

YYÜZF DERGİSİ 1991 1/3 (1-26)

**ÇEŞİTLİ ANTIOKSIDAN MADDELERİNİN
CEVİZ AŞILARINDA NEKROTİK TABAKA
YOĞUNLUKLARINA VE AŞI
KAYNAŞMALARINA ETKİLERİ ÜZERİNDE
BİR ARAŞTIRMA**

F.E.TEKİNTAŞ ()*

(ARAŞTIRMA MAKALESİ)

ÖZET

Bu çalışma antioksidan özellik gösteren askorbik asit, biberiye ve adaçayının 10, 50, 100 ve 200 ppm konsantrasyonlarındaki çözeltileri ile muamele edildikten sonra yapılan aşılar, kaynaşmanın anatomisini ve nekrotik tabaka yoğunluklarının değişimini incelemek amacıyla yürütülmüştür. Denemede kullanılan antioksidan nitelikli maddelerin nekrotik tabaka yoğunlukları üzerinde pek etkili olmadıkları belirlenmiştir. Ancak, 100 ve 200 ppm askorbik asit uygulamasının, diğer uygulamalara oranla nekrotik tabaka yoğunluklarının azaltılmasında daha ümitvar olduğu saptanmıştır. Değişik yoğunluklarda oluşan nekrotik tabakalar aşı kaynaşmalarının seyri üzerinde etkili olmamıştır. Nitekim, tüm örneklerde aşı kaynaşmasının safhaları meydana gelmiştir.

(*) Yüz.Yıl Üni. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl. Yard.Doç.Dr.

AN INVESTIGATION ON THE EFFECT OF VARIOUS ANTIOXIDANT SUBSTANCES ON THE NECROTIC LAYER DENSITY AND GRAFT-UNION ON WALNUT GRAFTING

SUMMARY

This investigation is conducted to observe the effect of antioxidant substances such as ascorbic acid, Biberiye (Rosmarinus officinalis L.), Adaçayı (Selvia officinalis L.) the necrotic layer density and graft development. Antioxidant substances are used in this research were found of no effect on necrotic layer density. However, 100 and 200 ppm ascorbic acid applications was found more successful according to other applications. Necrotic layers which are different density were found of no effect on graft formation and development. In all of the graftings formed phases of graft-union such as breakage of the necrotic layers, callus tissue formation, cambial differentiation and cambial continuity.

1- GİRİŞ

Meyve türleri arasında aşı ile çoğaltılması en güç olanlardan bir tanesi cevizdir. Diğer meyve türlerine oranla kallus teşükkülü için daha yüksek sıcaklık ve nem istenmesinin yanısıra, anatomik ve fizyolojik yapısından kaynaklanan pek çok sorun, aşılmalarda büyük oranda başarısızlığa neden olmaktadır. Yıllık sürgünlerin ince çeperli kabuk ve oldukça geniş öz boşluğu olan odun dokusuna sahip olması, göz altında hava cebi (boşluğu) kalması ve yaprak sapının geniş olması gibi anatomik yapıdan kaynaklanan sorunların çözümüne yönelik tedbirler üzerinde araştırmalar yapılmış (1, 2, 3) ve kısmen tatminkâr sonuçlar alınmıştır. Ancak cevizin fizyolojik yapısından kaynaklanan sorunların belirlenmesi ve çözümlerine yönelik, çalışmalar henüz pek başarılı sonuçlara ulaştırılamamıştır.

Özellikle kalem aşlarında sorun yaratan ksilem özsuju akışı ve bitki bünyesinde bulunan ve inhibitör bir madde olan juglon ile ilgili çalışmalar yapılmış olmakla birlikte (3, 4), cevizde oldukça yoğun olarak bulunan fenolik bileşikler ve bunların nitelik ve nicelikleri ile ilgili çalışmalar henüz yeterli seviyede yürütölememektedir.

Ceviz aşlarında; aşılama esnasında yaralanarak ölen hücrelerin bünyesinde bulunan fenolik bileşiklerin oksitlenmesi sonucunda yoğun negrotik tabakalar oluşmaktadır. (5) Anaç ve kabuğa ait dokuların birleşme yüzeylerinde meydana gelebilecek bu nekrotik tabakalar, aş elemanları arasında kallus köprüsü tesisini engelleyecek boyutlarda gerçekleşebilmektedir.

Canlı bitki dokularında bulunan renk maddelerinden birisi olan fenolik bileşikler, polifenol oksidaz enzimi ve moleküler oksijen ile genellikle esmer veya siyah renkli karmaşık renk maddelerine dönüşmektedirler. (6) Polifenol oksidazların sağlam bitki dokularındaki hücrelerin protoplazmalarında mitokondrium ve kloroplast membranlarında lokalize olmakta vakuollerdeki fenolik madde, organik asit ve tanelerden etkilenmeden kendi fizyolojik görevlerini yapmaktadır. (7) Ancak doku, dolayısıyla hücre herhangi bir dış mekanik etkenle parçalandığında, zedelendiğinde ya da aşırı yaşlanarak öldüğünde polifenol oksidaz enzimi ve polifenoller birbiri ile temasa geçerek moleküler oksijenin eşliğinde enzimatik esmerleşme süreci başlamaktadır. (6)

Tüm enzimatik reaksiyonlarda olduğu gibi enzimatik esmerleşme de genelde iç ve dış etmenler değiştirilerek kontrol altına alınabilmektedir. (6) Enzimatik esmerleşmeyi kontrol etmenin bir yolunun çeşitli kimyasal maddelerle polifenol oksidaz aktivitesini azaltmak veya inhibe etmek olduğu belirtilmektedir. Bu amaçla kullanılan kimyasal maddeler; doğrudan polifenol oksidaz enzimini inhibe eden veya enzimatik esmerleşme reaksiyonu ürünleri olan kinonları, difenollere indirgeyen maddeler olarak işlev yaparlar. (8) Bunlardan askorbik asit esmerleşme reaksiyonu, ürünlerini indirgeyen maddeler gurubunda, adaçayı ve biberiye ise ihtiva ettiği fenolik

bileşiklerle polifenol oksidaz enziminin inhibasyonunda etkili maddeler gurubunda gösterilmektedir. (8)

Bu çalışma, ceviz dokularında yoğun olarak bulunan ve aşılama esnasında oksidasyona uğrayarak karararı ve kalın ayırma tabakası oluşturan fenolik bileşiklerin oksidasyonuna engel olacak antioksidan maddelerin aşılama sırasında kullanılarak nekrotik tabaka oluşumunun azaltılması amacı ile yürütülmüştür.

2- MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde 1990-1991 yılları arasında yürütülmüştür. Anaç materyali olarak; Bitlis ili Adilcevaz ilçesinde yürütülen seleksiyon çalışmalarında belirlenen üstün vasıflı ceviz ağacının tohumlarından yetiştirilen bir yıllık ceviz çöğürleri (J regia L.) kullanılmıştır. Anaç olarak kullanılan bir yıllık çöğürler, doğrudan doğruya aşı ve yetiştirme parsellerine, sıra üzeri 20 cm, sıra arası 80 cm olacak şekilde ekilen tohumlardan elde edilmiş ve aşılama zamanına kadar geçen süre içinde normal bakım işlemleri uygulanmıştır. Kalem materyali Van Meyve Fidanlık Müdürlüğünün koleksiyon bahçesinde bulunan Yalova III çeşidinin bir yıllık sürgünlerinden temin edilmiştir.

Aşılama yapılmadan evvel kalemden çıkartılan kabuk, 10, 50, 100 ve 200 ppm konsantrasyonlarda hazırlanmış Askorbik Asit, Biberiye ve Adaçayı çözeltileri ile ve kontrol olarak da saf su ile ayrı ayrı muamele edildikten sonra anaç üzerine nakledilmiştir.

Aşılamaalarda aşı bağı materyali olarak parafilm kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1 Antioksidan Özellikli Çözeltilerin Hazırlanması

Bitkisel kökenli baharatlar içerisinde hemen hemen bütün şartlarda en etkili baharatların biberiye ve adaçayı olduğu dikkate alınarak (Akgül, 1989), bu çalışmada bitkisel menşeli ve en az sentetik antioksidanlar kadar etkili olan Adaçayı (*Selvia Officinalis L.*) ve Biberiye (*Rasmanrinus officinalis L.*) kullanılmıştır. Bu baharatların metanol gibi çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktları öğütülmüş baharatlar yerine kullanılabilmesi için, (8) Metanolla 10, 50, 100, 200 ppm'lik çözeltileri hazırlanmış ve aşılmalarda kullanılmıştır. Antioksidan etkili bu baharatların çözeltilerinden başka bitki dokularında bulunan fenolik bileşiklerin oksidasyonunu engelleyebilecek Askorbik Asit'te bu çalışmada aynı konsantrasyonlarda denemeye alınmıştır.

Antioksidan madde çözeltilerinden başka kontrol uygulaması olması bakımından kalemden çıkartılan kabuk saf su ile de muamele edilerek aşılmalarda kullanılmıştır.

2.2.2. Aşıların Yapılışı

Aşılar, sıcaklık ve nem bakımından Van ili için uygun bir dönem olan 27 Temmuz 1990'da yama göz aşısı metodu ile gerçekleştirilmiştir. Her uygulama için 10'ar tane çöğür olmak üzere toplam 120 adet, kontrol olması bakımından da saf su ile muamele edilerek aşılanmış 10 adet çöğür, yama gözaşısı metodu ile aşılanmış ve aşılar parafilm kullanılarak bağlanmışlardır. Aşılama sonrası düzenli bakım işleri yürütülmüştür.

2.2.3. Örneklerin ve Kesitlerin Alınışı

Aşı yerlerinin anatomik yapısını ve antioksidan madde uygulamasının nekrotik tabaka yoğunluklarına etkisini incelemek amacıyla aşılamalardan 60 gün sonra her uygulamadan tesadüfen seçilmiş 3'er adet aşı örneği alınmış ve inceleninceye kadar % 70'lik alkol içerisinde muhafaza edilmiştir.

Kesitler, aşı örneklerinden buzlu mikrotom kullanılarak enine olarak alınmıştır. Enine kesitler; örneğin üst, orta ve alt birleşme yerlerini simgeleyecek şekilde ve dokuların parçalanma durumlarına göre 30-60 mikron kalınlıklarında alınmıştır.

Aşı yerlerinden alınan enine kesitlerde şu özellikler mikroskop altında incelenmiştir.

- Anaç ve kalemin meydana getirdiği kallus dokularının durumu,
- Anaç ve kalem arasındaki nekrotik tabakaların durumu,
- Anaç ve kalemden meydana gelen nekrotik tabakaların kallus dokusuna parçalanma durumu,
- Anaç ve kalem arasındaki kaynaşma durumu,
- Kambiyal farklılaşmanın ve yeni iletim dokularının meydana geliş durumu,
- Anaç ve kalem arasında kambiyal devamlılığın tamamlanması.

Aşı yerlerinden alınmış olan enine kesitler iyotlu potasyum iyodür ile boyanarak mikroskopik incelemelerde iyi kontrast oluşturması ve dokuların belirgin hale getirilmesi amaçlanmıştır.

3- BULGULAR

A- 10,50, 100, 200 ppm adaçayı çözültisi ile muamele edilmiş aşılarda aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitlerde aşı yerlerinin anatomik yapıları:

- 10 ppm Adaçayı çözeltisi ile muamele edilmiş aşıllarda aşı yerlerinin anatomik yapısı:

Aşılamadan 60 gün sonra anaç ve kabuğun birleşme yerlerinden alınan enine kesitler incelendiğinde, kaynaşmanın meydana gelmiş olduğu ve aşı elemanlarının kallus dokusu aracılığı ile birleştikleri saptanmıştır. Kallus dokusu özellikle yan birleşme yerlerinde yoğun olmak üzere tüm yüzeyler boyunca tatminkâr bir şekilde teşekkül etmiştir.

Anaç ve kabuktan ayrı ayrı teşekkül etmiş bu kallus dokusu birleşme yüzeylerindeki nekrotik tabakaları kısmen parçalamış ve kallus köprüsünü oluşturmuştur. Nekrotik tabakalar kabuk yüzeyinde daha yoğun olmak üzere her iki aşı elemanında da kalın ve yoğun bir şekilde meydana gelmiştir. (Şekil 1)



Şekil 1: 10 ppm Adaçayı çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapılmış aşıllarda, aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitlerde dokuların ve nekrotik tabakaların durumu. X 40.(İ.K.İ.).

Kabuk dokularından meydana gelen kallus, anaç dokularından meydana gelen kallusa oranla çok daha zayıftır. Yapılan anatomik incelemelerde kabuktan meydana gelmiş olan kallus dokusundan yeni kambiyumun farklılaştığı ve yeni iletim dokularını meydana getirdiği saptanmıştır. Yan birleşme bölgelerinde yeni kambiyum ile anaça ait eski kambiyumun kallus dokusu içerisinde birleştiği ve kambiyal devamlılığın sağlandığı belirlenmiştir. Tüm birleşme yüzeyleri boyunca mevcut olan kallus dokusu hücrelerinin lignifiye olarak düzenli bir parankimatik yapı kazandığı saptanmıştır.

- 50 ppm Adaçayı çözeltisi ile muamele edilmiş aşılarda aşı yerlerinin anatomik yapısı:

50 ppm Adaçayı çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapılmış aşamalarda, aşından 60 gün sonra alınan enine kesitlerde, aşı elemanları arasında kallus dokusu aracılığı ile birleşmenin meydana gelmiş olduğu saptanmıştır. Anaçtan kabuğa oranla daha yoğun kallus teşekkül ettiği, buna mukabil nekrotik tabakaların her iki aşı elemanında da hemen hemen aynı yoğunluklarda olduğu belirlenmiştir. Yan birleşme yerlerinde biraz daha fazla olan nekrotik tabakalar tüm birleşme yüzeyi boyunca yer yer parçalanmış olarak mevcuttur.

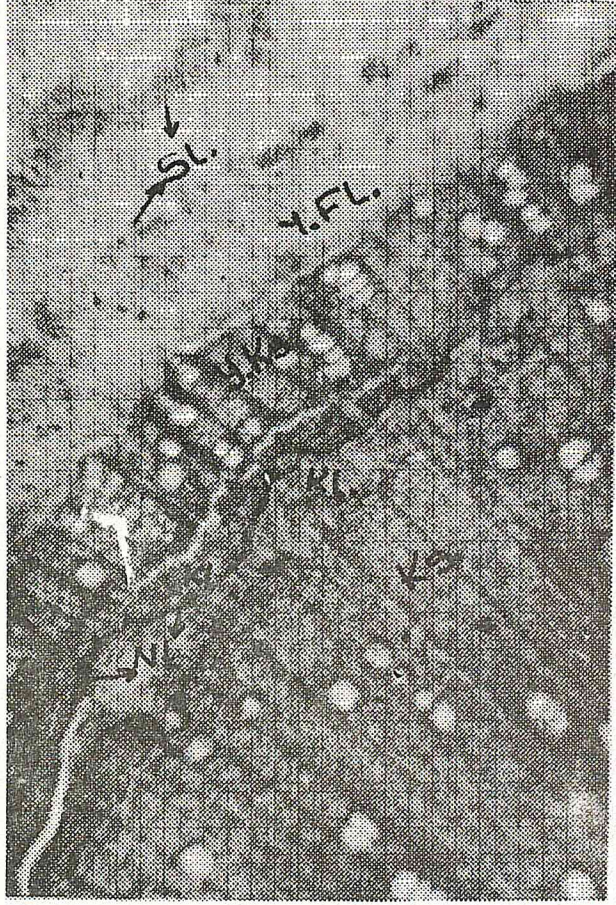
Kabuktan teşekkül eden kallus dokusu içerisinde yeni kambiyum farklılaşmış ve yeni iletim dokuları meydana getirmiştir. (Şekil 2)

Yan birleşme yerlerinde yeni kambiyum ile anaça ait eski kambiyumun kallus dokusu içerisinde zayıf da olsa birleştiği yani kambiyal devamlılığı tesis ettiği saptanmıştır.

- 100 ppm Adaçayı çözeltisi ile muamele edilmiş aşılarda aşı yerlerinin anatomik yapısı:

Aşı elemanları arasında tüm birleşme yüzeylerinde kallus dokusu aracılığı ile birleşme meydana gelmiştir. Kallus dokusu yan birleşme yerlerinde diğer yüzeylere oranla daha yoğun teşekkül etmiştir. Anaç ve kabuk yüzeylerinde aşılama esnasında meydana gelmiş olan oldukça kalın ve yoğun nekrotik tabakalar kallus dokusuna kısmen

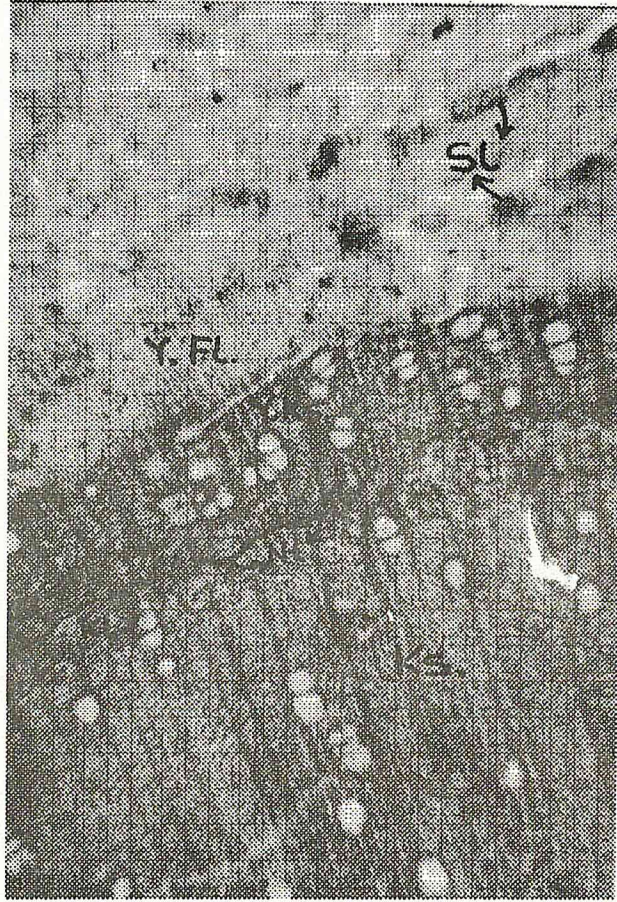
parçalanmış olmakla beraber büyük oranda mevcudiyetlerini korumaktadırlar



Şekil 2: 50 ppm Adaçayı çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapılmış aşılarda, aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitte dokuların ve nekrotik tabakaların durumu. X 40. (İ.K.İ.).

Kabuktan meydana gelmiş kallus dokusundan yeni kalbiyum farklılaşmış ve gelişerek yeni iletim dokularını teşekkül ettirmiştir. (Şekil 3)

Yan birleşme yüzeylerinde yapılan incelemelerden anacın eski kambiyumu ile yeni oluşan kambiyumun birleştiği yani kambiyal devamlılığın sağlandığı belirlenmiştir. Yan birleşme yerleri ile tüm aşı yüzeyleri arasında bulunan kallus hücrelerinin liğnifiye olarak düzenli parankimatik yapı kazanmaya başladıkları saptanmıştır.

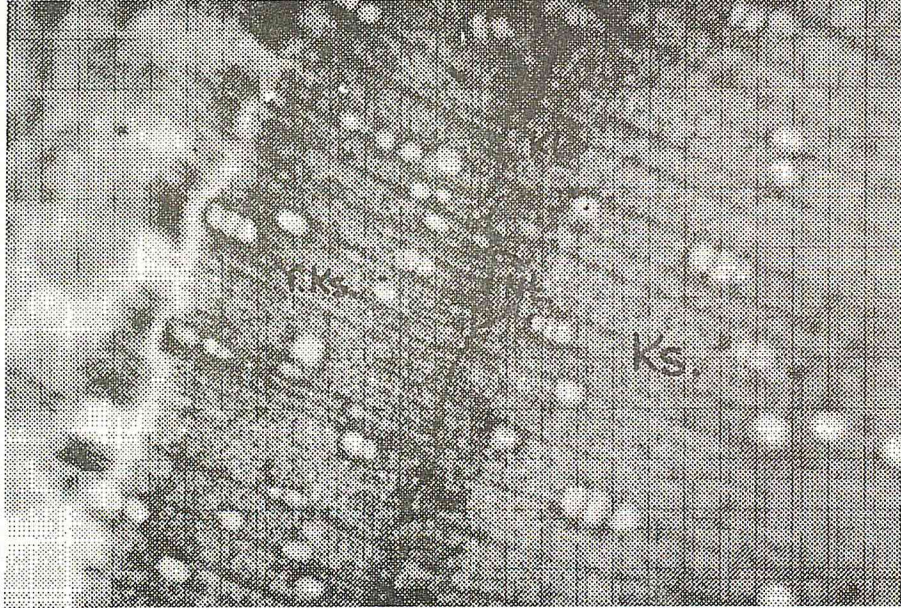


Şekil 3: 100 ppm Adaçayı çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapılmış aşılarda, aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitte dokuların ve nekrotik tabakaların durumu. X 40. (İ.K.İ.).

- 200 ppm Adaçayı çözeltisi ile muamele edilmiş aşılarda aşı yerlerinin anatomik yapısı:

Yan birleşme yerlerinde biraz daha yoğun ve kalın olmak üzere tüm yüzeyler boyunca nekrotik tabakalar mevcuttur. (Şekil 4) Bu nekrotik tabakalar anaç ve kabuktan meydana gelmiş kallus dokusuna yer yer kırılarak parçalanmıştır. Kallus dokusunu, oluşturan hücreler düzenli parankimatik yapı kazanmışlardır.

Aşı elemanları arasında, tüm birleşme yüzeyleri boyunca teşekkül etmiş kallus dokusu içerisinde kambiyal farklılaşma meydana gelmiş ve kambiyumdan yeni iletim dokuları teşekkül etmiştir. Anaç ile kabuk arasında zayıf da olsa kambiyal devamlılık tesis edilmiştir. Nekrotik tabakaların yoğun olduğu bölgelerde kambiyal faaliyet de zayıf olmuştur. Kallus hücreleri yan birleşme yerlerinde daha belirgin olmak üzere, büyük oranda düzenli parankimatik yapı kazanmıştır.

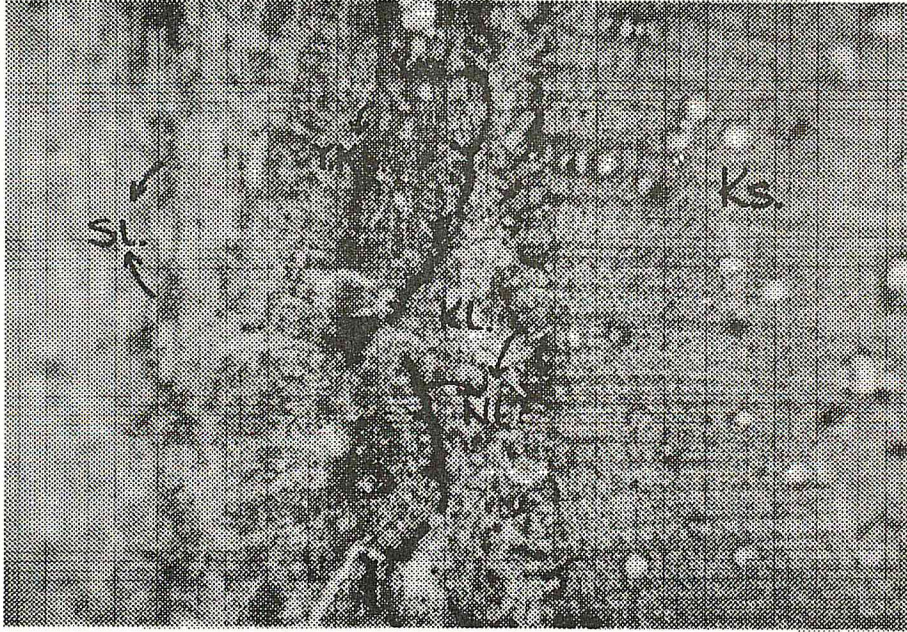


Şekil 4: 200 ppm Adaçayı çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapılan aşılarda, aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitle dokuların ve nekrotik tabakaların durumu. X 40.(İ.K.İ.).

B- 10, 50, 100 ve 200 ppm Biberiye çözültüsü ile muamele edilmiş enine kesitlerde aşı yerlerinin anatomik yapıları:

- 10 ppm Biberiye çözültüsü ile muamele edilmiş aşılarında aşı yerlerinin anatomik yapısı:

Aşı elemanları arasında tatminkâr kallus dokusu saptanmıştır. Yan birleşme yerlerinde yoğun olan kallus dokusu içerisinde yoğun ve kalın nekrotik tabakalar görülmüştür. Nekrotik tabakalar özellikle kabuk yüzeylerinde yoğunlaşmıştır. Kallus dokusunca yer yer kırılabilmiş bu nekrotik tabakalar aşı elemanları arasında kallus köprüsünün tesisine kesin bir engel yaratmamış gözükmektedir. (Şekil5)



Şekil 5: 10 ppm Biberiye çözültüsü ile muamele edildikten sonra yapılan aşılarında, aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitte dokuların ve nekrotik tabakaların durumu. X 40 (İ.K.İ.)

Ancak kalın nekrotik tabakaların mevcudiyeti kambiyal farklılaşmayı ve vasküler doku oluşumunu büyük oranda geciktirmiştir. Nitekim tüm aşı yüzeyleri boyunca yeni kambiyum ve yeni iletim dokularının sınırlı mevcudiyeti gözlenmiştir. Yan birleşme yerlerinde de kambiyal devamlılık zayıf olarak sağlanabilmiştir.

Kallus hücrelerinin tüm birleşme yüzeyleri boyunca kısmen parankimatik yapı kazandığı belirlenmiştir.

- 50 ppm Biberiye çözültisi ile muamele edilmiş aşılar da aşı yerinin anatomik yapısı:

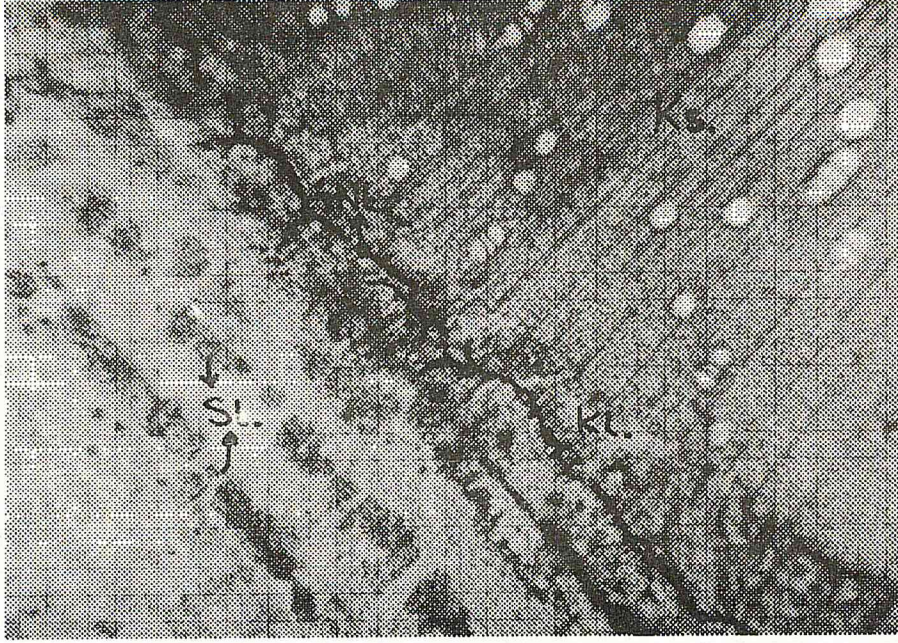
Aşılamadan 60 gün sonra aşı yerlerinden alınmış enine kesitlerde her iki aşı elemanı arasında kallus dokusu aracılığı ile kallus köprüsünün kısmen kurulmuş olduğu saptanmıştır. Anaç ve kabuktan ayrı ayrı oluşan kallus hücreleri, aşılama anında ölen hücrelerden meydana gelen nekrotik dokuları yer yer kırabilmiştir. Nekrotik yapıların büyük oranda kabuk yüzeyinde meydana geldiği görülmüştür. Nekrotik tabakaların yoğun oluşu nedeniyle anaç ve kabuk arasında kallus köprüsünün tesisini gecikmesi veya zayıf olarak kurulabilmesi, kabuktan meydana gelecek olan yeni kambiyumun ve buna bağlı olarak yeni iletim dokularının çok az gelişebilmesine neden olmuştur. (Şekil 6) Nitekim yoğun nekrotik tabakaların mevcut olduğu ve kombinasyonda kambiyal faaliyet son derece zayıf gerçekleşmiştir.

Aşı elemanları arasında yer alan kallus hücreleri kısmen düzenli parankimatik doku yapısı arz etmektedirler.

- 100 ppm Biberiye çözültisi ile muamele edilmiş aşılar da aşı yerlerinin anatomik yapısı:

Anaç ile kabuk arasında birleşme yüzeyleri boyunca kallus dokusunun mevcut olduğu ve kallus dokusu aracılığı ile birleşmenin tamamlandığı saptanmıştır. Kallus dokusu anaçtan kabuğa oranla daha fazla miktarda oluşmuştur. Kallus dokuları içerisinde yoğun nekrotik tabakalar kısmen parçalanmıştır. Nekrotik tabakaların kalın ve yoğun

oluşu yanında kabuktan meydana gelmiş olan kallus dokusu içerisinde kambyal farklılaşmanın da oldukça zayıf teşekkül ettiği gözlenmiştir.



Şekil 6: 50 ppm Biberiye çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapılan aşılarda, aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitte dokuların ve nekrotik tabakaların durumu. X 40 (i,K.İ.)

Yan birleşme yerlerinde yapılan anatomik incelemelerde kambyal devamlılığın mevcut olduğu ancak kallus dokusu içerisinde bulunan nekrotik tabakalar tarafından yer yer kesintiye uğratıldığı saptanmıştır. Bu bölgelerdeki kallus dokuları kısmen lignifiye olarak parankimatik doku özelliği kazanmıştır.

- 200 ppm Biberiye çözeltisi ile muamele edilmiş aşılarda aşı yerlerinin anatomik yapısı:

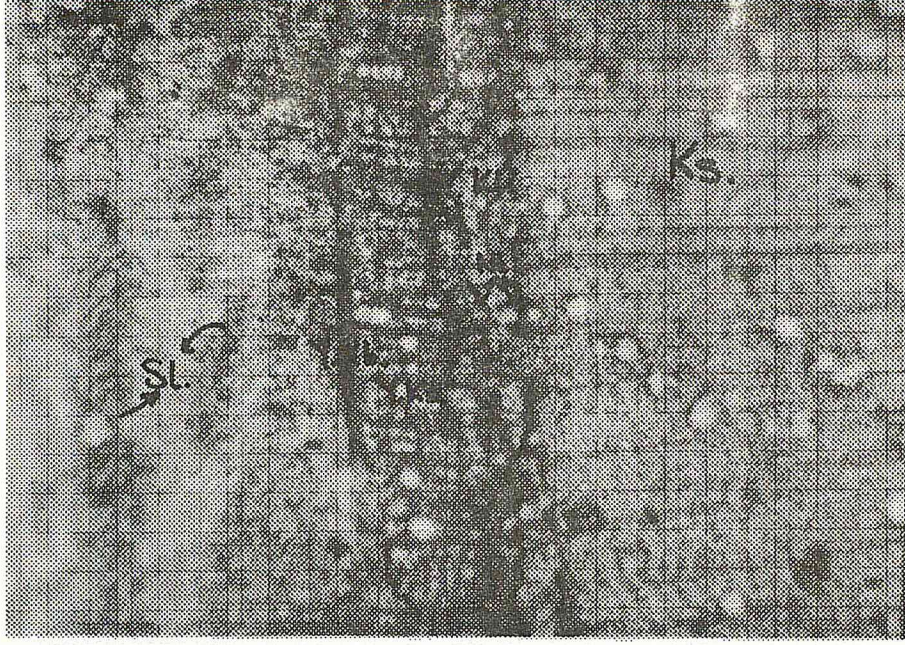
Aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitlerde anaç ile kabuk arasında kallus dokusu aracılığı ile birleşmenin meydana gelmiş olduğu saptanmıştır. Anaçtan birleşme yüzeyleri boyunca kabuğa oranla daha fazla kallus dokusunun teşekkül etmiş olduğu belirlen-

miştir. Nekrotik tabakaların kabuk yüzeyinde anaca oranla daha yoğun olduğu saptanmıştır. (Şekil 8)



Şekil 7 : 100 ppm Biberiye çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapılan aşılarda, aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitte dokuların ve nekrotik tabakaların durumu. X 40 (İ.K.İ.)

Kabukla anaç arasındaki kallus dokusundan yeni kambiyum farklılaşmış ve yeni iletim dokuları meydana getirilmiştir. Yeni oluşan iletim dokuları, nekrotik tabakaların yoğun olduğu yerlerde daha zayıf olarak teşekkül etmiştir. Yan birleşme yerlerinde kalın nekrotik tabakaların mevcudiyeti, anaç ile kalem arasındaki kambiyal devamlılığın çok zayıf teşekkülüne yol açmıştır. Yan birleşme yerlerindeki kallus dokusu kısmen düzenli, parankimatik doku özelliği göstermektedir.



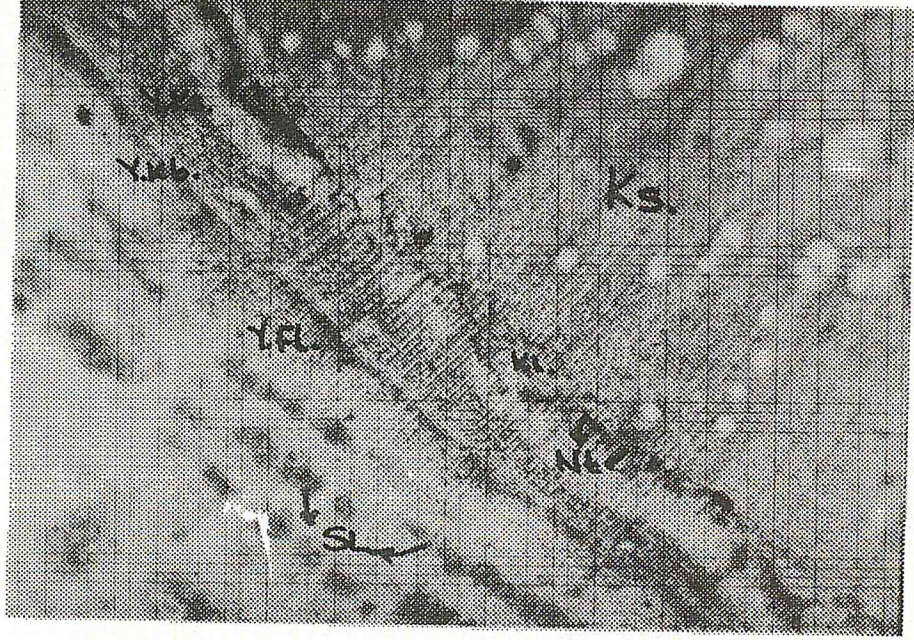
Şekil 8: 200 ppm Biberiye çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapılan aşılar da, aşılama dan 60 gün sonra alınan enine kesitte dokular ın ve nekrotik tabakaların durumu. X 40 (i.K.i.)

C- 10, 50, 100 ve 200 ppm Askorbik Asit çözeltileri ile muamele edilmiş aşılar ıda, aşılama dan 60 gün sonra alınan enine kesitler ede aşı yerlerinin anatomik yapıları:

- 10 ppm Askorbik Asit çözeltisi ile muamele edilmiş aşı yerlerinin anatomik yapısı:

Aşılama dan 60 gün sonra, aşı yerlerinden alınan enine kesitler ede aşı elemanları arasında kallus dokusu aracılığı ile birleşmenin mevcut olduğu saptanmıştır. Anaç ve kabuğun kesim yüzeylerinde nekrotik tabakaların mevcudiyeti gözlenmiştir. Yan birleşme yerlerinde biraz daha yoğun olan bu nekrotik tabakalara kallus dokusunca yer yer kırılmıştır. Kabuktan meydana gelen kallus dokusundan kambiyal

farklılaşma gerçekleşmiş ve yeni iletim dokuları tesis edilmiştir.
(Şekil9)



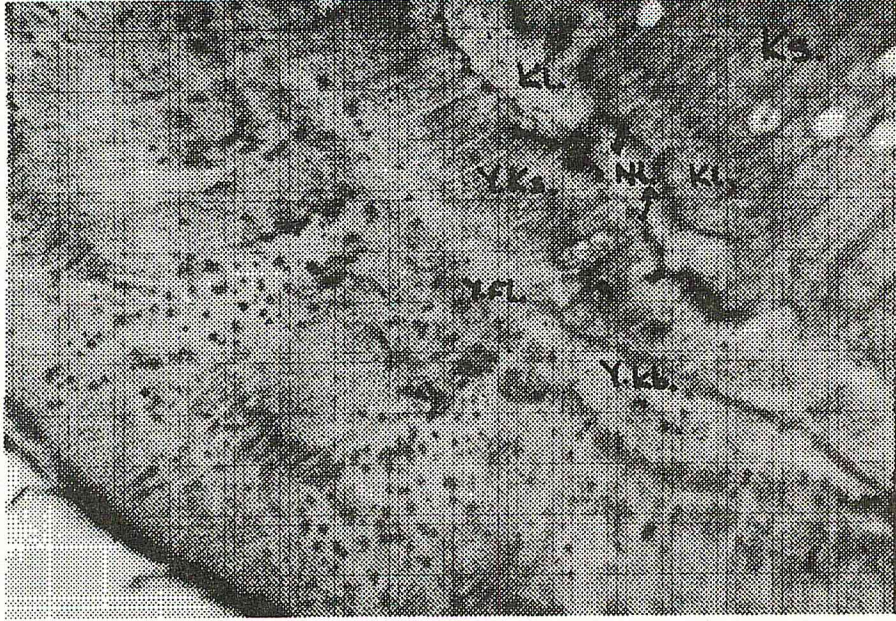
Şekil 9 : 10 ppm Askorbik Asit çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapılan aşılar da, aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitte dokuların ve nekrotik tabakaların durumu. X 40 (İ.K.İ.)

Her iki yan birleşme yerlerinde anaç ile kabuk arasında kambiyal devamlılık tesis edilmiştir. Bu bölgedeki kallus hücreleri lignifiye olarak düzenli parankimatik doku oluşturmuştur.

- 50 ppm Askorbik Asit çözeltisi ile muamele edilmiş aşılar da aşı yerlerinin anatomik yapısı:

50 ppm Askorbik Asit çözeltisi ile muamele edilmiş aşılar da, aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitlerde anaç ile kabuk arasında birleşmenin kallus dokusu aracılığı ile sağlanmış olduğu saptanmıştır. Anaçtan daha fazla olmak üzere her iki aşı elemanından da meydana gelmiş olan kallus içerisinde yer yer kalın ve yoğun olan

nekrotik tabakalar mevcuttur. Nekrotik tabakalar aşı gözü seviyesinde ve yan birleşme yerlerinde yoğunlaşmıştır. (Şekil 10)



Şekil 10: 50 ppm Askorbik Asit çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapılan aşılarda, aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitte dokuların ve nekrotik tabakaların durumu. X 40. (İ.K.İ.)

Nekrotik tabakaların yoğunluk ve kalınlıkları, aşı elemanları arasında meydana gelen yeni kambiyumun gelişimine etkili görülmüştür. Zira, nekrotik tabakaların yoğun olduğu yerlerde daha zayıf kambiyal faaliyet gözlenmiştir.

Aşı elemanları arasında yan birleşme yerlerinde tatminkâr kambiyal devamlılık mevcuttur. Nitekim, incelenen kesitlerde anaç ile kabuk kambiyumlarının, parankimatik doku özelliği kazanmış olan kallus içerisinden birbirleri ile birleştiği belirlenmiştir.

- 100 ppm Askorbik Asit çözeltisi ile muamele edilmiş aşılarda aşı yerlerinin anatomik yapısı:

Aşı elemanları arasında birleşmenin tesisi için tatminkâar sayılabilecek miktarda kallus dokusu mevcuttur. Kallus dokusu içerisinde anaç ve kabuğa ait dokuların ilk birleşme yüzeylerinde diğer örneklere oranla oldukça ince nekrotik tabakalar mevcuttur. Kabuk yüzeyindeki nekrotik tabakaların anaca oranla biraz daha kalın olduğu saptanmıştır. (Şekil 11)

Mevcut nekrotik tabakalar kallus dokularınca büyük oranda kırılmış ve kallus köprüsü içerisinde absorbe olmuştur.



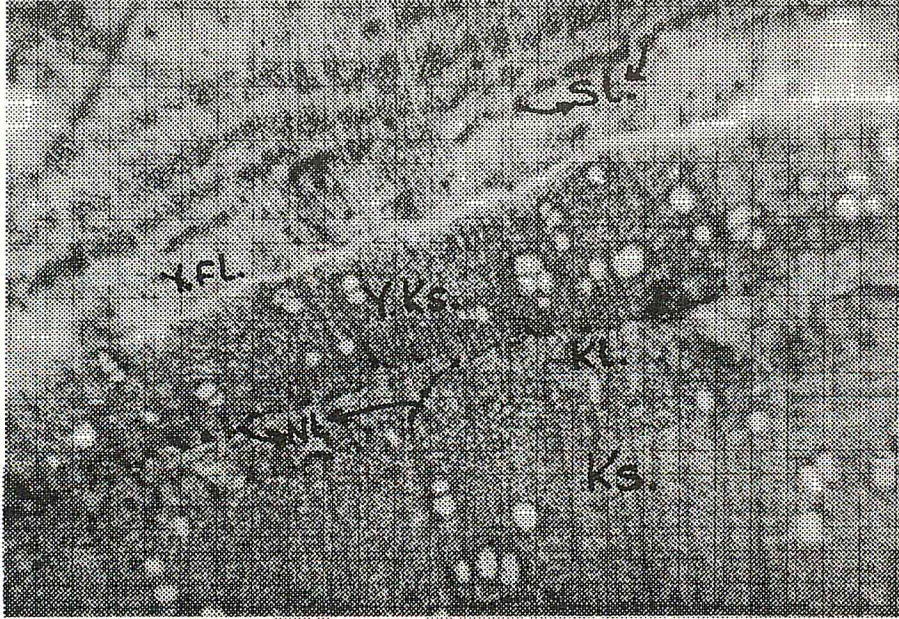
Şekil 11: 100 ppm askorbik asit çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapılan aşılarda, aşılardan 60 gün sonra alınan enine kesitte dokuların ve nekrotik tabakaların durumu. X 40. (İ.K.İ.)

Kabuğa ait kallus dokusu içerisinde kambiyal farklılaşmanın meydana geldiği belirlenmiştir. Yeni kambiyumdan yeni iletim dokularının oluştuğu saptanmıştır. Yan birleşme yerlerinde anaç ile kabuk arasında kambiyal ilişkinin kurulduğu, kısmen parankimatik

özellik kazanmış kallus dokusu içerisinde oldukça iyi gelişmiş iletim dokularının mevcudiyeti belirlenmiştir.

- 200 ppm Askorbik Asit çözeltisi ile muamele edilmiş aşılarda aşı yerinin anatomik yapısı:

Aşı elemanlarının tüm birleşme yüzeyleri boyunca kallus dokusu oluşturarak kallus köprüsünü tesis etmiş oldukları saptanmıştır. Kallus dokusu içerisinde anaç ve kabuğun birleşme yüzeyleri boyunca mevcut olan nekrotik dokuların ince ve büyük oranda parçalanmış olduğu belirlenmiştir. 100 ve 200 ppm Askorbik Asit çözeltisi ile muamele edilmiş aşılara ait enine kesitlerde 10, 50 ppm konsantrasyonlarda Askorbik Asit çözeltisi uygulanmış örneklerle oranla çok daha ince ve az nekrotik tabakanın mevcut olduğu belirlenmiştir. (Şekil 12)



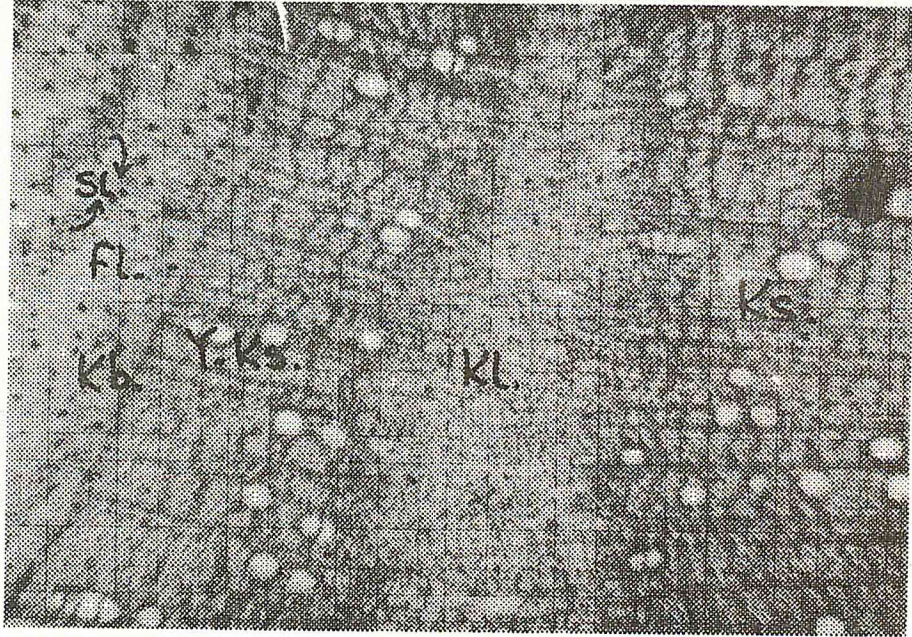
Şekil 12: 200 ppm Askorbik Asit çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapılan aşılardan 60 gün sonra alınan enine kesitte dokuların durumu. X 40.(i,K.i.)

Nekrotik tabakaların az yoğun ve büyük oranda parçalanmış olması kabuktan oluşan yeni kambiyumdan farklılaşan iletim

dokuların daha fazla olmasına yol açmış gibi görülmektedir. Nitekim bu kombinasyona ait tüm kesitlerde aşı yüzeyleri boyunca oldukça başarılı iyi gelişmiş yeni iletim dokuları saptanmıştır. (Şekil 13)

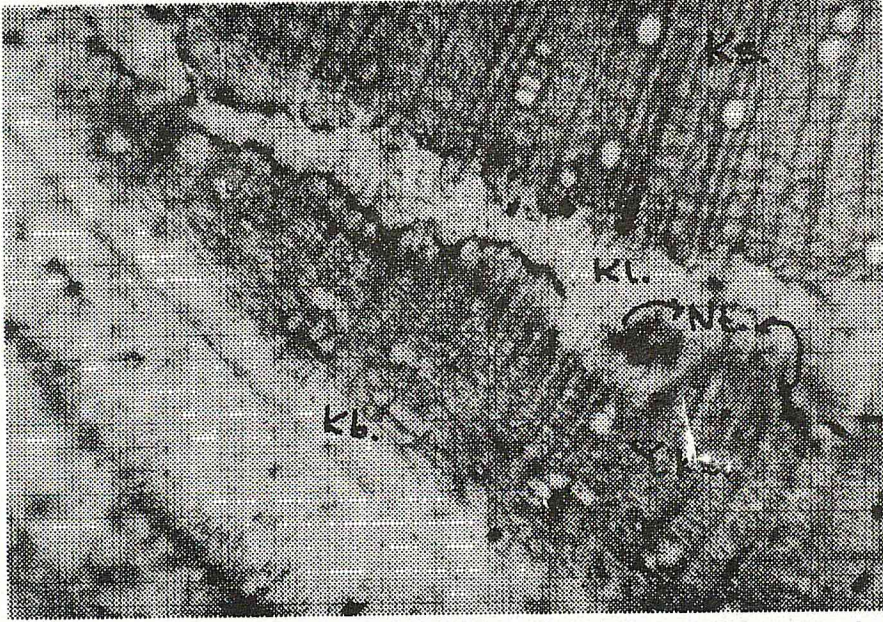
D- Saf su ile muamele edilmiş aşılarda aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitlerde aşı yerlerinin anatomik yapısı:

Saf su ile muamele edildikten sonra yapılan aşılarda, aşılamadan 60 gün sonra alınan enine kesitlerde, anaç ile kabuk arasında kallus dokusu aracılığı ile birleşmenin tesis edildiği saptanmıştır. Kallus dokusu tüm birleşme yüzeyleri boyunca tatminkâr miktarlarda belirlenmiştir. Kallus dokusu içerisinde özellikle kabuk yüzeyinde meydana gelmiş yoğun nekrotik tabakalar saptanmıştır. (Şekil 14) Nekrotik tabakalar yan birleşme yerlerinde ve aşı gözü seviyesinde daha yoğun olarak bulunmaktadır. Mevcut nekrotik tabakaların kısmen kallus hücreleri tarafından kırılmış olduğu belirlenmiştir.



Şekil 13: 200 ppm Askorbik Asit çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapılan aşılamalardan 60 gün sonra yan birleşme yerinden alınan enine kesitte dokuların durumu. X 40. (İ.K.İ.)

İncelenen enine kesitlerde, nekrotik tabakaların yoğun olduğu yerlerde kambiyal faaliyetin de daha zayıf meydana geldiği belirlenmiştir. Bununla birlikte anaç ile kalem arasında tatminkâr kambiyal devamlılığın mevcut olduğu tesbit edilmiştir. Aşı yüzeyleri boyunca aşı elemanları arasındaki kallus hücreleri büyük oranda düzenli parankimatik doku özelliği kazanmıştır.



Şekil 14: Saf su ile muamele edildikten sonra yapılan aşılardan 60 gün sonra alınan enine kesitte dokuların ve nekrotik tabakaların durumu. X 40. (İ.K.İ.)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Aşılama sırasında anaç ile kabuğun kesim yüzeylerindeki hücrelerin bir kısmı zararlanarak ölmektedir. Bu zararlanma anaçta; kabuk kesilirken ve kaldırılırken, ksilem dokusunda, kalemde ise; kambiyum, floem ve floeme yakın korteks hücrelerinde meydana gelmektedir. Nitekim aşılama 60 gün sonra aşı yerlerinden alınan enine kesitlerde anacın kaldırılmış kabuğunun altında ve ksilem dokusunda, kalemde ise kambiyum ve floem dokularında nekrotik tabakaların meydana gelmiş olduğu belirlenmiştir. Bütün aşılamaalarda kesim yüzeylerinde nekrotik tabakaların meydana gelmesi kaçınılmazdır. Ancak, nekrotik tabakalar zararlanmış hücrelerin miktarına ve bu hücrelerin bünyesindeki fenolik bileşiklerin polifenol oksidaz enzimi ve oksijen ile reaksiyonlarına bağlı olarak farklı yoğunluklarda oluştuklarından bitki türüne göre farklılık göstermektedir. Özellikle kiraz ve ceviz gibi fenolik bileşiklerce zengin olan meyve türlerinin aşılamaalarında daha yoğun nekrotik tabakalar oluşmaktadır. (5, 9)

Anatomik incelemelerde kabuk yüzeyinde, anaca oranla daha fazla nekrotik tabakanın mevcut olduğu saptanmış ve bu durum literatürle uygunluk göstermiştir. (1, 5, 10)

Nekrotik tabakaların kalınlık ve yoğunlukları, bu dokuları hemen gerisindeki canlı hücrelerden meydana gelecek olan kallus hücrelerinin önünde oluşan ayırma tabakasının etkinliğini belirlemektedir. Aşılamaalarda, her iki aşı elemanından da ayrı ayrı kallus teşekkül etmekte, ancak kalemde anaca oranla daha zayıf kallus dokusu oluştuğu belirtilmektedir. (10, 11, 12)

Yapmış olduğumuz anatomik incelemelerde de tüm kombinasyonlarda kalemden anaca oranla çok daha zayıf kallus dokusunun teşekkül etmiş olduğu saptanmıştır. Aşılamaaların ilk ve en önemli aşaması, aşı elemanlarından ayrı ayrı oluşan kallus dokularının nekrotik tabakaları kırarak birleşmesi ve kallus köprüsünü oluşturmasıdır. (12, 13) Kalemde canlılığını koruyabilmesi, kallus köprüsü vasıtasıyla hücreden hücreye su geçişinin sağlanmasına bağlı olduğundan

aşılardan kısa bir süre sonra kuruyan aşılarda, yeterli kallus dokularının teşekkül ettirilmediği veya teşekkül eden kallus dokularının nekrotik tabakaları kırarak su geçişini temin edecek bağlantıyı sağlayamadığı bilinmektedir. (11, 12, 13) Denemede kullanılan antioksidan maddelerin çeşitli dozları ile muamele edildikten sonra yapılmış aşı örneklerinin tamamında çeşitli yoğunluklarda nekrotik tabakaların mevcudiyeti saptanmıştır. Saf su ile muamele edildikten sonra yapılan aşılarda da diğer kombinasyonlardaki gibi yoğun nekrotik tabakalar saptanmıştır. Uygulamalar içerisinde 100 ve 200 ppm konsantrasyonlardaki askorbik asidin şahit dahil diğer uygulamalara oranla daha başarılı sonuç verdiği söylenebilir. Zira 100 ve 200 ppm askorbik asit uygulanmış aşılarda biraz daha ince fakat büyük oranda kolaylıkla parçalanabilmiş nekrotik tabakalar belirlenmiştir. Ayrıca bu konsantrasyonlarda kambiyal farklılaşma ve yeni kambiyumdan yeni iletim dokularının teşekkülü daha hızlı görülmüştür. Askorbik asidin, enzimatik kararma reaksiyonu ürünlerini (Substratları) indirgeyen bir yapısı olduğundan ve reaksiyonlarda kullanıldığı için etkisi geçici olduğundan (6) 10 ve 50 ppm dozlarında beklenen etkiyi göstermemiş olması kevvetle muhtemeldir.

10, 50, 100 ve 200 ppm konsantrasyonlarda kullanılan adaçayı ve biberiye enzimatik kararma reaksiyonlarında polifenol oksidaz aktivitesinin inhibasyonunda etkili kumarik asit, sinamik asit gibi fenolik maddelerce zengin olduğundan kuvvetli antioksidantlar olarak bilinmesine rağmen, (8) yapılan anatomik incelemelerde nekrotik tabaka kalınlık ve yoğunluklarını azaltmada etkili bulunmamıştır. Adaçayı ve biberiyenin değişik konsantrasyonları ile muamele edilmiş aşılarda nekrotik tabakaların en az şahit olarak kullanılan saf su ile muamele edilmiş aşılardaki nekrotik tabakalar kadar yoğun olduğu belirlenmiştir. Saf su, adaçayı ve biberiye ile muamele edildikten sonra yapılmış aşılarda kambiyal faaliyetin de oldukça zayıf olduğu saptanmıştır.

Enzimatik kararma reaksiyonunu kimyasal maddelerle kontrol etmek ve aşılamalarda nekrotik tabaka kalınlık ve yoğunluklarını azaltmak amacıyla planlanmış bu araştırmada; 100 ve 200 ppm konsantrasyonlarda askorbik asitle muamele edilmiş aşılarda diğer

uygulamalara oranla daha az nekrotik sahalara sahip olduğu, daha kuvvetli bir kambiyal farklılaşma ve faaliyet gösterdiği saptanmış, ancak nekrotik tabakaların kalınlıklarının, askorbik asidin enzimatik reaksiyonlardaki gösterdiği özellik dikkate alınarak 200 ppm'den daha yüksek dozlarda kullanılması ile daha da azaltılabileceği kanısına varılmıştır.

Adaçayı, biberiye ve saf su uygulamaların aşılamalarda nekrotik tabaka yoğunlukları üzerinde etkili olmadığı saptanmıştır.

Fenolik bileşiklerin kararmalarının önlenmesinde plifenol oksidaz enziminin düşük veya yüksek ısı uygulaması ile inaktive edilmesi veya enzimin substratlarının ortamdan uzaklaştırılması yolu ile aşılamalarda sorun yaratan yoğun nekrotik tabakaların oluşumunu engelleyebilecek nitelikte uygulamalar olarak görülmekte ve üzerinde çalışılması önerilmektedir.

YARARLANILAN KAYNAKLAR

- 1- BOTTI, G.C., MUNOZ, S.C., 1978. Anatomical study of callus formation on walnut (*J. regia* L.) cuttings and graft s. Agr. Tech. 38(3): 98-102.
- 2- ŞEN, S.M., 1986. Ceviz Yetiştiriciliği. Ondokuzmayıs Üniv. Ziraat Fakültesi, Eser Matbaası, SAMSUN.
- 3- TEKİNTAŞ, F.E., TANRISEVER, A., GÜNVER, G., 1988 Ceviz Çöğürlerinde (*Juglans regia* L.) Ksilem Özsuyunun Akışı ve Juglon İçeriği Üzerine Bir Araştırma. E.Ü.Z.F.Dergisi, İZMİR.
- 4- PRATAVIERA., A.G., KUNİYUKI, A.H., RUGO, K., 1983. Growth inhibitors in xylem exudates of persian walnuts (*J.regia* L.) and their possible role in graft failure. J.Amer. Soc.Hort.Sci. 108(6), 1043-1045.

- 5- TEKİNTAŞ, F.E., MENDİLCİOĞLU, K., TANRISEVER, A., 1988. Cevizlerde (*Juglans regia* L.) Yama Aşının Anatomik ve Histolojik Olarak İncelenmesi Üzerinde Araştırmalar. Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, İZMİR.
- 6- KELEŞ, F., 1987 Gıdalarda Enzimatik Esmerleşme ve Kontrolü, Doğa Tu.Tar.ve Or.D. 1987. 11,1, 105-121.
- 7- WALKER, J.R.L., 1980b Enzyme isolation from plants and phenolic problem, what's new in plant phy. 11,9. 33-36.
- 8- AKGÜL, A., 1989. Baharatların Antioksidan Özellikleri, Doğa Tu.Tar ve Or.D. 13,1, 11-24.
- 9- TORABI, B., 1975. Veredlungsversuche mit kirschunterlagen prunus avium und kirschhybriden. Der Justus liebige Üniv. Giessen.
- 10- BUCK, G., 1953. The histological development of the bud graft union in Roses. Proc.Amer.Soc.Hort.Sci. 62:497-502.
- 11- MOORE, R., 1984. A model for graft compatibility-incompatibility in higher plants. Amer.Jour.Bot. 71(5). 752-758.
- 12- MOORE, R., WALKER, D.B., 1981. a. Studies of vegetative compatibility-incompatibility in higher plant. I. A structural study of a compatibility autograft in sedum telephoides. Amer.Jour.Bot. 68(6) 820-830.
- 13- SOULE, J., 1971. Anatomy of the bud union in Mango (*Mangifera indica* L.) J.Amer.Soc.Hort.Sci. 96(3), 380-383.