T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

NİTELİKLİ MISIR GENOTİPLERİNDE BAZI TOHUM ÖZELLİKLERİNİN GENETİK ANALİZİ VE CANLILIK TESPİTİNDE KULLANILAN FARKLI YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FATİH YAMAN

Tez Danışmanı
Doç. Dr. FATİH KAHRIMAN

ÇANAKKALE – 2021

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

NİTELİKLİ MISIR GENOTİPLERİNDE BAZI TOHUM ÖZELLİKLERİNİN GENETİK ANALİZİ VE CANLILIK TESPİTİNDE KULLLANILAN FARKLI YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FATİH YAMAN

Tez Danışmanı
Doç. Dr. FATİH KAHRIMAN

ÇANAKKALE – 2021

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Fatih YAMAN tarafından yönetiminde Doç. Dr. Fatih KAHRIMAN danışmanlığında hazırlanan ve **31/08/2021** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan "**Nitelikli Mısır Genotiplerinde Tohum Canlılığının Genetik Analizi ve Canlılık Tespitinde Kullanılan Farklı Yöntemlerin Karşılaştırılması**" başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Tarla Bitkileri Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	**İmza**
Doç. Dr. Fatih KAHRIMAN (Danışman)	……
Prof. Dr. Mevlüt AKÇURA	……
Doç. Dr. Alpay BALKAN	…….

Tez No : ……..
Tez Savunma Tarihi : 31/08/2021

……
Prof. Dr. Pelin KANTEN
Enstitü Müdürü

../../2021

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

(İmza)
Fatih YAMAN
31/08/2021

TEŞEKKÜR

Tez konusunu seçmemde, tezin gerçekleştirilmesinde, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi, ve sonuçların değerlendirilmesinde bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren, bir an olsun yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Fatih KAHRIMAN'a tüm kalbi duygularımla teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın uygulanması kısmında katkılarından dolayı meslektaşım Umut SONGUR'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana inanan ve güvenen, dua ve desteklerini her daim yüreğimde hissettiğim annem Hatice YAMAN'a, babam Şaban YAMAN'a, ve eşim Esra YAMAN'a teşekkür ederim.

Fatih YAMAN

Çanakkale, Ağustos 2021

ÖZET

NİTELİKLİ MISIR GENOTİPLERİNDE BAZI TOHUM ÖZELLİKLERİNİN GENETİK ANALİZİ VE CANLILIK TESPİTİNDE KULLANILAN FARKLI YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

Fatih YAMAN
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Doç. Dr. Fatih KAHRIMAN
31/08/2021, 39

Bu çalışmada nitelikli mısır genotiplerinde bazı tohum özelliklerinin kalıtımının incelenmesi ve farklı yöntemlerin canlılık tespitinde kullanım potansiyelinin incelenmesi amaçlanmıştır. Materyal olarak yüksek yağlı ve yüksek proteinli iki farklı nitelikli mısır hattı (IHO ve IHP) ile oluşturulan 6 farklı ıslah nesli (P1, P2, F1, F2, GM1 GM2) kullanılmıştır. Kullanılan materyale ait tohumlardan (n=950) görüntüler alınmış ve tohum morfolojisine yönelik özellikler ile kırmızı, yeşil ve mavi (RGB) bantları ait piksel değerleri bu görüntülerden elde edilmiştir. Ardından yakın kızıl ötesi reflektans spektroskopisinde (NIR) spektral veriler toplanmıştır. Tohumların canlılık durumları kağıt çimlendirme testi ve tetrazolium testi (TTC) ile belirlenmiştir. Morfolojik özelliklere yönelik genetik analizler nesil ortalama analizi ile yapılmıştır. Modelleme tekniği olarak Destek Vektör Makineleri (SVM) Sınıflama ve Regresyon Ağaçları (CRT) ve Rassal Orman (RF) yöntemlerinden yararlanılmıştır. İncelenen tohum morfolojisine yönelik özelliklerin kalıtım dereceleri 0,00 ile 0,69 arasında bulunmuştur. Canlılık testi sonuçlarına göre oluşturulan sınıflama modellerinin doğruluk durumları birbirine yakındır. Buna karşın TTC testi ile canlı tohumların ölü tohumlara göre daha hassas şekilde sınıflanabileceği görülmüştür. Çalışmada değerlendirilen 36 model içerisinde NIR verileri ve morfolojik özellik verilerinin tahminleyici olarak kullanıldığı Rassal Orman modelinin nitelikli mısır genotiplerinin canlılık durumunu belirlemede en başarılı sonucu verdiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kalıtım, Tohum morfolojisi, Spektral Model, Yakın Kızıl Ötesi

ABSTRACT

GENETIC ANALYSIS OF SOME SEED TRAITS IN SPECIALITY MAIZE GENOTYPES AND COMPARISON OF DIFFERENT METHODS USED IN VIABILITY DETERMINATION

Fatih YAMAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Agricultural Field Crops

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih KAHRIMAN

31/08/2021, 39

In this study, it was aimed to examine inheritance of some seed traits in specialty maize genotypes and to investigate the potential of using different methods for viability determination. As material, 6 different breeding generations (P1, P2, F1, F2, GM1 GM2) created with two different high-fat and high-protein corn lines (IHO and IHP) were used. Images were taken from the seeds (n=950) of the material used and the characteristics of the seed morphology and the pixel values of the red, green, and blue (RGB) bands were obtained from these images. Then, spectral data were collected in near-infrared reflectance spectroscopy (NIR). The viability of seeds was determined by paper germination test and tetrazolium test (TTC). Genetic analyzes were performed with the generation mean analysis for the morphological characteristics from the collected data. Support Vector Machines (SVM), Classification and Regression Trees (CRT) and Random Forest (RF) modeling methods were used to create prediction models for seed viability. The heritability of the traits related to the seed morphology examined was found to be between 0.00 and 0.69. The accuracy of the classification models created according to the viability test results are close to each other. Viable seeds can be classified more sensitively than dead seeds with the TTC test. Among the 36 models evaluated in the study, the Random Forest model, in which NIR data and morphological trait data were used as estimators, gave the most successful result in determining the viability of speciality maize genotypes.

Keywords: Heredity, Seed morphology, Spectral Model, Near Infrared

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI……... i
ETİK BEYAN…… ii
TEŞEKKÜR…….. iii
ÖZET ……..…….…….. iv
ABSTRACT …….. v
İÇİNDEKİLER ……..…… vi
SİMGELER ve KISALTMALAR……..……. vii
TABLOLAR DİZİNİ…….…. ix
ŞEKİLLER DİZİNİ……..……...…….….. x

BİRİNCİ BÖLÜM
GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler ……....…….…..…… 1
1.2. Mısırda Tohum Morfolojisi ve Tohum Canlılığı ….……. 2
1.3. Tohum Morfolojisi ve Canlılık Analizinde Kullanılan Teknikler ...…… 3
1.4. Tohum Morfolojisinin Kalıtımı …… 4
1.5. Çalışmanın Amacı ……. 5

İKİNCİ BÖLÜM
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Tohum Morfolojisi ve Canlılığını Ele Alan Geleneksel Çalışmalar ……..... 6
2.2. Tohum Morfolojisi ve Canlılığının Belirlenmesinde Kullanılan Modern Yöntemler ……...…...…… 7

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA YÖNTEMİ/MATERYAL YÖNTEM

3.1. Materyal …….....…….….... 9
3.2. Yöntem ……..…….....…….…..... 9

3.2.1. Tohum Görüntülerinin Alınması ve Morfolojik Ölçümler ..…….. 9
3.2.2. Kağıt Çimlendirme Testi ……... 10
3.2.3. Tetrazolium Testi …….. 11
3.2.4. Spektral Ölçümler ……..... 11
3.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistik Analizler ……... 12
Genetik Analizler ……..... 12
Canlılık Tahminine Yönelik Modellerin Oluşturulması ve Değerlendirilmesi 14

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Tohum Morfolojisi ve Canlılığına Yönelik Genetik Analiz Sonuçları ……..... 15
4.1.1. Alan …….....……..... 15
4.1.2. Çevre …….....…..... 17
4.1.3. Uzunluk …….....…….. 18
4.1.4. Tohum Eni ……..... 20
4.1.5. Uzunluk/En Oranı ……..... 22
4.1.6. Dairesellik ……..... 23
4.1.7. Merkez Ağırlık Noktası ile En-Boy Kesişim Noktası Arası Uzaklık (DS)…….....…….. 25
4.2. Tohum Canlılığının Farklı Yöntemlerle Belirlenmesi ....…….…..... 26
4.2.1. Morfolojik Ölçümlere Göre Tohum Örneklerinin Özellikleri ……... 26
4.2.2. Görüntü Verilerine Göre Tohum Örneklerinin Özellikleri.....……..... 27
4.2.3. Spektral Ölçümlere Göre Tohum Örneklerinin Özellikleri.....……..... 28
4.2.4. Nitelikli Mısır Genotiplerinde Tohum Canlılığının Görüntü Verileri, Spektral Veriler ve Morfolojik Ölçümler Yardımıyla Belirlenmesi …. 29

BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ ve ÖNERİLER

5.1. Nitelikli Mısır Tiplerinde Tohum Morfolojisi ve Canlılığına Yönelik Sonuçlar 34
5.2. Tohum Canlılığının Farklı Yöntemlerle Belirlenmesi ....…….…..... 34
KAYNAKÇA ...……. 36

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Santigrat Derece
µL	Mikrolitre
CART	Regresyon ve Karar Ağaçları
CMY	Camgöbeği, macenta ve sarı
FT-NIR	Forier Dönüşümlü-Yakın Kızılötesi Reflektans
HSL	Ren tonu, doygunluk ve açıklık
HSV	Renk tonu, doygunluk, yoğunluk değeri
IHO	Illinois Yüksek Yağ
IHP	Illinois Yüksek Protein
K-NN	K-En Yakın Komşular
LS-SVM	En Küçük Kareler-Destek Vektör Makineleri
ml	Mililitre
NIRS	Yakın kızılötesi yansıma spektroskopisi
nm	Nanometre
PLS-DA	Kısmi En Küçük Karerler-Ayrım Analizi
RF	Rassal Orman
RGB	Kırmızı, yeşil, mavi
s	Saat
SIMCA	Yumuşak Sınıf Analojisinin Bağımsız Modellemesi
SVM	Destek Vektör Makineleri
TCA	Trikloroasetik asit
TTC	Tirifeniltetrazolium klorid

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	Tez çalışmasında kullanılan tohumluk materyaller	9
Tablo 2	Sınıflama sonuçlarına ilişkin istatistiklerin hesaplandığı karmaşıklık matrisi	14
Tablo 3	Tohum alanına yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler	16
Tablo 4	Tohum çevresine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler	18
Tablo 5	Tohum uzunluğuna yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler	20
Tablo 6	Tohum enine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler	21
Tablo 7	Uzunluk/En oranı ölçümlerine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler	23
Tablo 8	Tohum daireselliğine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler	24
Tablo 9	Tohum DS değerine yönelik olarak hesaplanan genetic parametreler	26
Tablo 10	Canlılık testlerine göre örneklerin morfolojik özelliklerine yönelik ortalamalarına ilişkin karşılaştırmalar	27
Tablo 11	Kağıt çimlendirme çimlendirme testi sonuçlarına dayalı oluşturulan modellere ait istatistikler	31
Tablo 12	TTC testi sonuçlarına dayalı olarak oluşturulan modellere ait istatistikler	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

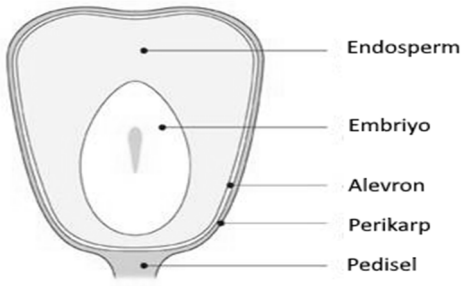
Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Mısır tanesinin kısımları	1
Şekil 2	Kağıt Çimlendirme Testi sonrası çimlenen mısır tohumlarının görüntüsü	10
Şekil 3	Tetrazolium testi sonrasında canlı (solda) ve ölü tohumların (sağda) boyanma durumları	11
Şekil 4	Tek tohum düzeyinde alınan spektral verilerin grafiksel gösterimi	12
Şekil 5	Tohum alanının popülasyonlara ve nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farkları	15
Şekil 6	Tohum çevresinin nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farkları	17
Şekil 7	Tohum uzunluğunun nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farkları	19
Şekil 8	Tohum eninin ailelere ve nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farkları	21
Şekil 9	Tohum uzunluk/en oranının ailelere ve nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farkları	22
Şekil 10	Tohum daireselliğinin ailelere ve nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farkları	24
Şekil 11	Tohum merkezi ağırlık noktasının ailelere ve nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farklar	25
Şekil 12	Çimlendirme testi ve kullanılan popülasyonlara göre canlı ve ölü tohumlara ait RGB piksel değerlerinin değişimi	28
Şekil 13	Canlılık testi (Standart çimlendirme testi: a, c ve TTC testi: b, d) ve popülasyonlara (IHO×IHP: a, b ve IHP×IHO: c, d) göre canlı ve ölü tohumlara ait reflektans ortalamalarını gösteren grafikler	29

BİRİNCİ BÖLÜM
GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Mısır bitkisi (*Zea mays* L.), Buğdaygiller (Gramineae=Poaceae) familyasında yer alan, binlerce yıldan beri tarımı yapılan temel tahıl ürünlerinden biridir. Bu bitkinin anavatanı olan Orta Amerika'dan Avrupa'ya taşınması, Kristof Kolomb'un Yeni Dünya'yı keşfetmesi sonucunda İspanya'ya mısır tohumlar ile dönmesiyle gerçekleşmiştir (Jugenheimer, 1958; Dowswell vd., 1996).

Mısır bitkisi birim alan verimi bakımdan tahıllar arasında ilk sırada gelmektedir. Vejetatif gelişim çok yüksek olması sebebiyle birim alandan daha fazla sindirilebilir enerji üretimine olanak sağlamaktadır. Yağ ve nişasta oranı yüksek, selüloz oranı düşük bir tahıl cinsi olması mısır tanelerinin diğer tahıllara göre daha lezzetli bir yem kaynağı olarak hayvanlar tarafından sevilerek tüketilmektedir. Ayrıca silaj olarak da değerlendirilen mısır yüksek enerji değeri sebebiyle yarı konsantre yem olarak kabul edilmektedir. Mısır tanesi endosperm, embriyo, alevron, pedisel ve perikarp kısımlarından oluşmaktadır (Şekil 1). Normal mısır tanesi yaklaşık olarak %73 oranında nişastaya sahiptir. Bu nişastanın %93-96'sı daneden alınabilmekte ve birçok endüstri alanında kullanılabilmektedir (Kırtok, 1988). Nitelikli mısır genotipleri ise normal mısırlara göre protein ve yağ oranı gibi tane biyokimyasal özellikleri bakımından farklılık göstermektedir (Kahrıman vd. 2015). Tane biyokimyasındaki bu farklılıklar nitelikli mısır genotiplerinin tane morfolojilerinin de normal mısır genotiplerinden farklılık göstermesine neden olmaktadır.



Şekil 1. Mısır tanesinin kısımları (https://m.carolina.com/teacher-resources/Interactive/using-carolina-corn-ears-to-teach-genetic-imprinting/tr28902.tr)

1.2. Mısırda Tohum Morfolojisi ve Tohum Canlılığı

Tohum morfolojisi doğrudan mısırda verime etki eden özellikler arasındadır (Liu vd., 2019). Bilimsel çalışmalarda en fazla çalışılan özellik grupları içerisinde bu özellikler yer almaktadır (Chen vd., 2016). Bunun temel nedeni hem koçan hem de tane morfolojisindeki değişimlerin mısırda tane verimi üzerine etkili olmasıdır. Farklı alanlarda kullanılan mısırda ihtiyaç duyulan ürün miktarının karşılanması için yüksek verimli çeşitlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, mısır ıslah çalışmalarının temel amaçlarının başında verimin arttırılması gelmektedir. Mısırda tane verimi koçanların büyüklüğüne şekline ve sayısına bağlıdır. Islah çalışmalarında daha yüksek verim elde edebilmek için kullanılacak olan çeşitlerin seçiminde verime etki eden özelliklerle ilgili ölçüm ve gözlemlerin yapılarak çeşit belirlenmesi gerekmektedir. Koçan ve tane özellikleri mısırda verime doğrudan etki eden özelliklerdir. Bu özellikler bitki başına elde edilen koçan sayısı, bir koçandan elde edilen tane sayısı, tane uzunluğu ve tane genişliğidir (Liang vd., 2016).

Tohum canlılığı, hücrenin ve bunların oluşturduğu embriyonun yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmelerini ifade eder ve tohum kalitesinde ana unsurdur. Tohumun biyolojik rolü, embriyodaki hücreleri fide oluşuncaya kadar geçen süre boyunca korumak ve beslenmesini sağlamaktır. Tohum canlılığı depolama şartları ve genetik faktörler etkisiyle değişebilen tarımsal açıdan önemli unsurlardan birisidir (Palabıyık vd., 2006). Tohum canlılığı ve çimlenmesi tarla tarımında kullanılan tohumlukların tamamında olduğu gibi mısırda da önemli bir husustur. Tohum canlılığını ve çimlenme gücü veya hızını tespit etmek amacıyla farklı tekniklerden yararlanılmaktadır. Bu tekniklerin uygulanma biçimleri veya işlem basamakları bakımından farklılıklar mevcuttur. Bu kapsamda temel olarak fiziksel, fizyolojik ve biyokimyasal testler başlıklarında gruplandırılmaktadır. Son yıllarda spektroskopik teknikler de tohum canlılığının tespit edilmesi amacıyla bilimsel çalışmalara konu olmuştur. Spektroskopik ölçümler ile tohum canlılığının belirlenebilmesi, ıslah çalışmaları ve konvansiyonel tarım açısından ekstra önem taşımaktadır. Kullanılan diğer kimyasal testlere göre pratik, hızlı ve maliyet açısından daha uygundur. Aynı zamanda ıslah çalışmalarında kullanılacak az miktarda bulunan tohumların çalışmaya başlamadan önce canlılık durumlarını belirlemek ıslah çalışmalarında doğru bir yol haritası belirlemek açısından önemlidir.

1.3. Tohum Morfolojisi ve Canlılık Analizlerinde Kullanılan Teknikler

Tohum morfolojisi ve canlılık analizlerinde temel olarak kullanılan yöntemleri iki başlık altında toplamak mümkündür. Bunlar;

-Klasik ölçüm yöntemleri

-Modern ölçüm yöntemleridir.

Yukarıda belirtilen yöntemleri tohumun morfolojik özelliklerinin belirlenmesi ve canlılık durumunun tespitine yönelik olarak ayrı ayrı değerlendirmek gereklidir. Tohum morfolojisine yönelik klasik ölçümler daha çok tek tohum ağırlığını, tohum eni, tohum boyu gibi özelliklerdir. Bu özelliklere yönelik yapılan ölçümler tek tohum ağırlığı ölçebilecek hassas teraziler ve dijital kumpas gibi araçlarla yapılabilmektedir. Ancak bu şekilde yapılan ölçümler uzun zaman alan ve yüksek iş gücü gerektiren yöntemlerdir. Sayısallaştırma ve modelleme yöntemlerinin geliştirilmesiyle birlikte dijital teknolojilerin kullanılması, tohum şeklinin daha iyi tanımlanmasını sağlamıştır. Tohum boyutu ve şeklinin otomatik olarak belirlenmesinde kullanılan görüntü işleme sistemleri, çeşitlilik çalışmalarında temel bir araç haline gelmiştir (Cervantes vd., 2016).

Tohum canlılığını belirlemede kullanılan klasik yöntemler ise genel olarak laboratuvar şartlarında yapılan çimlendirme ve canlılık testlerine dayanmaktadır. Bu testlerden bazıları kağıt çimlendirme testi ve tetrazolium testi gibi testlerdir (Patil ve Dadlani, 2009). Kağıt çimlendirme testi tohum analiz laboratuvarlarında en fazla kullanılan testlerdendir. Bu nedenle kağıt çimlendirme testi standart test olarak kabul edilmektedir. Bu test uygulanırken canlılık durumu belirlenecek tohum örnekleri nemlendirilmiş çimlendirme kağıdına yerleştirilir ve ikinci bir kağıt ile üzeri kapatılarak uygun sıcaklıkta 4-7 gün arasında tohum örneklerinin çimlenme durumları izlenir. Bu test petri kaplarında yapılabileceği gibi yüksek sayıdaki tohum örneklerinin kullanıldığı durumlarda tohumların yerleştirildiği çimlendirilme kağıtları rulo haline getirilerek te yapılabilmektedir. Bu kısımda klasik yöntemleri biraz daha açıklamak gerekir. Klasik çimlendirme testlerinden olan Tetrazolium testi ise biyokimyasal bir testtir. Bu testte kullanılan 2-3-5-Triphenyl Teterazolium Chloride kimyasalı canlı embriyo ile etkileşime girerek formazan adı verilen ve koyu kırmızı renkli bir bileşiğin oluşmasına imkân verir (Patil ve Dadlani, 2009). Bu renk değişiminden yararlanılarak tohum örneklerinin canlılık durumu belirlenebilmektedir. Tetrazolium testi uygulanırken kullanılacak kimyasal solüsyonunun konsatrasyonu bitki

türüne %0,75 ile %1 arasında değişebilmektedir. Testin uygulanışı basittir ancak canlılık durumunun belirlenmesi için tohumların kimyasal uygulaması öncesi veya sonrasında dikine kesilmesi ve embriyo dokusunun boyanma durumunun gözlenmesi gerekmektedir. Her iki klasik yöntemde de yüksek iş gücü ve zaman harcanmaktadır.

Tohum canlılığını belirlemek için geliştirilen modern yöntemler arasında, görüntü analizleri önemli alternatiflerden biridir. Görüntü analizlerinde kısa sürede tohumların morfolojik özellikleri tespit edilerek kusurlu tohumlar ayırt edilebilir. Renk tonu, doygunluk, yoğunluk değeri (HSV) veya ton, doygunluk ve açıklık (HSL) veya camgöbeği, macenta ve sarı (CMY) gibi görüntü analizinde kullanılan birkaç farklı yöntem vardır (Dell'Aquila, 2009). Kırmızı, yeşil ve mavi (RGB) bantlardaki ölçümlere yaklaşımlar bu alanda yaygınlaşmaya çalışmaktadır. RGB verilerini elde etmek ve dijitalleştirmek daha kolaydır ve özel bir cihaza ihtiyaç duyulmamaktadır. Bilimsel çalışmalar, canlılığın RGB verilerine dayalı olarak belirlenmesinin bitki tohumu örneklerinde başarılı sonuçlar verdiğini ortaya koymuştur (Dell'Aquila, 2006). Diğer taraftan spektral ölçümler yardımıyla tohum canlılığın belirlenebileceği yapılan çeşitli araştırmalarda belirlenmiştir (Agelet vd., 2012; Qui vd., 2018). Bu çalışmalarda bilgisayar öğrenmesi yaklaşımlarına dayalı modelleme tekniklerinin kullanımı sınıflama başarısını önemli ölçüde artırmıştır. Bilgisayar öğrenmesi temelli yaklaşımlar klasik modelleme tekniklerine kıyasla otomasyona daha uygunluk gösteren ve tahminleyici değişken olarak kullanılan veri ile bağımlı değişken arasındaki doğrusal olmayan ilişkileri daha net şekilde bağlayabilen yaklaşımlardır. Bu nedenle son yıllarda hem görüntü işleme hem de spektral analiz yöntemlerinde yaygın olarak kullanılmaya başlamışlardır.

1.4. Tohum Morfolojisinin Kalıtımı

Mısırın kültüre alınma sürecinde tohum morfolojisinde meydana gelen değişimler oldukça belirgindir. Islah süreci içerisinde yabani türlerle kıyaslandığında mısır tanesinde karbonhidrat içeriği artmış ve protein içeriği düşüş göstermiştir (Flint-Garcia vd. 2009). Tane biyokimyasında meydana gelen bu değişim tane morfolojisine de yansımıştır. Geliştirilen yeni çeşitler eski genotiplere göre daha iri taneli hale gelmiştir. Aynı zamanda kullanım amacına göre de yeni varyeteler oluşmuş ve mısır tohumunun morfolojik özellikleri de buna göre değişim göstermiştir. Zaman içerisinde mısır ıslah çalışmalarında

önemli amaçlardan birisi haline gelen tohum biyokimyasında olan değişimler de tohum morfolojisine doğrudan veya dolaylı olarak etki etmiştir. Mısırda tane iriliğinin özellikle ilk gelişme dönemine olan etkilerinin anlaşılması (Tabakovic vd., 2020) mısırda tohum morfolojisinin kalıtımına yönelik çalışmaların yapılmasını gerekli kılmıştır. Literatürde bu konuda farklı araştırmalara rastlanmakta olup, hem klasik hem de modern analiz yöntemleri kullanılarak tohum morfolojisinin genetiğine yönelik çeşitli çalışmaların olduğu görülmektedir (Boćanski vd. 2004; Yang vd. 2016; Zhang vd. 2016; Nugroho vd. 2018). Mısırda tohum morfolojisi ve iriliğine yönelik yapılan klasik ıslah metotlarına dayalı çalışmalar diğer bitki türleri ile kıyaslandığında sınırlı kalmıştır. Özellikle tane biyokimyası bakımından farklılık gösteren yüksek yağlı, yüksek proteinli mısır genotiplerinde bu gibi araştırmalara rastlamamıştır.

1.5. Çalışmanın Amacı

Bu tez çalışmasında iki farklı nitelikli ebeveynle oluşturan nesil setine ait tohumlar kullanılarak aşağıdaki amaçlara yönelik olarak çalışmalar yürütülmüştür.

i) Nitelikli mısır genotiplerinde tohum morfolojisi ve canlılığının kalıtımının incelenmesi.

ii) Nitelikli mısır genotiplerine ait tohumlarda çimlenme ve canlılık durumları standart çimlendirme testi ve Tetrazolium testi ile belirlenerek, tohum örneklerine ait görüntü verileri, spektral ölçümler ve tohum morfolojisine ilişkin ölçümlere dayalı olarak canlılık durumunun tespit edilip edilemeyeceğinin araştırılması.

İKİNCİ BÖLÜM
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Tohum Morfolojisi ve Canlılığını Ele Alan Geleneksel Çalışmalar

Van De Verter ve Lock (2013) mısır tohumlarında canlılık ve çimlenme durumunu farklı testlerle ele aldıkları çalışmada, düşük sıcaklıkta çimlenme testi (13 °C), hızlandırılmış yaşlanma testi, soğuk toprak testi ve ozmotik stres testine ilişkin sonuçları karşılaştırmışlardır. Araştırmada kullanılan tohumlar yapay yaşlandırmaya da tabi tutulmuş ve kullanılan testler ile tohum canlılıkları incelenmiştir. Karşılaştırılan testler içerisinde tarlada çimlenme durumu tespit etmek amacıyla en iyi sonuçlar düşük sıcaklık çimlenme testinden elde edilmiştir.

Yusuf vd. (2014) mısır bitkisinde tohum iriliğinin çimlenme ve büyüme üzerine etkisini incelemek amacıyla bir araştırma yürütmüşlerdir. Çalışmada farklı tohum iriliklerindeki örnekler 3 haftalık çimlenme testine tabi tutulmuştur. Çalışma bulguları iri mısır tohumlarında çimlenme ve büyümenin diğer tohum gruplarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Oskouei ve vd. (2014) tek melez hibrit çeşitleri üzerinde yapay yaşlandırma uygulamaları yapmış ve tohum iriliğinin tohum canlılığı üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmada %100 nem'li ortamda 5 farklı sürede (72 s, 96 s, 120 s ve 144 s) tohumlar yaşlandırma uygulamasına tabi tutulmuştur. Araştırma sonuçları yaşlandırma uygulamasının çimlenme ile ilgili özellikler üzerine önemli bir etkisinin olduğunu göstermiştir. Tohum şeklinin normal çimlenme oranına önemli bir etkisinin olmadığını rapor eden araştırmacılar, yuvarlak tohumların diğer tohumlardan (orta ve düz) daha düşük çimlenme oranına sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Sivritepe vd. (2016) mısır tohumlarında enerji ve canlılık arasındaki en yüksek kolerasyonu belirlemek için farklı canlılık testlerini kullanmıştır. Tohumlar irilik bakımından altı farklı kalibrasyonda incelenmiştir. Tohum şekli ve tohum büyüklüğü nedeniyle hem çimlenme hem de canlılık testlerinde; özellikle, düz biçimli tohumların

canlılık ve canlılık seviyeleri, tohum büyüklüğüne bakılmaksızın yuvarlak biçimli tohumlardan daha yüksek olarak belirlenmiştir.

Del Edigo vd. (2017) tohum canlılığını değerlendirmek için yayınlanmış yöntemlerin karşılaştırmalı bir analizini yapmıştır. Bir model arpa tohumlarında (*Hordeum vulgare* cv. Optic) tohum partilerinin 2,3,5- tirifeniltetrazolium klorid (TTC) kullanılarak analizler yapılmıştır. %10 [a / h] trikloroasetik asit (TCA) / metanolün asetondan daha üstün olduğunu tespit edilmiştir.

Kadapi vd. (2018) şeker mısırda tohum iriliğinin depolama sonrasında çimlenme kapasitesini ele aldığı çalışmada tohum örneklerini ağırlık olarak iki grubu ayırmıştır. Araştırmada 100 tohum ağırlığı üzerinden küçük ve büyük tohum grupları oluşturulmuş ve bu tohumların nem içerikleri ile çimlenme oranları belirlenmiştir. Çalışma sonucunda tohum iriliğinin nem içeriği ve çimlenme oranı ile doğrusal ilişkisinin olduğu bulunmuştur. Tohum ağırlığı ile çimlenme oranı arasında ise düşük bir korelasyon olduğu vurgulanmıştır.

2.2. Tohum Morfolojisi ve Canlılığının Belirlenmesinde Kullanılan Modern Yöntemler

Tanabata vd. (2012) SmartGrain programını ıslah çalışmaları öncesinde tohumların hazırlanmasında ve görüntü yakalamada geçen süreyi azaltmak için yeni bir yöntem olarak kullanılmıştır. Elde edilen dijital görüntülerden tohumların ana hatları otomatik olarak tanır ve tohum uzunluğu, genişliği, alanı ve çevre uzunluğu gibi çeşitli parametreleri hesaplar. Programda kullanılan yazılımın doğruluğunu kanıtlamak amacı ile tohum şeklinde küçük farklılıklar gösteren çeşitler seçilerek tohum şekli için kantitatif özellik lokus analizi gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizde alınan sonuçla tanımlama ve ölçümlerin doğruluğu ispatlanmıştır.

Agelet vd. (2012) tarafından ısı ve don zararı canlılık durumu değişmiş mısır tohumlarını ayırt etmek için yakın kızılötesi spektroskopisi (NIRS) kullanılarak kısmi en küçük kareler diskriminant analizi (PLS-DA), yumuşak sınıf analojisinin bağımsız modellemesi (SIMCA), en yakın komşular (K-NN) ve en küçük kareler-destek vektör

makineleri (LS-SVM) yöntemleri kullanılarak anormal veya ölü tohumları test edilmiştir. Araştırma sonucunda, zarar görmüş mısır tohumları en iyi (%99) PLS-DA ile ayırt edildiği vurgulanmıştır.

Qui vd. (2018) tatlı mısır tohumlarında canlı ve canlı olmayan tohumları ayırt etmek için 1000 ile 2500 nm aralığında yakın kızılötesi (FT-NIR) spektroskopisi kullanmışlardır. Kısmi en küçük kareler ayırma analizi (PLS-DA) ile birleştirilmiş çeşitlilerin sınıflandırma modellerinin performansını test etmek için uygulanmıştır. FT-NIR spektroskopisinde ısıyla zarar verilmiş ve yapay olarak yaşlandırılmış taneler için doğru sınıflandırma oranı % 98 e ulaşmış. Çok değişkenli veri analizi yöntemleri ile FT-NIR tekniği hızlı ve büyük kapasite potansiyeli gösterdiği belirlenmiştir.

Liang ve vd. (2016) 12 mısır tohum özelliğinin görüntü işleme ve otomatik kontrol tekniklerine dayalı otomatik ölçüm yapması için yeni bir sistem geliştirmişlerdir. Bu geliştirilen sistemin performansını değerlendirmek amacıyla 615 örnek üzerinde deneme yapılmıştır. Yapılan kontroller sonucunda mısır ıslah çalışmalarında yardımcı bir araç sağlayacağı kanaatine varılmıştır.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM
MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmada materyal olarak yüksek yağlı (IHO) ve yüksek proteinli (IHP) iki hattın resiproklu melezlerine ait 6 nesillik bir ıslah seti kullanılmıştır. Bu materyaller Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümünde 2015 ve 2016 yıllarında kurulan tohumluk denemelerinden elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan genotiplerle ilgili bilgiler Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1
Tez çalışmasında kullanılan tohumluk materyaller

Nesil	Popülasyon 1 (IHP×IHO)	Popülasyon 2 (IHO×IHP)
P1 (Ana Ebeveyn)	IHP	IHO
P2 (Baba Ebeveyn)	IHO	IHP
F1	IHP×IHO	IHO×IHP
F2	IHP×IHO	IHO×IHP
GM1 (F1'in Ana İle Geri Melezi)	(IHP×IHO) ×IHP	(IHO×IHP) ×IHO
GM2 (F1'in Baba İle Geri Melezi)	(IHP×IHO) ×IHO	(IHO×IHP) ×IHP

3.2. Yöntem

3.2.1. Tohum Görüntülerinin Alınması ve Morfolojik Ölçümler

Tohum görüntüleri bir masaüstü tarayıcı (HP 3970, HP Development Company, L.P.) kullanılarak her popülasyondan 300 dpi çözünürlükte görüntülenmiştir. Bu görüntülerde, popülasyon sırası ve tohum numaraları, görüntü işleme analizinde kullanılmak üzere bir Excel dosyası olarak kaydedilmiştir. Bu çalışmada farklı veri setlerini elde etmek için

tohum görüntüleri kullanılmıştır. İlk veriler, tohum örneklerinin morfolojik özelliklerinin belirlenmesi için SmartGrain yazılımındaki analizlerden elde edilmiştir (Tanabata vd., 2012). SmartGrain yazılımı, alan, çevre, uzunluk, genişlik, dairesellik (CS), uzunluk-genişlik oranı (LWR), uzunluk ve genişlik kesişimi (IS), ağırlık merkezi (CG) ve IS ve CG arasındaki mesafe gibi parametreler hesaplanmıştır. Bu veriler, mevcut çalışmanın modelleme adımında morfolojik veriler (M) olarak anılmıştır. İkinci veri, tohum canlılığı ile ilişkili RGB bant değerleri hakkındadır. RGB bant değerlerini elde etmek için her görüntü ImageJ yazılımına (Schneider vd., 2012) aktarılmış ve her bir tohumdan RGB bant değerleri çıkarılmıştır. Bu veriler, modelleme aşamasında RGB verisi olarak kullanılmıştır.

3.2.2. Kağıt Çimlendirme Testi

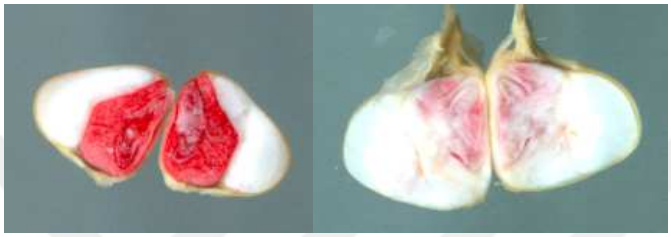
Tohumlar, numune numaralarına göre çimlendirme kağıdına dizilmiştir. Çimlenme kağıtları, ticari çamaşır suyu içeren saf su (500 µL/L) ile nemlendirilmiştir. Kağıtlar yuvarlanmış ve nem kaybını önlemek için kilitli poşetlere konulmuştur. Daha sonra numuneler çimlenme için 25 ° C'de 7 gün bir çimlendirme kabininde tutulmuştur (ISTA.,2006). Yedi günün sonunda filizlenmiş ve filizlenmemiş tohumlar belirlenmiş (Şekil 2) ve Excel dosyasına kaydedilmiştir.



Şekil 2. Kağıt çimlendirme testi sonrası çimlenen mısır tohumlarının görüntüsü

3.2.3 Tetrazolium Testi

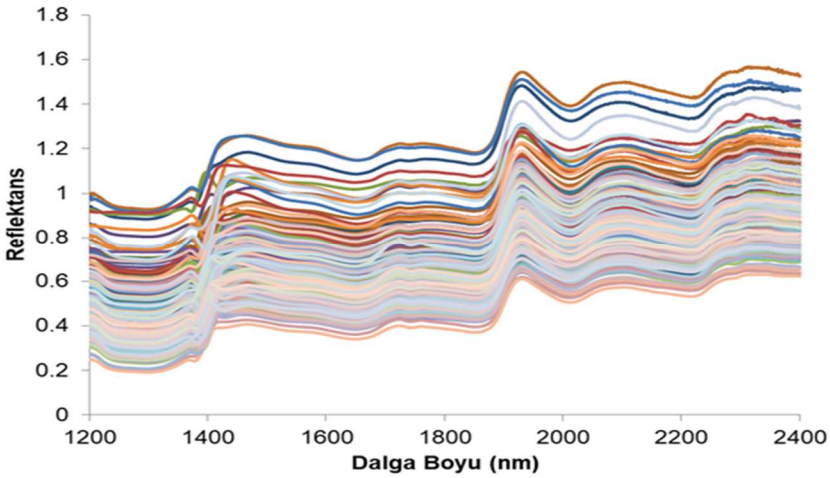
Tohumlar 12 saat musluk suyu ile doldurulmuş 5 ml'lik tüplerde tutulmuştur. Daha sonra tohumlar tüplerden çıkarılmış ve embriyo kısmına dik olarak ikiye bölünmüştür. Daha sonra tohumlar 5 ml lik plastik tüplere yerleştirilmiş ve 3 ml tetrazolium çözeltisi (%1) ilave edildikten sonra 30 °C 'de 6 saat su banyosunda inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra örnekler göze göre skorlanmıştır. Embriyo bölgesinin boyanmasına göre (Şekil 3) tohumların durumu canlı ve cansız olarak kaydedilmiştir.



Şekil 3. Tetrazolium testi sonrasında canlı (solda) ve ölü tohumların (sağda) boyanma durumları

3.2.4 Spektral Ölçümler

Bu çalışmada 1200-2400 nm dalga boyu aralığında 1 nm sıklıkla her bir tohumdan ayrı ayrı spektral veriler alınmıştır. Spektral veriler alınırken tohumların embriyo tarafından veriler toplanmış ve bu amaçla NIR spektroskopi aletinde (Spectrastar 2400D, Unity Scientific, ABD) tek tohum ölçümüne uygun özel bir numune kabı kullanılmıştır. Toplanan spektral veriler grafiksel olarak Şekil 4'te gösterilmiş olup, her bir tohuma verilen aynı kodla kaydedilmiştir. Bu spektrum dosyaları birleştirilerek modelleme çalışmalarında kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir. Bu veri seti NIR veri seti olarak çalışmada sunulmuştur.



Şekil 4. Tek tohum düzeyinde alınan spektral verilerin grafiksel gösterimi

3.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistik Analizler

Genetik Analizler

Çalışmada tohum morfolojisi ve canlılığı ile ilgili genetik analizlerde SAS V8 paket programında (SAS Institute, 1999) geliştirilmiş iki farklı makro (Gusmini ve Wehner, 2007) kullanılmıştır. Nesil Ortalama Analizi (NAO) ile ilgili hesaplamaları veren bu makrolar yardımıyla hesaplanan parametreler aşağıda sunulmuştur.

Geniş Anlamda Kalıtım Derecesi: Geniş (H2) derecesi toplam varyans (VarP) içerisinde genetik varyansın (VarG) payı olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplama aşağıdaki formüle göre gerçekleştirilmiştir.

$$Geniş\ Anlamda\ Kalıtım\ Derecesi\ (H2) = \frac{VarG}{VarP} \qquad (3.1)$$

Gen Etkilerinin Tahmini: İncelenen özelliklerde eklemeli (a), dominans (d) ve epistatik interaksiyonlara (aa+ad+dd) ilişkin tahminlemeler yapılmıştır ve gen etkilerine ilişkin hesaplamalar aşağıdaki formüllere göre gerçekleştirilmiştir.

$$Ortalama\ (m) = mF2 \qquad (3.2)$$

$$Eklemeli\ Etki\ (a) = mGM1 - mGM2 \quad (3.3)$$

$$Dominans\ Etki\ (d) = (0{,}5xmP1) - (0{,}5xmP2) + mF1 - (4 * mF2) + (2xmGM1) + (2xmGM2) \quad (3.4)$$

$$Eklemeli + Eklemli\ Epistatis\ (a + a) = -(4xmF2) + (2xGM1) + (2xGM2) \quad (3.5)$$

$$Eklemeli + Dominans\ (a + d) = 0{,}5xmP1 + 0{,}5xmP2 + mGM1 - mGM2 \quad (3.6)$$

$$Dominans + Dominans\ (d + d) = mP1 + mP2 + (2xmF1) + (4xmF2) - [4x(mGM1 + mGM2)] \quad (3.7)$$

Formüllerde; mF2 F2 nesline ait ortalamayı, mP1 ana ebeveyn ortalamasını, mP2 baba ebeveyn ortalamasını, mF1 F1 nesline ait ortalamayı, mGM1 ana ebeveynle yapılan geri melez ortalamasını, mGM2 baba ebeveynle yapılan gerimelez ortalamasını göstermektedir.

Nesil ortalama analizi sonucunda gen etkilerine ait hesaplamaların önemlilik durumları ve işaretlerine göre incelenen özelliğin katılımına yönelik çıkarımlar yapılabilmektedir. Bu analizde eklemeli gen etkilerinin işareti ana ebeveyn olarak seçilen genotip ile ilgilidir (Cukadar-Olmedo ve Miller, 1997). Eklemeli gen etkilerinin (a) negatif işaretli olması, ana ebeveynin baba evyenden düşük ortalamaya sahip olduğuna işaret etmektedir. Bu etkinin pozitif işaretli olması ise bu durumun tam tersini göstermektedir. Analiz sonucunda dominans etkilerin negatif bulunması baskın fenotipin olumsuz etkiye sahip alleleri taşıdığına işaret ederken, bu durumun tersinde ise olumlu allellerin dominant fenotipte toplandığına işaret etmektedir. Epistatisk inetraksiyonlardan dominans+dominans etkiler ile dominans etkilerin işaretlerinin aynı yönde olması komlimenter epistasisi, zıt yönde olması ise duplike epistatisin varlığını göstermektedir (Mather ve Jinks, 1982). Eklemeli+eklemeli etkilerin işaretleri allel dağılımları hakkında fikir vermektedir. Eklemeli+eklemeli etkilerin işareti negatif ve önemli bulunmuş ise, bu durum ebeveynlerde allelik dağılımların eşit olduğuna, pozitif ise istenen allelerin bir ebeveynde yoğunlaştığına işaret etmektedir (Mather ve Jinks, 1982).

İncelenen özelliklerin nesillere göre genel ortalamadan farkını test etmek amacıyla t testinden yararlanılmıştır. Her nesile ait ortalama ilgili özelliğin genel ortalamasından farkı t testi ile kıyaslanmış ve sonuçlar grafiksel olarak gösterilmiştir. Popülasyonlar ile canlılık testlerinin genel ortalamaları da t testi ile kıyaslanmıştır.

Canlılık Tahminine Model Yönelik Modellerin Oluşturulması ve Değerlendirilmesi

Çalışmada tohumların canlılık durumlarını belirlemeye yönelik oluşturulan modellerde morfolojik ölçüm sonuçları, RGB verisi ve spektral veriler canlılık durumunun belirlenmesinde tahminleyici değişken olarak, canlılık testi sonucunda elde veriler ise bağımlı değişken olarak kullanılmıştır. Morfolojik (M), görüntü verisi (RGB) ve spektral veri (NIR) setleri 6 farklı kombinasyon halinde modellerde tahminleyici olarak kullanılmıştır. Modelleme tekniği olarak Sınıflama ve Regresyon Ağacı (CART), Destek Vektör Makineleri (SVM) ve Rassal Orman (RF) yöntemleri kullanılmıştır. Modeller R paket programının (R Core Team, 2019) rattle paketi kullanılarak geliştirilmiştir. Çalışmadan elde tohum ayrım sonuçlarına ilişkin sınıflama değerleri aşağıdaki tabloda sunulan matrise dayalı olarak 3.8, 3.9, 3.10 nolu formüllere göre değerlendirilmiştir. Bu istatistikler R paket programının (R Core Team, 2019) caret paketi kullanılarak hesaplanmıştır. Bu matriste TP: model tarafından doğru olan sınıflanan ve gerçekçe canlı olan tohum sayısını, TN: model tarafından canlı sınıflanan ölü tohum sayısını, FN: model tarafından ölü olarak sınıflanan canlı tohum sayısını, FN ise model tarafından doğru sınıflanan ölü tohum sayısını göstermektedir.

Tablo 2
Sınıflama sonuçlarına ilişkin istatistiklerin hesaplandığı karmaşıklık matrisi

	Gerçek Grup	
Model Tahmini	Canlı	Ölü
Canlı	TP	TN
Ölü	FN	FP

$$\text{Duyarlılık}=TP/TP+FN \quad (3.8)$$

$$\text{Özgüllük}=FP/TN+FP \quad (3.9)$$

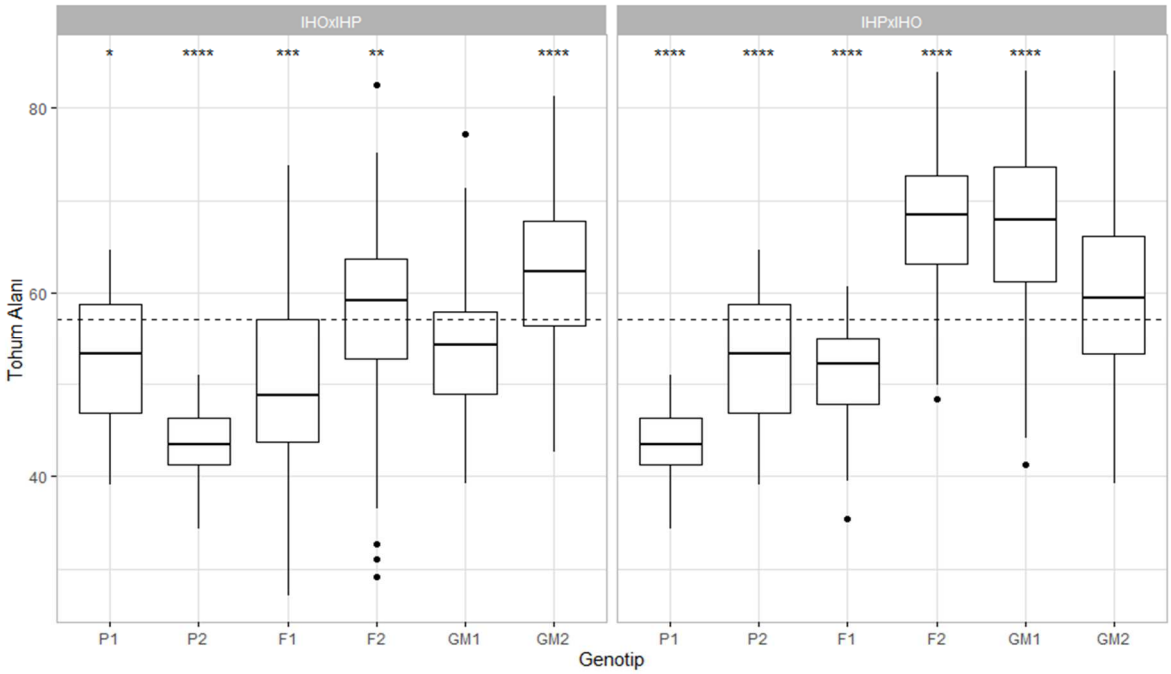
$$\text{Doğruluk}=TP+FP/TP+TN+FN+FP \quad (3.10)$$

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Tohum Morfolojisi ve Canlılığına Yönelik Genetik Analiz Sonuçları

4.1.1. Alan

Tohum alanı ölçümlerinin popülasyonlara göre nesil düzeyindeki değişimleri Şekil 5'te gösterilmiştir. IHO×IHP melezine ilişkin popülasyonda GM1 nesli hariç diğer nesillerin tohum alanı ortalamasının genel ortalamadan farklı olduğu gözlenmektedir. P1, P2, F1 nesillerinin tohum alanı ortalaması genel ortalamanın altında, F2 ve GM2 nesillerinin ise ortalaması genel ortalamanın üstünde olduğu gözlenmiştir. IHP×IHO melezinde ise GM2 neslinin dışındaki nesillerin tohum alanı ortalamaları genel ortalamadan farkı istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Bu melezde de P1, P2 ve F1 nesillerinin tohum alanı ortalaması genel ortalamanın altında diğer nesillere ait ortalama ise genel ortalamanın üzerinde bulunmuştur.



Şekil 5. Tohum alanının popülasyonlara ve nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farkları

Tohum alanına yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler Tablo 3'te gösterilmiştir. IHP×IHO popülasyonunda eklemeli (a), eklemeli+dominans (a+d) ve dominans+dominans (d+d) etkilerin tohum alanı üzerine etkisinin önemli olduğu gözlenmiştir. Bu etkiler içerisinde d+d hariç diğer gen etkileri pozitif yönde hesaplanmıştır. IHPxIHO popülasyonunda d ve d+d etkilerinin işaretleri zıt olduğundan bu popülasyonda tohum alanı için duplike epistatis olduğu anlaşılmaktadır. IHO×IHP popülasyonunda önemli bulunan tüm gen etkilerinin işaretleri negatif bulunmuştur. Ana etkilerden a, d ve epistatik interaksiyonlardan a+a ve a+d etkileri istatistiki öneme sahiptir. Bu popülasyonda d ve d+d etkilerinin işaretlerine göre tohum alanı için komlimenter epistatis olduğu görülmektedir. Geniş anlamda kalıtım derecesi her iki popülasyonda da yakın değerde hesaplanırken dar anlamda kalıtım derecesinin IHO×IHP popülasyonunda daha yüksek olduğu dikkat çekmiştir.

Tablo 3.

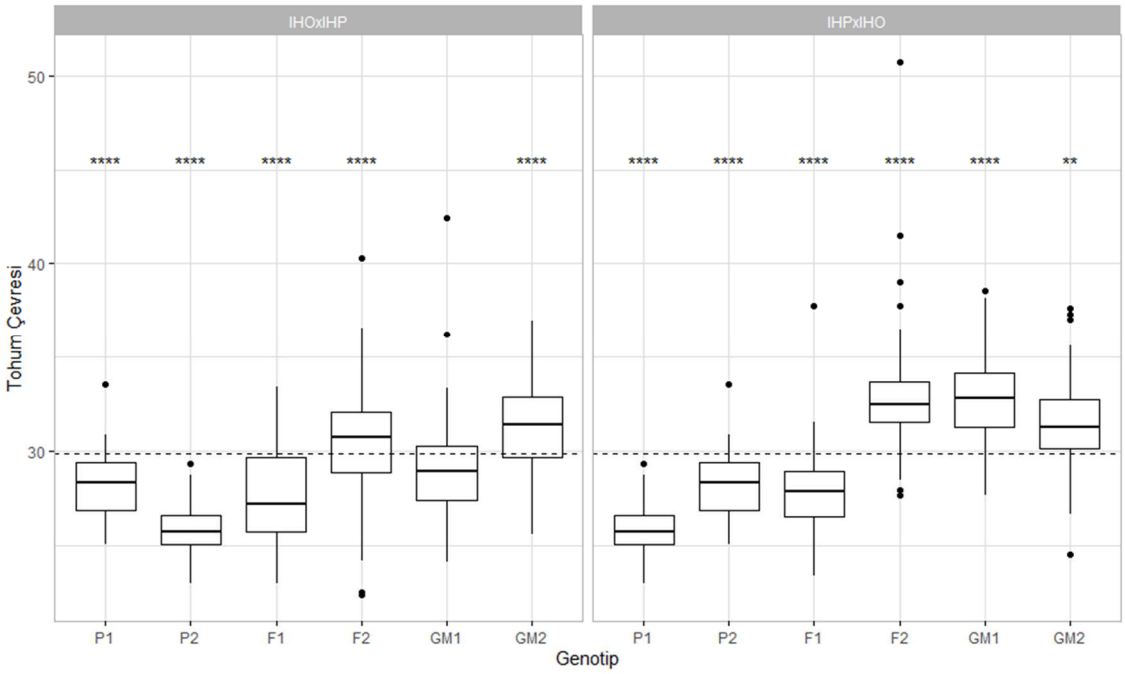
Tohum alanına yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler

Parametre	Popülasyon 1 (IHPxIHO)	Popülasyon 2 (IHOxIHP)
m	68,0**	57,7**
a	6,45**	-8,27**
d	-13	3,00
a+a	-16,4	0,77
a+d	10,8**	-12,6**
d+d	-41,1*	-36,7*
H^2	0,62	0,00

Not: Tabloda m: F2 nesline ait ortalamayı, a: Eklemeli gen etkisini, d: Dominans gen etkisini, aa: Eklemeli + Eklemeli gen etkisini, ad: Eklemeli+Dominans gen etkisini, dd: Dominans+Dominans gen etkisini, H^2: Geniş anlamda kalıtım derecesini göstermektedir. *P<0,05, **P<0,01.

4.1.2. Çevre

Popülasyonlara ait nesillerde tohum çevresinin değişimi Şekil 6'da gösterilmiştir. IHOxIHP melezine ilişkin popülasyonda GM1 nesline ait çevre ortalaması önemsiz bulunmuştur. Diğer nesillerin çevre ortalamaları genel ortalamadan farklı olduğu gözlemlenmiştir. P1, P2 ve F1 nesillerine ait çevre ortalaması genel ortalamanın altında, F2 ve GM2 nesillerinin ortalaması genel ortalamanın üstünde olduğu gözlenmiştir. IHP×IHO melezine ilişkin popülasyondaki bütün nesillerin tohum çevre ortalamaları genel ortalamadan farkı istatiksel olarak önemli bulunmuştur. P1, P2 ve F1 nesillerinin tohum çevre ortalaması genel ortalamanın altında olduğu, F2, GM1 ve GM2 nesillerine ait tohum çevre ortalamasının genel ortalanın üstünde olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 6. Tohum çevresinin nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farkları

Tohum çevresine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler Tablo 4'te gösterilmiştir. IHP×IHO popülasyonunda eklemeli (a), eklemeli+dominans (a+d) ve dominans+dominans (d+d) etkilerin tohum çevresi üzerine etkisinin önemli olduğu gözlenmiştir. Bu etkiler içerisinde dd hariç diğer gen etkileri pozitif yönde hesaplanmıştır. IHP×IHO popülasyonunda d ve d+d etkilerinin işaretleri zıt olduğundan bu popülasyonda

tohum çevresi için duplike epistatis olduğu anlaşılmaktadır. IHO×IHP popülasyonunda önemli bulunan tüm gen etkilerinin işaretleri negatif bulunmuştur. ana etkilerden a ve epistatik interaksiyonlardan a+a ve a+d etkileri istatistiki öneme sahiptir. Bu popülasyonda d ve d+d etkilerinin işaretlerine göre tohum çevresi için komplimenter epistatis olduğu görülmektedir.

Tablo 4.

Tohum çevresine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler

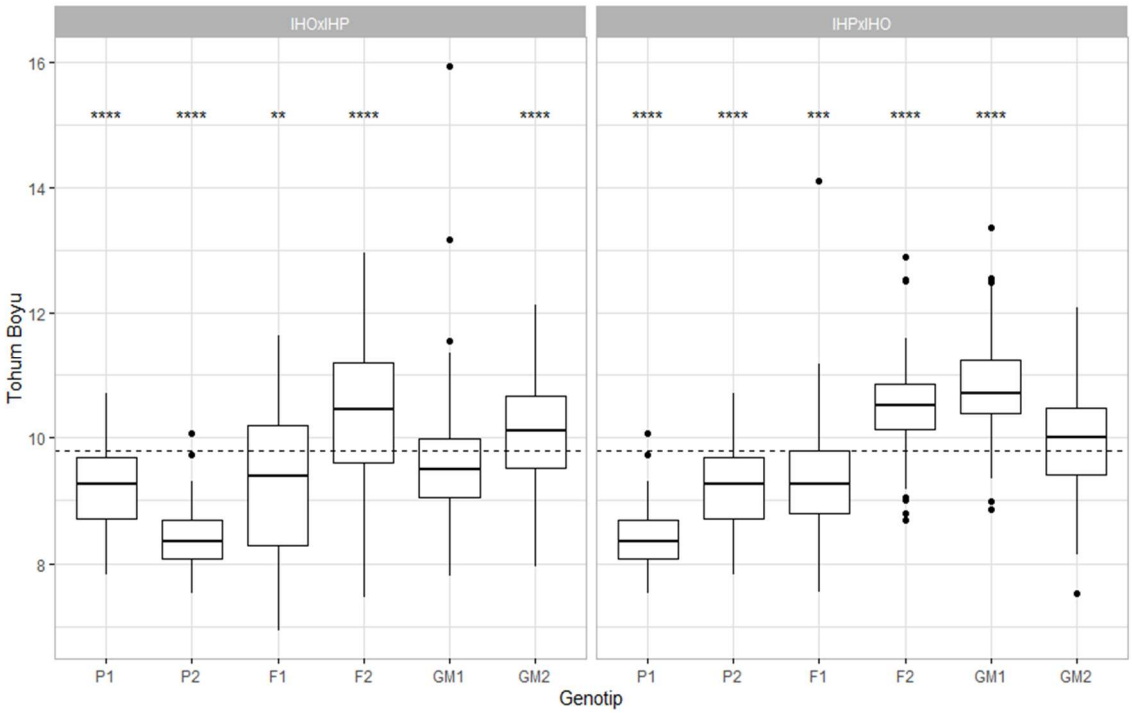
Parametre	Popülasyon 1 (IHP×IHO)	Popülasyon 2 (IHO×IHP)
m	32,8**	30,46**
a	1,47*	-2,15**
d	-1,70	-0,49
a+a	-2,79	-1,18
a+d	2,69**	-3,36**
d+d	-15,4**	-10,0*
H^2	0,58	0,58

Not: Tabloda m: F2 nesline ait ortalamayı, a: Eklemeli gen etkisini, d: Dominans gen etkisini, aa: Eklemeli + Eklemeli gen etkisini, ad: Eklemeli+Dominans gen etkisini, dd: Dominans+Dominans gen etkisini, H^2: Geniş anlamda kalıtım derecesini göstermektedir. *P<0,05,**P<0,01.

4.1.3. Uzunluk

Tohum Boyu ölçümlerinin popülasyonlara göre nesil düzeyindeki değişimleri Şekil 7'te gösterilmiştir. IHP×IHO melezine ait popülasyonda GM1 nesline ait tohum boyu ortalamaları hariç diğer nesillerin tohum boyu ortalamasının genel ortalamadan farklı olduğu gözlemlenmiştir. P1, P2 ve F1 nesillerine ait tohum boyu ortalaması genel ortalamanın altında, F2 ve GM2 nesillerinin tohum boyu ortalaması genel ortalamanın üstünde olduğu gözlenmiştir. IHOxIHP melezine ait tohum boyu ortalamalarında GM2 nesli hariç diğer nesillerin tohum boyu ortalamaları genel ortalamadan farklı olduğu gözlemlenmiştir. P1, P2 ve F1 nesillerine ait tohum boyu ortalaması genel ortalamanın

altında, F2 ve GM1 nesillerine ait tohum boyu ortalaması genel ortalamanın üstünde olduğu gözlenmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Tohum uzunluğunun nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farkları

Tohum uzunluğuna yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler Tablo 5'te gösterilmiştir. IHP×IHO popülasyonunda eklemeli (a), eklemeli+dominans (a+d) ve dominans+dominans (d+d) etkilerin tohum uzunluğu üzerine etkisinin önemli olduğu gözlenmiştir. Bu etkiler içerisinde dd hariç diğer gen etkileri pozitif yönde hesaplanmıştır. IHP×IHO popülasyonunda d ve d+d etkilerinin işaretleri zıt olduğundan bu popülasyonda tohum çevresi için duplike epistatis olduğu anlaşılmaktadır. IHO×IHP popülasyonunda önemli bulunan tüm gen etkilerinin işaretleri negatif bulunmuştur. Ana etkilerden a ve epistatik interaksiyonlardan a+a ve a+d etkileri istatistiki öneme sahiptir. Bu popülasyonda d ve d+d etkilerinin işaretlerine göre tohum uzunluğu için komplimenter epistatis olduğu görülmektedir.

Tablo 5.

Tohum uzunluğuna yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler

Parametre	Popülasyon 1 (IHP×IHO)	Popülasyon 2 (IHO×IHP)
m	50,5**	30,4**
a	0,87**	-0,47
d	0,16	-1,50
a+a	-0,44	-1,96*
a+d	1,25**	-0,85*
d+d	-4,71**	-1,41
H^2	0,00	0,53

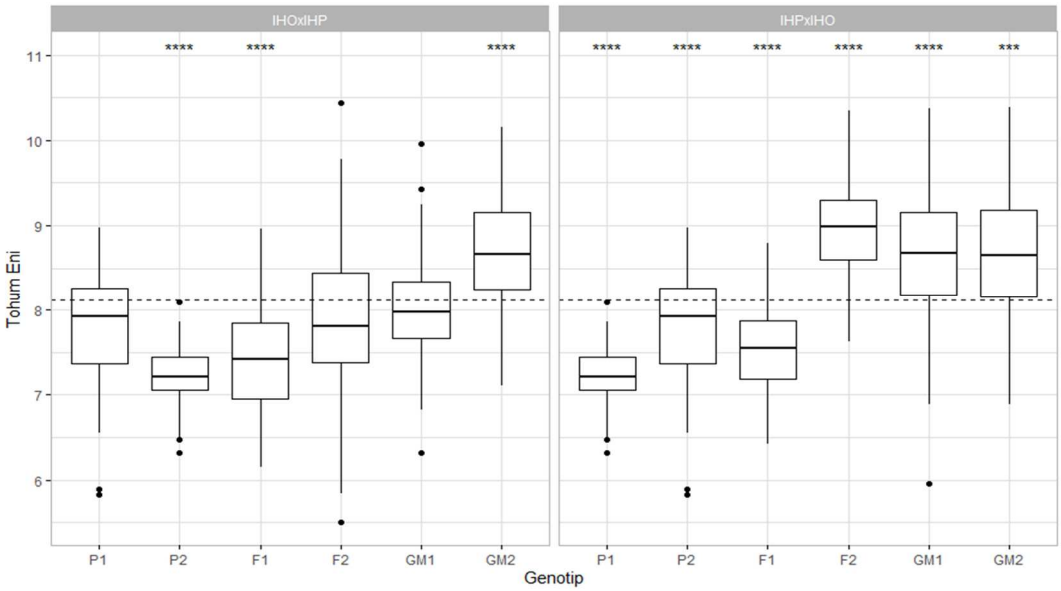
Not: Tabloda m: F2 nesline ait ortalamayı, a: Eklemeli gen etkisini, d: Dominans gen etkisini, aa: Eklemeli + Eklemeli gen etkisini, ad: Eklemeli+Dominans gen etkisini, dd: Dominans+Dominans gen etkisini, H^2: Geniş anlamda kalıtım derecesini göstermektedir. *P<0,05,**P<0,01.

4.1.4. Tohum Eni

Popülasyonlara göre Tohum Eni ölçümlerinin nesil düzeyindeki değişimleri Şekil 8'de gösterilmiştir. IHP×IHO melezine ait tohum eni ortalamalarında P1, F2 ve GM1 nesillerine ait tohum eni ortaları genel ortalamadan farkı önemsiz bulunmuştur. Diğer nesillere ait tohum eni ortalamaları genel ortalamadan farklı olduğu gözlenmiştir. P2 ve F1 nesillerinin tohum eni ortalaması genel ortalamanın altında, GM2 nesline ait tohum eni ortalamasının genel ortalamanın üstünde olduğu gözlenmiştir. IHP×IHO melezine ait tohum eni ortalamalarında tüm nesillere ait ortalamanın genel ortalamadan farklı olduğu gözlenmiştir. P1, P2 ve F1 nesillerine ait tohum eni ortalamaları genel ortalamanın altında, F2, GM1, GM2 nesillerine ait tohum eni ortalamaları genel ortalamanın üstünde oluğu gözlenmiştir.

Tohum enine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler Tablo 6'da gösterilmiştir. IHP×IHO popülasyonunda eklemeli + eklemeli (aa) ve eklemeli + dominans (ad) etkilerinin tohum eni üzerine etkisinin önemli olduğu gözlenmiştir. IHO×IHP popülasyonunda tüm gen etkileri önemli bulunmuştur. IHO×IHP popülasyonunda önemli

bulunan tüm gen etkileri negatif yönde olduğu saptanmıştır. Bu popülasyonda d ve d+d etkilerinin işaretlerine göre tohum uzunluğu için komplimenter epistatis olduğu görülmektedir.



Şekil 8. Tohum eninin ailelere ve nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farkları

Tablo 6.

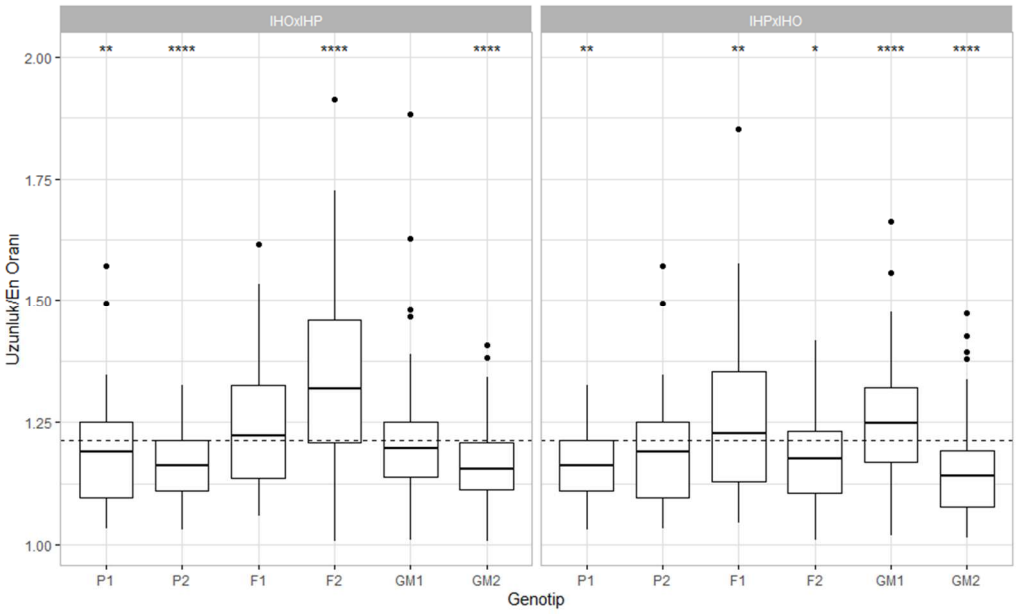
Tohum enine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler

Parametre	Popülasyon 1 (IHP×IHO)	Popülasyon 2 (IHO×IHP)
m	8,97**	7,83**
a	0,05	-0,70**
d	-1,14	1,95*
a+a	-1,17	2,01**
a+d	0,31	-0,97**
d+d	-3,48*	-5,47**
H^2	0,36	0,58

Not: Tabloda m: F2 nesline ait ortalamayı, a: Eklemeli gen etkisini, d: Dominans gen etkisini, aa: Eklemeli + Eklemeli gen etkisini, ad: Eklemeli+Dominans gen etkisini, dd: Dominans+Dominans gen etkisini, H^2: Geniş anlamda kalıtım derecesini göstermektedir. *P<0,05,**P<0,01.

4.1.5. Uzunluk/En Oranı

Uzunluk/En oranı ölçümlerinin popülasyonlara göre nesil düzeyindeki değişimleri Şekil 9'da gösterilmiştir. IHO×IHP melezine ait Uzunluk/En oranı ortalamalarında F1 ve GM1 nesillerine ait uzunluk/En oranı ortaları hariç diğer nesillere ait Uzunluk/En oranı ortalamaları genel ortalamadan farklı olduğu gözlenmiştir. P1, P2 ve GM2 nesillerinin Uzunluk/En oranı ortalaması genel ortalamanın altında, F2 nesline ait Uzunluk/En oranı ortalamasının genel ortalamanın üstünde olduğu gözlenmiştir. IHP×IHO melezine ait Uzunluk/En oranı ortalamalarında P2 nesline ait LWR ortalaması hariç diğer nesil ortalamalarının genel ortalamadan farklı olduğu gözlenmiştir. P1, F2 ve GM2 nesillerine ait Uzunluk/En oranı ortalamaları genel ortalamanın altında, F1 ve GM1 nesillerine ait Uzunluk/En oranı ortalamaları genel ortalamanın üstünde olduğu gözlenmiştir.



Şekil 9. Tohum uzunluk/en oranının ailelere ve nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farkları

Uzunluk/En oranı ölçümlerine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler Tablo 7'de gösterilmiştir. IHP×IHO popülasyonunda eklemeli (a) ve eklemeli+dominans (ad) etkilerin Uzunluk/En oranı üzerine etkisinin önemli olduğu gözlenmiştir. IHO×IHP popülasyonunda eklemeli (a) ve eklemeli+dominans (a+d) hariç diğer gen etkilerinin Uzunluk/En oranı değeri üzerine etkisinin önemli olduğu gözlenmiştir. IHO×IHP

popülasyonunda d ve aa etkileri negatif yönde diğer gen etkileri pozitif yönde etkisinin olduğu gözlenmiştir.

Tablo 7.

Uzunluk/En oranı ölçümlerine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler

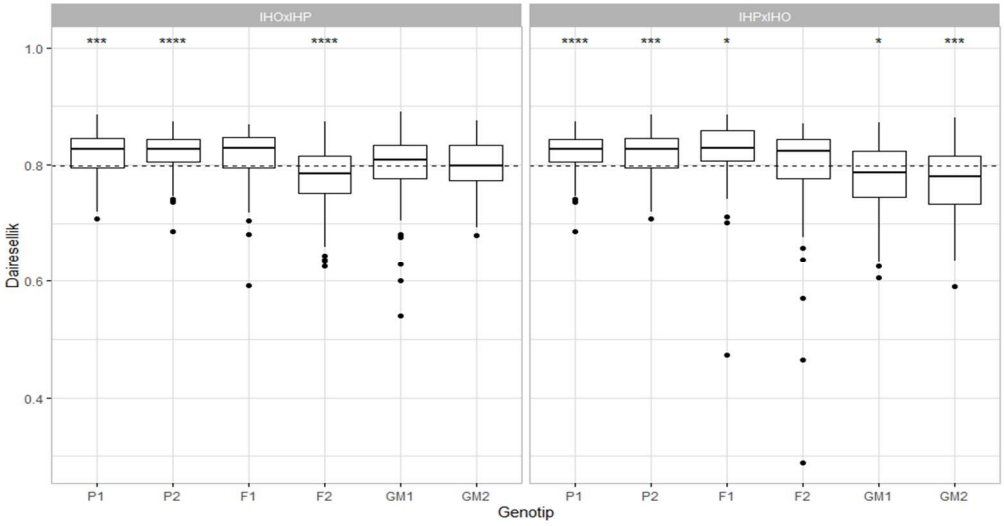
Parametre	Popülasyon 1 (IHP×IHO)	Popülasyon 2 (IHO×IHP)
m	1,17**	1,33**
a	0,10**	0,04
d	0,19	-0,51**
a+a	0,11	-0,58**
a+d	0,11*	0,03
d+d	0,00	0,68**
H^2	0,00	0,54

Not: Tabloda m: F2 nesline ait ortalamayı, a: Eklemeli gen etkisini, d: Dominans gen etkisini, aa: Eklemeli + Eklemeli gen etkisini, ad: Eklemeli+Dominans gen etkisini, dd: Dominans+Dominans gen etkisini, H^2: Geniş anlamda kalıtım derecesini göstermektedir. *P<0,05,**P<0,01.

4.1.6. Dairesellik

Tohum dairesselliği ölçümlerinin popülasyonlara göre nesil düzeyindeki değişimleri Şekil 10'da gösterilmiştir. IHO×IHP melezine ait dairesellik ortalamalarında F1, GM1 ve GM1 nesillerine ait dairesellik ortalamalarında genel ortalamadan farklı olmadığı gözlenmiştir. P1, P2 ve F2 nesillere ait dairesellik ortalamaları genel ortalamadan farklı olduğu gözlenmiştir. F2 nesline ait CS ortalaması genel ortalamanın altında, P1 ve P2 nesillerine ait dairesellik ortalamasının genel ortalamanın üstünde olduğu gözlenmiştir. IHP×IHO melezine ait dairesellik ortalamalarında F2 nesline ait dairesellik ortalaması hariç diğer nesil ortalamalarının genel ortalamadan farklı olduğu gözlenmiştir. P1, P2 ve F1 nesillerine ait dairesellik ortalamaları genel ortalamanın üstünde, GM1 ve GM2 nesillerine ait dairesellik ortalamaları genel ortalamanın altında olduğu gözlenmiştir.

Tohum daireselliğine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler Tablo 8'te gösterilmiştir. IHP×IHO popülasyonunda hiçbir gen etkisinin CS üzerine etkisinin önemli olmadığı gözlenmiştir. IHO×IHP popülasyonunda hiçbir gen etkisinin CS üzerine etkisinin önemli olmadığı gözlenmiştir.



Şekil 10. Tohum daireselliğinin ailelere ve nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farkları

Tablo 8.

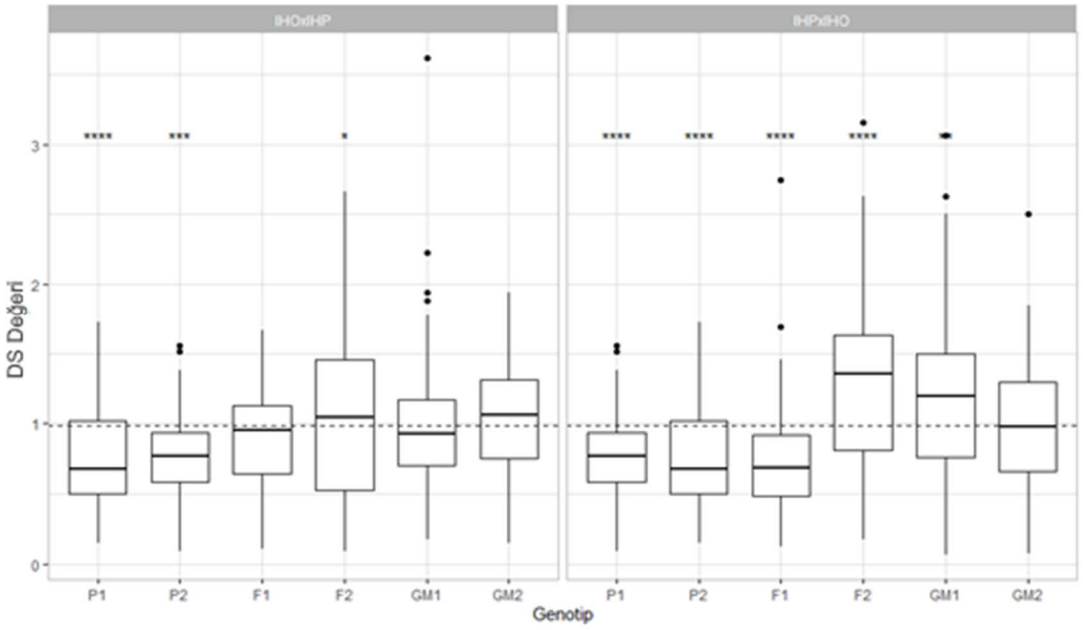
Tohum daireselliğine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler

Parametre	Popülasyon 1 (IHP×IHO)	Popülasyon 2 (IHO×IHP)
m	0,80**	0,78**
a	0,01	0
d	-0,09	0,07
a+a	-0,09	-0,08
a+d	0,01	0
d+d	0,25	-0,01
H^2	0,57	0,31

Not: Tabloda m: F2 nesline ait ortalamayı, a: Eklemeli gen etkisini, d: Dominans gen etkisini, aa: Eklemeli + Eklemeli gen etkisini, ad: Eklemeli+Dominans gen etkisini, dd: Dominans+Dominans gen etkisini, H^2: Geniş anlamda kalıtım derecesini göstermektedir. *P<0,05, **P<0,01.

4.1.7. Merkez Ağırlık Noktası ile En-Boy Kesişim Noktası Arası Uzaklık (DS)

DS ölçümlerinin popülasyonlara göre nesil düzeyindeki değişimleri Şekil 11'de gösterilmiştir. IHP×IHO melezine ait DS ortalamalarında F1, GM1 ve GM2 nesilleri hariç diğer nesillere ait DS ortalamaları genel ortalamadan farklı olduğu gözlenmiştir. P1 ve P2 nesillerinin DS ortalaması genel ortalamanın altında, F2 nesline ait DS değeri ortalamasının genel ortalamanın üstünde olduğu gözlenmiştir. IHO×IHP melezine ait DS değeri ortalamalarında GM2 nesline ait DS ortalaması hariç diğer nesil ortalamalarının genel ortalamadan farklı olduğu gözlenmiştir. P1, P2 ve F1 nesillerine ait DS ortalamaları genel ortalamanın altında, F2 ve GM1 nesillerine ait DS ortalamaları genel ortalamanın üstünde olduğu gözlenmiştir.



Şekil 11. DS değerinin ailelere ve nesillere göre değişimi ve popülasyonlara göre nesillerin genel ortalamadan farklar

DS değerine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler Tablo 9'da gösterilmiştir. IHP×IHO popülasyonunda hiçbir gen etkisinin DS üzerine etkisinin önemli olmadığı gözlenmiştir. IHO×IHP popülasyonunda hiçbir gen etkisinin DS üzerine etkisinin önemli olmadığı gözlenmiştir. Geniş anlamda kalıtım derecesi ise IHP×IHO popülasyonunda IHO×IHP popülasyonundan bir miktar düşük bulunmuştur.

Tablo 9.

DS değerine yönelik olarak hesaplanan genetik parametreler

Parametre	Popülasyon 1 (IHP×IHO)	Popülasyon 2 (IHO×IHP)
m	1,27**	1,09**
a	0,20	-0,07
d	-0,80	-0,23
a+a	-0,78	-0,37
a+d	0,18	-0,05
d+d	-0,52	-0,24
H^2	0,54	0,61

Not: Tabloda m: F2 nesline ait ortalamayı, a: Eklemeli gen etkisini, d: Dominans gen etkisini, aa: Eklemeli + Eklemeli gen etkisini, ad: Eklemeli+Dominans gen etkisini, dd: Dominans+Dominans gen etkisini, H^2: Geniş anlamda kalıtım derecesini göstermektedir. *P<0,05,**P<0,01.

4.2. Tohum Canlılığının Farklı Yöntemlerle Belirlenmesi

4.2.1. Morfolojik Ölçümlere Göre Tohum Örneklerinin Özellikleri

Tohum görüntüleri üzerinden SmartGrain programı ile yapılan analizden elde edilen parametrelerin popülasyonlara ve canlılık testlerine göre ortalamaları Tablo 10'da gösterilmiştir. Kâğıt çimlendirme testinde tohum alanı, tohum genişliği ve uzunluk/genişlik oranı bakımından popülasyon ortalamaları arasında istatistiki açıdan önemli bir fark olduğu gözlenmiştir. TTC testinde ise SmartGrain yazılımından elde edilen parametreler bakımından popülasyonlar arasında istatistiki olarak önemli bir farkın olmadığı anlaşılmaktadır. Kâğıt çimlendirme testinde ve TTC testinde kullanılan örneklere ait ortalamalar için ise DS haricinde tüm parametrelere ait ortalamalar arasında önemli bir fark olduğu belirlenmiştir (Tablo10). Söz konusu farklılıklar canlılık testlerine ait sonuçların bağımlı değişken olarak kullanıldığı model sonuçlarına etki edebilir.

Tablo 10.

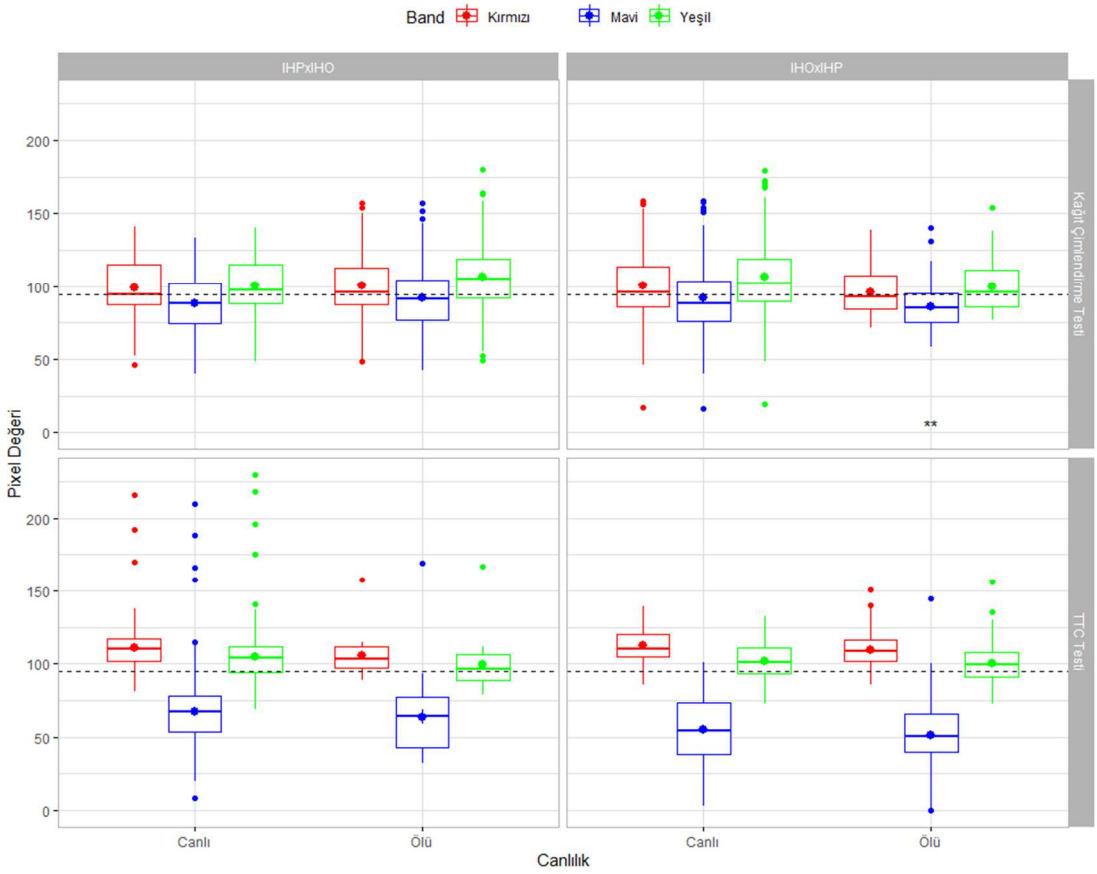
Canlılık testlerine göre örneklerin morfolojik özelliklerine yönelik ortalamalarına ilişkin karşılaştırmalar

	SG Testi			TTC Testi			Canlılık Testi Ortalaması		
	IHP×IHO	IHO×IHP	p	IHP×IHO	IHO×IHP	p	SG Test	TTC Test	p
Alan	62,29	58,75	*	56,77	54,88	öd	60,61	55,88	**
Çevre	30,97	30,31	öd	30,18	29,56	öd	30,65	29,88	**
Uzunluk	10,12	10,24	öd	9,70	9,67	öd	10,18	9,68	**
En	8,57	8,09	**	8,09	8,01	öd	8,34	8,05	**
En/Uzunluk Oranı	1,19	1,28	**	1,20	1,21	öd	1,23	1,21	*
Dairesellik	0,81	0,80	öd	0,78	0,79	öd	0,81	0,78	**
DS	0,96	1,07	öd	1,07	0,96	öd	1,01	1,02	öd
Ölü/Canlı	190/60	80/145	-	30/220	138/87	-	270/205	168/307	-

4.2.2. Görüntü Verilerine Göre Tohum Örneklerinin Özellikleri

Canlılık testlerinde popülasyonlara ait tohum örneklerinden alınan görüntü verilerindeki pixel değerlerinin canlı ve ölü tohumlara göre değişimi Şekil 12'te gösterilmiştir. Kullanılan popülasyonlarda hem kâğıt çimlendirme testinde hem de TTC testinde canlı ve ölü tohumlar için mavi banttaki piksel değerini kırmızı ve yeşil banttaki pixel değerlerinden düşük bulunmuştur. TTC testinde bu fark kâğıt testinde kullanılan örneklerdeki farktan daha belirgindir. Kâğıt çimlendirme testinde kırmızı ve yeşil bantlardaki pixel değeri ortalaması birbirine yakınlık gösterirken, TTC testinde kırmızı bant pixel değerine ait ortalama yeşil bant değerinden daha yüksek bulunmuştur. IHP×IHO popülasyonuna ait örneklerle yapılan kâğıt çimlendirme testi haricinde diğer kombinasyonlarda ölü tohumlara ait yeşil ve kırmızı bantlardaki pixel değeri ortalamasının, bu bantlarda canlı tohumlara ait ortalamalardan düşük olduğu gözlenmiştir. Bu farkların

modelleme aşamasında canlı ve ölü tohumların ayrıştırılmasında yardımcı olabileceği öngörülmüştür.

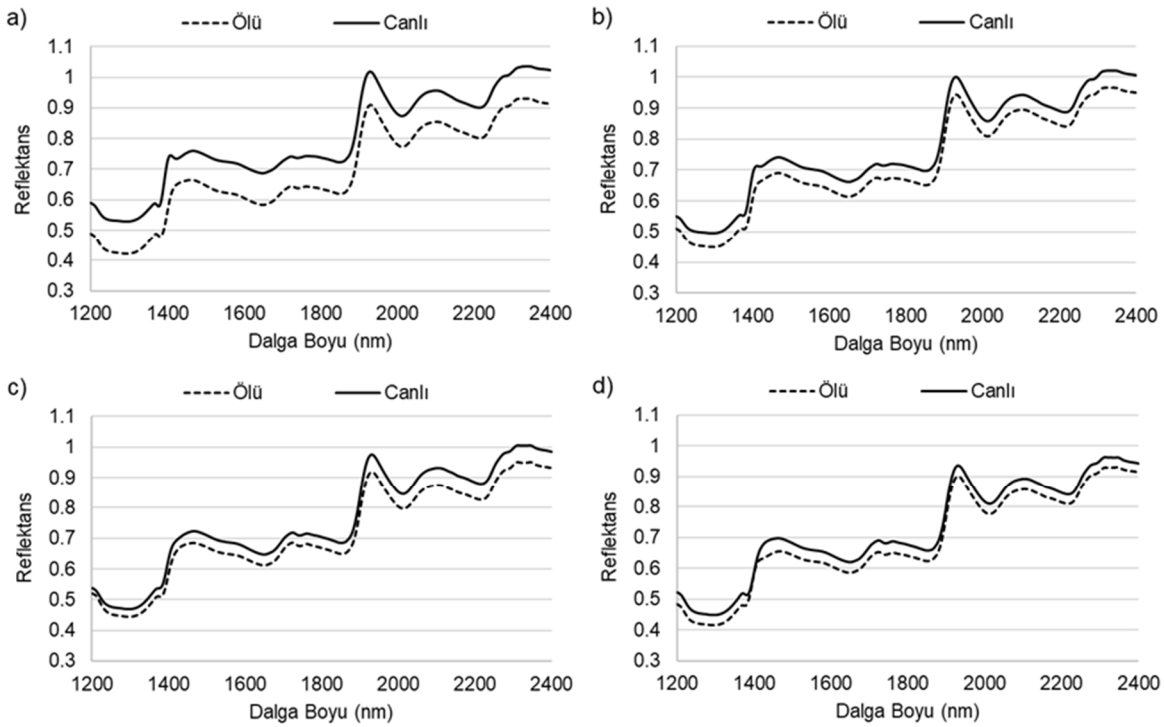


Şekil 12. Çimlendirme testi ve kullanılan popülasyonlara göre canlı ve ölü tohumlara ait RGB piksel değerlerinin değişimi

4.2.3. Spektral Ölçümlere Göre Tohum Örneklerinin Özellikleri

Tohum örneklerinin canlılık durumlarının yapılan canlılık testi ve popülasyonlara göre ayrıştırılmasının ardından elde edilen spektral grafikler Şekil 13'te sunulmuştur. Tüm örnek setlerinde canlı tohumların reflektans değerleri ölü tohumların reflektans değerlerinden yüksek bulunmuştur. Bu durum spektral veriler kullanılarak canlı ve ölü tohumların ayrım potansiyelinin olduğuna işaret etmektedir. Nitekim spektral veriler kullanılarak farklı canlılık durumlarına sahip tohum örneklerinin ayrıştırılmasının mümkün olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Qui vd. (2018) tarafından çalışmada da canlı mısır tohumlarından elde edilen reflektans değerleri ölü tohumlardan daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar da bu bulguyu doğrular niteliktedir. Elde edilen bu sonuç ölü tohumlarda farklı nedenlerle biyokimyasal yapının bozulması ve

organik dokuların spektral ölçümlerde ışık enerjisi ile etkileşiminin düşmesine bağlanabilir. Organik dokularda yapısal bozulmaya maruz kalmamış moleküllerin reflektans değerinin bu nedenle daha yüksek olabileceği düşünülmektedir. Bu değerlendirmenin doğrulabilmesi için ölü ve canlı dokulardaki kimyasal değişimlerin daha detaylı şekilde incelenmesi gerekmektedir.



Şekil 13. Canlılık testi (Standart çimlendirme testi: a, c ve TTC testi: b, d) ve popülasyonlara (IHO×IHP: a, b ve IHP×IHO: c, d) göre canlı ve ölü tohumlara ait reflektans ortalamalarını gösteren grafikler

4.2.4. Nitelikli Mısır Genotiplerinde Tohum Canlılığının Görüntü Verileri, Spektral Veriler ve Morfolojik Ölçümler Yardımıyla Belirlenmesi

Çalışmada tohum düzeyinde toplanan morfolojik veriler, görüntü verilerinden elde edilen RGB bant değerleri ile 1200-2400 nm arasında toplanan spektral reflektans değerlerinin ayrı ayrı, ikili ve üçlü kombinasyonlarının tahminleyici olarak, farklı canlılık testleri sonucunda tohum örneğinin canlılık durumu ise bağımlı değişken olarak kullanılmak suretiyle oluşturulan model sonuçları Tablo 11 ve Tablo 12'te sunulmuştur.

Kâğıt çimlendirme testine ilişkin elde edilen sonuçların bağımlı değişken olarak kullanıldığı 18 farklı modelin doğruluk değerleri 0,564 ile 0,911 arasında değişim göstermiştir. Oluşturulan modellerin tamamında özgüllük değeri duyarlılık değerinden daha yüksek bulunmuştur. Bu durum modellerde ölü olarak sınıflanan tohumların doğru sınıflama oranının canlı olarak sınıflanan tohumlardan yüksek olduğuna işaret etmektedir. Modellere ait TN, TP, FN, FP değeri de bu durumu göstermektedir. Oluşturulan modeller içerisinde en başarılı sınıflama sonucu NIR+M veri kombinasyonundan Rassal Orman (RF) yöntemi ile oluşturulan modelinden elde edilmiştir. NIR verilerinin kendi başına kullanılması durumunda doğru sınıflamanın 0,909 olduğu göz önünde bulundurulur ise morfolojik verilerin tahminleyici olarak modele dahil edilmesinin çok önemli bir fark oluşturmadığı anlaşılmaktadır.

Kâğıt çimlendirme testi sonuçlarına dayalı oluşturulan modellerde, morfolojik veriler RGB ve NIR verilerine tek başına veya beraber kullanılması halinde model başarısında önemli farklılıklar olduğu görülmüştür. Yalnızca RGB verilerini kullanan modellerin tahmin başarısı diğer modellere göre daha düşük bulunmuştur. RF yöntemi ile oluşturulan modeller, RGB verileri dışındaki tüm veri setlerinde daha yüksek sınıflandırma başarısı göstermiştir (Tablo 11). SVM ve CART modelleri çoğu veri seti için benzer sonuçlar verdi. Kâğıt çimlenme testi sonuçlarına göre oluşturulan modellerin ortalama doğruluğu 0,564 ile 0,911 arasında bulunmuş ve yöntemin ortalama doğruluğu 0,771 olarak hesaplanmıştır. Kâğıt çimlenme testi sonuçlarının sınıflandırma değişkeni olarak kullanılan modellerin özgüllük değerlerinin duyarlılık değerlerinden yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuç, oluşturulan modellerde doğru şekilde sınıflandırılan canlı tohumların toplam canlı tohum içindeki payının düşük olduğunu göstermektedir. Özgüllük değerlerine göre ölü tohumların sınıflandırılmasının daha başarılı olduğunu göstermektedir. Kâğıt çimlenme testi sonuçları doğrultusunda RGB verilerine dayalı sınıflandırma modellerinin başarısı diğer veri setleriyle oluşturulan modellere göre daha düşük bulunmuştur. RF tekniği ile oluşturulan modeller tüm veri kümelerinde daha yüksek sınıflandırma başarısı göstermiştir.

Tablo 11.

Kâğıt çimlendirme testi sonuçlarına dayalı oluşturulan modellere ait istatistikler

Veri Seti	Modelleme Tekniği	TP	FP	FN	TN	Duyarlılık	Özgüllük	Doğruluk
RGB	CART	90	115	51	219	0,439	0,811	0,625
	SVM	59	146	43	227	0,288	0,841	0,564
	RF	162	43	28	242	0,790	0,896	0,843
RGB+M	CART	132	73	47	223	0,644	0,826	0,735
	SVM	156	49	87	183	0,761	0,678	0,719
	RF	180	25	20	250	0,878	0,926	0,902
NIR	CART	148	57	54	216	0,722	0,800	0,761
	SVM	95	110	41	229	0,463	0,848	0,656
	RF	180	25	16	254	0,878	0,941	0,909
NIR+M	CART	142	63	43	227	0,693	0,841	0,767
	SVM	135	70	42	228	0,659	0,844	0,751
	RF	180	25	15	255	0,878	0,944	0,911
RGB+NIR	CART	148	57	54	216	0,722	0,800	0,761
	SVM	100	105	44	226	0,488	0,837	0,662
	RF	180	25	16	254	0,878	0,941	0,909
RGB+NIR+M	CART	142	63	49	221	0,693	0,819	0,756
	SVM	130	75	42	228	0,634	0,844	0,739
	RF	180	25	16	254	0,878	0,941	0,909
Ortalama		141	64	39	231	0,688	0,854	0,771

TTC testi sonuçlarının bağımlı değişken olarak kullanıldığı modellerde, kâğıt çimlenme testinden farklı olarak CART ve SVM yöntemleri arasında farklılıklar olduğu görülmüştür. CART yöntemi ile oluşturulan modeller, SVM yöntemine göre daha başarılı bir sınıflandırma sonucu vermiştir (Tablo 12).

Tablo 12.

TTC testi sonuçlarına dayalı olarak oluşturulan modellere ait istatistikler

Veri Seti	Modelleme Yöntemi	TP	FP	FN	TN	Duyarlılık	Özgüllük	Doğruluk
RGB	CART	295	17	114	49	0,946	0,301	0,623
	SVM	297	15	134	29	0,952	0,178	0,565
	RF	298	14	43	120	0,955	0,736	0,846
RGB+M	CART	265	47	85	78	0,849	0,479	0,664
	SVM	311	1	152	11	0,997	0,067	0,532
	RF	299	13	45	118	0,958	0,724	0,841
NIR	CART	271	41	79	84	0,869	0,515	0,692
	SVM	309	3	144	19	0,990	0,117	0,553
	RF	301	11	43	120	0,965	0,736	0,850
NIR+M	CART	269	43	72	91	0,862	0,558	0,710
	SVM	310	2	146	17	0,994	0,104	0,549
	RF	300	12	46	117	0,962	0,718	0,840
RGB+NIR	CART	274	38	74	89	0,878	0,546	0,712
	SVM	309	3	144	19	0,990	0,117	0,553
	RF	304	8	46	117	0,974	0,718	0,846
RGB+NIR+M	CART	272	40	70	93	0,872	0,571	0,721
	SVM	310	2	145	18	0,994	0,110	0,552
	RF	304	8	49	114	0,974	0,699	0,837
Ortalama		294	18	91	72	0,943	0,444	0,694

Canlı ve cansız tohum sayıları, kâğıt çimlenme testinde ve TTC testinde kullanılan numune setleri arasında önemli ölçüde farklılık göstermiştir. Tohumlar rastgele ayrılsa da bu farkın ortaya çıkması TTC testinin değerlendirme yöntemiyle ilgili olabileceği, Nitekim TTC testinde embriyo bölgesinin boyanmasına göre 16 farklı olasılık tanımlanmıştır (Patil ve Dadlani, 2009). Bu testin canlılığı belirlemede bilgilendirici olduğu kabul edilmekle birlikte bazı nedenlerle çimlenme oranına uymayan durumlar olabileceği bildirilmiştir (Patil ve Dadlani, 2009). TTC testi sonuçları ile oluşturulan modeller içerisinde en başarılı sonuç NIR verilerinin tahminleyici olarak kullanıldığı RF yöntemi ile oluşturulan model olduğu görülmüştür.

BEŞİNCİ BÖLÜM
SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Nitelikli Mısır Tiplerinde Tohum Morfolojisi ve Canlılığına Yönelik Sonuçlar

Çalışmada görüntü analizleri ile belirlenen tohum özelliklerinin popülasyonlara göre farklılıklar gösterdiği ve aynı popülasyon içerisinde farklı nesillerde de farklılıkların olduğu gözlenmiştir. Çalışmada incelenen 6 farklı tohum özelliğine yönelik gen etkileri ve kalıtım derecelerinin de popülasyonlara göre değiştiği belirlenmiştir. Yüksek yağlı ve yüksek proteinli ebeveynlerle oluşturulan bu materyalde resiproklu melezler ve bunlara ait F2 nesilleri ile geri melez nesillerinde tespit edilen bu farklıklar tohum morfolojisini kontrol eden allellerin etkileşimine bağlanmıştır. Kullanılan canlılık testine göre de genotiplerin canlılık durumlarında önemli farklar olduğu belirlenmiştir. Bu durum canlılık testinde kullanılan yöntemler arasındaki farklılığa bağlanmıştır. TTC testi sonuçları göz değerlendirmesi ve embriyo bölgesindeki renk değişiminin tespitindeki güçlükler nedeniyle, bu yöntemde canlı / cansız tohumlarla ilgili sonuçlarda sapmalar olabileceği değerlendirilmiştir.

Nitelikli mısır genotiplerinde tohum morfolojisine ve canlılık testlerine yönelik ileriki araştırmalarda farklı özelliklerdeki nitelikli mısır genotiplerinin kullanılması (opak, waxy vb.) faydalı olabilir. Diğer taraftan kullanılan materyal ve örnek sayısının artırıldığı çalışmaların da daha tez konusu ile ilgili daha kapsamlı bilgiler sunabileceği düşünülmektedir.

5.2. Tohum Canlılığının Farklı Yöntemlerle Belirlenmesi

Bu çalışmada iki farklı canlılık testinin sonuçlarını içeren, RGB ve spektral verilerin yanı sıra morfolojik ölçüm sonuçlarının farklı kombinasyonlar ile kullanıldığı 36 farklı model oluşturulmuş ve değerlendirilmiştir. Bu modeller içerisinde en başarılı sonuç NIR+M veri seti ile oluşturulan ve Rassal Orman yöntemine göre oluşturulan model olmuştur. Kullanılan veri seti ve modelleme tekniğinin canlı/ölü tohumların sınıflama başarısına önemli bir etkisinin olduğunu söylemek mümkündür. Genel olarak RGB ve

spektral verilerden elde edilen modellerin başarısı karşılaştırıldığında, spektral verilere dayalı modellerin canlılık tespitinde daha başarılı sonuçlar verdiği söylenebilir. Toplanan veriler arasında spektral verilerin tohumun embriyo bölgesinden alınması ve büyük veri boyutunun (1200 veri noktası) olması tahmin gücünü artırmaktadır. RGB verileri yalnızca üç değişkenden oluşmasına rağmen, model sonuçları üzerindeki etkisi, bu değişkenlerin değerlerindeki büyüklüğü ile ilişkilendirilebilir. RGB ve NIR verilerine tohum morfolojisi verilerinin eklenmesinin kullanılan modelleme tekniğine ve canlılık testine göre değişken sonuçlar verdiği anlaşılmıştır. RGB ve NIR verilerine tohum morfolojisi verisi eklendiğinde, kâğıt çimlenme testine dayalı CRT ve SVM yöntemleriyle oluşturulan modellerin sınıflandırma başarısı artmıştır. TTC testinde modellere morfolojik verilerin tahminleyici olarak kullanılması, geliştirilen modelin başarısına önemli bir katkı sağlamamıştır. Ayrıca morfolojik verilerin RF yönteminin başarısına etkisi her iki canlılık testinde de düşük bulunmuştur.

Çalışma sonuçlarına göre spektral veri ve morfolojik verilerle oluşturulan modellerin tohuma zarar vermeden nitelikli mısır genotiplerine ait tohumlarda canlılık durumunun tespitinde kullanılabileceği görülmüştür. Bu yaklaşım sınırlı miktardaki tohum örneklerinin canlılık durumunu belirlemek amacıyla tohum gen bankaları veya mısır araştırmaları yürüten kurum ve kuruluşlar için faydalı olabilir. Gelecekteki çalışmalarda farklı özel mısır genotiplerinin (Mumsu mısır, Cin mısır ve Opak), modelleme tekniklerinin ve ölçüm yöntemlerinin (termal ölçüm) kullanılması farklı bilgilerin elde edilmesini sağlayabilir.

KAYNAKÇA

Agelet, L. E., Ellis, D. D., Duvick, S., Goggi, A. S. ve Hurburgh, C. R. (2012). "Feasibility of near infrared spectroscopy for analyzing corn kernel damage and viability of soybean and corn kernels". *Agricultural and Biosystems Engineering Publications/* UNL Faculty. 828.

Boćanski, J., Srećkov, Z., Nastasić, A., (2004) "Genetic analysis of length and width of maize kernels (Zea mays L)''. Letopis naučnih radova Poljoprivrednog fakulteta, vol. 28, 1, 182-190.

Cervantes, E., Martín, J.J., Saadaoui, E. (2016). "Updated methods for seed shape analysis". Scientifica (Cairo). 5691825. doi: 10.1155/2016/5691825.

Chen, J., Zhang, L., Liu, S., Li, Z., Huang, R., Li, Y., Cheng, H., Li, X., Zhou, B., Wu, S., Chen, W., Wu, J. ve Ding, J., (2016). "The genetic basis of natural variation in kernel size and related traits using a four-way cross population in maize". PLoS ONE, 11(4), e0153428.

Cukadar-Olmedo, B. ve Miller, J.F. (1997). "Inheritance of the stay green trait in Sunflower." *Crop Science*, 37, 150- 153.

Del Edigo, L. L., Navarro-Miro, D., Martinez-Heredia, V., Toorop, P. E., Lanette P.P.M. (2017). "A spectrophotometric assay for robust viability testing of seed batches using 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride: using Hordeum vulgare L. as a Model". *Frontiers in Plant Science*, 00747.

Dowswell, R.C., Paliwal, R.L. ve Cantrell, R.P. (1996). "Maize in the Third World". Westview Press, Colorado, USA, 268 p.

Flint-Garcia, S.A., Bodnar, A. ve Scott, M.P. (2009). "Wide variability in seed characteristics, kernel quality, and zein profiles among diverse maize inbreds, landraces, and teosinte". *Theorotical Applied Genetics*, 119, 1129–1142.

Gusmini, G., Whener, T.C., Donaghy, S.B. (2007). "SASQuant: A SAS software program to estimate genetic effects and heritabilities of quantitative traits in populations consisting of 6 related generations". *Journal of Heredity,* 98, 345-350.

ISTA, 2006. International Seed Testing Association (ISTA) Seed Science and Technology, Basserdorf, Switzerland.

Jugenheimer, R.W. (1958). "*Hybrid Maize Breeding and Seed Production*". FAO Agricultural Development, Paper No: 62, Rome. 369 p.

Kadapi, N., Nuraini, A., Wahyudin, A. ve Anita Lestari, S. (2018). "The relationship between seed size and seed quality in UNPAD new seed collection of sweet corn lines after storage". *Advances in Engineering Research*, 172, 122-125.

Kahrıman, F., Egesel C. Ö. ve Egesel, B. (2015). "A comparative study on changes and relationships of kernel biochemical components in different types of maize". *Journal of The American Oil Chemists Society*, 92,1451-1459.

Kırtok Y. (1998). "*Mısır üretimi ve kullanımı*". Nişasta ve glukoz üreticileri derneği. İstanbul.

Liang X., Wang K., Huang C., Zhang X., Yan J. ve Yang W. (2016). "A. high-throughput maize kernel traits scorer based on line-scan imaging". *Meas J Int Meas Confed.* 90, 453–60.

Liu, M., Tan, X., Yang, Y., Liu, P., Zhang, X., Zhang, Y., Wang, L., Hu, Y., Ma, L., Li, Z., Zhang, Y., Zou, C., Lin, H., Gao, S., Lee, M., Lubberstedt, T., Pan, G. ve Shen, Y., 2019. "Analysis of the genetic architecture of maize kernel size traits by combined linkage and association mapping". *Plant Biotechnology Journal,* 18, 207-221.

Mather, K. ve Jinks, J. L. (1982). "*Biometrical Genetics"*. 3rd Edition, Chapman and Hall, London, PP. 396.

Nugroho, R. A.P., Syukr M., Suvarno w. B. (2018). Inheritance of shape and kernel color in sweet corn using JM2 and JM4 populations. *Journal of Tropical Crop Science,* 5, 96-102.

Oskouei, B., Hervan, M., E., Hamidi, A., Moradi, F. ve Moghadam, A., (2014). "Study on seed vigor deterioration in hybrid corn (*Zea mays*), cv.single cross 704". *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 3, 207-210.

Palabıyık, B. ve Pekşen, E. (2013). "Tohum depolama süresinin farklı çevrelerde yetiştirilen fasulyenin tane verimi ve verimle ilgili özellikleri üzerine etkileri". *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(2), 93-102.

Patil, V.N. ve Dadlani, M. (2009). "Tetrazolium test for seed viability and vigour". In: *Handbook of Seed Testing*, pp 209–241.

Qui, G., Lü, E., Lu, H., Xu, S., Zeng, F. ve Shui, Q. (2018). "Single-kernel ft-nır spectroscopy for detecting supersweet corn (*Zea mays* L. saccharata sturt) seed viability with multivariate data analysis". *Sensors (Basel)*, 18(4), s18041010.

R Core Team, (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.

SAS Institute. (1999). "SAS V8 User Manual". Cary, NC.

Schneider, C. A., Rasband, W. S. ve Eliceiri, K. W. (2012). "NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis". *Nature Methods* 9(7), 671-675.

Sivritepe, H., O., Sivritepe, N. ve Senturk, B. (2016). "Correlations between viability and different vigour tests in maize seeds". *International Journal of Agriculture and Environmental Research*, 2(6), 1891-1898.

Tabakovic, M., Simic, M., Stanisavljevic, R., Milivojevic, M., Secanski, M. ve Postic, D. (2020). "Effects of shape and size of hybrid maize seed on germination and vigour of different genotypes". *Chilean Journal of Agricultural Research,* 80, 381-392.

Tanabata, T., Shibaya, T., Hori, K., Ebana, K. ve Yano, M. (2012). "SmartGrain: high-throughput phenotyping software for measuring seed shape through image analysis". *Plant Physiology*, 160,1871-1880.

Yang, C., Zhang, L., Jia, A. ve Rong, T. (2016). "Identification of QTL for maize grain yield and kernel-related traits". *Journal of Genetics.* 95, 239–247.

Yusuf, C., S., Makate, N. ve Jacob, R. (2014). "Effect of seed size on germination and early growth of maize (*Zea mays*)". *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(10), 2250-3153.

Zhang, X., Hirsch, C.N., Sekhon, R.S., de Leon, N. ve Kaeppler, S.M. (2016). "Evidence for maternal control of seed size in maize from phenotypic and transcriptional analysis". *Journal of Experimental Botany*, 67: 1907–1917.