

CHANDLER VE FERNOR CEVİZ ÇEŞİDİ YOZLARINDA, AŞI KAYNAŞMASININ ANATOMİK VE HİSTOLOJİK AÇIDAN İNCELENMESİ

Yılmaz SESLİ¹, Faik Ekmel TEKİNTAŞ²

¹Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Bahçe Tarımı Programı, Karaman; ORCID: 0000-0002-3150-2180

²Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Aydın; ORCID: 0000-0001-7158-5358

Geliş Tarihi / Received: 24.11.2019

Kabul Tarihi / Accepted: 30.01.2020

ÖZ

Bu araştırma, Chandler ve Fernor ceviz çeşitlerinden elde edilen yozlar üzerine Chandler çeşidinin aşılama yöntemiyle, aşı kaynaşmasının durumunu belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışma 2013-2014 yıllarında yürütülmüştür. Materyal olarak, Chandler ve Fernor, ceviz çeşitlerine ait tohumlar ile aşı kalemi olarak Chandler çeşidi kullanılmıştır. Araştırmada, çöğürlerin aşıya gelmesiyle birlikte yama ve yonga göz aşı metoduyla Chandler çeşidine ait aşı materyaliyle aşılanmıştır. Aşılamadan 60 gün sonra, alınan örneklerde, anatomik ve histolojik incelemeler yapılmıştır. Elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Araştırma sonunda; anaç kalem arasında kaynaşmanın devam ettiği, aşı bölgesinde kallus oluşumunun meydana geldiği, farklı bölgelerde nekrotik lekelerin olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ceviz, anaç, aşı, anatomi

ANATOMICAL AND HISTOLOGICAL INVESTIGATION OF GRAFTING IN CHANDLER AND FERNOR WALNUT CULTIVARS

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the status of grafting fusion by budding chandler variety on seedling obtained from Chandler and Fernor walnut varieties. The study was conducted in 2013-2014. Seeds belonging to Chandler and Fernor walnut varieties and Chandler cultivar were used as material of budding. 60 days after grafting, anatomical and histological examinations were performed on the samples. At the end of the research; It was determined that the fusion continued between the rootstock and cultivars, the callus formation in the budding area and necrotic spots were observed in different regions.

Keywords: Walnut, rootstock, budding, anatomy

GİRİŞ

Türkiye dünya ceviz üretiminde önemli bir ülkedir. Üretimin temelini de fidan üretimi oluşturmaktadır. Bu amaçla da aşılama metodu kullanılmaktadır. Aşı çalışmalarında anaç kalem etkileşiminin bilinmesi ileride karşılaşılabilecek sorunların önlenmesi açısından önem arz etmektedir.

Cevizde anaç konusunda Türkiye’de yapılan bilimsel çalışmalar oldukça sınırlıdır. Ülkemizde ceviz için yapılan araştırma faaliyetleri 1970’li yıllarda standart üretim için çeşit geliştirmek amacıyla Marmara Bölgesi’nde seleksiyon çalışmalarıyla başlamış ve devam etmektedir. Çalışmaların çeşit geliştirme amacıyla yapılmasında, ceviz popülasyonlarının tohum

kaynaklı olması nedeniyle ve üretimi standardize etme amacı öncelik kazanmıştır. Bu çalışmalar sonucu birçok çeşit üretime kazandırılmıştır. Ancak son yıllarda anaç geliştirme çalışmalarına da ağırlık verilmiştir. Fidancılık sektöründe sağlıklı, üniform ve bir yılda aşıya gelen çöğür elde etmek oldukça önemlidir ve bu da ancak özellikleri bilenen anaçlarla sağlanabilir.

Ceviz fidanı üretiminde kullanılan tohumlar, rastgele ve sürekli değişik kaynaklardan temin edildiği için çöğür özellikleri bilinmemektedir. Anaç olarak kullanılacak çeşit ve tiplerin belirlenmesi önemlidir [1, 5, 8]. Anaçlar üzerine yapılan aşılamaalarda anaç kalem ilişkileri bakımından aşı bölgesinde yapılacak anatomik ve histolojik incelemeler ile temin edilebilecek

¹Sorumlu yazar / Corresponding author: yilses@hotmail.com

anaçların durumu hakkında da bilgi edinilmiş olacaktır.

Farklı tür ve ceviz de yapılan çalışmalarda araştırmacılar anatomik ve histolojik incelemelerde bulunmuşlardır [2, 3, 4, 6, 9]. Kolay temin edilebilen, tohum anacı olabilecek standart çeşitler için aşı kaynaşma potansiyellerinin belirlenmesi önemli bir adımdır. Bu nedenle, bu çalışma ile Chandler ve Fernor ceviz çeşitlerine ait yoz bitkiler üzerine Chandler aşı kalemi ile yapılan aşı kombinasyonunda aşı kaynaşma durumlarını ortaya koymak hedeflenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, Chandler ve Fernor, ceviz çeşitlerine ait tohumlarından elde edilen yoz bitkiler üzerine Chandler çeşidi aşı kalemiyle aşılanmış örnekleri kullanılmıştır.

Deneme Tesadüf Blokları Deneme Desenine uygun olarak, 4 tekerrürlü ve her tekerrürde 25 tohum olacak şekilde tohum ekimi yapılmış, aşıya gelen bitkiler yama ve yonga aşı metoduyla aşılanmış, aşılanan çöğürlerde kaynaşmanın durumunu ve aşı bölgesinin anatomik yapısını incelemek amacıyla, aşılamadan 60 gün sonra, 19.11.2014 tarihinde her kombinasyondan 3'er aşı örneği; aşı noktasının 5 cm altından ve üzerinden kesilerek alınmıştır (Şekil 1). Aşı örnekleri alındıktan sonra Formaldehit Asetik asit (FAA; 90 ml etil alkol, 5 ml formaldehit, 5 ml glasiyel asetik asit) çözeltisinde inceleninceye kadar bekletilmiştir. Örnekler Leica RM 2125 RT marka Rotary mikrotomda kesilmiştir.

Aşı yerinden alınan örneklerin kesitleri, parafine doyurulmadan, dokuların parçalanma durumlarına göre 25-40 µ kalınlığında mikrotom yardımıyla alınarak, boyama işlemine kadar %70'lik etil alkolde muhafaza edilmiştir. Aşı bölgesinden alınan enine kesitler, dokuların tanınması amacıyla safranin boyama yöntemi kullanılarak boyanmıştır. Boyamada uygulanan aşamalar, Çizelge 1'de verilmiştir. Safraninle boyanan kesitler, önceden temizlenmiş ve üzerine 1 damla entellan damlatılmış lam üzerine konularak lamelle düzgünce kapatılmış ve sonrasında mikroskop (Nikon eclipse 80i OFN 22 10×/0,25) altında incelenerek fotoğraflanmıştır [7].

Anatomik ve histolojik inceleme amacıyla, aşı örneklerinden enine kesitler alınmış ve

mikroskop altında aşağıda belirtilen özellikler incelenmiştir [10].

- Anaç ve kalem arasındaki kaynaşma durumu,
- Anaç ve kalemin oluşturduğu kallus dokularının durumu,
- Anaç ve kalem arasındaki nekrotik tabaka durumu,
- Anaç ve kalem arasındaki kambiyal devamlılığın durumu,
- Yeni iletim dokularının (vasküler) ve kambiyal farklılaşmanın meydana gelişi,

Aşı kaynaşma durumunun Tartılı Derecelendirme açısından değerlendirmesini yapmak için, aşağıda Çizelge 2'de belirtilen özelliklere göre puanlama metodu geliştirilmiş ve buna göre değerlendirme yapılmıştır. Değerlendirmede çeşitlere 100 üzerinden subjektif olarak puan verilmiştir. Tartılı derecelendirme metodunda, her aşı kombinasyonu için aşı kaynaşma durumu, sınıf puan aralık değerleri Çizelge 2'den yapılan değerlendirme sonuçlarına göre belirlenmiştir. Bunun için aşı örnekleri incelenmiş, incelenen özelliklere göre puanlama yapılmıştır.



Şekil 1. Anatomik incelemeler için örnek alınması (orijinal)

Figure1. Sample collection for anatomical examinations (original)

Çizelge 1. Kesitlerin boyanmasında uygulanan aşamalar

Table 1. Stages applied to staining sections

İşlemler / Transactions	Süre (dakika) / Time (minute)
%1 Safranin	2.
%70 Etil alkol	2-4
%80 Etil alkol	2-4
%90 Etil alkol	2-4
%96 Etil alkol	2-4
Absolute alkol	2-4
Ksilol	2-4
Entellan ile kapatma Entellan with covering	

Aşıda kaynaşma durumu ile ilgili değerler, örneklerin incelenmesi ile sübjektif olarak puanlanmıştır. Değerlendirmede;

- Meydana gelen kallus dokusunun tatminkâr olup olmaması,

- Nekrotik tabaka yoğunluğu ve parçalanma durumu,

- Kambiyal farklılaşmanın tamamlanmış olması,

- Kambiyal devamlılığın sağlanmış olması,

- Yeni vasküler dokuların oluşma durumu gibi özellikler esas alınmış, dokuların durumuna göre sübjektif olarak 100 puan üzerinden değer verilmiştir. Tartılı Derecelendirme Metoduna göre yapılan veri değerlendirmesinde Çizelge 3’de elde edilen toplam değer puanları verilmiştir.

Çizelge 2. Anatomik incelemeler için durum puanlaması

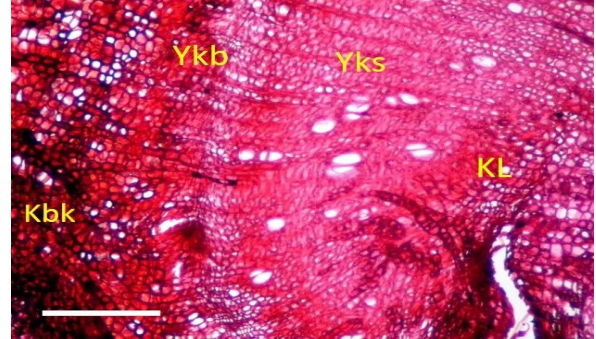
Table 2. Status scoring for anatomical examinations

Özellikler Specifications	Özellik değerlendirmesi Property rating		Değerlendirme puanları Rating points	
Yeni vasküler doku oluşumu New vascular tissue formation	Var Have	Yok No	Var Have 30	Yok No 0
Kambiyal devamlılık (yan birleşme bölgesinde) Cambial continuity	Var Have	Yok No	Var Have 25	Yok No 0
Kambiyal farklılaşma Cambial differentiation	Var Have	Yok No	Var Have 20	Yok No 0
Nekrotik tabaka yoğunluğu Density of necrotic layer	Az Little	Çok Very	Az Little 10	Çok Very 0
Kallus oluşumu Callus formation	Az Little	Çok Very	Çok Very 15	Az Little 0
Toplam / Total			100	0

BULGULAR VE TARTIŞMA

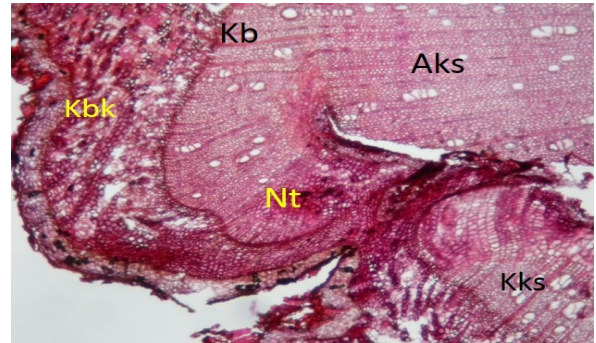
Fernor/Chandler aşı kombinasyonunda kaynaşmanın anatomik ve histolojik olarak incelenmesi; Fernor çeşidine ait çöğürler üzerine yama aşı metoduyla yapılan aşılardan alınan enine kesitler incelendiğinde; aşı elamanları arasında birleşme yüzeyleri boyunca kallus dokusu oluşumu gözlenmiş, yeni kambiyum oluşumu ve yeni ksilem gelişimi mevcut olup, nekrotik tabaka yoğunluğunun az olduğu saptanmıştır (Şekil 1). Yonga aşı metoduyla aşılanan kombinasyonun aşı örneklerinin enine kesitleri incelendiğinde; aşı elamanları arasında

nekrotik tabaka yoğunluğu nedeniyle yan birleşmenin zayıf kaldığı, kallus oluşumunun mevcut olduğu, yeni ksilem gelişiminin varlığı gözlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 1. Fernor/Chandler yama aşı kombinasyonunda dokuların durumu (10×5 orijinal)

Figure 1. Fernor/Chandler patch budding combination and the general condition of tissue fusion (10×5)



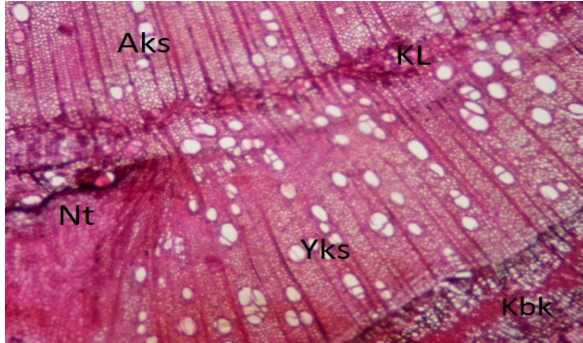
Şekil 2. Fernor/Chandler yonga aşı kombinasyonunda birleşme yüzeyinde dokuların durumu (10×5 orijinal)

Figure 2. Fernor/Chandler chip budding combination and the general condition of tissue fusion (10×5)

Chandler/Chandler aşı kombinasyonunda kaynaşmanın anatomik ve histolojik olarak incelenmesi; Anatomik incelemeler kapsamında, yama aşı metodu uygulanan ve aşılamadan 60 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitlerde; düzenli ve yeterli miktarda kallus dokusunun meydana geldiği gözlenmiştir. Nekrotik tabakaların büyük oranda parçalandığı, aşı elamanları arasında yan birleşmenin gerçekleştiği, vasküler sistemin iyi durumda olduğu saptanmıştır (Şekil 3).

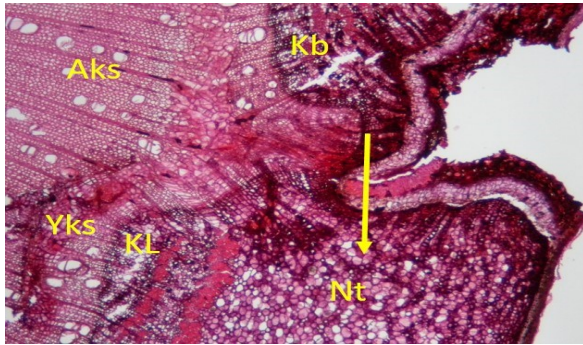
Yonga aşı metodu uygulanan kombinasyonda; aşı elamanları arasında meydana gelen kallus dokusu miktarının yeterli seviyede olduğu, aşı tekniğinden kaynaklanan yaralanmalar nedeniyle

nekrotik tabakaların yoğun olduğu aşı elamanları arasında kambiyal devamlılığın varlığı gözlenmiştir (Şekil 4).



Şekil 3. Chandler/Chandler yama aşı kombinasyonunda aşı yüzeyi ve yan birleşme bölgesinde dokuların görünümü (10×5 orijinal)

Figure 3. Chandler/Chandler patch budding combination and the general condition of tissue fusion (10×5)



Şekil 4. Chandler/Chandler yonga aşı kombinasyonunda aşı yüzeyi ve yan birleşme bölgesinde dokuların görünümü (10×5 orijinal)

Figure 4. Chandler/Chandler chip budding combination and the general condition of tissue fusion (10×5)

Yapılan incelemelerde; Aşılama kombinasyonlarının tamamının da anaç ile kalem arasında kallus dokusunun oluştuğu, aşı elamanları arasında kallus dokusu vasıtasıyla değişik konumlarda birleşmenin meydana geldiği saptanmıştır. Çeşitlerin aşı kaynaşma değerlendirmesinde aldıkları puanlama dikkate alındığında Chandler çeşidinin anaç ve kalem kombinasyonunun 100 puan aldığı, Fernor çeşidininse 90 puan alarak ikinci sırada yer aldığı belirlenmiştir (Çizelge 3).

Çalışmada aşı bölgesindeki kaynaşmanın devam ettiği saptanmıştır. Kallus dokusunun aşı elamanları arasındaki birleşme yüzeylerinin bazı

kombinasyonlarda az oranda gerçekleşmesine rağmen genelinde tatminkâr düzeyde olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 3. Çeşitlerin aşı kaynaşmasındaki toplam puanları

Table 3. Total scores of budding cultivars

Çeşitler Cultivars	Aşı kaynaşma durumu puanı Total scores of budding cultivars
Chandler	100
Fernor	90

Tekintaş [9], yaptığı benzer çalışmada anaç kısmında kallus dokusunun daha fazla oluştuğunu, aşılama sonrası erken dönemde kallus oluşumunun tatminkâr olduğu bildirmiştir. Diğer benzer çalışmalarda ise Karadeniz [4], aşılama 13 gün sonra aşı elamanları arasında kallus dokusunun oluştuğunu, [6], kallus bağlantısının aşılama 10 gün sonra oluştuğunu gözlemiştir. Diğer taraftan Yıldız [13], aşılama 12 gün sonra aşı elamanları arasındaki boşluğun kallus dokusu tarafından doldurulmuş olduğunu tespit etmiştir.

Araştırmamızda kullanılan aşı kombinasyonlarında kallus oluşumunun yeterince meydana geldiği, aşı elamanları arasındaki boşluğun farklı kombinasyonlara göre değişik oranlarda kallusla doldurulduğu gözlenmiştir. Bu konuda aldığımız sonuçlar, diğer araştırmacıların sonuçları ile benzerlik göstermiştir [4, 6, 9, 13]. Oluşturulan kombinasyonlarda, nekrotik tabakaların çoğunlukla parçalandığı ve kallus dokusu tarafından absorbe edilmekte olduğu, nekrotik tabaka yoğunluğunun uzun bir hat şeklinde değil de bölgesel olarak küçük alanlarda yer aldığı belirlenmiştir. Nitekim bu durum, birçok araştırmacının tespitlerinde de yer almaktadır [2, 3, 4, 9]. Diğer taraftan nekrotik tabakanın anaç kalem arasında kaynaşma açısından sıkıntılara neden olduğu da bildirilmiştir [12]. Araştırmamızda nekrotik tabaka varlığının kallus dokusu tarafından absorbe edildiği, aşılama sonrası dönemler ilerledikçe bu tabakaların gelişen dokular içerisinde kapladığı alanca çok daha küçüldüğü ve kambiyal aktiviteyi engellemediği gözlenmiştir. Yonga aşı metodu uygulamalarında aşı tekniğinden kaynaklanan nekrotik tabaka yoğunluğunun yama aşı metoduna göre daha fazla olduğu ifade edilebilir.

Kombinasyonlarda kallus dokusundan meydana gelen yeni kambiyum ve yeni ksilem teşekküllerine rastlanmıştır, aşı birleşme yüzeyinde

yeni kambiyum oluşumunun anaç kambiyumu ile birleştiği ve aşı elemanları arasındaki özellikle yan birleşme yüzeylerinde bazı kombinasyonlarda kambiyumda kıvrılmalar olmasına rağmen bağlantının sağlandığı gözlenmiştir.

Kallusun gelişmesi, kambiyal faaliyetlerin devam ederek yeni kambiyumun meydana gelmesi, aşı kaynaşmasında önemli bir aşama olarak değerlendirilmektedir. Cevizde yeni kambiyum oluşma süresinin, yonga ve yama göz aşısı yapıldıktan 18 gün sonra başladığı, yonga aşı metodunda 24 gün, yama göz aşısı metodunda ise 40 gün içinde tamamlandığı tespit etmiştir [9]. Diğer bir çalışmada, aşılama 13 gün sonra kallus dokusunun oluştuğu, 27 gün sonra kallus dokusundan yeni kambiyumun geliştiği, 44 günden sonra ise kambiyal devamlılığın tamamlandığı bildirilmiştir [4]. Başka bir araştırmacı, kambiyum dokusundan vasküler dokunun üretilmesinin ise aşılama 45 gün sonra meydana geldiğini, aşı kaynaşmasının 45-150 gün devam ettiğini bildirmiştir [6]. Bizim çalışmamızdaki gözlemlerimiz diğer araştırmacıların tespitleri tarafından desteklenmektedir.

SONUÇ

Aşılama 60 gün sonra alınan ve farklı kombinasyonlardaki örneklerin incelenmesi neticesinde; aşı elemanları arasında yeni floem ve yeni ksilem dokularının varlığıyla, vasküler sistemin kurulmasıyla, kaynaşmanın başarılı bir şekilde gerçekleştiği belirlenmiştir. Yeni yapılacak çalışmalarda örnek alma zamanlarının daha uzun periyotta alınarak yapılması, gelecek çalışmalar açısından katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Akça, Y., 2009. Ceviz yetiştiriciliği. ISBN:975-97498-07. Ankara.
2. Ertan, E., 1999. Seleksiyon ile belirlenmiş ege bölgesi kestane (*Castanea sativa* Mill.) tiplerinin anaçlık özelliklerinin belirlenmesi üzerine araştırmalar (Basılmamış Doktora Tezi). ADÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
3. Gür, İ., Tekintaş, F.E., Koçal, H., Karamürsel, Ö.F., 2013. Redhaven şeftali ve Fantasia nektarin çeşitlerinin bazı klonal anaçlar üzerindeki uyuma durumlarının belirlenmesi. *Meyvecilik Araştırma İstasyonu Yayın No: 52*.
4. Karadeniz, T., 1993. Cevizlerde (*J. regia* L.) Flavan içerikleri ile aşı başarıları arasındaki ilişkiler üzerine araştırmalar (Basılmamış Doktora Tezi). Y.Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Van.
5. Kaşka, N., 2001. Türkiye’de cevizle ilgili araştırmaların değerlendirilmesi ve geleceğe bakış. *1. Ulusal Ceviz Sempozyumu, 5-8 Eylül, Tokat, 1-11*.
6. Kazankaya, A., 1996. Cevizin aşıyla çoğaltılması ve aşılama sonrası biyokimyasal ve histolojik değişiklikler üzerine araştırmalar (Basılmamış Doktora Tezi). Y.Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
7. Seferoğlu, H.G. 1991. Badem, kayısı ve erik anaçlarının bazı erik çeşitleriyle uyuma durumları üzerine araştırmalar (Basılmamış Doktora Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
8. Şen, S.M., 2001. Ceviz anaçları. *Türkiye 1. Ulusal Ceviz Sempozyumu, 5-8 Eylül, Tokat, 12-24*.
9. Tekintaş, F.E., 1988. Cevizlerde (*Juglans regia* L.) aşı kaynaşması ve aşı ile ilgili sorunlar üzerine araştırmalar (Basılmamış Doktora Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
10. Tekintaş, F.E., A. Tanrısever, K. Mendilcioğlu, 1988a. Cevizlerde (*Juglans regia* L.) yama aşının anatomik ve histolojik olarak incelenmesi üzerine araştırmalar. *Ege Üni. Ziraat Fakültesi Dergisi 25(2):227-237*.
11. Tekintaş, F.E., 1991a. Çeşitli antioksidan maddelerin ceviz aşılarında nekrotik tabaka yoğunluklarına ve aşı kaynaşmalarına etkileri üzerinde bir araştırma. *Y.Y.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi 1(3):1-26*.
12. Tekintaş, F.E., 1991b. Farklı anaçlar üzerine aşılama turuncgil tür ve çeşitlerinde kaynaşmanın anatomik ve histolojik olarak incelenmesi üzerine araştırmalar. *Y.Y.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi 1(2):68-81*.
13. Yıldız, K., 1997. Cevizde (*J. regia* L.) Aşı kaleminin farklı yerlerinden alınan aşı gözlerinin aşı başarıları üzerine etkisi (Basılmamış Doktora Tezi). Y.Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.