

Fındıkta (*Corylus avellana* L.) Aşı Kaynaşmasının Anatomik ve Histolojik Gelişimi*

Fikri BALTA^{1*}, Seyit Mehmet ŞEN²

¹Ordu Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ordu/TÜRKİYE

²Emekli Öğretim Üyesi, Ankara/TÜRKİYE

*Bu makale birinci yazarın doktora tezi bulgularından üretilmiştir.

Alınış tarihi: 14 Mart 2023, Kabul tarihi: 29 Eylül 2023

Sorumlu yazar: Fikri BALTA, e-posta: baltaf04@yahoo.com

Öz

Amaç: Bu çalışma Tombul (*Corylus avellana* L.) fındık çeşidinde yongalı göz ve dilcikli aşılama tekniklerinde aşı kaynaşmasının zamana bağlı gelişimini anatomik ve histolojik yönden incelemek amacıyla yürütülmüştür.

Materyal ve Yöntem: Anaç ve kalem materyali olarak Tombul fındık ocaklarından alınan bir yıllık dip sürgünleri kullanılmıştır. Aralık ayının ilk haftasında yongalı göz ve dilcikli aşılar elle yapıldıktan sonra 26-28 C° sıcaklık ve % 70-80 nisbi nem koşullarında 28 gün süreyle bekletilmiştir. Aşılardan sonra çeşitli dönemlerde aşı yerlerinden rotary mikrotomla 12-20 mikron kalınlığında enine ve boyuna kesitler alınarak mikroskop altında incelenmiştir. İncelemelerde aşı yerlerinde anaç ve kalem tarafından teşekkül eden kallus dokularının durumu, aşı elemanları arasında oluşan nekrotik tabakaların durumu, anaç ile kalemin kaynaşma durumu, kambiyal farklılaşmanın ve yeni vasküler dokuların meydana gelişi ile anaçla kalem arasındaki kambiyal devamlılığının tesisi değerlendirilmiştir.

Araştırma Bulguları: Aşı tekniklerinde anaç ve kalemden kallus oluşumunun kaynaşmanın erken dönemlerinde yavaş gerçekleştiği gözlenmiştir. Bazı aşı örneklerinde aşılama sonrası erken dönemlerde kallus oluşumu zayıf ve yetersiz bulunmuştur. Kallus dokularında ilk kambiyal farklılaşmalara her iki aşı tekniğinde aşılardan 18 gün sonraki kesitlerde rastlanmıştır. Anaç ile kalem arasında kambiyal devamlılık yongalı göz aşılarında aşılardan 26 gün ve dilcikli aşılarda 26-32 gün sonra tesis edilmiştir. Aşılardan 52 gün sonra ve ilerleyen dönemlerde alınan kesitlerde iki aşı tekniğinde de aşı

elemanlarının vasküler ilişki içerisinde oldukları gözlenmiştir. Aşı yerlerinde yeni iletim dokularının dilcikli aşılarda yongalı göz aşılarna nazaran daha hızlı meydana geldiği görülmüştür.

Sonuç: Aşı kaynaşmasının gelişimi iki aşı tekniğinde tüm safhalarıyla başarıyla gerçekleşmiştir. Aşılama sonrası erken dönemde oluşan kallus dokusu miktarının kaynaşmanın sonraki gelişimine yön verdiği belirlenmiştir. Bu nedenle, fındık aşılama çalışmalarında erken dönemlerde kallus oluşumunu teşvik edici uygulamaların ve metotların geliştirilmesinin faydalı olacağı değerlendirilmiştir. Anatomik ve histolojik gözlemler, dilcikli aşılarda anaç ve kalem kalınlığının birbirine çok yakın seçilmesinin ve aşı elemanlarının kambiyal bölgelerden iyi çakışmasının kaynaşmanın seyrini olumlu etkilediğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Fındık, Aşı Kaynaşması, Yongalı Göz Aşısı, Dilcikli Aşı

Anatomical and Histological Development of Graft Union in Hazelnut (*Corylus avellana* L.)

Abstract

Objective: This study was carried out to investigate the anatomical and histological development of the graft union in chip budding and whip grafting techniques in Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivar.

Materials and Methods: One-year suckers (*Corylus avellana* L.) of Tombul ocaks were used as rootstock and scion material. Chip-budding and whip grafting were applied on one-year suckers. The grafted plants

were kept for 28 days at 26-28 °C and 70-80% relative humidity conditions. The cross and longitudinal sections with a thickness of 12-20 microns taken from the graft union by a rotary microtome at various times after grafting were investigated microscopically. In the investigations, the condition of the callus tissues formed by the rootstock and the scion, the condition of the necrotic layers at the graft union, the union of the rootstock and the scion, the development of cambial differentiation and new vascular tissues, and establishment of the cambial continuity between the rootstock and the scion were evaluated.

Results: It was observed that callus proliferation from rootstock and scion occurred slowly in the early stages of the union in two grafting techniques. In some grafting samples, callus proliferation was weak and insufficient in the early stages. The first cambial differentiations in callus tissues were observed in sections 18 days after grafting in two grafting techniques. Cambial continuity between rootstock and scion was established 26 days after grafting in chip budding and 26-32 days after grafting in whip grafting. In the sections taken 52 days after grafting and in the following periods, it was observed that the graft partners were in vascular relationship in the grafts. The new vascular tissues at the graft union developed more rapidly in whip grafting than in chip budding.

Conclusion: The formation of the graft union was successful in the grafting techniques with all its stages. It has been evaluated that the amount of callus tissue proliferated in the early period after grafting directs the subsequent development of the union. For this reason, it is thought that it would be beneficial to develop practices and methods that encourage callus proliferation in the early stages of hazelnut grafting studies. Anatomical and histological examinations in whip grafting revealed that rootstock and scion thickness very close to each other and well matching of the graft partners from cambial zones positively affect the development of the graft union.

Keywords: Hazelnut, Graft Union, Chip Budding, Whip Grafting

Giriş

Corylus avellana L. 3-7 m boylanan, geniş yapraklı, çalı formulu ve bol dip sürgünü verme eğilimi taşıyan bir türdür (İslam, 2019; Figen ve ark., 2021). Dünyada yetiştirilen kültür çeşitlerinin çoğu *Corylus avellana* L.

türü içerisinde yer alır (İslam, 2018). Fındık çelik (Ercişli ve Read, 2001), daldırma (Acı ve Beyhan, 2018), doku kültürü (Nas ve Read, 2004; Kaplan ve ark. 2020) ve aşılama (Bijelic ve ark., 2021) yöntemleriyle vejetatif olarak çoğaltılabilmektedir. Yetiştiricilikte çeşitlerin büyüme gücünü etkilemek, bitkiyi erken yaşta verime yatırmak ve üretim maliyetlerini azaltmak için fındığın dip sürgünü oluşturmeyen anaçlar üzerine aşılama önerilmektedir (İslam, 2019).

Eşeysiz çoğaltma yöntemlerinden biri olan aşılama bahçecilikte son derece önemli olup, gittikçe daha çok önem kazanmaktadır (Melnyk, 2016). Aşı, meyve ağaçlarının geniş çaplı üretiminde en hızlı vejetatif çoğaltma yöntemidir (Goldschmidt, 2014). Aşı teknolojisi değişik anaçların özelliklerinden istifade edilerek bitkilerin farklı iklim ve toprak şartlarında yetiştirilmesi, diğer vejetatif yollarla çoğaltılmayan bitkilerin çoğaltılması, çeşit değiştirme, ağaçların erken meyveye yatırılması, verimliliği artırma, kaliteli meyve elde edilmesi, çeşitli böcek zararlılarına, bakteriyel ve mantar hastalıklarına karşı direnç özellikleri geliştirme gibi çeşitli avantajlar sunmaktadır (Hartmann ve Kester, 1974; Adhikari ve ark., 2022; Habibi ve ark., 2022). Bitkinin cinsi ve türü, aşılama tekniği, zamanı ve ortamı, kullanılan anaçlar, kalem alınacak çeşidin yetiştiği koşullar ve bitki büyüme düzenleyicileri gibi pek çok faktör aşıda başarıyı etkileyebilmektedir.

Aşılama işleminde kesilen parçaların dokuları birbirine yapışır (adhezyon), ardından hücre bölünmeleri meydana gelir ve vasküler dokular olağanüstü bir rejenerasyon süreci sonunda farklılaşarak genetik yapısı farklı iki bitki organizması tek bir bitki haline dönüşür (Melnyk ve Meyerowitz, 2015). Aşı kaynaşmasında anaç ve kalemden karşılıklı kallus dokusunun oluşumu, kallus köprüsünün kurulması, kambiyal farklılaşma, kambiyal devamlılık ve vasküler sisteminin gelişiminin tamamlanması aşamalarının seyri; tür, çeşit, anaç, aşılama yöntemi ve uygulamaları ile aşılama zamanı gibi çeşitli faktörlere göre değişiklik gösterebilmektedir (Tekintaş, 1988; Farsi ve ark., 2016; Özdemir ve ark., 2019). Bir meyve çeşidi için uygun aşı zamanı, aşılama esnasında oluşan yarayı kapatabilecek ve aşı yerinde iyi bir kaynaşma sağlayabilecek yeterlilikte fizyolojik aktivitenin olduğu dönemdir (Polat ve Kaşka, 1992). Başarılı bir aşı kaynaşması için anaç ile kalemin karşılıklı kambiyum dokuları denk getirilecek biçimde iyi çakıştırılması ve bu amaçla anaç ve kalemin mümkün olduğunca birbirlerine

yakın çapta olmaları gereklidir. Bu ayrıntılar, bilhassa aşılama sırasında çeşitli problemler bildirilen fındık gibi sert kabuklu meyve türleri açısından daha önemlidir (Lagerstedt, 1981).

Aşı kaynaşmasında öncelikle anaç ve kalem tarafından kallus dokusu meydana getirilmekte, ardından kallus dokusunun bazı hücreleri yeni kambiyum hücreleri haline dönüşmekte ve yeni kambiyum hücreleri içe doğru yeni odunu ve dışa doğru yeni kabuğu meydana getirerek, aşı elemanları arasında tek bir bitki gibi kambiyal ve vasküler bağlantı tesis edilmektedir (Hartmann ve Kester, 1974; Asante ve Barnett, 1997). Aşı yerinde anaç ve kalemden oluşturulan dokularda anatomik ve histolojik gelişmelerin bilinmesi uygun aşılama tekniğinin seçimi ve başarılı aşı kombinasyonlarının oluşturulması açısından son derece önemlidir. Aşılarda kaynaşmanın mümkün olduğu kadar erken tesis edilmesi aktarma sonrası fidan kayıplarının azaltılması bakımından da oldukça önemlidir (Balta ve ark., 1996a; Cangı ve ark., 2000). Pek çok meyve türünde konuyla ilgili olarak çeşitli araştırmalar yürütülmüştür (Ünal ve Özçağırın, 1986; Tekintaş, 1988; Watanabe ve Nakazatomi, 1990; Asante ve ark., 1997; Seferoğlu ve ark., 2004; Serdar ve ark., 2005; Demirsoy ve Bilginer, 2006; Koyuncu ve ark., 2007; Dolgun ve ark., 2008; Polat ve ark., 2010; Kalkışım ve Tekintaş, 2011; Mahunu ve ark., 2012; Farsi ve ark., 2016; Özdemir ve ark., 2019). Aşı kaynaşması esnasında önemli bahçecilik özelliklerini etkileyebilecek birçok fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişikliklerin meydana geldiği bildirilmektedir (Goldschmidt, 2014; Habibi ve ark., 2022).

Modern fındık kültürü tam anlamıyla mekanizasyon uygulanmasını gerektirir ve bu ancak aşılama veya dip sürgünlerinin uzaklaştırılması yoluyla fındığın tek gövdeli ağaç formunda yetiştirilmesiyle mümkün olur (Bijelic ve ark., 2021). Bu bakımdan, fındıkta aşıyla çoğaltma çalışmaları önem kazanmaktadır. Ülkemizde fındığın aşıyla çoğaltılması ve başarılı aşı kombinasyonların oluşturulması konusundaki araştırmalar sınırlıdır. Aşılama tekniği meyve türlerinde aşı başarısını ve aşı kaynaşmasının gelişimini etkileyebilmekte, bu amaçla ticari fidan üretiminde aşı tekniklerini karşılaştıran histolojik araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Farsi ve ark., 2016). Bu çalışmada, fındıklarda yongalı göz ve diltikli aşılama tekniklerinde aşı kaynaşmasının zamana bağlı olarak gelişiminin anatomik ve

histolojik yönden incelenmesi amaçlanmıştır. Kaynaşmayı olumlu ve olumsuz etkileyebilecek hususlar değerlendirilmiştir.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde yürütülmüştür. Anaç ve kalem materyali olarak, Samsun'un Çarşamba ilçesi Karaca mahallesinde Tombul çeşidiyle tesis edilmiş bir yetiştirici bahçesinden temin edilen bir yıllık dip sürgünleri kullanılmıştır. Dip sürgünleri, içinde nemli hızar tozu bulunan çuvallarla kasım ortasında Van'a getirilmiş, aşılama tarihine kadar oda koşullarında bekletilmiş ve düzenli olarak bakımları yapılarak aşıya hazırlanmışlardır.

Yöntem

Araştırmada anaç ve kalem materyali olarak Tombul çeşidinin bir yıllık dip sürgünleri kullanılarak aralık ayının ilk haftasında yongalı göz ve diltikli aşılar elle yapılmıştır. Diltikli aşı kalemleri anaç kalınlıklarına uygun olacak şekilde dip sürgünlerinin orta kısımlarından 2-3 gözlü olarak hazırlanmıştır. Kök boğazından itibaren yaklaşık 40 cm yukarıya yapılan ve yumuşak parafinle sarılan aşılar, içinde nemli hızar tozu bulunan aşı kasalarına yerleştirilerek sıcaklığı 26-28 C° ve nisbi nemi % 70-80 arasında değişen kontrollü koşullarda 28 gün süreyle bekletilmiş, ardından sıcaklığı 16-20 C° ve nisbi nemi % 80-90 olan etrafı PVC plastikle örtülü alıştırma odasına alınmışlardır. Aşılı bitkiler ilkbaharda hava koşulları müsait olunca tüplü şekilde seraya aktararak gelişmeye bırakılmışlardır.

Aşı bölgesi örneklerinin hazırlanması

Aşı kaynaşmanın anatomik ve histolojik gelişimini incelemek amacıyla aşılı bitkilerin aşı bölgeleri yongalı göz aşısında aşılama 14, 18, 21, 26, 52, 100, 140, 160 ve 200 gün; diltikli aşılarında aşılama 18, 21, 24, 26, 32, 52, 100, 140 ve 180 gün sonra aşı makası ve jilet yardımıyla kesilip alınmış ve parafine doyurma işlemine kadar % 70'lik etil alkol içerisinde bekletilmiştir. Parafine doyurma işlemi öncesinde aşı bölgesi parçaları bir jilet yardımıyla parafinle doyabilecek büyüklükte enine ve boyuna küçük doku parçalarına ayrılarak küçültülmüştür. Bu parçalar küçük cam bardaklara alınarak daha sonraki işlemler için etiketlenmiştir. Aşı bölgelerini temsil eden küçültülmüş doku parçaları parafin yöntemine göre doyurma öncesi bir dizi çözeltilerden geçirilmiştir (Çizelge 1).

Bu işlemlerden sonra örnek kaplarına ksilol miktarının 1/3'ü kadar sert parafin ilave edilerek, 1 gün ısıtmasız oda koşullarında bekletildikten sonra, parafine doyuncaya kadar 62-63 C°'de etüvde 2-3 ay bekletilmiştir.

Çizelge 1. Aşı örnek parçalarına parafine doyurma öncesinde sırayla uygulanan muameleler

Muamele Sırası	Muamele	Bekleme süresi (saat)
1	% 80'lik etil alkol	6
2	% 90'lik etil alkol	16
3	Saf alkol	1
4	3 kısım saf alkol + 1 kısım ksilol	2
5	3 kısım saf alkol + 1 kısım ksilol	2
6	3 kısım saf alkol + 1 kısım ksilol	2
7	Ksilol	2

Kesitlerin alınması ve dokuların boyanması

Etüvde parafine doyurulan aşı örnekleri rotary mikrotoma yerleştirilecek olan parafin bloklara alınmıştır. Parafin blokları kaliteli kartondan

hazırlanmıştır. Karton bloklara aşı örnekleri enine ve boyuna kesit alınacak şekilde dikkatlice bloklanmıştır. Daha sonra bu bloklar rotary mikrotoma yerleştirilmiştir. Dokuların parçalanma durumlarına göre mikrotomla 12-20 mikron kalınlığında enine ve boyuna kesitler alınarak daimi preparatlar hazırlanmıştır.

Aşı yerlerinden alınan enine ve boyuna kesitler Fast Green/Safranin ikili boyaması, Fast Green ve Safranin olmak üzere üç farklı uygulama ile boyanmıştır. Boyamalarda kesitlerin mikroskopik olarak incelenmesi sırasında dokuların belirgin şekilde tanımlanması amaçlanmıştır. Dikey şalelerde yapılan Fast Green/Safranin ikili boyama işleminde takip edilen aşamalar Çizelge 2'de verilmiştir. Fast Green ile yapılan tekli boyamalarda 8, 9, 10, 11 ve 12. aşamalar dışındaki işlemler, Safranin ile yapılan tekli boyamalarda ise 13. aşama dışındaki işlemler uygulanmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 2. Fast Green/Safranin ikili boyama işleminde takip edilen işlem aşamaları

İşlem Sırası	İşlemler	Bekletme süresi
1	3 kısım ksilol + 1 kısım saf alkol	10 dk.
2	2 kısım ksilol + 2 kısım saf alkol	10 dk.
3	1 kısım ksilol + 3 kısım saf alkol	10 dk.
4	Saf alkol	1 dk.
5	% 90'lik etil alkol	4 dk.
6	% 80'lik etil alkol	4 dk.
7	% 70'lik etil alkol	4 dk.
8	% 1'lik safranin	30-45 dk.
9	Çeşme suyunda yıkama	1.5 dk.
10	% 0.5'lik pikrit asit	1-2 dk.
11	Birkaç damla amonyak damlatılmış % 96'lik etil alkol	1-2 dk.
12	% 96'lik etil alkol	10 sn.
13	% 1'lik fast green	10 sn.
14	1 kısım ksilol + 1 kısım saf alkol	15-20 sn.
15	Birkaç damla ksilol damlatılmış saf alkol	2-3 sn.
16	Ksilol'e alma ve Kanada balzamu ile kapama	

Kesitlerin incelenmesi

Öncelikle, aşı kaynaşmasının meydana gelişinde yeni dokuların oluşumlarını takip edebilmek için bir yıllık fındık sürgününün anatomik yapısı enine kesitte incelenerek tanımlanmıştır. Aşı bölgesinden alınan enine ve boyuna kesitler fotomikroskop (Olympus BH-2) altında incelenerek fotoğraflanmıştır. Kesitlerde aşı yerlerinde anaç ve kalem tarafından teşekkül eden kallus dokularının durumu, aşı elemanları arasında oluşan nekrotik tabakaların durumu, anaç ile kalemin kaynaşma durumu, kambiyal farklılaşmanın ve yeni vasküler dokuların meydana gelişi ve anaç ve kalem arasındaki kambiyal devamlılığının tesisi incelenmiştir.

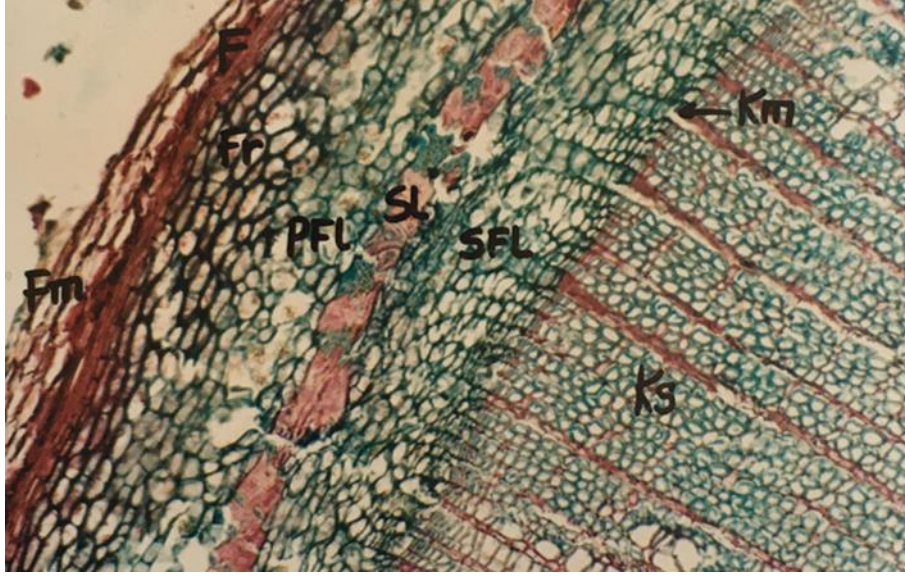
Bulgular

Fındık sürgününün anatomik yapısı

Bir yaşlı Tombul fındık sürgününün enine kesitinde en dışta örtü doku olarak teğetsel yönde uzanmış dikdörtgen şeklinde selülozik çeperli hücrelerden ibaret olan 2-3 sıralı periderm yer almaktadır. Fellogen (mantar kambiyumu) hücreleri dışa doğru bölünerek 5-7 sıra fellum'u (mantar doku hücreleri) oluşturmuştur. İnce çeperli ve süberinleşmiş olan bu hücreler radyal sıralarını muhafaza etmektedirler. Fellogenden içeriye doğru meydana gelen ve canlı hücrelerden oluşan felloderm tabakası bulunmaktadır. Felloderm tabakası radyal sıralar halinde olmayan, çeperleri diğer parankima hücrelerine oranla kısmen kalınlaşmış ve selülozik

yapılı 4-5 sıra hücreden ibarettir. Korteks dokusu peridermin hemen altından başlayıp kambiyuma kadar devam eden hücreleri ihtiva etmektedir. Korteks dokusunda primer ve sekonder floemin

sınırlarını ayırt etmek zordur. Çünkü kambiyumdan meydana gelen hücreler radyal sıralarını korumakta ve yığınlar halinde bulunmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Bir yaşlı Tombul fındık sürgününün enine kesitinde dokuların görünümü. F: Fellogen, Fm: Fellem, Fr: Felloderm, Ks: Ksilem, Km: Kambiyum, PFl: Primer floem, SFl: Sekonder floem, SL: Sklerankimatik lif hücreleri, (Safranin/Fast Green, 10x10).

Floemde perivasküler (halka şeklinde) sklerankimatik lif hücrelerinden başka daha ziyade yığınlar halinde bulunan sklerankima hücreleri yer almaktadır. Bu hücreler muhtemelen primer floemin sklerankima demetleridir. Primer floemde periderm ile perivasküler sklerankima arasındaki bölgede geniş çaplı, dağınık dizilişli ve 6-7 sıradan ibaret parankima hücreleri mevcuttur. Bu hücreler arasında hücreler arası boşluklar vardır. Sekonder floem ise perivasküler sklerankimanın hemen altından başlayıp kambiyuma kadar uzanmaktadır. Bu bölgedeki hücreler kalburlu boru, arkadaş hücreleri, floem parankiması ve floem sklerankimasından ibarettir. Sekonder floemde yer alan parankima hücreleri primer floemin parankima hücrelerine nispetle kısmen dar çaplı, oval, dikdörtgen veya altıgen şeklinde, ince ve selülozik çeperli, dağınık dizilişli 12-14 sıralı hücrelerden ibarettir. Floem parankiması hücreleri arasında; kambiyumdan meydana gelen, selülozik çeperleri oldukça kalınlaşmış olan ve gruplar veya kümeler halinde de sklerankima hücreleri bulunmaktadır. Ayrıca, sekonder floemde de hücreler arası boşluklar mevcuttur (Şekil 1). Kambiyum 3-5 sıra, dikdörtgen şeklinde, üst üste radyal sıralar halinde dizilmiş hücrelerden ibarettir. Kambiyum hücrelerinin çeperleri ince ve selüloziktir. Kambiyum dokusunda

iğ şeklindeki (fusiform) kambiyum hücrelerinden başka, 3-5 sıralı genellikle dikdörtgen şekilli ve ince çeperli ışın hücrelerine de rastlanılmaktadır. Kambiyumdan dışarı doğru meydana gelen bu hücreler radyal ve teğetsel yönde gelişmiş olup, radyal sıralarını muhafaza etmemektedirler. Ksilem dokusu kambiyumdan ortadaki öz bölgesine kadar uzanmış olan hücrelerden ibarettir. Ksilem elemanlarını trake, trakeit, parankima ve sklerankima hücreleri oluşturmaktadır. Ksilem elemanları kambiyumdan bölündükleri esnada radyal sıralarını kısmen korumaktadırlar. Çeperleri ligninleşmiş ve kalınlaşmış odun boruları (trake ve trakeit) arasında öze kadar ulaşabilen, üst üste sıralar halinde dizilmiş ve tek sıra parankima hücrelerinden ibaret öz ışınları yer almaktadır (Şekil 1).

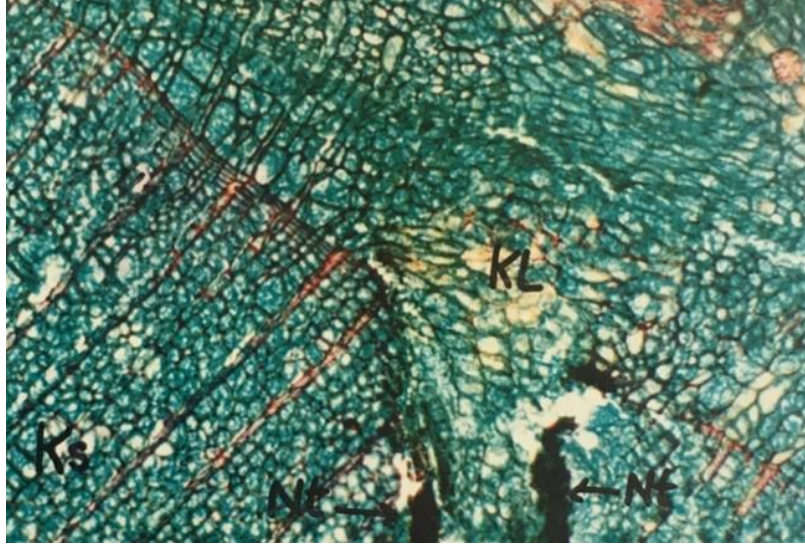
Aşı kaynaşmanın anatomik ve histolojik gelişimi

Yongalı göz aşısı

Aşılama 14 gün sonra aşı bölgesinin değişik seviyelerinden alınan enine kesitlerde anaç ile kalem arasında teşekkül eden kallus dokusu aracılığıyla ilk aşı birleşmesinin tesis edildiği ve böylece kaynaşmanın ilk safhasının gerçekleştiği gözlenmiştir. İnce çeperli ve başlangıçta düzensiz şekilli hücrelerden oluşan kallus dokusu, incelenen örneklerin büyük bir kısmında yan birleşme yerleri

ile bir miktarda birleşmenin iç yüzeylerine doğru olan bölgede teşekkül ederken, aşı elemanları arasındaki tüm yüzeyleri dolduramamıştır. Kallus oluşumu anaç ve kalem tarafından ayrı ayrı gerçekleşmekle beraber kallus oluşturmada kalem daha zayıf kalmıştır. Anaç

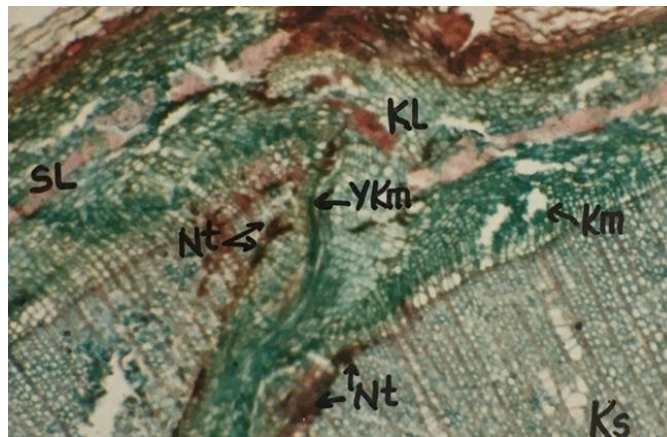
ve kalem yüzeyinde yoğun nekrotik tabakalar meydana gelmiştir (Şekil 2). Nekrotik tabakalar kalem yüzeyinde daha yoğun ve az parçalanmış olarak gözlenmiştir. Kallus dokusu içerisinde kambiyal hücre farklılaşmaları görülmemiştir.



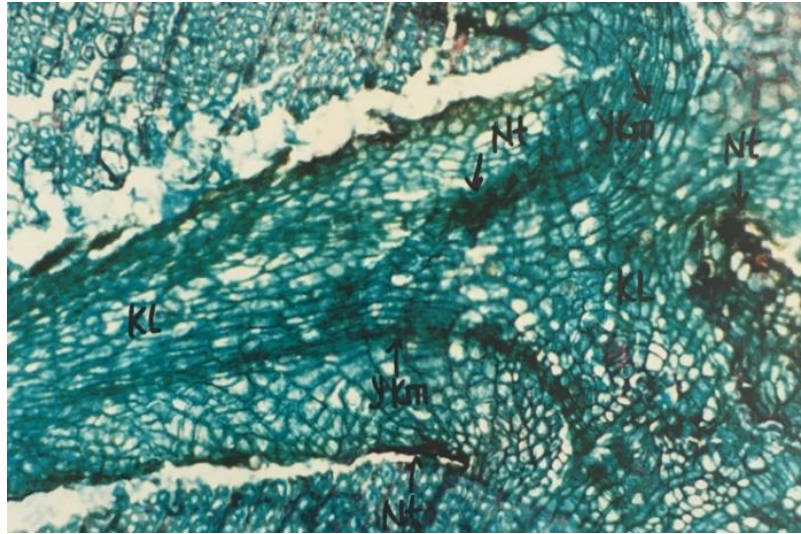
Şekil 2. Yongalı göz aşısında aşılamadan 14 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların ve nekrotik tabakaların görünümü. KL: Kallus, Nt: Nekrotik tabaka (Safranin/Fast Green, 10x10).

Aşılamadan 18 gün sonra alınan enine kesitlerde 14 günlük kesitlere nispetle daha fazla kallus dokusu oluşurken, kallus dokusunu oluşturan parankimatik yapılı hücreler daha muntazam şekil kazanmışlardır. Tüm aşı örneklerinde görülmemekle beraber, bazı aşı örneklerinin enine kesitlerinin birçoğunda hem yan birleşme yerleri hem de anaç ile kalemin iç temas yüzeyleri tamamen kallus dokusuyla doldurulmuştur. Nekrotik tabakalar daha fazla parçalanmakla birlikte varlıklarını korumuşlardır. Nekrotik tabakalar anaç tarafından daha fazla kallus üretildiğinden dolayı

anaç yüzeyinde daha iyi parçalanmışlardır. Kallus dokusu içerisinde anaç ve kalemin orijinal kambiyoumlarıyla bağlantı kurabilecek hizada ilk kambiyal farklılaşmalar kendini göstermiştir (Şekil 3). İçeriye doğru biraz kıvrım ve kavis yaparak şekillenen kambiyal uzantılar kallus dokusu içerisinde henüz karşılıklı olarak birbirleriyle kenetlenememişlerdir. Anaç ve kalem kambiyoumlarının iyi karşılaştırıldığı örneklerde birleşme yerlerindeki kambiyal farklılaşmaların ve uzantıların daha kolay ve düzgün şekillendiği gözlenmiştir.



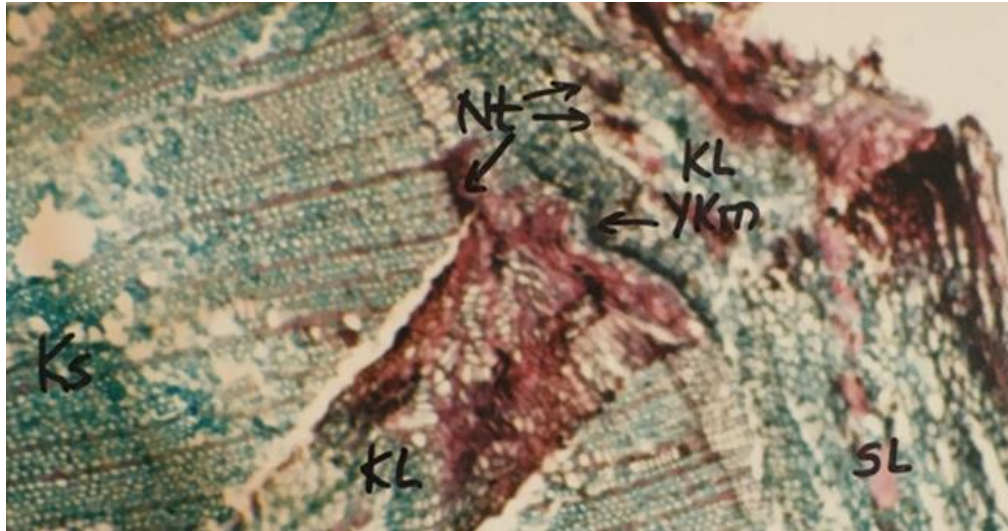
Şekil 3. Yongalı göz aşısında aşılamadan 18 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların ve kambiyal farklılaşmanın görünümü. KL: Kallus, Km: Kambiyum, Ks: Ksilem, Nt: Nekrotik tabaka, SL: Sklerankimatik lif hücreleri, YKm: Yeni Kambiyum (Safranin/Fast Green, 4x10).



Şekil 4. Yongalı göz aşısında aşılamadan 21 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların ve kambiyal farklılaşmanın görünümü. KL: Kallus, Nt: Nekrotik tabaka, YKm: Yeni Kambiyum (Safranin/Fast Green, 10x10).

Aşılamadan 21 gün sonra alınan enine kesitlerde aşı elemanları arasında teşekkül eden kallus dokusu miktarında artışlar görülmüştür. Kallus dokusu içerisinde anaç ve kalemin orijinal kambiyum civarlarından başlatılan ve kavisli uzantılar şeklinde gelişen kambiyal farklılaşmalar henüz devamlılık halini alamamıştır (Şekil 4). Yeni kambiyum

dokusunun meydana geldiği yerlerde bilhassa anaç tarafında yeni ksilem hücreleri teşhis edilmiştir. Yeni iletkin dokuların henüz farklılaşmadığı yerlerde kallus hücreleri daha düzenli bir şekil kazanmışlardır. Aşı elemanları arasında kambiyal devamlılık henüz sağlanamamıştır.



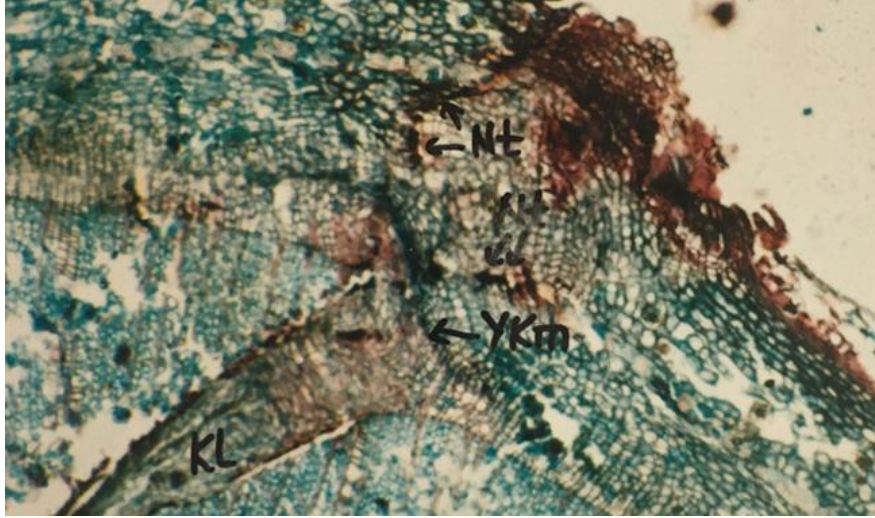
Şekil 5. Yongalı göz aşısında aşılamadan 26 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. KL: Kallus, Ks: Ksilem, Nt: Nekrotik tabaka, SL: Sklerankimatik lif hücreleri, YKm: Yeni Kambiyum (Safranin/Fast Green, 4x10).

Aşılamadan 26 gün sonra alınan enine kesitlerde tüm birleşme yüzeyleri kallus dokusuyla tamamen doldurulamamıştır. Kallus hücreleri içerisinde aşılamadan 18 gün sonra başlayan ve 21 gün sonra önemli ölçüde farklılaşma gösteren yeni kambiyum dokusu gelişerek devamlılık kazanmıştır (Şekil 5).

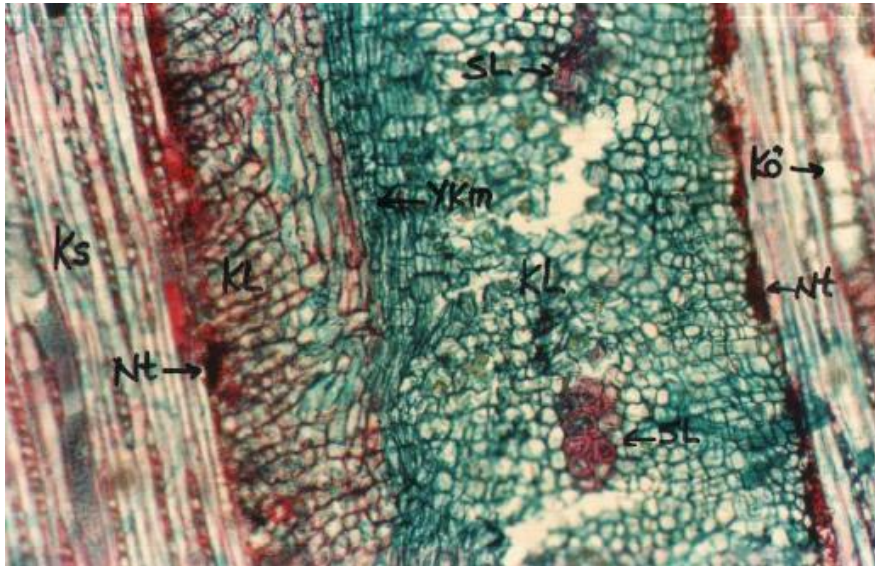
Kallus dokusu içinde yeni sklerankimatik hücre gruplarına ve yeni iletim dokularına rastlanmıştır. Kambiyal devamlılığın tek tarafı olarak kurulabildiği örneklerle de karşılaşmıştır. Aşılamadan 52 gün sonraki kesitlerde aşı elemanları arasında başlangıçta kallus dokusu aracılığıyla kurulan ilişkinin vasküler

ilişki halinde devam ettiği gözlenmiştir (Şekil 6). Aşı elemanlarının orijinal kambiyumlarının hizasında yeni vasküler kambiyum dokusu tarafından içe doğru yeni ksilem dışı doğru yeni floem dokuları farklılaşarak aşı bölgesinde yer almışlardır. Kallus hücreleri parankimatik doku özelliği kazanmışlardır. Aşı yapılırken kesim yüzeyinde zarar gören

hücrelerdeki fenolik maddelerin oksidasyonu sonucu oluşan nekrotik tabakalar tamamen ortadan kalkmamışlar (Şekil 7), küçük kütleler halinde yer yer varlıklarını korumuşlardır. Bu tabakalar gerek ksilemler gerekse kabuklar arası bölgelerde büyük oranda parçalanmışlar ve kaynaşmanın gelişmesini etkiler nitelikte değerlendirilmemişlerdir.



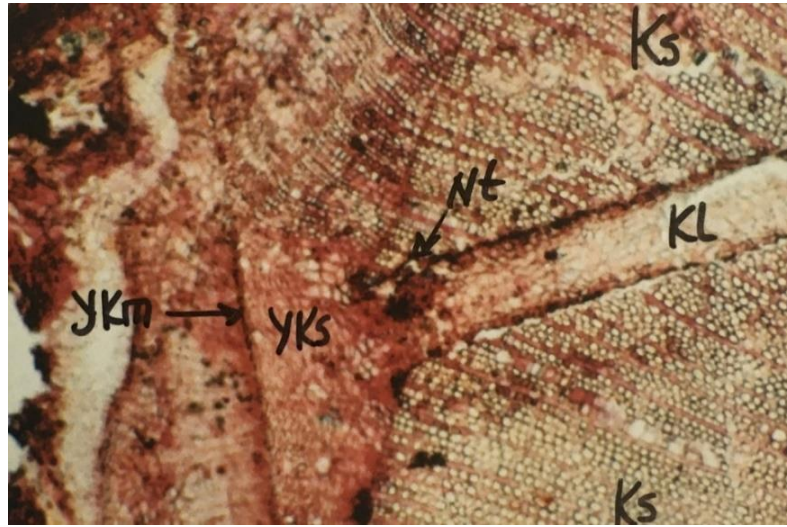
Şekil 6. Yongalı göz aşısında aşılamadan 52 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. KL: Kallus, Nt: Nekrotik tabaka, YKm: Yeni Kambiyum (Safranin/Fast Green, 4x10).



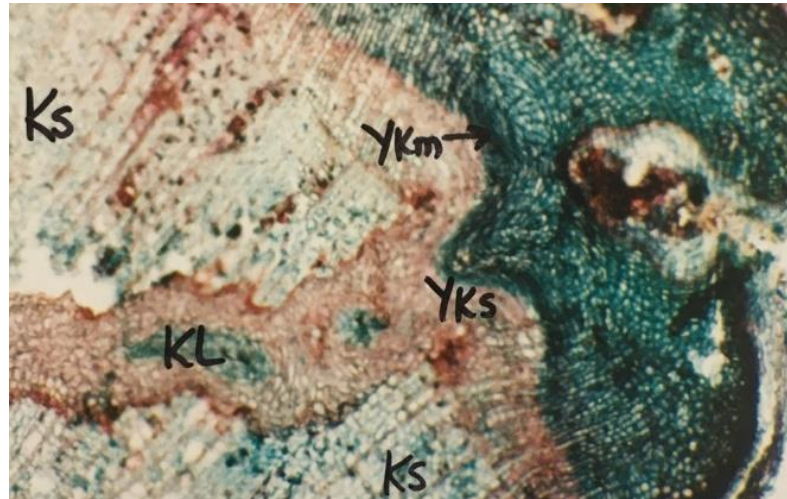
Şekil 7. Yongalı göz aşısında aşılamadan 52 gün sonra aşı bölgesinden alınan boyuna kesitte dokuların görünümü. KL: Kallus, Ks: Ksilem, Kö: Ksilem öz ışını, Nt: Nekrotik tabaka, SL: Sklerankimatik lif hücreleri, YKm: Yeni Kambiyum (Safranin/Fast Green, 10x10).

Aşılamadan 100 (Şekil 8) ve 140 gün (Şekil 9) sonra alınan enine kesitlerde aşı kaynaşmasıyla ilgili tüm aşamaların gerçekleşmiş olduğu gözlenmiştir. Aşı elemanları arasında yeni vasküler kambiyum

dokusunun ve bu dokudan yeni iletken dokuların belirgin şekilde farklılaştığı görülmüştür. Aşılamadan 160 ve 200 gün sonra alınan kesitlerde de aşı bölgesinde benzer vasküler doku farklılaşmaları müşahade edilmiştir.



Şekil 8. Yongalı göz aşısında aşılamadan 100 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. Ks: Ksilem, KL: Kallus, Nt: Nekrotik tabaka, YKm: Yeni Kambiyum, YKs: Yeni Ksilem (G: Safranin, 4x10).



Şekil 9. Yongalı göz aşısında aşılamadan 140 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. Ks: Ksilem, KL: Kallus, YKm: Yeni Kambiyum, YKs: Yeni Ksilem (Safranin/Fast Green, 4x10).

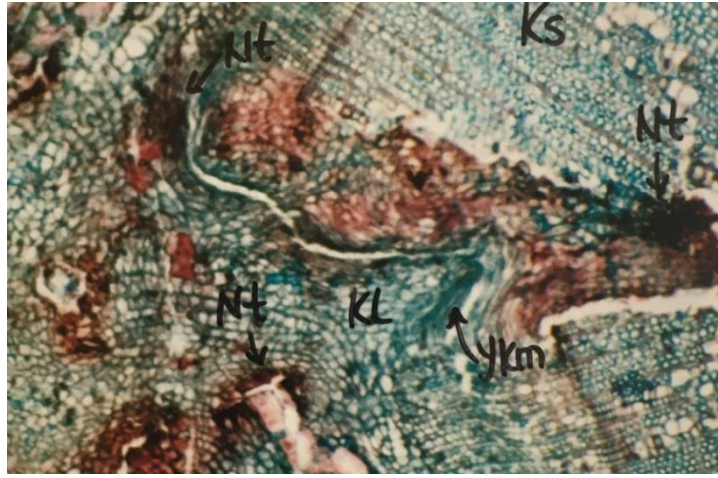
Dilcikli Aşı

Aşılamadan 18 gün sonra aşı bölgesinin değişik seviyelerinden alınan enine kesitlerde anaç ile kalemin karşılıklı olarak ürettikleri kallus dokusu aracılığıyla ilişki içerisinde oldukları belirlenmiştir. Kallus dokusu, anaç ve kalemin aşılama esnasında zarar görmemiş kambiyum dokuları ile genç floem ve ksilem dokularındaki parankimatik yapılı hücrelerden karşılıklı olarak üretilmiştir. Aşı elemanları arasında genellikle yan birleşme yerlerinde ve bazen de bir miktar iç yüzeylere doğru kallus teşekkül etmiştir. Kallus oluşumu bazı aşı örneklerinde yan birleşme yerlerinde bile tatminkâr düzeyde bulunmamış ve zayıf olarak değerlendirilmiştir. Dilcikli aşı tekniğinde daha fazla

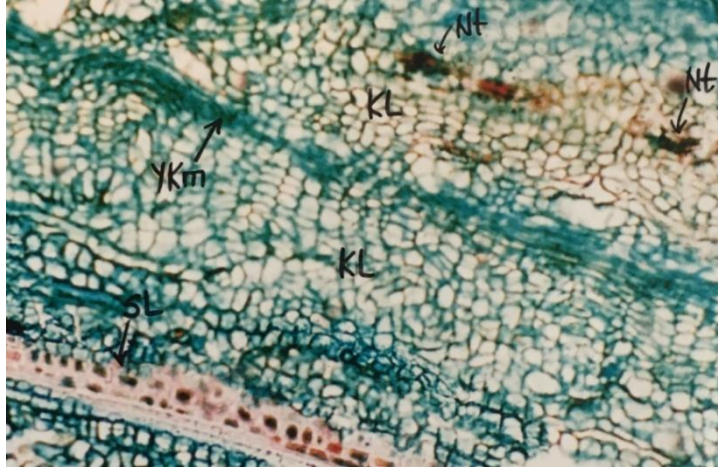
kesim yüzeyi ve birbirine geçen parça söz konusu olduğundan nekrotik tabakalar daha yoğun görüntü sergilemişlerdir. Aşı örneklerinin bir kısmında kallus dokusu dış kabuk yüzeyine taşar vaziyette teşekkül etmiştir. Tüm aşı örneklerinde görülmemekle beraber, bazı örneklerin yan birleşme yerlerinde kallus köprüsü üzerinde ilk kambiyal farklılaşmalar gerçekleşmiştir (Şekil 10). Birleşme yüzeylerinde nekrotik tabakalar kallus dokusuna yer yer parçalanarak dağınık hal almışlardır. Aşılamadan 21 gün sonraki enine kesitlerde 18 gün sonraki kesitlere göre aşı elemanları arasında daha fazla miktarda kallus dokusu üretilmiştir. Kallus dokusu üretimi iç yüzeylere doğru biraz daha genişlik kazanmakla beraber, bazı aşı örneklerinde yan birleşme yerlerde

hala zayıf olarak görülmüştür. Aşı örneklerinin hiçbirinde tüm birleşme yüzeyleri kallus dokusuyla tamamen doldurulamazken, kaynaşma bölgesinin üst ve alt kısımlarında kallus teşekkülü hissedilir derecede daha fazla gerçekleşmiştir. Aşı elemanları arasındaki kallus köprüsü üzerinde kambiyal farklılaşmaların gelişim gösterdiği (Şekil 11), birbiriyle kambiyal bölgelerden iyi çıkışan örneklerin yan birleşme yerlerinde kambiyal devamlılığın kurulmak üzere olduğu gözlenmiştir. Bazı aşı örneklerinde bilhassa kabuklararası birleşme yerlerinde yoğun nekrotik tabakalar zayıf kallus oluşumundan dolayı iyi parçalanmadıkları için

kambiyal devamlılığın sağlanmasında yer yer engel teşkil etmişlerdir. Çoğunlukla, aşı elemanlarının birbirleriyle kambiyal bölgelerden iyi çıkışıkları yan birleşme yerlerinde kurulan kambiyal devamlılık; kallus dokusunun yan birleşmeye yetecek kadar olduğu yerlerde düzgün bir biçimde, buna karşın kallus dokusunun daha fazla teşekkül ettiği ve iç yüzeylere doğru genişlediği yerlerde ise kavisli olarak gelişmiştir. Kambiyal devamlılığın kurulmak üzere olduğu kaynaşma yerlerinde yer yer yeni iletken dokular da oluşmaya başlamıştır. Böyle örneklerde bilhassa anaç tarafında daha fazla dokusal farklılaşmalar gerçekleşmiştir.



Şekil 10. Dilcikli aşıda aşılama 18 gün sonra aşı yerinden alınan enine kesitte dokuların durumu. KL: Kallus, Nt: Nekrotik tabaka, Ks: Kambiyum, YKm: Yeni Kambiyum (Safranin/Fast Green, 4x10).



Şekil 11. Dilcikli aşıda aşılama 21 gün sonra aşı yerinden alınan boyuna kesitte dokuların durumu. KL: Kallus, Nt: Nekrotik tabaka, SL: Sklerankimatik lif hücreleri, YKm: Yeni Kambiyum (Safranin/Fast Green, 10x10).

Aşılama 24 gün sonra alınan enine kesitlerde aşı birleşme yüzeylerinin tamamen kallus dokusuyla doldurulamadığı, kallus dokuları içerisinde kambiyal farklılaşmaların sürdüğü ve henüz aşı elemanları arasında devamlılık kazanamadığı gözlenmiştir.

Bilindiği gibi, bu aşı tekniğinde tüm aşı elemanları arasında tam aşı birliğinin sağlanabilmesi, tüm çıkışma yerlerinde kambiyal devamlılığın kurulmasıyla mümkün olmaktadır. Aşı örneklerine göre değişmekle beraber, birbirleriyle kambiyal

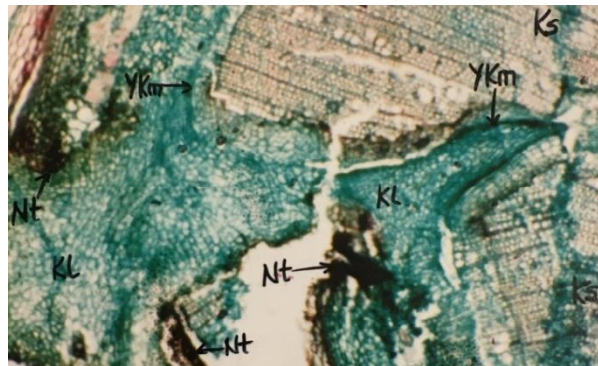
bölgelerden iyi çakışan parçalar arasında yer yer kambiyal devamlılığın sağlanabildiği görülmüştür. Bu aşı tekniğinde aşı elemanlarının birbirleriyle çakışma pozisyonları kaynaşmanın değişik seviyelerinde de farklılık göstermiştir. Nitekim, Şekil 12'de daire içine alınan bölgede görüldüğü üzere, kambiyal devamlılığın yer yer üç aşı elemanı arasında kurulması icap etmektedir. Bu dönemde söz konusu bölgeyi temsil eden enine kesitlerde kambiyal devamlılık henüz sağlanmamıştır.



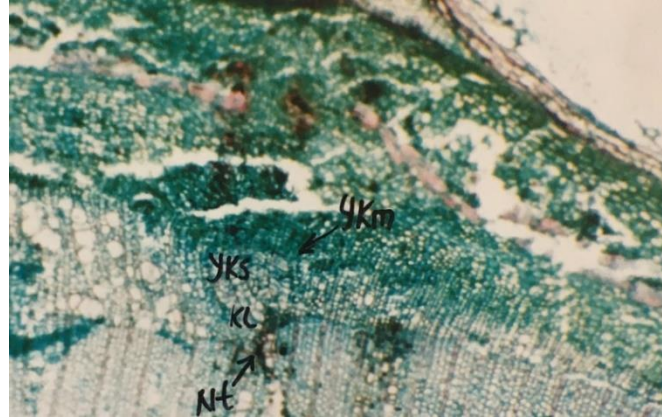
Şekil 12. Dilcikli aşı örneği

Aşılardan 26 gün sonra alınan enine kesitlerde aşı elemanlarının kallus dokusu vasıtasıyla ilişkide oldukları, ancak aşı elemanları arasındaki boşlukların kallus dokusuyla doldurulmadığı görülmüştür. Nekrotik tabakalar bu dönemde kallus dokusu tarafından genellikle iyi parçalanmakla birlikte, bilhassa zarar gören kabuk yüzeylerinde daha belirgin olarak yer almışlardır. Kambiyal devamlılığın, birbirleriyle kambiyal bölgelerden iyi çakışan örneklerinin iki parçalı çakışma yerlerinde sağlandığı, Şekil 12'de belirtilen üç parçalı çakışma yerlerinde kurulamadığı gözlenmiştir. Anaç ve kalemin orijinal kambiyum dokularının birbirinden uzak kaldığı örneklerin yan birleşme yerlerinde de

kambiyal devamlılık tesis edilememiş, bu gibi örneklerde kaynaşma kambiyal devamlılık açısından gecikmiştir (Şekil 13). Anaç ve kalemin kambiyal bölgelerden çakışma imkânı bulamayan aşı örneklerinde aşı elemanları arasında kallus köprüleri kurulamadığı gibi, kambiyal devamlılık da sağlanamamıştır. Çünkü, bu tip örneklerde aşı elemanları kallus köprüsünün kurulması bakımından birbirlerine set oluşturmuşlardır. Bu yüzden, dilcikli aşılar da birbirine yakın anaç-kalem kalınlığı seçimiyle bağlantılı olarak, aşı elemanlarının birbirleriyle kambiyal bölgelerden iyi çakışma durumunun başarılı bir aşı kaynaşması için çok önemli olduğu değerlendirilmiştir. Aşılardan 32 gün sonraki enine kesitlerde iyi çakışmış ve yeterli kallus dokusu üretilmiş aşı parçaları arasında kambiyal devamlılığın kurulduğu gözlenmiştir. Ancak, aşı parçalarının birbirleriyle çakışma durumu bütün örneklerde ve aşı bölgesinin farklı seviyelerinde aynı olmadığı için, meydana gelen kallus dokusu miktarları, bu doku içerisindeki kambiyal devamlılığın tesisi yan birleşme yerlerine göre değişiklik göstermiştir. İyi çakışan aşı örneklerinin yan birleşme yerlerinde gerek iki parça gerekse üç parça arasında kambiyal geçişlerin kurulduğu belirlenmiştir. İyi çakışmayan aşı örneklerinde ise aşı elemanları arasında kallus köprüleri kurulamadığı gibi, kambiyal devamlılık da tesis edilememiştir. Aşılardan 52 gün sonra alınan enine kesitlerde aşı elemanları arasında kambiyal devamlılığın bazı kaynaşma yerlerinde düzgün (Şekil 14), bazı kaynaşma yerlerinde kavisli olarak sağlandığı görülmüştür. Oluşmaya devam eden yeni vasküler dokular, iyi çakışan parçaların yan birleşme yerlerinde anaç ve kalemin orijinal pozisyonlarına uyumlu şekilde gelişim göstermişlerdir.



Şekil 13. Dilcikli aşıda aşılardan 26 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların durumu. KL: Kallus, Ks: Ksilem, Nt: Nekrotik tabaka, YKm: Yeni Kambiyum (Safranin/Fast Green, 4x10).



Şekil 14. Dilcikli aşılarda aşılamadan 52 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü.

KL: Kallus, Nt: Nekrotik tabaka, YKm: Yeni Kambiyum, YKS: Yeni Ksilem (V: Safranin/Fast Green, 4x10; Y: Safranin, 4x10).

Çakışmakla birlikte birbirlerine biraz uzak kalan birleşme yerlerinde yeni dokular yer yer kavisler oluşturarak gelişmişlerdir. Kambiyal bölgelerden iyi çakışmayan veya birbirine temas edemeyen örneklerde, anaç ve kalemin kallus dokuları birbirleriyle köprü kuramamışlar ve bireysel davranış sergilemişlerdir. Bu örneklerin kallus dokuları içerisinde kambiyumlar da ayrı ayrı farklılaştıkları halde, aşı elemanları karşılıklı ilişkiye giremedikleri ve vasküler bağlantılarını yapamadıkları için kaynaşma başarısızlıkla

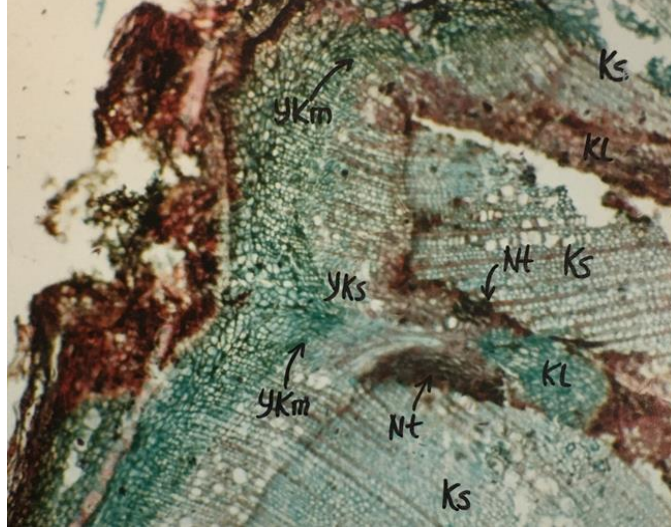
sonuçlanmıştır. Başarılı aşı örneklerinde nekrotik tabakaların genel olarak iyi parçalanarak aşı elemanları arasında vasküler ilişkilerin kurulmasında problem oluşturmadıkları değerlendirilmiştir. Aşılamadan 100 (Şekil 15), 140 (Şekil 16) ve 180 (Şekil 17) gün sonra sürgün gelişimini sürdüren aşı örneklerinin değişik düzeylerinden enine kesitlerinde anaç ile kalem arasında yeni vasküler kambiyumdan yeni floem ve ksilem dokularının meydana gelerek vasküler ilişkinin sürdüğü ve kaynaşmanın aksamadan devam ettiği belirlenmiştir.



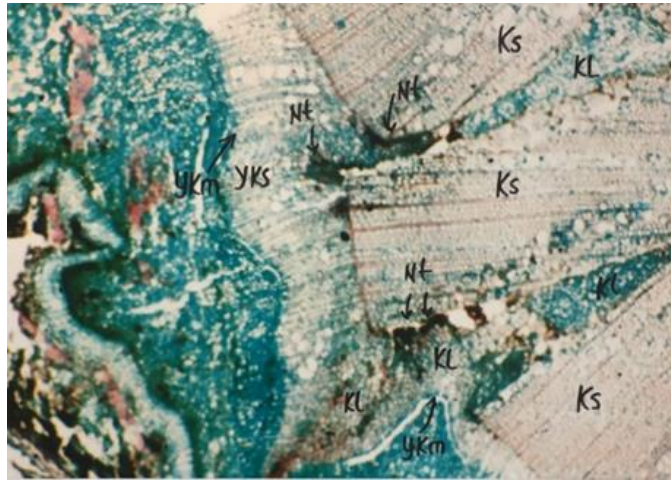
Şekil 15. Dilcikli aşılarda aşılamadan 100 gün sonra aşı bölgesinin üç parçalı birleşme yerinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. KL: Kallus, Ks: Ksilem, Nt: Nekrotik tabaka, YKm: Yeni Kambiyum, YKS: Yeni Ksilem (V: Safranin/Fast Green, 4x10; Y: Safranin, 4x10).

Yeni vasküler dokuların birbirleriyle kambiyal bölgelerden iyi çakışan örneklerde daha düzgün, birbirlerine kambiyal bölgeleri çok yakın düşmeyen örneklerde ise kavisli olarak geliştikleri gözlenmiştir.

Nekrotik tabakaların, genellikle iyi parçalanmalarına rağmen küçük parçacıklar halinde varlıklarını korudukları, daha yoğun oldukları yerlerde kavisli vasküler ilişkilerin kurulmasına neden oldukları görülmüştür.



Şekil 16. Dilcikli aşılarda aşılamadan 140 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. KL: Kallus, Ks: Ksilem, Nt: Nekrotik tabaka, YKm: Yeni Kambiyum, YKs: Yeni Ksilem (Safranin/Fast Green, 4x10).



Şekil 17. Dilcikli aşılarda aşılamadan 180 gün sonra aşı bölgesinden alınan enine kesitte dokuların görünümü. KL: Kallus, Ks: Ksilem, Nt: Nekrotik tabaka, YKm: Yeni Kambiyum, YKs: Yeni Ksilem (Safranin/Fast Green, 4x10).

Tartışma

Ekonomik önemine rağmen bitki aşılarında kaynaşmanın temelini teşkil eden mekanizmalar hakkında bilgiler sınırlıdır (Moore, 1984; Goldschmidt, 2014; Melnyk, 2016). Kaynaşmanın ilk aşaması anaç ve kalemin arasında yapışmayı (adhezyon) gerektirir, ardından hücresel ve hücre duvarı yeniden şekillenmesi gelir (Melnyk, 2016). Uzun mesafeli sinyal iletimi, vasküler bağlantıların

yeniden kurulmasıyla sağlanırken, lokal olarak hücreden hücreye iletişimine büyük ölçüde bitişik hücreleri simplastik olarak bağlayan plasmodesmata olarak bilinen hücre duvarındaki kanallar aracılık eder ve anaç ve kalemin hücreleri simplastik bağlantılar oluşturur (Kurotani ve Notaguchi, 2021). Aşılamada anaç ve kalemin birbiriyle başarılı bir bağlantı kurulabilmesi için karmaşık moleküler yolları hızla koordine etmesi gerekir (Amsbury, 2022).

Anaç aşı kaynaşması esnasında kalem üzerinde önemli bir kontrol uyguladığı için doğru anaçın seçilmesi ağacın boyutunu, canlılığını ve stres direncini etkiler (Melnyk, 2016). Aşı kaynaklı bu etkilere neden olan mekanizma, bir şekilde gizemli kalarak, muhtemelen aşılınmamış bireye kıyasla aşılı anaçta hormon, su veya sinyal molekülü üretimi ve taşınmasındaki birtakım farklılıkları ortaya çıkarır (Aloni ve ark., 2010).

Aşılama, bitkinin rejenerasyon kabiliyetine bağlı olarak (Melnyk, 2016) yaralamaya verdiği bir tepki olup, bu tepki açıkta ve kontrolsüz bir ortamda yıl içinde zamana göre değişiklik göstermektedir (Adhikari ve ark., 2022). Anaç ve kalemin kalınlık farkından dolayı kötü çakışma kaynaklı mekanik uyumsuzluğu, dokuların susuz kalması, olumsuz sıcaklık ve ışık rejimleri, ilk kallus oluşumundaki başarısızlık, yeterli vasküler farklılaşmadaki başarısızlık, dokular arasındaki fizyolojik uyumsuzluk gibi birçok faktör kaynaşma yönünden aşımın başarısını olumsuz etkileyebilir (Farsi ve ark., 2016).

Aşı kaynaşmasının aşamalarını anaç ve kalemin birbirine yapışması (adhezyon), karşılıklı kallus oluşumu, yeni kambiyum ve vasküler dokuların meydana gelmesi ve aşı birleşme yeri boyunca fonksiyonel bir vasküler sistemin kurulması oluştururken, çeşitli odunlu türlerde kaynaşmanın anatomik ve histolojik gelişimi birbirine benzer şekilde gerçekleşmektedir (Hartmann ve Kester, 1974; Asante ve Barnett, 1997; Pina ve ark., 2012).

Aşı kaynaşmasında ilk önemli aşamayı anaç ile kalemden karşılıklı kallus teşekkülü oluşturur. Aşılama sonrası erken dönemde ve yeterli düzeyde kallus teşekkülü, kalemin canlı kalabilmesi ve sonraki safhalarda kambiyum ve vasküler dokuların oluşumunda, dolayısıyla başarılı bir aşı kaynaşmasında önemli rol oynar (Farsi ve ark., 2016). Çünkü, anaçla kalem arasında vasküler kambiyum ve iletim dokularının devamlılığı kallus dokusu vasıtasıyla gerçekleşmektedir (Tekintaş, 1988; Kurt ve Tekintaş, 2020). Ayrıca, kallus dokusu yaralama esnasında bünyedeki çeşitli fenolik maddelerin oksitlenmesi sonucu aşı yerinde oluşan nekrotik tabakaların parçalanmasında da görev üstlenmektedir (Tekintaş, 1988).

Bu çalışmada uygulanan iki farklı aşı tekniğinde aşı elemanları arasında karşılıklı kallus oluşumunun aşılama sonrası erken dönemlerde yavaş gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Kallus dokusu, aşı örneklerinin bir kısmında birleşme yüzeylerini

tamamen doldururken, bir kısmında kaynaşmanın ilerleyen dönemlerinde bile tüm birleşme yüzeylerini kaplayamamıştır. Aşı elemanları arasında oluşan kallus hücreleri floem ve ksilem elemanlarındaki tahrip olmamış parankimatik yapıları hücrelerden ve ayrıca kambiyum dokularından üretilmiştir. Aşılarda zaman zaman kallus oluşumu yetersizliğinden kaynaklanan problemler meydana gelmiştir. Miktarca en fazla kallus oluşumu kaynaşma yerlerinin üst ve alt bölgelerinden alınan kesitlerde gözlemlenmiştir. Bu duruma bağlı olarak, aşılamanın erken dönemlerinde nekrotik tabakaların bu bölgelere ait kesitlerde daha kolay parçalanmış oldukları görülmüştür. Bilhassa erken dönemlerde parçalanmış nekrotik tabaka miktarının kallus hücrelerinin genişlik kazanmaları üzerine etkili oldukları gözlemlenmiştir. Dolayısıyla, başlangıçta oluşan kallus dokusu miktarı kaynaşmanın gelişimine yön verebilmektedir. *Corylus colurna* L. anaç üzerine aşılınmış fındık çeşitlerinde kaynaşmanın gelişimini inceleyen Şenyurt (2017), kallus oluşumuyla ilgili benzer anatomik bulgular sunmuştur. Fındık aşılarında kaynaşma esnasında kallus oluşumunun elma ve armut gibi meyve türlerinin aşılara göre daha yavaş gerçekleştiği ve kallus oluşumu için düzenli yüksek sıcaklıklara ihtiyaç duyulduğu, kalemlerin erken uyanması sonucunda aşılınmış bitkilerin aktarılması sırasında problemlerle karşılaşıldığı bildirilmektedir (Lagerstedt, 1981; Lagerstedt, 1984). Farsi ve ark. (2016), aşı birleşme yerinde zayıf kallus oluşumunun ve yoğun nekrotik tabakaların aşılama başarısızlığına neden olabildiğini ve bu durumun bahçe şartlarına aktarılan bitkilerin yaşama yüzdesini azalttığını bildirmiştir. Bu bakımdan, aşılama çalışmalarında kallus oluşumunu hızlandırıcı uygulamaların ve metodların geliştirilmesi faydalı görülmektedir. Aşı kaynaşmasının ikinci önemli aşamasını kallus köprüsü üzerinde kambiyal hücre farklılaşmaları ve aşı elemanları arasında kambiyal devamlılığın sağlanması oluşturur (Mahunu ve ark., 2012). İlgili araştırmalarda aşılama sonrası aşı yerinde oluşan kallus dokusu içerisinde ilk kambiyal farklılaşmaların başlatılma süreleri hakkında farklılıklar bildirilmiştir. Kallus dokusunda ilk kambiyum hücrelerinin farklılaşma süresi; 5BB anaç üzerine aşıları Erciş ve Hafızali üzüm çeşitlerinde 21 gün (Cangi ve ark., 2000), ceviz aşılarında 14 gün (Farsi ve ark., 2016) ve fıstık çamı (*Pinus pinea* L.) aşılarında 30 gün (Kurt ve Tekintaş, 2020) olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada iki aşı tekniğinde de kallus dokularındaki ilk kambiyal farklılaşmalar aşılama sonrası 18 gün sonra alınan kesitlerde gözlemlenmiştir.

Aşılama işleminin başarılı bir şekilde tamamlanması ve bu amaçla vasküler dokuların üretimi için kambiyal devamlılığın oluşturulması hayati önem taşımaktadır (Mahunu ve ark., 2012). İlgili araştırmalar, aşı elemanları arasında kurulan kallus köprüsü üzerinde kambiyal devamlılığın kurulma süresinin türlere, aşı tekniklerine, aşı kombinasyonlarına ve farklı uygulamalara göre değişebildiğini göstermiştir. Nitekim bu süre, cevizde yongalı göz aşısında 24 gün ve yama aşıda 40 gün (Tekintaş, 1988), turuncgil aşı kombinasyonlarında (Tekintaş, 1991) ve kestane aşılarında 45 gün (Balta ve ark., 1993), yenedünya (*Eriobotrya japonica* L.) aşılarında 100 gün (Polat ve Kaşka, 1992), omega ceviz aşılarında 25-35 gün (Balta ve ark., 1996a), Rupestris du Lot anacı üzerine aşılu İskenderiye Misketi üzüm çeşidind 22-30 gün (Balta ve ark., 1996b), 5BB anacı üzerine aşılu Erciş ve Hafızali üzüm çeşitlerinde 35-42 gün (Cangi ve ark., 2000), *Pistacia vera* çöğürlerine yapılan antepfıstığı aşılarında 3 hafta (Okay ve Büyükkartal, 2001), ceviz aşılarında 30 gün (Farsi ve ark., 2016), *Corylus colurna* L. çöğür anaçları üzerinde fındık yama göz aşısında 4 hafta (Şenyurt, 2017) ve fıstık çamı (*Pinus pinea* L.) aşılarında 90 gün (Kurt ve Tekintaş, 2020) olarak bildirilmiştir. Bu araştırmada aşı elemanları arasında kambiyal devamlılık yongalı göz aşılarında aşılama 26 gün ve diltikli aşılarda 26-32 gün sonra tesis edilmiştir. Aşı elemanlarının birbirleriyle kambiyal bölgelerden çakışma durumlarına ve bilhassa yan birleşme yerlerinde oluşan nekrotik tabakaların yoğunluklarına göre kambiyal devamlılık şekil almıştır. Aşı kaynaşmasının son aşaması vasküler doku bağlantılarının kurulması olup, vasküler dokular yeni oluşan kambiyum dokusu tarafından üretilmektedir (Mahunu ve ark., 2012). Yüksek bitkilerde aşılama sonrası vasküler dokuların gelişimlerinin incelenmesi aşı kombinasyonlarının uyumu konusunda önemli bilgiler ve ipuçları vermekte olup, aşılama sonrası vasküler doku bağlantısı genellikle aşılama 6 ile 8 hafta sonra tesis edilmektedir (Moore, 1981). Bu araştırmada yongalı göz ve diltikli aşılarda aşılama 52 gün sonra alınan kesitlerde aşı elemanlarının vasküler ilişki içerisinde oldukları gözlenmiştir. Yongalı göz aşılarının aşılama 100, 140, 160 ve 200 gün; diltikli aşılarının 100, 140 ve 180 gün sonraki kesitlerinde başarılı örneklerin aşı yerlerinde daha fazla vasküler doku geliştirdikleri görülmüştür. Yeni iletim dokularının diltikli aşılarda yongalı göz aşılara göre daha hızlı meydana geldikleri belirlenmiştir. Ayrıca, kaynaşmanın geç dönemlerinde nekrotik tabakalar

olarak ortadan kaybolmayıp aşı bölgesinin değişik yerlerinde parçalanmış vaziyette absorbe edilmişlerdir. İlgili pek çok araştırmada aşı kaynaşma yerindeki nekrotik tabakaların kaynaşmanın ileriki aşamalarında dahi dokular içerisinde yer yer absorbe edildikleri bildirilmiştir (Ünal ve Özçağır, 1986; Polat ve Kaşka, 1992).

Sonuç

Araştırmada aşı tekniklerinde kaynaşmanın gelişimi tüm aşamalarıyla başarılı bir şekilde gerçekleşmiştir. Aşı tekniklerinde anaç ve kalemden kallus oluşumları kaynaşmanın ilk iki-üç haftasında yavaş gerçekleşmiştir. Kallus dokularında ilk kambiyal hücre farklılaşmaları iki aşı tekniğinde de aşılama 18 gün sonraki kesitlerde görülmüştür. Aşı elemanları arasında kambiyal devamlılık yongalı göz aşısında aşılama 26 gün ve diltikli aşıda 26-32 gün sonra sağlanmıştır. Aşılama 52 gün sonra ve ilerleyen dönemlerde alınan kesitlerde iki aşı tekniğinde de aşı elemanlarının vasküler ilişki içerisinde oldukları gözlenmiştir. Aşı yerlerinde yeni iletim dokuları diltikli aşılarda yongalı göz aşılara göre daha hızlı meydana gelmiştir. Aşılama sonrası erken dönemde oluşan kallus dokusu miktarının kaynaşmanın sonraki gelişimine yön verdiği belirlenmiştir. Bu nedenle, fındık aşılama çalışmalarında erken dönemlerde kallus oluşumunu teşvik edici uygulamaların ve metotların geliştirilmesinin faydalı olacağı değerlendirilmiştir. Anatomik ve histolojik gözlemler, kalem aşılarında birbirine yakın anaç-kalem kalınlığının ve aşı parçalarının karşılıklı kambiyal bölgelerden iyi çakışması durumunun kaynaşmanın seyrini olumlu etkilediğini göstermiştir.

Çıkar çatışması

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Yazarların katkı beyanı

FB: Araştırmanın planlanması, denemenin kurulması ve yürütülmesi, bulguların değerlendirilmesi, tezin ve makalenin yazım aşamalarında katkıda bulunmuştur. SMŞ: Araştırmanın planlanması, denemenin yürütülmesi, bulguların değerlendirilmesi ve teze son şeklinin verilmesi aşamalarına katkıda bulunmuştur.

Teşekkür

Araştırmanın çeşitli aşamalarında yardımlarını gördüğümüz Prof. Dr. Bekir TİLEKLİOĞU, Prof. Dr. Peyami BATTAL, Prof. Dr. Turan KARADENİZ ve rahmetli Prof. Dr. Faik Ekmel TEKİNTAŞ'a içtenlikle teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Acı, F., & Beyhan, N. (2018). Propagation of Hazelnut by Mound Layering. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*, 4(1), 1-12. doi: 10.24180/ijaws.365185
- Adhikari, P.B., Xu, Q., & Notaguchi, M. (2022). Compatible graft establishment in fruit trees and its potential markers. *Agronomy*, 12, 1981. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081981>
- Aloni, B., Cohen, R., Karni, L., Aktas, H., & Edelstein, M. (2010). Hormonal signaling in rootstock-scion interactions. *Scientia Horticulturae*, 127, 119-126. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.09.003>
- Amsbury, S. (2022). Making a connection: cell-cell communication at the graft interface. *Plant Physiology*, 188, 19-21. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab516>
- Asante, A.K., & Barnett, J. R. (1997). Graft union formation in mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Horticultural Science*, 72, 781-90. <https://doi.org/10.1080/14620316.1997.11515571>
- Balta, F., Karadeniz, T., Tekintaş, F.E., & Şen, S.M. (1993). Investigations on anatomical and histological development of the graft formation in chestnut (*Castanea sativa*). *Proceedings of 1st Int. Congress on chestnut*, p.231-234, October 20-23, Spoleto, Italy.
- Balta, F., Kazankaya, A., & Tekintaş, F. E. (1996a). Kontrollu aşılama koşullarında bekletilen omega ceviz aşılarda aktarma öncesi anatomik ve histolojik gözlemler. *Fındık ve Diğer Sert Kabuklu Meyveler Sempozyumu Bildirileri*, Ondokuzmayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, 10-11 Ocak, Samsun. s.344-352.
- Balta, F., Cangı, R., Doğan, A., & Karadeniz, T. (1996b). Rupestris Du Lot anacına aşılı iskenderiye misketi üzüm çeşidinde aşı kaynaşmasının gelişimi üzerine anatomik ve histolojik incelemeler. *Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6(2), 201-208.
- Bijelić, S., Magazin, N., Džankić, S., Janković, D., Bogdanović, B., & Jaćimović, G. (2021). Advances in nursery production of hazelnut plants in Serbia – Successful grafting of different *Corylus avellana* L. cultivars and clones onto *Corylus colurna* L. rootstock. *Frontiers in Plant Science*, 12, 785015. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.785015>
- Cangı, R., Balta, F., & Doğan, A. (2000). Aşılı asma fidanı üretiminde kullanılan katlama ortamlarının fidan randıman ve kalitesi üzerine etkilerinin anatomik ve histolojik olarak incelenmesi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 24, 393-398.
- Demirsoy, H., & Bilgener, Ş. (2006). Bazı uyuşur ve uyuşmaz şeftali/erik aşı kombinasyonlarında aşı yerinin anatomik olarak incelenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 21(1), 89-94.
- Dolgun, O., Tekintaş, F. E., & Ertan, E. (2008). A histological investigation on graft formation of some nectarine cultivars grafted on pixy rootstock. *World J. Agricultural Sciences*, 4 (5), 565-568.
- Ercişli, S. & Read, P.E. (2001). Propagation of hazelnut by softwood and semi-hardwood cuttings under nebraska conditions. *Acta Horticulturae*, 556, 275-279. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2001.556.40>
- Farsi, M., Fatahimoghadam, M. R., Zamani, Z., Hassani, D., & Ahmadi, A. (2016). The histology of minigrafting of Persian walnut trees cv. chandler. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 3(2), 167-177. <https://doi.org/10.22059/ijhst.2016.62916>
- Figen, F., Serdar, Ü., & Akyüz, B. (2021). Palaz fındık çeşidinde dip sürgünü temizleme sıklığının verim ve kalite üzerine etkisi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 10(2), 219-226. doi: 10.29278/azd.859254
- Goldschmidt, E.E. (2014). Plant grafting: new mechanisms, evolutionary implications. *Frontiers in Plant Science*, 5, 727. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00727>
- Habibi, F., Liu, T., Folta, K., & Sarkhosh, A. (2022). Physiological, biochemical, and molecular aspects of grafting in fruit trees. *Horticulture Research*, 9, uhac032. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac032>
- Hartmann, H.T. & Kester, D.E. (1974). (Çevirenler: Kaska, N. & Yılmaz, M.) Bahçe Bitkileri Yetiştirme Tekniği. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 79, Adana.
- İslam, A. (2018). Hazelnut culture in Turkey. *Akademik Ziraat Dergisi* 7(2), 259-266. doi: <http://dx.doi.org/10.29278/azd.476665>

- İslam, A. (2019). Fındık ıslahında gelişmeler. *Akademik Ziraat Dergisi*, 8, 167-174. doi: 10.29278/azd.667662
- Kalkışım, Ö., & Tekintaş F.E. (2011). Kızılıçıkta (*Cornus mas* L.) aşı kaynaşması ile çelik köklenmesinin anatomik ve histolojik olarak incelenmesi üzerine bir araştırma. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1(2), 106-122.
- Kaplan, N., İslam, A. & Ekbiç, H. B. (2020). Çakıldak fındık çeşidinin in vitro sürgün ucu kültürü ile çoğaltılması. *Akademik Ziraat Dergisi*, 9(2), 193-200. doi: 10.29278/azd.815521
- Koyuncu, F., Kaçal, E., & Yıldırım, A.N. (2007). Red globe şeftali ve fantasia nektarin çeşitleri ile St. Julien A anacının uyuşma durumlarının belirlenmesi. *Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*, 4-7 Eylül 2007, Erzurum, s: 4-7.
- Kurotani, K.I., & Notaguchi, M. (2021). Cell-to-cell connection in plant grafting-molecular insights into symplasmic reconstruction. *Plant and Cell Physiology*, 62(9), 1362-1371. <http://dx.doi.org/10.1093/pcp/pcab109>
- Kurt, H., & Tekintaş, F.E. (2020). Fıstık çamında (*Pinus pinea* L.) aşı kaynaşması ve çelik köklenmesinin anatomik ve histolojik olarak incelenmesi. *Euroasia Journal of Mathematics, Engineering, Natural & Medical Sciences*, 7(13), 135-148. <https://doi.org/10.38065/euroasiaorg.422>
- Lagerstedt, H. B. (1981). A new device for hot-callusing graft unions fruit and nut trees. *Hortscience*, 16(4), 529-530. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.16.4.529>
- Lagerstedt, H.B. (1984). Hot-callusing pipe speeds up grafting. *American Nurseryman*, 160, 113-117.
- Mahunu, G. K., Adjei, P.Y., & Asante, A. K. (2012). Anatomical studies on graft formation in cashew (*Anacardium occidentale* L.). *Agriculture and Biology Journal of North America*, 3(4), 150-153. <http://doi:10.5251/abjna.2012.3.4.150.153>
- Moore, R. (1981). Graft compatibility and incompatibility in higher plants. *Developmental & Comparative Immunology*, 5(3), 377-389. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(81\)80051-1](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(81)80051-1)
- Moore, R. (1984). A model for graft compatibility-incompatibility in higher plants. *American Journal of Botany*, 71(5), 752-758. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1984.tb14182.x>
- Melnyk, C. W. (2016). Plant grafting: insights into tissue regeneration. *Regeneration*, 4(1), 3-14. <https://doi.org/10.1002/reg2.71>
- Melnyk, C. W., & Meyerowitz, E. M. (2015). Plant grafting. *Current Biology*, 25(5), 183-188. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.01.029>
- Nas, M.N., & Read, P.E. (2004). Improved rooting and acclimatization of micropropagated hazelnut shoots. *HortScience*, 39(7), 1688-1690. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.39.7.1688>
- Okay, Y., & Büyükkartal, N. (2001). Antepfıstığında (*Pistacia vera* L.) farklı aşı yöntemlerinin anatomik yönden karşılaştırılması. *The Herb Journal of Systematic Botany*, 8(1), 73-82.
- Özdemir, B., Yılmaz, A., Büyükkartal, H. N., & Okay, Y. (2019). Anatomical analysis of graft compatibility in some almond scion-rootstock combination. *Journal of Agricultural Sciences*, 25(1), 29-37. <https://doi.org/10.15832/ankutbd.538985>
- Pina, A., Errea, P., & Martens, H.J. (2012). Graft union formation and cell-to-cell communication via plasmodesmata in compatible and incompatible stem unions of Prunus spp. *Scientia Horticulturae*, 143, 144-150. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.06.017>
- Polat, A. A., & Kaşka, N. (1992). Yeni Dünyalarda (*Eriobotrya japonica* L.) T, yama ve yongalı aşıların anatomik ve histolojik olarak incelenmesi. *Doğa Türk Tarım ve Ormanlık Dergisi*, 16(3), 529-541.
- Polat, M., Dolgun, O., Yıldırım, A., Aşkın, M. A., & Gökbayrak, Z. (2010). Graft union formation of spur apple varieties grafted on different rootstocks. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8(2), 490-493.
- Seferoğlu, G., Tekintaş, F. E., & Özyiğit, S. (2004). Determination of grafting union success in 0900 Ziraat and Starks Gold Cherry cultivars on Gisela 5 ve SL 64 rootstocks. *Pakistan Journal of Botany*, 36(4), 811-816.
- Serdar, Ü., Köse, B., & Yılmaz, F. (2005). The structure of graft unions in European chestnut using different grafting methods. *HortScience*, 40(5), 1474-1477. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.40.5.1474>

- Şenyurt, M. (2017). *Corylus colurna* L. anacına bazı fındık çeşitlerinin aşılabilirliğinin incelenmesi (Doktora Tezi). Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu.
- Tekintaş, F.E. (1988). *Cevizlerde (Juglans regia L.) aşı kaynaşması ve aşı ile ilgili sorunlar üzerinde araştırmalar* (Doktora Tezi). Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova, İzmir.
- Tekintaş, F.E. (1991). Farklı anaçlar üzerine aşılana turuncgil ve çeşitlerinde kaynaşmanın anatomik ve histolojik olarak incelenmesi üzerine araştırmalar. *Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 112, 68-81.
- Ünal, A. & Özçağırın, R. (1986). Göz aşısında aşı kaynaşmasının meydana gelişi üzerine bir araştırma. *Doğa Türk Tarım ve Ormanlık Dergisi*, 10(3), 339-407.
- Watanabe, S., & Nakazatomi, N. (1990). Formation of the graft union in apple T-budding. *Bulletin of the Yamagata University Agricultural Science*, 2(1), 149-153.