 3 tekerrür x 20 bitkicik = 180 adet bitkicik kullanılmıştır.

Veriler, varyans analizi yöntemi ile Minitab Paket Programı (MINITAB Inc., Trial Version) ile F testine göre kontrol edilmiştir. Ortaya çıkan önemli farklılıklar Duncan testi ile ($P \leq 0.05$) saptanmış ve farklılıklar harfler yardımıyla belirlenmiştir. Analizlerde yüzde oranların açısı değeri karşılıkları kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Pyrodwarf Armut Anacında Mikro Çelikleri Yüzen Perlit Yatağında Ex Vitro Köklendirme Bulguları

Pyrodwarf armut anacında farklı uygulamaların yüzen perlit yatağında mikro çeliklerin ex vitro köklenmesi üzerine etkileri çizelge 4.1 ve şekil 4.1’de sunulmuştur. Çalışmada köklenme oranı, köklenen mikro çeliklerde kök sayısı ve en uzun kökün uzunluğu bakımından uygulamalar arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık belirlenmemiş, köklenme oranı %77.8±2.2 ile %81.1±4.0 arasında değişmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Pyrodwarf armut anacında uygulamalara göre mikro çeliklerin yüzen perlit yatağında ex vitro köklenme değerleri

ÖZELLİK	UYGULAMA					P
	Kontrol	25 mg/L IBA	50 mg/L IBA	100 mg/L IBA	150 mg/L IBA	
Köklenme Oranı (%)	80.0±2.4	78.7±4.4	77.8±2.2	81.1±4.0	80.0±6.0	0.925 ^{ö.d.}
Köklenen Mikro Çeliklerde Canlılık Oranı	100	100	100	100	100	
Kök Sayısı (adet/mikro çelik)	2.3±0.2	1.9±0.2	2.5±0.2	2.3±0.2	1.9±0.2	0.152 ^{ö.d.}
En Uzun Kökün Uzunluğu (mm)	36.8±0.2	23.6±0.2	28.4±0.2	22.8±0.2	25.9±0.2	0.080 ^{ö.d.}
Köklenme Düzeyi (1-4) ^a	2.0±0.1 a ^b	1.2±0.2 b	1.7±0.1 ab	1.4±0.2 b	1.5±0.2 ab	0.047*
Yaş Kök Ağırlığı (mg/mikro çelik)	11.5±1.9 a	5.5±0.7 b	7.8±1.0 b	6.0±1.2 b	7.4±1.1 b	0.019*
Kuru Kök Ağırlığı (mg/mikro çelik)	1.3±0.3 a	0.5±0.1 b	0.8±0.1 b	0.6±0.1 b	0.8±0.1 b	0.024*
Bitki Boyu (mm)	20.8±0.5	19.2±1.3	21.6±0.8	22.3±1.1	22.0±1.4	0.323 ^{ö.d.}
Yaprak Sayısı (adet/ mikro çelik)	3.5±0.2	2.9±0.2	3.4±0.1	3.3±0.2	3.1±0.5	0.674 ^{ö.d.}
Yaş Sürgün Ağırlığı (mg/ mikro çelik)	77.1±3.7 b	68.8±3.7 b	94.3±7.3 a	85.1±6.0 ab	68.9±6.4 b	0.019*
Kuru Sürgün Ağırlığı (mg/mikro çelik)	19.0±1.0 a	14.5±1.0 b	19.2±1.0 a	16.4±1.1 ab	13.6±1.0 b	0.002**

^a Köklenme düzeyi, 1 = zayıf, 2 = orta, 3 = iyi, 4 = çok iyi.

^b Duncan testine ($P \leq 0.05$) göre her satırda aynı harflerin verildiği uygulamalar arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

^{ö.d.} F-testine göre farklılıklar önemli değil, *: $P \leq 0.05$, ** ve $P \leq 0.01$ düzeyinde önemli.



Şekil 4.1 Pyrodwarf armut anacında uygulamalara göre yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirilmiş mikro çelikler

Bu denemede yüzen perlit yatağı üzerinde 4 haftalık periyodun sonunda eş zamanlı olarak köklenen mikro çeliklerde canlılık oranlarının tüm uygulamalarda %100 olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1). Farklı uygulamalar, kök sayısı (1.9 ± 0.2 - 2.5 ± 0.2 adet/mikro çelik) ve en uzun kökün uzunluğu (22.8 ± 0.2 mm - 36.8 ± 0.2 mm) üzerine de benzer etki yapmış ve aynı istatistik grupta yer almıştır (Çizelge 4.1, Şekil 4.1). Bununla birlikte köklenme düzeyi, yaş ve kuru kök ağırlıkları bakımından uygulamalar arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$) (Çizelge 4.1). Bu aşamada mikro çeliklerde köklenme düzeyinde en yüksek değer 2.0 ± 0.1 ile kontrol uygulamasından elde edilmiştir. Bunu 50 mg/L (1.7 ± 0.1) ve 150 mg/L (1.5 ± 0.2) IBA uygulamaları izlemiştir. Bu uygulamalar aynı istatistik grupta yer almıştır. Mikro çelik başına yaş ve kuru kök ağırlığında istatistiksel anlamda önemli bir farklılıkla en yüksek değerler sırasıyla 11.5 ± 1.9 mg ve 1.3 ± 0.3 mg olarak kontrol uygulamasında belirlenmiştir. IBA dozlarının etkisi ise benzer olmuş, mikro çelik başına yaş kök ağırlığı 5.5 ± 0.7 mg ile 7.8 ± 1.0 mg ve kuru kök ağırlığı 0.5 ± 0.1 mg ile 0.8 ± 0.1 mg arasında değişmiştir (Çizelge 4.1).

Yüzen perlit yatağından çıkartılan bitkiciklerde uygulamalar arasında bitki boyu ve yaprak sayısı bakımından önemli bir farklılık gözlenmezken yaş ve kuru sürgün ağırlığı bakımından ortaya çıkan farklılıklar istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur. Çalışmada bitki boyu 19.2 ± 1.3 mm ile 22.3 ± 1.1 mm, mikro çelik başına yaprak sayısı da 2.9 ± 0.2

adet ile 3.5 ± 0.2 adet arasında kaydedilmiştir. Mikro çelik başına en yüksek yaş sürgün ağırlığı 50 mg/L (94.3 ± 7.3 mg) ve 100 mg/L IBA (85.1 ± 6.0 mg) uygulamalarında belirlenmiştir. Kuru sürgün ağırlığı ise 50 mg/L IBA, kontrol ve 100 mg/L IBA uygulamalarında diğerlerinden daha yüksek ölçülmüştür (Çizelge 4.1).

4.2 Pyrodwarf Armut Anacında Vejetasyon Döneminde Bitkiciklerin Gelişimine Ait Bulgular

Yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirmede 2. denemede bazı uygulamaların (kontrol, 25 ve 50 mg/L IBA) Pyrodwarf bitkiciklerinin vejetasyon döneminde 4 ay boyunca sera koşullarında gelişimi üzerine etkileri çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Çizelge 4.2 Pyrodwarf armut anacında ex vitro köklendirme aşamasındaki uygulamaların vejetasyon döneminde aylara göre bitkiciklerin gelişimi üzerine etkileri

AYLAR	UYGULAMA			
	Kontrol	25 mg/L IBA	50 mg/L IBA	Ortalama
Bitki Boyu (mm)				
0	8.6±0.2	8.0±0.4	9.7±0.1	8.8±0.3 e
1. Ay	14.2±0.8	12.4±0.5	15.7±0.4	14.1±0.6 d
2. Ay	32.3±2.0	31.8±2.1	34.7±1.3	32.9±1.0 c
3. Ay	86.6±4.0	85.8±0.8	99.2±4.9	90.5±2.8 b
4. Ay	118.3±0.7	106.5±4.7	117.9±4.6	114.2±2.7 a
Ortalama	52.0±11.6 b	48.9±10.7 b	55.4±12.0 a	
Yaprak Sayısı				
0	4.9±0.1	3.9±0.1	4.3±0.1	4.4±0.2 e
1. Ay	9.1±0.3	8.0±0.2	7.8±0.1	8.3±0.2 d
2. Ay	11.3±0.4	11.4±0.2	11.1±0.5	11.2±0.2 c
3. Ay	18.2±1.5	19.5±0.3	19.0±0.4	18.9±0.5 b
4. Ay	21.2±0.9	20.8±0.7	19.5±0.3	20.5±0.4 a
Ortalama	12.9±1.6	12.7±1.7	12.3±1.6	
Boğum Sayısı				
0	4.9±0.3	4.0±0.2	4.2±0.1	4.3±0.2 e
1. Ay	9.0±0.2	8.1±0.1	7.8±0.1	8.3±0.2 d
2. Ay	11.2±0.3	11.5±0.3	11.1±0.4	11.3±0.2 c
3. Ay	18.1±1.5	19.6±0.6	19.0±0.4	18.9±0.5 b
4. Ay	19.6±0.3	20.4±0.7	20.2±0.3	20.1±0.3 a
Ortalama	13.1±1.5	12.7±1.7	12.4±1.7	
P				
	Bitki Boyu	Yaprak Sayısı	Boğum Sayısı	
Aylar Arası	0.000***	0.000***	0.000***	
Uygulamalar Arası	0.001***	0.207 ^{ö.d.}	0.701 ^{ö.d.}	
Ay x Uygulama	0.068 ^{ö.d.}	0.265 ^{ö.d.}	0.365 ^{ö.d.}	

* Duncan testine ($P \leq 0.05$) göre aynı harflerin verildiği uygulamalar arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır.

^{ö.d.} F-testine göre farklılıklar önemli değil, ***: $P \leq 0.001$ düzeyinde önemli.

Bu denemede ay x uygulama arasındaki interaksiyon sürgün boyu ($P = 0.068$), yaprak sayısı ($P = 0.265$) ve boğum sayısı ($P = 0.365$) bakımından istatistiksel anlamda önemli bulunmamıştır. Bununla birlikte tüm özelliklerde uygulamaların ortalaması olarak aylar arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda önemli olmuş ($P = 0.000$), her ay bitkiler bir önceki aya göre daha fazla gelişmiştir (Çizelge 4.2). Ayların ortalaması olarak uygulamalar arasındaki farklılıklar ise sadece bitki boyunda önemli bulunmuş ($P = 0.001$) ve en yüksek ortalama bitki boyu değeri 50 mg/L IBA uygulamasında (55.4 ± 12.0 mm) kaydedilmiştir. Kontrol ve 25 mg/L IBA uygulamalarının etkisi bu bakımdan benzer olmuştur (Çizelge 4.2). Aylara göre uygulamaların ortalamasının ortalaması olarak yaprak sayısı ortalama 12.6 ± 1.6 adet ve boğum sayısı ortalama 12.7 ± 1.6 adettir.

4.3 Pyrodwarf Armut Anacında Vejetasyon Sonunda Bitkiciklerin Gelişimine Ait Bulgular

Yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirmede 2. deneme kapsamındaki uygulamaların Pyrodwarf armut anacında vejetasyon sonunda 5 aylık bitkilerin gelişimi üzerine etkileri incelendiğinde (Çizelge 4.3), sadece bitki boyu bakımından uygulamalar arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli olmamıştır ($P = 0.515$).

Çizelge 4.3 Pyrodwarf armut anacında ex vitro köklendirme aşamasındaki uygulamaların vejetasyon sonunda 5 aylık bitkilerin gelişimi üzerine etkileri

ÖZELLİK	UYGULAMA			
	Kontrol	25 mg/L IBA	50 mg/L IBA	P
Bitki Boyu (mm)	118.2±1.3	111.7±6.6	118.7±4.1	0.515 ^{ö.d.}
Gövde Çapı (mm)	3.6±0.1 b	3.8±0.1 b	4.5±0.1 a	0.001***
Yaş Kök Ağırlığı (mg/bitki)	483.9±72.4 b	868.0±134.0 ab	1173.0±126.0 a	0.015*
Kuru Kök Ağırlığı (mg/bitki)	72.8±7.1 c	126.3±20.0 b	196.5±12.8 a	0.003**
Yaş Sürgün Ağırlığı (mg/bitki)	876.2±63.8 b	1063.7±80.6 b	1547.8±30.6 a	0.001***
Kuru Sürgün Ağırlığı (mg/bitki)	387.4±17.7 c	477.8±35.4 b	704.7±16.7 a	0.000***

* Duncan testine ($P \leq 0.05$) göre aynı harflerin verildiği uygulamalar arasında istatistiksel farklılık bulunmamaktadır.

^{ö.d.} F-testine göre farklılıklar önemli değil, *: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$ ve ***: $P \leq 0.001$ düzeyinde önemli.

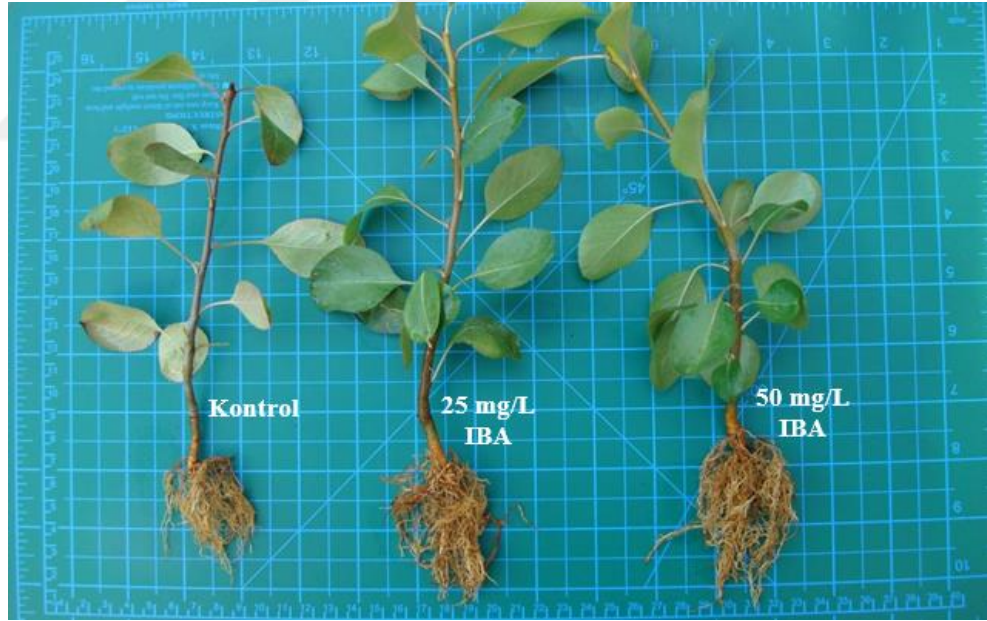
Çalışmada bitki boyu, uygulamalara göre 111.7 ± 6.6 mm ile 118.7 ± 4.1 mm arasında değişmiştir. Diğer tüm özelliklerde en yüksek değerler çoğunlukla 50 mg/L IBA uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 4.3, Şekil 4.2 ve 4.3).



Şekil 4.2 Pyrodwarf armut anacında vejetasyon sonunda 5 aylık bitkilerin ex vitro köklendirme aşamasında yapılan uygulamalara göre gelişim performansı

Bitkilerde vejetasyon sonunda gövde çapı bakımından önemli bir farklılıkla en yüksek değer (4.5 ± 0.1 mm) ex vitro köklendirme aşamasında uygulanan 50 mg/L IBA dozunda belirlenmiştir. Bu özellik 25 mg/L IBA ve kontrol uygulamalarında sırasıyla 3.8 ± 0.1 mm ve 3.6 ± 0.1 mm olarak kaydedilmiştir. Bu iki uygulama arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli olmamıştır (Çizelge 4.3, Şekil 4.2 ve 4.3).

Bitki başına yaş kök ağırlığı bakımından ise en yüksek değerler 50 mg/L IBA (1173.0 ± 126.0 mg) ve 25 mg/L IBA (868.0 ± 134.0 mg) uygulamalarında belirlenmiştir. Bu bakımdan kontrol uygulaması en düşük değere (483.9 ± 72.4 mg) sahip olmuştur. Kuru kök ağırlığı yönünden üç uygulama arasındaki farklılık da istatistiksel anlamda önemli olmuş ve en yüksek değer 50 mg/L uygulamasında 196.5 ± 12.8 mg olarak kaydedilmiştir. İkinci sıradaki 25 mg/L IBA uygulamasında bu değer 126.3 ± 20.0 mg, son sıradaki kontrol uygulamasında ise 72.8 ± 7.1 mg olmuştur (Çizelge 4.3).



Şekil 4.3 Pyrodwarf armut anacında vejetasyon sonunda kaplarından çıkartılmış 5 aylık bitkilerin ex vitro köklendirme aşamasında yapılan uygulamalara göre gelişim performansı

Yaş sürgün ağırlığı bakımından en yüksek değer ise istatistiksel anlamda önemli bir farklılıkla 50 mg/L IBA uygulamasından (1547.8 ± 30.6 mg/bitki) elde edilmiştir. Bu özellik yönünden 25 mg/L IBA (1063.7 ± 80.6 mg/bitki) ve kontrol (876.2 ± 63.8 mg/bitki) uygulamaları aynı istatistik grupta yer almıştır. Kuru sürgün ağırlığı bakımından da üç uygulama arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P = 0.000$). En yüksek değer 50 mg/L uygulamasında 704.7 ± 16.7 mg/bitki olarak saptanmıştır. Bunu 477.8 ± 35.4 mg/bitki ile 25 mg/L IBA izlemiştir. En düşük değer kaydedildiği kontrol uygulamasında ise kuru sürgün ağırlığı 387.4 ± 17.7 mg/bitki olmuştur (Çizelge 4.3).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, Pyrodwarf armut klon anacında (*P. communis* L.) mikro çeliklerin yüzen perlit yatağında ex vitro köklenmesi üzerine kontrol ve hızlı daldırma yöntemiyle 25, 50, 100 ve 150 mg/L IBA uygulamalarının ve ex vitro köklendirmede etkili olan bazı uygulamaların (kontrol, 25 ve 50 mg/L IBA) vejetasyon periyodunda ve sonunda sera koşullarında bitki gelişim performansı üzerine etkileri belirlenmiştir.

Yoğun armut bahçelerinde kullanımı giderek yaygınlaşan önemli bir klon armut anacı olan Pyrodwarf anacında bitki üretimi genellikle mikro çoğaltım yöntemiyle yapılmaktadır (Kaviani vd. 2023). Pyrodwarf anacının mikro çoğaltımı ile ilgili kaynaklarda mikro sürgünlerde köklenmenin in vitro koşullarda ve bitkiciklerin dış koşullara alıştırılmasında da bilinen yöntemler olan serada mist altında ya da nem kontrolü için üzeri kaplanarak farklı yetiştirme ortamlarında gerçekleştirildiği bildirilmektedir (Ruzic vd. 2011, Vujovic 2012, Kandi vd. 2018, Kaviani vd. 2023). Pyrodwarf anacının mikro sürgünlerinin in vitro yöntemler dışında ex vitro koşullarda köklendirilmesi konusunda ise daha önce yapılmış bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında Pyrodwarf armut anacının mikro çelikleri yüzen perlit yatağı tekniği ile ex vitro koşullarda köklendirilmiştir. Bulgular, kontrol, 25, 50, 100 ve 150 mg/L IBA uygulamalarının mikro çeliklerin kök özelliklerine istatistiksel anlamda benzer etkiler yaptığını, 4 haftalık periyodun sonunda mikro çeliklerde kök sayısının 1.9-2.3 adet ve en uzun kökün uzunluğunun 2.3-3.7 cm arasında değiştiğini göstermiştir (Çizelge 4.1). Pyrodwarf anacının in vitro köklenmesinde Ruzic vd. (2011), mikro çeliklerde en yüksek kök sayısını 4.88 ve kök uzunluğunu 1.83 cm, Vujovic (2012) kök sayısını 4.4 adet ve kök uzunluğunu 1.48 cm ve Kandi vd. (2018), kök sayısını 3.04 adet olarak bildirmiştir. Bu özellikleri Sharifi vd. (2018) sırasıyla 8.5 adet kök sayısı ve 2.33 cm kök uzunluğu, Kaviani vd. (2023) de 5.5 adet kök sayısı ve 2.39 cm kök uzunluğu olarak belirtmişlerdir. Ex vitro köklendirme bulgularımızdan özellikle kök uzunluğu ile ilgili sonuçlar, araştırmacıların in vitro köklendirme bulguları ile kısmen uyumludur.

Çalışmamızda mikro çeliklerde ex vitro köklenme oranları ise %77.8 ile %81.1 arasında belirlenmiş, köklenen mikro çeliklerin tamamı eş zamanlı olarak dış koşullara alışmıştır

(Çizelge 4.1). Bu oranlar, Pyrodwarf anacında in vitro köklenme oranını %90-100 ve sonraki aşamada dış koşullara alışma oranını %90'ın üzerinde bildiren Ruzic vd. (2011), Vujovic (2012), Kandi vd. (2018) ve Kaviani vd.'nin (2023) bulgularının gerisindedir. Bununla birlikte in vitro köklendirmede mümkün olmayacak şekilde doğal ortamındakine benzer yapıda sağlıklı lateral kökler ve kök tüylerine sahip bitkiler ex vitro köklendirmede meydana gelebilmekte ve ileride bu bitkilerin bahçe koşullarında yaşama şansı, in vitro koşullarda köklendirilmiş olanlardan çok daha fazla artabilmektedir (Yan vd. 2010, Pessanha vd. 2022). Ayrıca ex vitro köklendirmede, mikro çeliklerde köklenme ve köklenmiş mikro çeliklerin dış koşullara alışması eş zamanlı olarak gerçekleştiğinden dolayı in vitro köklenme için gerekli kaynak ve enerji kullanımından ve zamandan büyük ölçüde tasarruf sağlanmakta ve üretim maliyeti %70'lere kadar azaltılabilmektedir (Ranaweera vd. 2013). Bu nedenle mikro çoğaltımda ex vitro köklendirmenin birçok türde araştırıldığı görülmektedir (Martin 2003, Yan vd. 2010, Aygun ve Dumanoglu 2015, Shekhawat ve Manokari 2016, Dimitrova ve Nacheva 2021, Pessanha vd. 2022). Her ne kadar Pyrodwarf anacında daha önce yapılmamış olsa da bazı *Pyrus* türlerinde ex vitro köklendirme çalışmaları hâlihazırda gerçekleştirilmiş durumdadır. Bu çalışmalarda genotiplere ve uygulamalara bağlı olarak köklenme bazı araştırmalarda başarısız olarak, bazı çalışmalarda da %55 ile %100 arasında değişen oranlarda başarılı olarak bildirilmiştir (Al-Maarri vd. 1994, Yeo ve Reed 1995, Shibli vd. 1997, Zhu vd. 2003, Saadat vd. 2012, Aygun ve Dumanoglu 2015, Dimitrova ve Nacheva 2021). Diğer birçok odunsu bitki türünde olduğu gibi Pyrodwarf anacında da in vitro köklendirme denemelerinde ve diğer *Pyrus* genotiplerinde in vitro ve ex vitro köklendirme çalışmalarında oksinlerin ve özellikle IBA'nın köklenme başarısını artırdığı öne sürülmüştür. Pyrodwarf anacında mikro sürgünlerin in vitro köklendirilmesinde Ruzic vd. (2011), Vujovic (2012) ve Nourmohammadi vd. (2015) besin ortamına 1.0 mg/L IBA ilavesi ile iyi bir köklenme oranı (%90 ve %96) ve kök sayısına (4.40-4.88 adet) ulaştıklarını bildirmişlerdir. Kandi vd. (2018) ise en yüksek köklenme oranı (%100) ve kök sayısını (3.04 adet/sürgün) 4.5 mg/L IBA içeren besin ortamında elde ettiklerini belirtmişlerdir. Aygun ve Dumanoglu (2015), ahlat (*P. elaeagrifolia* Pallas) mikro çeliklerini ex vitro köklendirme denemelerinde köklenme için oksin uygulamalarının gerekli olduğunu ve en iyi sonucun %55 köklenme oranı ve çelik başına 1.8 adet kök sayısı ile 10 mM (1000 mg/L) IBA uygulamasından elde edildiğini saptamışlardır. IBA,

1930'lu yıllardan bu yana adventif köklenme için yaygın olarak kullanılan bir oksindir ve birçok modern köklendirme ajanının da aktif bileşenidir. Bu oksin bitkilerde kök ucu meristeminin, kökçük ve adventif köklerin meydana gelmesi ve gelişmesi üzerine büyük bir etkiye sahiptir (Frick ve Strader 2018). Bununla birlikte bu tez çalışmasında Pyrodwarf anacının mikro çelikleri ex vitro koşullarda kontrol uygulamasında dahi %80 oranında köklendirilebilmiştir. Yüzen su kültüründen çıkartılmış bitkiciklerde köklenme düzeyi, yaş ve kuru kök ağırlıkları ise kontrolde, IBA uygulamalarından önemli düzeyde daha yüksek kaydedilmiştir. Bu aşamada bitkiciklerde sürgün gelişimi bulguları ise kontrol ve IBA uygulamalarında benzer olmuştur (Çizelge 4.1). İkinci denememizde ise kontrol, 25 ve 50 mg/L IBA uygulamaları ile ex vitro köklendirilmiş bitkiciklerin sera koşullarında geliştirilmesinde 50 mg/L IBA'nın vejetasyon periyodunda ortalama bitki boyunu önemli düzeyde artırdığı saptanmıştır (Çizelge 4.2). Vejetasyon sonunda da yine 50 mg/L IBA uygulamasının, kontrol ve 25 mg/L IBA uygulamalarına göre mikro çoğaltılmış bitkilerde gövde çapı, yaş ve kuru kök ve sürgün ağırlıklarını önemli düzeyde artırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.3, Şekil 4.3). Oksinler hücre bölünmesi ve hücre genişlemesinde kritik roller oynayan büyümeyi düzenleyici maddelerdir (Frick ve Strader 2018). Shiri vd. (2019), köklenmeyi teşvik edici büyümeyi düzenleyici maddeler olan oksinlerin bitkilerde kök kalitesini iyileştirerek besin maddelerinin yetiştirme ortamından emilimini artırdığını ve bunun dolaylı olarak sürgün gelişiminde iyileşme sağlandığını öne sürmüşlerdir. Araştırmacıların bu görüşleri bulgularımız ile uyumludur.

Mikro çeliklerin ex vitro köklendirilmesi ve/veya bitkiciklerin dış koşullara alıştırılmasında yüzen perlit yatağının Pyrodwarf ve diğer *Pyrus* genotiplerinde kullanımı ilk kez bu tez çalışmasında araştırılmıştır. Bunun yanısıra bitki türlerinde ex vitro köklenmeyi ve ileri aşamada bitki gelişimini teşvik etmek üzere yüzen perlit yatağına dikilmeden önce mikro çeliklere büyümeyi düzenleyici madde uygulanması da ilk kez bu tezde ele alınmıştır. Tez çalışmasında Pyrodwarf anacının mikro çelikleri yüzen perlit yatağına dikilmeden önce kontrol uygulaması dışında hızlı daldırma yöntemiyle IBA solüsyonlarına 10 saniye süreyle daldırılmıştır. Köklendirme denemesinde IBA uygulamalarının yanında IBA uygulanmayan kontrol uygulamasında da köklenme oranları (%77.8-%81.1) istatistiksel anlamda benzer bulunmuştur (Çizelge 4.1). Büyümeyi düzenleyici madde kullanılmadan mikro sürgünleri yüzen perlit yatağında

köklendirilen *Rubus fruticosus* x *Rubus idaeus* (tayberi) genotipinde köklenme oranı %78.12, *Amelanchier canadensis* (taş armudu) genotipinde %97.14, *Rubus fruticosus* (böğürtlen) 'Chester' çeşidinde %94.73, *Rubus idaeus* (ahududu) 'Erntesegen' çeşidinde %93.57, 'Willamette' çeşidinde %80.75, *Vaccinium macrocarpon* (turnayemişi) 'Pilgrim' çeşidinde %98.15, *Vaccinium corymbosum* (maviyemiş) 'Duke' çeşidinde %98.38, 'Elliot' çeşidinde %84.52, 'Hannah's Coice' çeşidinde %94.57 ve *Rosa hybrida* (kesme gül) 'Cristiana' çeşidinde %87.65 olarak bildirilmiştir (Clapa vd. 2013a). Yine benzer uygulama ile Clapa vd. (2013b) Gisela 5 kiraz anacında köklenme oranını %67.01, Fira vd. (2014), bazı böğürtlen çeşitlerinde %57.3-%93.75 ve Clapa vd. (2014) *Paulownia* türlerinde %74.16-%98.83 olarak belirtmişlerdir. Bu konuda çalışmaları olan Clapa vd. (2015), köklenme oranlarını 'Loch Ness' böğürtlen çeşidinde %91.35-%94.87, Fira vd. (2015) 'Royal Gala' elma çeşidinde %93.92-%99.45 ve Clapa vd. (2016), bazı elma anaçlarında %93.01-%98.16 olarak bildirmişlerdir. Orsolya vd. (2017) ise 'Sensation' leylak çeşidinin (*Syringa vulgaris* L.) mikro çoğaltımında mikro sürgünleri yüzen perlit ortamına doğrudan 1.0 mg/L IBA ilave ederek %90 oranında köklendirdiğini, büyümeyi düzenleyici madde ilave edilmeden bu oranın %60 olduğunu belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında ex vitro köklendirmede kontrol ve IBA uygulamaları arasında önemli bir farklılık ortaya çıkmamış olsa da köklenme aşamasında uygulanan IBA'nın sera koşullarında bitkilerin kök ve sürgün gelişimini, kontrol uygulamasına göre önemli düzeyde iyileştirdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.3, Şekil 4.3).

Sonuç olarak, Pyrodwarf anacının mikro çoğaltımında mikro çeliklerin ex vitro köklendirilmesi ve eş zamanlı olarak dış koşullara alıştırılmasında alt yapı gerektirmeyen, ucuz, hızlı ve başarılı bir yöntem olan yüzen perlit yatağı tekniğinin kullanılması önerilmektedir. Ayrıca ileri aşamalarda bitkilerin sağlıklı büyüme ve gelişimini olumlu etkilemesinden dolayı yüzen perlit yatağına dikilmeden önce mikro çeliklerin dip kısımlarının 50 mg/L IBA solüsyonuna 10 saniye süreyle daldırılması da tavsiye edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Aleksandrova, D. and Dimitrova, N. 2021a. The reaction of pear cultivars grafted on pear and quince rootstocks after artificial inoculation of *Erwinia amylovora*. Acta Horticulturae, 1327; 321-328.
- Aleksandrova, D. and Dimitrova, N. 2021b. Floating system improves acclimatization of micropropagated pear plantlets. Acta Horticulturae, 1327; 727-732.
- Al-Maarri, K., Arnaud, Y. and Miginiac, E. 1994. Micropropagation of *Pyrus communis* cultivar 'Passe Crassane' seedlings and cultivar 'Williams': factors affecting root formation in vitro and ex vitro. Scientia Horticulturae, 58(3); 207-214.
- Anonymous. 2023. Web Sitesi: <https://www.fao.org/faostat/en/#data>. Erişim Tarihi: 27.05.2023.
- Aygun, A. and Dumanoglu, H. 2015. In vitro shoot proliferation and in vitro and ex vitro root formation of *Pyrus elaeagnifolia* Pallas. Frontiers in Plant Science, 6, 225.
- Clapa, D., Fira, A. and Joshee, N. 2013a. An efficient ex vitro rooting and acclimatization method for horticultural plants using float hydroculture. HortScience, 48(9); 1159-1167.
- Clapa, D., Fira, A., Simu, M. and Horga, V.C. 2013b. In vitro propagation of Gisela 5 cherry rootstock. Scientific Papers of the Research Institute for Fruit Growing, 29; 100-105.
- Clapa, D., Fira, A., Simu, M., Vasu, L.B. and Buduroi, D. 2014. Improved in vitro propagation of *Paulownia elongata*, *P. fortunei* and its interspecific hybrid *P. elongata* x *P. fortunei*. Bulletin UASVM Horticulture, 71(1); 6-14.
- Clapa, D., Fira, A. and Simu, M. 2015. The role of rooting substrate in blackberry ex vitro rooting and acclimatization stage. ProEnvironment, 8; 280-284.
- Clapa, D., Fira, A. and Simu, M., Harta, M. and Sisea, C. 2016. The elaboration of a practical protocol for the micropropagation of several apple rootstock varieties. Bulletin UASVM Horticulture, 73(2); 226-228.
- De Paoli, G., Subirà, E. and Battistini, A. 2002. In vitro rooting of Pyrodwarf and Cydomalus, two rootstocks for pear, under photoautotrophic conditions. Acta Horticulturae, 596; 463-467.
- Dimitrova, N. and Nacheva, L. 2021. An optimized micropropagation protocol by ex vitro rooting of pear rootstock OHF 333 (*Pyrus communis* L.). Acta Agrobotanica, 74, 744.

- Ekici, İ. ve Yıldırım, A.N. 2017. Asya armut (*Pyrus pyrifolia*) çeşitlerinin Uşak koşullarında morfolojik, fenolojik, pomolojik ve bazı biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 21(1); 118-124.
- Federico, M.B., Corrado, F. and Sebastiani, L. 2009. Development of an efficient regeneration protocol for pear rootstock Pyrodwarf and assessment of SSR variability in regenerating shoots. Caryologia, 62(1); 62-68.
- Fira, A., Clapa, D. and Simu, M. 2014. Studies regarding the micropropagation of some blackberry cultivars. Bulletin UASVM Horticulture, 71(1); 29-37.
- Fira, A., Simu, M., Vlaicu, B. and Clapa, D. 2015. Aspects regarding the in vitro propagation of 'Royal Gala' apple cultivar. Bulletin UASVM Horticulture, 72(2); 342-349.
- Frick, E.M. and Strader, L.C. 2018. Roles for IBA-derived auxin in plant development. Journal of Experimental Botany, 69(2); 169-177.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, Jr.F.T. and Geneve, R.L. 2011. Plant Propagation: Principles and Practices (8th Edition). Prentice-Hall, 915, Boston.
- Hussain, S.Z., Naseer, B., Qadri, T., Fatima, T. and Bhat, T.A, 2021. Pear (*Pyrus communis*)-morphology, taxonomy, composition and health benefits, In: Fruits Grown in Highland Regions of the Himalayas. Hussain, S.Z., Naseer, B., Qadri, T., Fatima, T. and Bhat, T.A. (authors), Springer Cham, 35-48, Switzerland.
- Jacob, H.B. 1998. Pyrodwarf, a new clonal rootstock for high density pear orchards. Acta Horticulturae, 475; 169-178.
- Kandi, A.M.N., Hosseini, B., Farokhzad, A. and Naseri, L. 2018. Effects of basal medium, growth regulators and growth medium on micropropagation of semidwarf pear rootstock "Pyrodwarf". Seed and Plant Production Journal, 34(2); 153-170.
- Kaviani, B., Barandan, A., Tymoszek, A. and Kulus, D. 2023. Optimization of in vitro propagation of pear (*Pyrus communis* L.) 'Pyrodwarf®(S)' rootstock. Agronomy, 13, 268.
- Lombard, P.B. and Westwood, M.N. 1987. Pear rootstocks, In: Rootstocks for Fruit Crops. Rom, R.C. and Carlson, R.F. (eds), A Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons, Inc., 145-183, New York.
- Martin, K.P. 2003. Rapid in vitro multiplication and ex vitro rooting of *Rotula aquatica* Lour., a rare rheophytic woody medicinal plant. Plant Cell Reports, 21; 415-420.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15(3); 473-497.

- Necas, T. and Kosina, J. 2008. Vegetative propagation of pear and quince rootstocks using hardwood cuttings. *Acta Horticulturae*, 800; 701-706.
- Nourmohammadi, N., Abdollahi, H., Moeini, A and Roohalamin, E. 2015. Effects of growth media and Fe source on micropropagation and rooting of semi-dwarf pear rootstocks, Pyrodwarf and OH × F87. *Seed and Plant Improvement Journal*, 31(2); 265-278.
- Oakes, A.O., Desmarais, T.R., Powell, W.A. and Maynard, C.A. 2016. Ex vitro rooting of American chestnut improves acclimatization survival and plantlet quality. *Journal of Environmental Horticulture*, 34(3); 75-79.
- Orsolya, B., Clapa, D., Fira, A., Hârta, M., Dumitras, A., Pop, R. and Pamfil, D. 2017. The effect of gelling agent on the micropropagation of common lilac (*Syringa vulgaris* L.). *Agriculture - Science and Practice*, 3-4 (103-104); 63-71.
- Öztürk A., 2021. The effects of different rootstocks on the graft success and scion development of some pear cultivars. *International Journal of Fruit Science*, 21; 932-944.
- Pessanha, L.d.S., Aragão, V.P.M., de Oliveira, T.d.R., de Sousa, K.R., Silveira, V. And Santa-Catarina, C. 2022. Benzyladenine affects polyamine contents and proteomic profiles during in vitro shoot development and ex vitro rooting in *Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth. (Fabaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 151; 75-92.
- Quoirin, M. and Lepoivre, P. 1977. Improved media for *in vitro* culture of *Prunus* spp. *Acta Horticulturae*, 78; 437-442.
- Raman, M.G., Marzougui, A., Teh, S.L., York, Z.B., Evans, K.M. and Sankaran, S. 2023. Rapid assessment of architectural traits in pear rootstock breeding program using remote sensing techniques. *Remote Sensing*, 15, 1483.
- Ranaweera, K.K., Gunasekara, M.T.K. and Eeswara, J.P. 2013 Ex vitro rooting: a low-cost micropropagation technique for tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz) hybrids. *Scientia Horticulturae*, 155; 8-14.
- Ruzic, D.J., Vujovic, T., Nikolic, D. and Cerovic, R. 2011. In vitro growth responses of the ‘Pyrodwarf’ pear rootstock to cytokinin types. *Romanian Biotechnological Letters*, 16(5); 6630-6637.
- Saadat, Y.A., Jokar, L. and Jahromi, L.S. 2012. In vitro rooting of *Pyrus glabra* Boiss. microshoots. *Iranian Journal of Natural Resources Research*, 1(1); 46-51.
- Sharifi, A., Khadem, A., Moradian, M. and Kharrazi, M. 2018. Optimization of in vitro culture of pear rootstock (Pyrodwarf). *Journal of Horticultural Science*, 32(2); 301-310.

- Shekhawat, M.S. and Manokari, M. 2016. Optimization of in vitro and ex vitro regeneration and micromorphological studies in *Basella alba* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 22(4); 605-612.
- Shibli, R.A., Ajlouni, M.M., Jaradat, A., Aljanabi, S. and Shatnawi, M. 1997. Micropropagation in wild pear (*Pyrus syrica*). *Scientia Horticulturue*, 68; 237-242.
- Shiri, M., Mudyiwa, R.M., Takawira, M., Musara, C. and Gama, T. 2019. Effects of rooting media and indole-3-butyric acid (IBA) concentration on rooting and shoot development of *Duranta erecta* tip cuttings. *African Journal of Plant Science*, 13(10); 279-285.
- Soumare, A., Diedhiou, A.G., Arora, N.K., Al-Ani, L.K.T., Ngom, M., Fall, S., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Kouisni, L. and Sy, M.O. 2021. Potential role and utilization of plant growth promoting microbes in plant tissue culture. *Frontiers in Microbiology*, 12, 649878.
- Vujovic, T., Ruzic, Dj. and Cerovic, R. 2012. In vitro shoot multiplication as influenced by repeated subculturing of shoots of contemporary fruit rootstocks. *Horticultural Science (Prague)*, 39; 101-107.
- Watson, A.E., Seleznyova, A.N., Dayatilake, G.A. and Tustin, D.S. 2012. Rootstocks affect pear (*Pyrus communis*) tree growth through extent of node neoformation and flowering with key differences to apple. *Functional Plant Biology*, 39; 493-502.
- Yan, H., Liang, C., Yang, L. and Li, Y. 2010. In vitro and ex vitro rooting of *Siratia grosvenorii*, a traditional medicinal plant. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32; 115-120.
- Yeo, D.Y. and Reed, B.M. 1995. Micropropagation of three *Pyrus* rootstocks. *HortScience*, 30(3); 620-623.
- Zhu, L.H., Li, X.Y., Ahlman, A. and Welander, M. 2003. The rooting ability of the dwarfing pear rootstock BP10030 (*Pyrus communis*) was significantly increased by introduction of the *rolB* gene. *Plant Science*, 165(4); 829-835.