

Araştırma Makalesi

Ziraat Mühendisliği (374), 15-23

DOI: 10.33724/zm.978322

Kısa Süreli Polen Muhafaza Yöntemleri Kullanılarak Sera Şartlarında Mısır Bitkilerinde Tohumluk Üretimi

Seed Production in Maize Plants under Greenhouse Conditions using Short-Time Polen Conservation Methods

ÖZET


Bu çalışma, sera şartlarında yetiştirilen mısır hat ve hibritlerinin farklı polen muhafaza yöntemleri ile tohum üretimini incelemek amacıyla yürütülmüştür. Araştırmada altı farklı genotip (IHO, B73, HYA, HYAxB73, MAY66, IND2) materyal olarak kullanılmıştır. Sera denemesi 2020 yılı Eylül-Mart ayları arasında yürütülmüştür. Her materyalden en az 30 fide yetiştirilerek saksılara şaşırtılmıştır. Polen muhafaza yöntemi olarak üç ayrı yöntem (Tepe püskülü muhafaza, +4 °C polen muhafaza, -20 °C polen muhafaza) kıyaslanmış ve 3'er gün aralıklarla 9 günlük sürede tozlanma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Her tozlanma işleminden önce kullanılan polen örneğinde canlılık testi yapılarak muhafaza yöntemlerine göre polen canlılığındaki değişimi izlenmiştir. Ayrıca sera şartlarında bitkilerin gelişimlerini izlemek amacıyla bitki boyu (cm), tepe püskülü boyu (cm) ve tepe püskülü yan dal sayısı (adet) ölçümleri alınmıştır. Çalışma sonuçları mısır genotiplerinden sera şartlarında toplanan polen örneklerinin canlılık süresinin kullanılan yöntemlere göre değiştiğini göstermiştir. Tohum bağlama ve sera şartlarında gelişim bakımından da genotipler arasında önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Polen Muhafaza, Zea mays, Canlılık, Tohum Oluşumu, Mısır ıslahı.

Sorumlu Yazar

Nur YÜKSEL


nuryukseill@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0001-5797-6133>

Yazar

Melih KÖSTEKÇİ


melih191017@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-7485-4995>

Yazar

Ahmet Serdar TURCAN


serdartzurcanszht@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-4409-4008>

Yazar

Fatih KAHRIMAN

fkahriman@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0001-6944-0512>

* Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Tarla Bitkileri Bölümü, 17100 Çanakkale, Türkiye

Gönderilme Tarihi : 3 Ağustos 2021
Kabul Tarihi : 30 Kasım 2021

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the seed production of maize lines and hybrids grown under greenhouse conditions with different pollen conservation methods. Six different genotypes (IHO, B73, HYA, HYAxB73, MAY66, IND2) were used as materials. The greenhouse experiment was carried out between September and March 2020. At least 30 seedlings were grown from each material and transplanted into pots. Three different pollen conservation methods (Tassel preservation, +4 °C pollen storage, -20 °C pollen storage) were compared and pollination processes were carried out in 9 days with 3-day intervals. Viability test was performed on the pollen sample used before each pollination process, and the change in pollen viability was monitored according to the preservation methods. Additionally, plant height (cm), tassel length (cm) and tassel side branch number (piece) measurements were taken in order to monitor the development of plants under greenhouse conditions. The results of the study showed that the viability of the pollen samples collected under greenhouse conditions of the maize genotypes varied according to the method used. It was determined that there were significant differences between genotypes in terms of seed setting and growth in greenhouse conditions.

Keywords: Pollen Conservation, Zea mays, Viability, Seed Set, Maize Breeding,

GİRİŞ

Buğdaygiller (*Gramineae*) familyasının *Maydeae* oymağında yer alan mısır bitkisi, tahıllar içerisinde birim alandan en fazla kuru madde üretebilen bitkilerdendir (Kırtok, 1998). Tropikal bölgelerden, deniz seviyesinden birkaç bin metre yüksekliklere kadar oldukça geniş bir iklim kuşağı içerisinde yetişebilen mısır, 2019 yılı verilerine göre tüm dünyada 197 milyon hektar ekim alanı ile tahıllar içerisinde ikinci sırayı alırken, 1.148 milyon ton en fazla üretimi yapılan tahıl konumundadır (FAO, 2019). Mısır üretimini artırmak için yapılması gereken çalışmaların başında bölgenin ekolojik koşullarına uygun, çevresel faktörlere dayanıklı çeşitlerin seçimi, kaliteli tohumluk kullanımı gelmektedir. Son yıllarda yapılan ıslah çalışmaları ile yüksek verimli ve kaliteli çeşitler geliştirilmiştir. Bu

çalışmalarda yapılan melezleme uygulamalarında polen önemli bir vektördür.

Mısır poleni tahıllar içerisinde en iri (80-125 mikron) polenlerden birisidir ve rüzgarla tozlanan mısır bitkisinde polen üretimi oldukça yüksektir (Hofmann ve ark., 2014). Mısır bitkisinde erkek ve dişi çiçek toplulukları bitkinin farklı yerlerinde bulunmaktadır ve polen erkek çiçek topluluğu olan tepe püskülünde oluşmaktadır. Tepe püskülünün oluşumu ve gelişimi bitkilerin yetiştirildiği şartlardan kaynaklı nedenlerle değişebilmekte ve bu durum polen üretimini de doğrudan etkilemektedir. Sera şartlarında yetiştirilen mısır bitkileri tarla şartlarındaki gibi bitkisel gelişim göstermemektedir. Tepe püskülü zayıf ve bitkilerin polen üretim kapasitesi düşük olabilmektedir. Diğer taraftan sera şartlarında erkek ve dişi çiçek topluluğunun yakın zamanlarda oluşmaması ve eşleşme sorunu olarak ifade edilen “nicking” meydana gelmektedir (Mason ve ark. 2010). Bu durumun bir sonucu olarak tozlanma esnasında koçan uçlarında boşluklar ve yeterli tane bağlamama durumu ile karşı karşıya kalınmaktadır.

Sera denemeleri mısır ıslah programlarında nesil atlatma, tohumluk üretimi veya ön değerlendirme çalışmalarının yürütülmesi amacıyla kurulmaktadır (Alcalá-Rico ve ark., 2019). Yalnızca ıslah çalışmaları için değil aynı zamanda fizyoloji alanındaki araştırmalarda da sera denemelerine başvurulmaktadır (Lizaso ve ark., 2018). Özellikle sıcaklık ve su stresi koşullarında yetiştirilen mısır bitkilerinin tarla ve sera performanslarının karşılaştırıldığı çeşitli araştırmalar da yürütülmüştür (Hama ve Mohammed, 2019). Düşük sıcaklıkların mısır üzerine etkisini konu edinen araştırmalarda da tarla ve sera şartlarındaki tepe püskülü gelişimi karşılaştırılmıştır (Hayashi ve ark., 2015). Yapılan çalışma sonucunda sera şartlarında bitkisel gelişimin dış şartlardan önemli ölçüde etkilendiği ve polen üretiminin de değişim gösterdiği bildirilmiştir.

Sera şartlarında çiçeklenme zamanının eşleştirilmesi, benzeri soruların çözümünde uygun şartlarda polen örneklerinin muhafazası ve ihtiyaç halinde kullanılabilmesi ıslah çalışmalarının önemli ihtiyaçlarından birisidir. Özellikle hibrit mısır ıslahında ana ve baba hatların melezlenebilmesi için genotiplerin eş zamanlı olarak

çiçeklenmesi gerekmektedir. Çiftçi şartlarında mısır bitkilerinde asenkron çiçeklenme durumu önemli bir problem olarak görülmesi de, ıslah çalışmaları açısından önemli bir sorundur (Mirnezami ve ark., 2021). Bu sorunu gidermek için tarla şartlarında ekim zamanında kademe uygulansa da iklim koşulları nedeniyle beklenmeyen etkiler başarı şansını düşürmektedir. Bu nedenle hem tarla hem de sera şartlarında yetiştirilen bitkilerden alınan polen örneklerinin muhafazasına yönelik çeşitli yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu amaçla kısa süreli muhafaza yöntemlerinden olan tepe püskülü ve polen muhafaza yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Tepe püskülü muhafazası bitkinin tepe püskülünün kesilerek şekerli su içerisinde düşük sıcaklıkta ve karanlık ortamda belirli süre tutulmasına dayalı bir işlemdir. Bu yöntem Mason ve ark. (2010) tarafından sera şartlarında kurulan denemelerde tane bağlama ile ilgili sorunlara çözüm bulmak amacıyla geliştirilmiş bir metottur. Anter ve polenlerin muhafaza işlemi ise tepe püskülünden farklı olarak bitkiye zarar vermeden kontrollü tozlamada olduğu gibi el ile polenlerin toplanması, belirli düzeyde nem içeriğine düşürülmesi ve düşük sıcaklıklarda (+4 °C ve -20 °C) muhafazasına dayalı yöntemlerle gerçekleştirilmektedir (Barnabas ve ark., 1988).

Mısırdaki polen muhafaza yöntemlerine yönelik olarak ulusal literatürde çok fazla çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca sera şartlarında bitkisel gelişimin izlenmesine yönelik ülkemiz kökenli herhangi bir araştırmaya da rastlanmamıştır. Bu noktadan hareketle söz konusu çalışmada bilimsel literatürde sera şartlarında farklı mısır genotiplerinin polen muhafaza yöntemlerine tepkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu çalışmanın amaçları; i) sera şartlarında yürütülen mısır ıslah çalışmalarında polen saklama yöntemlerinin etkinliğinin araştırılması, ii) farklı çiçeklenme zamanı ve nitelikteki genotiplerde polen muhafaza yöntemlerinin kullanılabilir potansiyelinin araştırılmasıdır.

MATERYAL ve METOT

Araştırma Materyali

Çalışmada materyal olarak dört kendilenmiş hat, bir deneysel hibrit ve bir ticari hibrit olmak üzere 6 farklı

genotip kullanılmıştır. Kullanılan genotipler ile ilgili bilgiler Çizelge 1’de sunulmuştur. Bu genotiplerden IHO, HYA, B73 ve IND kendilenmiş hatları Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tarla Bitkileri Bölümünde yürütülen ıslah programlarında kullanılan hatlardır. HYAxB73 bu ebeveynlerden ikisi ile oluşturulmuş deneysel tek melez hibrit, MAY66 ise May Tohum A.Ş.’den temin edilen ticari hibrittir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan mısır genotipleri

| Genotip Kodu | Özelliği | Temin Edildiği Yer |
|--------------|-----------------|--------------------|
| IHO | Kendilenmiş hat | ÇOMÜ |
| HYA | Kendilenmiş hat | ÇOMÜ |
| HYAxB73 | Deneysel hibrit | ÇOMÜ |
| MAY | Ticari çeşit | May Tohum |
| B73 | Kendilenmiş hat | ÇOMÜ |
| IND | İndirgeyici hat | CIMMYT |

Sera Denemesinin Yürütülmesi

Sera denemesi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Çiftliği, Bitkisel Üretim Araştırma ve Uygulama Birimi’nde bulunan otomasyonlu seralarda yürütülmüştür. Sera taban alanı ve hedeflenen bitki sıklığı 70x30 cm göz önünde bulundurulduğunda yaklaşık 180 saksı yerleştirilmiştir. Buna göre her genotip için maksimum 30 adet bitki hesabı ile deneme planlanmıştır. Sera denemesinde Hake ve Lunde (2017) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Ekimden önce çıkışı garanti altına almak için laboratuvar ortamında her genotipe ait 60’er adet tohum çimlenmeye bırakılmıştır. Bu amaçla nemlendirilmiş filtre kâğıdı üzerine yerleştirilen tohumlar 3-4 gün sonra viyollere alınmış, ardından 2-3 yapraklı fide aşamasına gelen bitkiler saksılara aktarılmıştır. Bitkiler şaşırtılırken Hake ve Lunde (2017) tarafından önerilen şekilde 15:15:15 (NPK) gübresinden 15 ml’lik sulandırılmış gübre uygulanmıştır. Üst gübreleme damla sulama yöntemiyle haftada üç kez olacak şekilde verilmiştir (Hake ve Lunde, 2017).

Polen Muhafaza Yöntemleri

Bitkiler çiçeklenme zamanına geldiklerinde polen muhafazası için karşılaştırılacak yöntemlere göre her

genotipten 3'er tekerrürlü ve her tekerrürde 5'er adet bitkiden örnek toplama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemlerde izlenilecek yol aşağıda detayları ile açıklanmıştır. Her örnek grubu mümkün olduğunda aynı günde alınmaya çalışılmıştır.

Yöntem 1 (Tepe püskülü muhafazası): Bu yöntem Mason ve ark. (2010) tarafından sera şartlarında mısırdan optimum tohum alabilmek amacıyla geliştirilmiş bir metottur. Bu yönteme göre tepe püskülünde anterlerin ¼'ü açıldığında tepe püskülü bir kaç yaprak bulunacak şekilde kesilip ve +4 °C'de karanlıkta muhafaza edilmiştir. 9 gün süresince 3 kez soğuk ortamdan oda sıcaklığına alınan tepe püskülleri silkelenecek polen toplanmıştır. Mason ve ark. (2010) sekizinci güne kadar bu yöntem ile her defasında 0,5-1,5 gr arasında polen toplanabileceğini belirtmişlerdir. Bu işlemi ile toplanan polenler saat 10:00-12:00 arasında daha önceden muhafaza altına alınmış koçanlara aktararak tozlanma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde 6 genotipten toplanan polenler proje iş planında açıklandığı şemaya göre öncelikle canlılık testine alınmıştır ve 3'er gün aralıklarla 3 defa olmak üzere tozlanma işleminde kullanılmıştır.

Yöntem 2 (Polen muhafazası): Polen muhafaza işlemi Georgieva ve Krulave (1993) tarafından önerilen metoda göre gerçekleştirilmiştir. Bitkilerden toplanan polen örnekleri 18 adet 5 ml'lik ependorf tüpe (3 tekerrür x 2 polen muhafaza yöntemi x 3 tozlanma tarihi) alınmıştır. Bu tüpler iki ayrı gruba ayrılmış ve iki farklı sıcaklıkta (+4 °C ve -20 °C) depolanmıştır. İlk muhafaza gününden itibaren 3 günde bir toplamda üç defa bu materyallerden her bitki için yaklaşık eşit miktarda örnek çıkarılarak oda sıcaklığına gelmesi sağlanmıştır. Ardından bu örnekler canlılık testine tabi tutulduktan sonra serada tozlanma amacıyla kullanılmıştır.

Polen Canlılık Testleri

Denemede karşılaştırılan 3 farklı muhafaza yönteminden (+4 C, -20 C ve tepe püskülü muhafaza) toplanan polen örnekleri tozlanma yapılacağı gün canlılık testine alınmıştır. Bu amaçla polen canlılığının belirlenmesi amacıyla Martins ve ark. (2017) tarafından önerilen yöntemden yararlanılmıştır. Polen canlılığı 0.75 %'lik

2,3,5-triphenyltetrazolium chloride solüsyonu ile tespit edilmiştir. Polen örneğine TTC solüsyonu eklendikten sonra alüminyum folyo ile tüplerin üzeri kapatılarak 25 °C'de bir saat süreyle örnekler bekletilmiştir. Daha sonra dijital mikroskop yardımıyla 10x ve 5x büyütme altında her genotipten 3 ayrı görüntü alınarak kaydedilmiştir. Alınan görüntüdeki toplam polen sayısına kırmızı renkte boyanan polenlerin sayısı oranlanarak polen canlılık oranları belirlenmiştir.

Tozlanmaların Yapılması ve Bitkisel Ölçümler

Çalışmada mısırdaki kullanılan kontrollü tozlanma yöntemleri kullanılmıştır. Bu amaçla Kahriman (2016) tarafından önerilen yönteme göre tozlanmalar gerçekleştirilmiştir. Çiçeklenme zamanına gelen bitkilerin dışarıdan polen almasını engellemek amacıyla koçanlar koruma altına alınmıştır. Tozlanma işlemi laboratuvarından seraya nakledilen her genotipe ait polenlerin kendisine ait koruma altına alınmış bitkilerdeki koçanlar üzerine aktarılması ile gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubu olarak sera şartlarında çiçeklenme zamanına gelen bitkilerden toplanan taze polenlerle tozlanmalar yapılmıştır. Sonbahar döneminde sıcaklık ve ışıklanma durumu tarla şartlarından farklı olduğu için bu işlemler saat 10:00-12:00 arasında yapılmıştır. Tozlanmanın ardından koçanlar bir süre tepe püskülü kâğıdı ile kapatılmıştır. Daha sonra koçan gelişiminin iyi olabilmesi için sera içerisinde çiçeklenme son bulduğunda bu bitkilerin saplarına deneme ile ilgili bilgilerin bir etiket bağlanmış ve koçanların üzerindeki kâğıtlar çıkarılmıştır. Tozlanma yapılan bitkilerde bitki boyu, tepe püskülü boyu ve tepe püskülü yan dal sayısı ölçümleri yapılmıştır. Bu ölçümlerden bitki boyu kök boğazından tepe püskülünün en uç kısmına kadar olan mesafenin ölçülmesi ile tespit edilmiştir. Tepe püskülü boyu ölçümü, püskülün en alt yan dalının bağlandığı noktadan en uç noktasına kadar olan uzunluğun ölçülmesi ile bulunmuştur. Yan dal sayısı ise tepe püskülünde ana yan dal sayısı olarak belirlenmiştir. Hasat olgunluğuna gelen bitkilerden koçanlar karışmayacak şekilde toplanmış ve ayrı torbalara alınmıştır. Koçan örneklerden taneler ayıklanarak koçan başına tane sayıları belirlenmiştir. Bu örnekler sera şartlarındaki etiketlere göre sınıflandırılarak uygulanan polen muhafaza yöntemlerine göre veriler kaydedilmiştir.

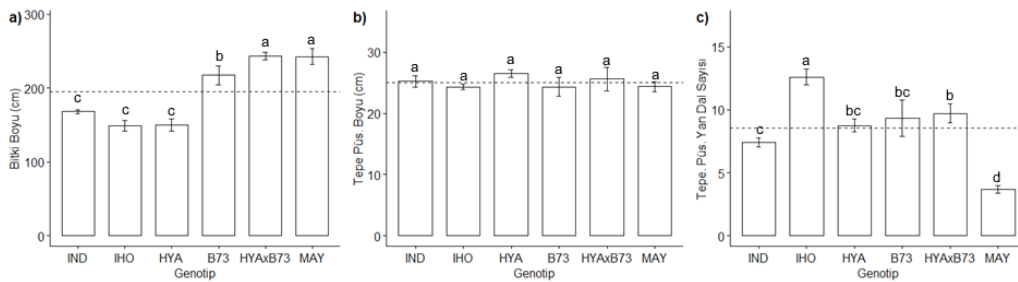
İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen veriler R istatistik paket programı (R Core Team, 2019) kullanılarak değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklar Asgari Önem Fark (AÖF) testi ile karşılaştırılmıştır. İncelenen her özellik için ana etkiler ve ikili interaksiyonların etkileri grafiksel olarak gösterilmiş ve özelliğe ait genel ortalama ile AÖF testi sonuçları bu grafikler üzerinde sunulmuştur.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Sera Şartlarında Bitkisel Gelişim

Bitki boyu, tepe püskülü boyu ve tepe püskülü yan dal sayısının genotiplere göre değişimi Şekil 1’de sunulmuştur. HYA ve IHO ve IND genotiplerinin bitki boyu bakımından genel ortalamasının altında kaldığı görülmüştür. HYAxB73 ve MAY genotipleri ise bitki boyu bakımından genel ortalamasının üzerinde ortalamaya sahip olmuş ve bu genotipler ile diğer genotipler arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Şekil 1a).



Şekil 1. Sera şartlarında yetiştirilen mısır genotiplerinin bitkisel özelliklerindeki farklar. Not: Yatay kesikli çizgi genel ortalamayı göstermektedir.

B73 ve IHO genotiplerinin tepe püskülü boyu bakımından genel ortalamasının altında kaldığı görülmüştür. IND, MAY, HYA ve HYAxB73 genotipleri ise tepe püskülü boyu bakımından genel ortalamasının üzerinde ortalamaya sahip olmuş ve genotipler arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur (Şekil 1b). Tepe püskülü yan dal sayısı bakımından IND ve MAY genotiplerinin genel ortalamasının altında kaldığı görülmüştür. B73, HYA, IHO ve HYAxB73 genotipleri ise tepe püskülü boyu bakımından genel ortalamasının üzerinde ortalamaya sahip olmuştur. En fazla

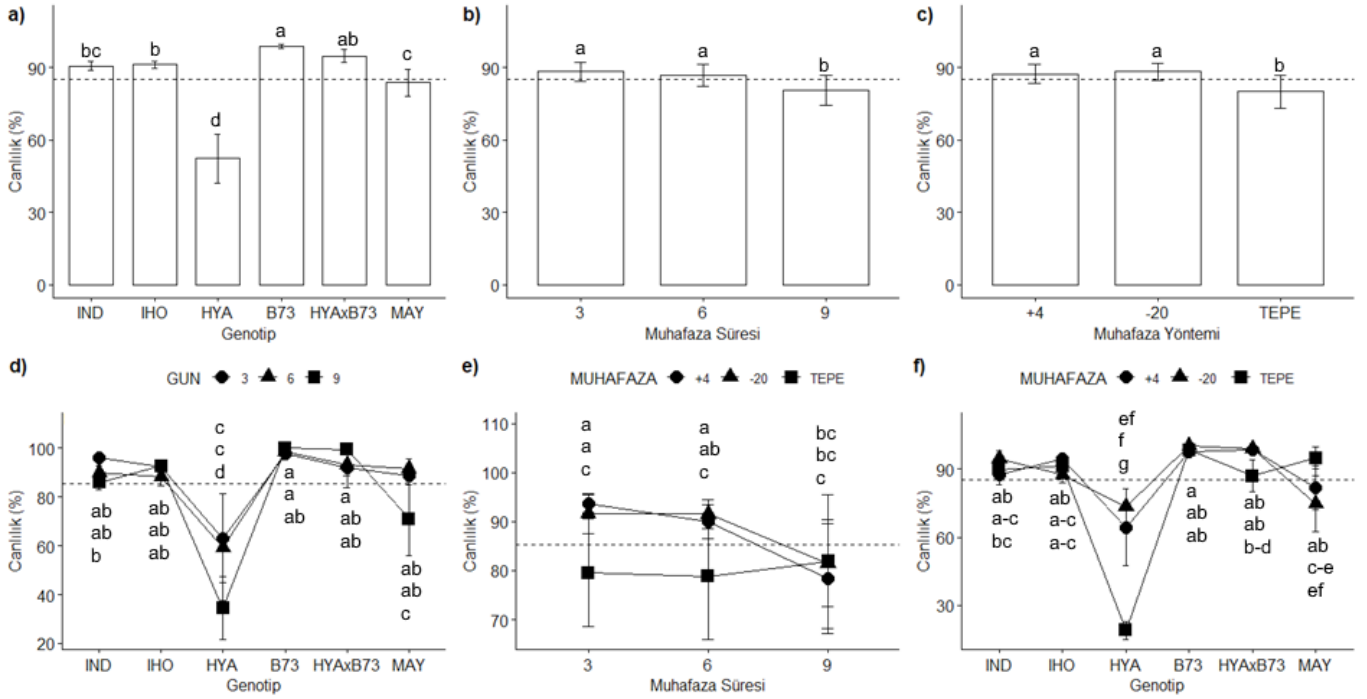
tepe püskülü yan dal sayısına sahip genotip IHO olduğu görülmüş ve bu genotip ile diğer genotipler arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Şekil 1c). Mısırdaki uzun bitki boylu genotipler genellikle hibrit genotiplerdir ve mısır bitkisi için bu sonuç beklenen bir durumdur. Uzarowska vd. (2007) kendilenmiş hatların hibritlerden daha düşük bitki boyuna sahip olduğu bildirmiştir. Ayrıca sera şartlarında bu farklılığının arttığı rapor edilmiştir. Rakamsal olarak en uzun tepe püskülü boyuna sahip genotipin HYAxB73 olduğu görülmüştür. Sokolov ve Guzhva (1997) mısırdaki farklı morfolojik özellikleri için önemli miktarda değişkenlik olduğunu bildirmiştir. Hibrit genotipler bu bakımdan bir avantaja sahiptir. Şüphesiz bu durum polen üretimine de yansımaktadır. Çünkü tepe püskülü boyu arttıkça anter sayısı artış göstermekte ve bitki başına üretilen polen miktarı da buna bağlı olarak artabilmektedir. Her ne kadar ağırlık olarak kaydedilmese de sera çalışmasında IHO genotipinin polen üretim miktarının diğer genotiplere göre nispeten yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu durum tepe püskülü yan dal sayısındaki artışın polen

üretimine olumlu yönde etki ettiği değerlendirilmiştir. Bódi ve ark (2007) mısırdaki tepe püskülü yan dal sayısının bitki boyu ile arasında negatif yönde ilişkili olduğunu belirlemiştir.

Nitekim çalışmada IHO hattı en düşük bitki boyuna sahip olurken, en fazla tepe püskülü yan dal sayısına sahip olması da literatür ile paralellik göstermektedir. Kontrollü şartlarda yetiştirilen bitkilerin tarla şartlarındaki bitkilere göre büyüme ve gelişim bakımından çeşitli farklılık göstermeleri beklenen bir durumdur. Kontrollü şartlarda günlük ışık miktarı ve günlük sıcaklık arasındaki oranın tarla koşullarından düşük olduğu ve bu durumun kaynak/depo ilişkisinin yanı sıra bitki gelişimini de etkileyebileceği vurgulanmıştır (Poorter ve ark., 2016).

Muhafaza Yöntemlerinin Polen Canlılığı ve Tohum Bağlamaya Etkisi

Polen canlılığının genotiplere göre Şekil 2’te sunulmuştur. B73 genotipinin polen canlılığı en yüksek



Şekil 2. Polen canlılığının genotip, muhafaza süresi ve muhafaza yöntemine ve ikili interaksiyonlara göre değişimi. Not: Yatay kesikli çizgi genel ortalamayı göstermektedir.

iken HYA en az canlılığa sahip olduğu görülmüştür. Genel olarak genotiplerin polen canlılıkları bakımından istatistiki açıdan önemli farklar bulunmuştur (Şekil 2a). Muhafaza süresi bakımından 9 gün muhafaza ortalamasının diğer uygulamalardan düşük bulunmuştur. Muhafaza yöntemlerinden tepe püskülü muhafaza yönteminde kaydedilen canlılık ortalamasının diğer uygulamalardan düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 2c). Genotip x Muhafaza süresi etkileşimi önemli bulunmuş ve HYA hattının polen canlılığı bakımından genel ortalamadan düşük değerlere sahip olduğu gözlenmiştir. IND, HYA ve MAY genotiplerinin 9 günlük muhafaza süresinde polen canlılıkları 3. ve 6. Günde kaydedilen değerlerden önemli ölçüde düşük bulunmuştur. Buna karşın diğer genotiplerde farklı sürelerde depolanan polen örneklerinin canlılık oranları arasında istatistiki olarak önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir (Şekil 2d). Muhafaza süresi x Muhafaza Yönteminin canlılık üzerine etkisi dikkate alındığında, +4 °C ve -20 °C’de polen örneklerini doğrudan depolanması halinde 6. güne kadar canlılık durumunda tepe püskülü muhafazası ile aralarında istatistiki olarak

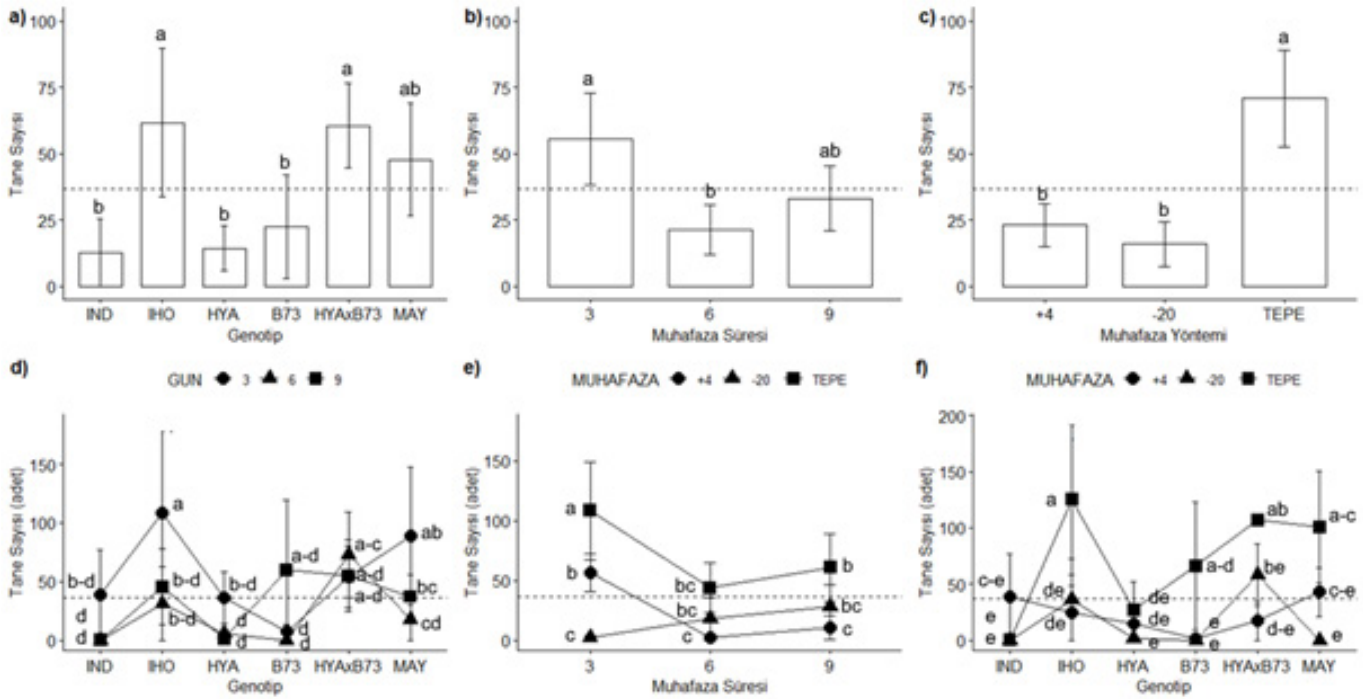
önemli bir farkın olduğu, 9. günde ise canlılık ortalamaları bakımından var olan bu farkın kaybolduğu dikkat çekmiştir (Şekil 2e). Diğer taftan tepe püskülü muhafaza yöntemine ilişkin farklı depolama sürelerinde düşük olsa da daha bu yöntemde polen canlılığının depolama süresinden önemli şekilde etkilenmediği anlaşılmıştır (Şekil 2e). Farklı genotiplerin muhafaza yöntemlerine tepkisinde de farklılıklar gözlenmiş ve HYA hattının hatlarının canlılık genel ortalamasından önemli ölçüde düşük polen canlılık değerine sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 2f). HYA ve MAY genotipleri dışında diğer genotiplerin farklı muhafaza yöntemleri için belirlenen polen canlılık değerleri arasında istatistiki olarak önemli bir farkın olmadığı görülmüştür. HYA genotipinde tepe püskülü muhafaza yönteminde en düşük canlılık değeri gözlenirken, MAY genotipinde bu durumun tersine tepe püskülü muhafaza yöntemi polen canlılık değeri bakımından en yüksek ortalamaya sahip olmuştur (Şekil 2f).

Mısır genotipleri generatif döneme geçiş sürelerindeki farklılıklar olabileceği gibi genotipler arasında polenlerin canlılık sürelerinde de farklar olabilmektedir. Polen

canlılığını etkileyen faktörler biyotik ve abiyotik etmenler olarak gruplandırılabilir ve başlıca nem, sıcaklık, UV-B radyasyonu ve fizyolojik /biyokimyasal değişimler önemli unsurlardır (Gill, 2014). Polen canlılığı temel olarak polenin nem içeriği ile ilişkilendirilmektedir (Youmbi ve ark., 2005). Polen nem içeriği ise genotiplere göre değişkenlik göstermektedir (Barnabas and Rajki, 1976). Dolayısıyla genotipik etkilerin polen canlılığına olan etkisi daha çok bu farklılıklara bağlanmaktadır. Depolama sıcaklığı polen canlılığını etkileyen önemli etmenlerden birisidir (Barnabas ve Rajki, 1976). Yapılan çalışmalarda donma noktasının üzerinde (2-7 °C) polenin depolanması halinde yaklaşık 6-10 gün polen canlılığın devam ettiği bildirilmiştir (Barnabas ve Rajki, 1981). Dolayısıyla yürütülen çalışmada depo sürelerinde göre ortalamaların polen canlılığın 9 güne kadar sürdürülebileceği görülmektedir. Nem içeriği düşürülmeden yapılan depolama işlemlerinde polenler içerisindeki suyun donmasından kaynaklanan nedenlerle zarar görebilmektedir. Çalışmada kısa süreli sayılabilecek 9 günlük depolama işlemlerinden polen canlılığının %85'in üzerinde olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla +4 °C veya -20 °C'de depolanan örneklerde polen canlılığının çok önemli bir farka sahip olmadığı görüşüne varılmıştır.

Çalışmadan elde edilen örneklerde koçanda tane sayısına ilişkin genotip ortalamaları Şekil 3'de sunulmuştur. IHO, HYAxB73, MAY genotiplerinin koçanda tane sayısını bakımından genel ortalamaların üstünde iken, B73, HYA, IND genotipleri ise genel ortalamaların altında olduğu görülmüştür AÖF testi sonuçlarına göre IHO, HYAxB73 ve MAY genotipleri ile diğer genotipler arasında istatistiksel farkın önemli olduğu belirlenmiştir (Şekil 3a). Genotiplerin 3 gün muhafaza edilen polenlerle tozlanan koçanda tane sayısı en fazla iken 6 günde ise en az ağırlığa sahip olduğu ve bu gruplar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir (Şekil 3b). Muhafaza yöntemleri arasında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Tepe püskülü muhafaza yönteminin polen muhafaza yöntemlerinden daha yüksek tane sayısı sağladığı görülmüştür (Şekil 3c). Çalışmada kullanılan genotiplere ait polenlerin farklı depo sürelerinde depolama yöntemine göre koçan tane sayısındaki değişimler gözlenmiştir. Tepe püskülü muhafaza yönteminde IHO genotipinin 3

günlük muhafaza şartlarında koçan tane sayısının diğer genotiplerden yüksek olduğu izlenmektedir (Şekil 3d). Koçanda tane sayısı üzerine Muhafaza Süresi x Muhafaza Yöntemi etkisi dikkate alındığında, tüm süreler için tepe püskülü muhafaza yönteminin daha yüksek tane sayısı verdiği gözlenmiştir. Bunun yanı sıra 3. Günde muhafaza yöntemlerine ait ortalamalar arasında önemli farklar varken, 6. Ve 9. Günde bu farkın azaldığı dikkat çekmiştir (Şekil 3e). Genotiplerin koçanda tane sayısının muhafaza yöntemlerine göre önemli farklar gösterdiği belirlenmiştir. IND genotipi haricinde diğer genotiplerde en yüksek tane sayısı tepe püskülü muhafaza yönteminden elde edilmiştir. IHO hattında tepe püskülü muhafaza uygulamasından en yüksek tane sayısı elde edilmiş ve B73, HYAxB73 ve MAY genotiplerinde tepe püskülü muhafazası ile elde edilen değerlerle aynı istatistiki grupta yer almıştır (Şekil 3f). Yukarıdaki bölümlerde açıklanan ana etkiler arasındaki etkileşimler sonucu genotipler arasında koçanda tane sayısı bakımından bazı farklar ortaya çıkmıştır. Mısır bitkisinde koçandaki tane sayısı genetik bir karakterdir (Kırtok, 1998). Koçan püskülünün dölleme sona ermeden koparılmasının koçandaki tane sayısını düşürdüğü bildirilmektedir (Menezes ve ark., 1994). Bu durum genotiplerin koçanda tane sayısında düşüne neden olabilecek bir durumdur. Barnabas ve ark. (1988) taze polen örnekleri ile -196 °C'de 1 hafta depolanan polen örnekleri ile yaptıkları tozlanmanın ardından koçanda tane sayısının önemli ölçüde düştüğünü bildirmiştir. Yürütülen çalışmada kullanılan muhafaza yöntemleri arasında da farklılıklar önemli bulunmasa da normal mısır bitkilerinden beklenen tohum sayılarından oldukça düşük değerler kaydedilmiştir. Bu durum polen muhafaza yöntemlerinden kaynaklanan nedenler ile koçanda tane bağlamanın düşmesi ile açıklanabilir. Nitekim sera şartlarında yetiştirilen mısır bitkilerinde özellikle düşük sıcaklık ve yetersiz ışıklandırma nedeniyle hem tepe püskülü gelişimi hem de polen üretiminde gerileme görülebilmektedir (Hayashi ve ark., 2015). Ayrıca çiçeklenme aralığının (anthesis-silking interval) uzaması ile tane bağlamanın olumsuz etkilendiği de vurgulanmaktadır (Hayashi ve ark., 2015). Yapılan çalışmada tane sayısı ile ilgili elde edilen sonuçlar da bu bulguları doğrulamaktadır.



Şekil 3. Tohum sayısının genotip, muhafaza süresi ve muhafaza yöntemine ve ikili interaksiyonlara göre değişimi. Not: Yatay kesikli çizgi genel ortalamayı göstermektedir.

SONUÇ

Bu çalışma mısırdaki yaygın olarak kullanılan sera şartlarında yetiştirilen mısır genotiplerinin farklı polen muhafaza yöntemleri ile tohum üretimini incelemek amacıyla yürütülmüştür. Polen muhafaza yöntemi olarak üç ayrı yöntem (Tepe püskülü muhafaza, +4 °C polen muhafaza, -20 °C polen muhafaza) kıyaslanmış ve 3'er gün aralıklarla 9 günlük sürede toplam 3 kez tozlanma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Tohum bağlama ve sera şartlarında gelişim bakımından da genotipler arasında önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Araştırma sonucunda farklı genotiplerin sera şartlarında kısa süreli muhafaza yöntemlerine tepkilerinin değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada test edilen kısa süreli muhafaza yöntemlerinin birbirine alternatif olarak kullanılabilirliği görülmüştür.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK-BİDEB tarafından TÜBİTAK 2209-A 1919B012000581 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Alcalá-Rico, J.S.G.J., Espinoza-Velázquez, J., LópezBenítez, A., Borrego-Escalante, F., RodríguezHerrera, R., Hernández-Martínez, R., 2019. Agronomic performance of maize (*Zea mays* L.) populations segregating the polyembryony mutant. *Rev. Fac. Cs. Agr. Universidad Del Cuyo. Argentina*, 51(1): 1-18.
- Barnabas, B., Rajki, E. 1976. Storage of maize (*Zea mays* L.) pollen at -196°C in liquid nitrogen. *Euphytica* 25, 747-752.
- Barnabas, B., Kovacs, G., Abranyi, A., Pfahler, P., 1988. Effect of pollen storage by drying and deep-freezing on the expression of different agronomic traits in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 39 : 221-225.
- Barnabas, B., Rajki, E., 1981. Fertility of deep-frozen maize (*Zea mays* L.). *Pollen, Arm. Bot.* 48, 861-864.
- Bódi, Z., Pepó, P., Kovács, A., 2008. Morphology of tassel components and their relationship to some quantitative features in maize. *Cereal Res. Commun.*, 36(2): 353-360.
- FAO, 2019. FAO Statistical Database, Erişim Adresi: <http://www.fao.org/faostat/en/> (Erişim Tarihi: 11.09.2021)

- Georgieva, I.D., Kruleva, M.M., 1993 Cytochemical investigation of long-term stored maize pollen. *Euphytica* 72: 87-94.
- Gill, M., 2014. Pollen storage and viability. *IJBR*, 4(5):1-18.
- Hake, S., Lunde, C. 2017. Growing and pollinating maize. *bio-protocol*101, DOI:10.21769/BioProtoc.2832.
- Hama, B.M., Mohammed, A.A., 2019. Physiological performance of maize (*Zea mays* L.) under stress conditions of water deficit and high temperature. *Appl. Ecol. Environ. Res.*, 17, 1261-1278.
- Hayashi, T., Makino, T., Sato, N., Deguchi, K., 2015. Barrenness and changes in tassel development and flowering habit of hybrid maize associated with low air temperatures. *Plant Prod. Sci.*, 18, 93-98.
- Hofmann, F., Otto, M., Wosniok, W., 2014. Maize pollen deposition in relation to distance from the nearest pollen source under common cultivation - results of 10 years of monitoring (2001 to 2010). *Environ. Sci. Eur.*, 26:24.
- Kahriman F. 2016. Mısır'da polen etkisi ve bu etkinin kontrolünde uygulanan yöntemler. Lambert Academic Publishing, Saarbrücken.
- Kırtok, Y., 1998. Mısır Üretimi ve Kullanımı. Kocaelik Basım ve Yayın Evi, İstanbul, s: 125- 129.
- Lizaso, J.I., Ruiz-Ramos, M., Rodríguez, L., Gabaldon-Leal, C., Oliveira, J.A., Lorite, I.J., Sánchez, D., García, E., Rodríguez, A., 2018. Impact of high temperatures in maize: Phenology and yield components. *Field Crops Res.*, 216, 129-140.
- Mason, T., Ross, J., Edyy, R., Hahn, D.T., 2010. Optimizing greenhouse corn production: Can seed yield be improved using cold-stored tassels?. Purdue Methods for Corn Growth. *Paper 10. <http://docs.lib.purdue.edu/pmccg/10>*.
- Martins, E.S., Davide, L.M.C., Miranda, G.J., Barizon, J.O., Souza Junior, F., Carvalho, R.P. and Gonçalves, M.C., 2017. In vitro pollen viability of maize cultivars at different times of collection. *Ciência Rural*, 47:2, e20151077.
- Menezes, N. L., Cicero, S. M., Menezes, M. L., 1994. Effect of early detasselling of maize plant of leaf area and seed yield and quality. *Santa Maria Fed. Uni. Dep. Fitotecnia*, 29:5, Brazil, p: 733-741.
- Mirnezami, S.V., Srinivasan, S., Zhou, Y., Schnable, P.S., Ganapathysubramanian, B., 2021. Detection of the progression of anthesis in field-grown maize tassels: A case study. *Plant Phenomics*, 2021, 4238701.
- Poorter, H., Fiorani, F., Pieruschka, R., Wojciechowski, T., van der Putten, W.H., Kleyer, M., Schurr, U. and Postma, J., 2016. Pampered inside, pestered outside? Differences and similarities between plants growing in controlled conditions and in the field. *New Phytologist*, 212: 838-855.
- R Core Team, 2019. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for *Statistical Computing*, Vienna, Austria.
- Sokolov, V.M., Guzhva, D.V., 1997. Use of qualitative traits for genotypic classification of inbred maize lines. *Kukuruza I Sorgo*, 3: 8-12.
- Uzarowska, A., Keller, B., Piepho, H-P., Schwarz, G., Ingvarsdén, C., Wenzel, G., Lubberstedt T., 2007. Comparative expression profiling in meristems of inbredhybrid triplets of maize based on morphological investigations of heterosis for plant height. *Plant Molecular Biology*, 63:21-34.
- Youmbi, E., The, C, Tedjaco, A., 2005. Conservation of the germination capacity of pollen grains in three varieties of maize (*Zea mays* L.). *Grana*, 44:3, 152-159.