

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Didem ATASOY

**BAZI BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAH GENOTİPLERİNİN
ANTER KÜLTÜRÜ PERFORMANSLARININ BELİRLENMESİ**

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ADANA-2020

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAH GENOTİPLERİNİN ANTER
KÜLTÜRÜ PERFORMANSLARININ BELİRLENMESİ**

Didem ATASOY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 07/02/2020 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç.Dr. Hatıra TAŞKIN
DANIŞMAN

Doç.Dr. İlknur SOLMAZ
ÜYE

Dr. Öğr. Üyesi Bekir Bülent ARPACI
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa Gök
Enstitü Müdürü**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirilerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri kanundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAH GENOTİPLERİNİN ANTER KÜLTÜRÜ PERFORMANSLARININ BELİRLENMESİ

Didem ATASOY

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Danışman : Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN
Yıl: 2020, Sayfa: 59
Jüri : Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN
: Doç. Dr. İlknur SOLMAZ
: Dr. Öğr. Üyesi Bekir Bülent ARPACI

Sunulan bu çalışmada, farklı tiplerde 23 biber genotipinde anter kültürü performansı belirlenmiştir. Çiçek tomurcuklarının dezenfeksiyonunda, tomurcuklar öncelikle %70'lik etil alkolde 30 saniye bekletilmiş ve sonrasında 10 dakika süresince 1-2 damla Tween-20 içeren %15'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde tutulmuştur. Alınan anterler ilk aşamada; 30 g/L sakkaroz, 2.5 g/L aktif kömür, 15 mg/L gümüş nitrat (AgNO₃), 4 mg/L 1-Naphthaleneacetic acid (NAA), 0.5 mg/L 6-Benzylaminopurine (BAP) ve 6.5 g/L agar içeren Murashige and Skoog (MS) besin ortamında kültüre alınmışlardır. Sonrasında anterler, 30 g/L sakkaroz ve 6.5 g/L agar içeren ve büyümeyi düzenleyici içermeyen MS besin ortamına aktarılmışlardır. Elde edilen embriyolarda, aynı besin ortamına alınmışlardır (ikinci ortama). Anterler, ön uygulama olarak, +35°C'de ve karanlık koşullarda 2 gün süresince bekletilmişlerdir. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, genotiplere göre 100 canlı anter için ortalama embriyo sayıları 0.83 ile 44.44 arasında değişmiştir. En yüksek oran FT-509 genotipinde gözlemlenmiş ve bu genotipi FT-508 (23.61 embriyo/100 canlı anter), FT-1181 (23.37 embriyo/100 canlı anter) ve FT-905 (22.89 embriyo/100 canlı anter) genotipleri takip etmiştir. En düşük performansı, 0.83 adet embriyo/100 canlı anter ile FT-1178 genotipi göstermiştir. Genellikle oluşan embriyoların tamamı bitkiye dönüşebilmiştir. Bu nedenle, 100 canlı anter için ortalama bitki oluşturan embriyo sayısı değerleri, 100 canlı anter için ortalama embriyo sayıları ile aynı olmuştur. En yüksek ortalama bitki sayısı 20 adet ile FT-508 no'lu genotipte gözlemlenmiş ve FT-509 (17.5 bitki-yaklaşık 17), FT-1181 (16 bitki), FT-905 (12 bitki), FT-263 (10.5 bitki-yaklaşık 10) ile FT-507 (8.25 bitki-yaklaşık 8) genotipleri tarafından takip edilmiştir. En düşük bitki sayısı ise 0.5 (yaklaşık 1) adet ile FT-1178 no'lu genotipte kaydedilmiştir. Çalışma sonucunda; FT-509 no'lu genotipin anter kültürü performansı 44.44 embriyo/100 canlı anter ile yüksek; FT-508, FT-1181, FT-905, FT-501, FT-1179, FT-1174, FT-908, FT-507, FT-1173, FT-1180, FT-1182, FT-903, FT-901, FT-1183 FT-907 ve FT-263 genotiplerinin anter kültürü performansı 11.47-23.61 embriyo/100 canlı anter ile orta; FT-900, FT-500, FT-906, FT-902, FT-1175 ve FT-1178 genotiplerinin performansı 0.83-9.87 embriyo/100 canlı anter ile düşük olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biber, *Capsicum annuum*, anter kültürü, genotip

ABSTRACT

MSc THESIS

DETERMINATION OF ANTHR CULTURE PERFORMANCE OF SOME PEPPER (*Capsicum annuum* L.) BREEDING GENOTYPES

Didem ATASOY

UNIVERSITY OF CUKUROVA
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF HORTICULTURE

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Hatira TAŞKIN
Year: 2020, Page: 59
Juri : Assoc. Prof. Dr. Hatira TAŞKIN
: Assoc. Prof. Dr. İlknur SOLMAZ
: Asst. Prof. Dr. Bekir Bülent ARPACI

In this study presented, anther culture performances of 23 pepper genotypes belonging different types were determined. In disinfection of flower buds, the buds were first kept in 70% ethyl alcohol for 30 seconds and then were waited in 15% sodium hypochlorite solution containing 1-2 drops of Tween-20 for 10 minutes. The anthers taken were cultured in Murashige and Skoog (MS) nutrient medium containing 30 g/L sucrose, 2.5 g/L activated charcoal, 15 mg/L silver nitrate (AgNO_3), 4 mg/L 1-Naphthaleneacetic acid (NAA), 0.5 mg/L 6-Benzylaminopurine (BAP) and 6.5 g/L agar in the first stage. The anthers were then transferred to MS medium including 30 g/L sucrose and 6.5 g/L agar and without growth regulators. The embryos obtained were taken to the same nutrient medium (second one). The anthers were cultured at +35°C and in dark conditions for 2 days as pre-treatment. When the results of the study were evaluated, average embryo number per hundred alive anthers according to the genotypes ranged from 0.83 to 44.44. The highest ratio was observed in the genotype FT-509 and it was followed by the genotypes FT-508 (23.61 embryos/100 alive anthers), FT-1181 (23.37 embryos/100 alive anthers) and FT-905 (22.89 embryos/100 alive anthers). The genotype FT-1178 showed the lowest performance with 0.83 embryos/100 alive anthers. Generally, all of the embryos developed could transform into plants. Therefore, the average embryo number forming plant per 100 alive anthers was the same with average embryo number per hundred alive anthers. The highest average plant number was observed in the genotype FT-508 with 20 plants and it was followed by the genotypes FT-509 (17.5 plants-approximate 17), FT-1181 (16 plants), FT-905 (12 plants), FT-263 (10.5 plants-approximate 10) and FT-507 (8.25 plants-approximate 8). The lowest number of plant was recorded in the genotype FT-1178 with 0.5 plant (approximate 1 plant). At the end of study, while anther culture performance of the genotype FT-509 was assessed as high with 44.44 embryos/100 alive anthers, anther culture performances of the genotypes FT-508, FT-1181, FT-905, FT-501, FT-1179, FT-1174, FT-908, FT-507, FT-1173, FT-1180, FT-1182, FT-903, FT-901, FT-1183 FT-907 and FT-263 were evaluated as fair with 11.47-23.61 embryos/100 alive anthers. The anther culture performances of the genotypes FT-900, FT-500, FT-906, FT-902, FT-1175 and FT-1178 were assessed as poor with 0.83-9.87 embryos/100 alive anthers.

Keywords: Pepper, *Capsicum annuum*, anther culture, genotype

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Özel firma tarafından ıslah çalışmalarında kullanılan, 23 farklı biber genotipinin anter kültürü performansı bu çalışma kapsamında belirlenmiştir. Çalışma 2018-2019 yılları arasında, ARGEERA Bilimsel Araştırma Geliştirme Üretim Danışmanlık San. ve Tic. Ltd. Şti. (Antalya)'nde yürütülmüştür.

Denemede kullanılan biber bitkilerinin çiçek tomurcukları, dezenfeksiyon amaçlı doku kültürü laboratuvarında steril kabin içerisinde, %70'lik etil alkolde 30 saniye bekletilerek steril saf su ile birkaç defa durulanmıştır. Etil alkolü takiben dezenfeksiyon, 10 dakika süresince 1-2 damla Tween-20 içeren %15'lik sodyum hipokloritte bekletme ve tekrardan birkaç defa steril saf su ile durulanma ile tamamlanmıştır.

Araştırmada, izole edilen anterler ilk etapta, 30 g/L sakkaroz + 2.5 g/L aktif kömür + 15 mg/L AgNO₃ + 4 mg/L NAA + 0.5 mg/L BAP + 6.5 g/L agar içeren Murashige ve Skoog (MS) besin ortamında kültüre alınmışlardır. İkinci etapta ise anterler, 30 g/L sakkaroz ve 6.5 g/L agar içeren ve büyümeyi düzenleyici içermeyen MS besin ortamına aktarılmışlardır. Elde edilen embriyolar ise ikinci ortamda kültüre alınmışlardır. Elde edilen kültürler ilk aşamada, inkübatörde +35°C'de ve karanlık koşullarda 2 gün süresince ön uygulamaya tabi tutulmuşlardır. İki gün sonra kültürler, 25±1°C sıcaklık, 3600 lux gücündeki floresan ile aydınlatılan, 16 saat aydınlık-8 saat karanlık ışık rejimine sahip kültür odasına alınmışlardır. Deneme süresince; canlı anter sayısı, embriyo oluşturan anter sayısı, kallus oluşturan anter sayısı, embriyo sayısı, bitkiye dönüşen embriyo sayısı ve gelişen bitki sayısı parametreleri değerlendirilmeye alınmıştır.

Araştırma sonuçları değerlendirildiğinde, embriyo oluşturan anter sayısı ortalamaları 5 ile 42.5 arasında değişmiştir. Genotiplerde canlı anter sayısı farklı olduğu için, embriyo oluşturan ve kallus oluşturan anter sayısı değerlendirmelerinde, 100 canlı anter başına embriyo ve kallus oluşturan anter sayıları hesaplanmıştır. Bu şekilde hesaplandığında, 100 canlı anter başına embriyo

oluşturan anter sayısı ortalamaları, 9.16 ile 74.52 arasında değişmiştir. En yüksek değer, 74.52 embriyo oluşturan anter/100 canlı anter ile FT-1173 no'lu genotipten, en düşük değer ise 9.16 embriyo oluşturan anter/100 canlı anter ile FT-1178 no'lu genotipten elde edilmiştir. Yüz canlı anter başına ortalama kallus oluşturan anter sayısı açısından ise, sonuçlar 2.37 ile 45.83 kallus oluşturan anter/100 canlı anter arasında değişmiş, FT-902 (45.83 kallus oluşturan anter/100 canlı anter) ve FT-903 (39.25 kallus oluşturan anter/100 canlı anter) genotiplerinden en yüksek değerler elde edilmiştir. En düşük performansı ise 2.37 kallus oluşturan anter/100 canlı anter ile FT-501 no'lu genotip göstermiştir.

Anter kültürü çalışmalarında, genotiplerin performanslarının karşılaştırılmasında genellikle 100 anter başına hesaplanan embriyo sayısı dikkate alınmaktadır. Bu araştırmada, 100 canlı anter için ortalama embriyo sayıları, 0.83 ile 44.44 arasında değişmiştir. En yüksek oran, 44.44 embriyo/100 canlı anter ile FT-509 genotipinde, en düşük oran ise 0.83 embriyo/100 canlı anter ile FT-1178 genotipinde gözlemlenmiştir. Ortalama bitkiye dönüşen embriyo sayısı, 0.5 (yaklaşık 1 bitki) ile 20 arasında değişmiş, genellikle oluşan embriyoların tamamı bitkiye dönüşebilmiştir. Bu nedenle, 100 canlı anter için ortalama bitki oluşturan embriyo sayısı değerleri, 100 canlı anter için ortalama embriyo sayıları ile aynı olmuştur. En yüksek bitki sayısı 20 adet ile FT-508 no'lu genotipte, en düşük ise 0.5 (yaklaşık 1 bitki) adet ile FT-1178 no'lu genotipte kaydedilmiştir. Gelişen bitki sayısı, 0.5 (yaklaşık 1 bitki) ile 15.75 (yaklaşık 16 bitki) arasında değişmiştir. En yüksek performans; 15.75 (yaklaşık 16 bitki) adet ile FT-508 no'lu genotipte, en düşük performans ise 0.5 (yaklaşık 1 bitki) adet ile FT-902 ve FT-1178 no'lu genotiplerde tespit edilmiştir.

Yüz canlı anter başına embriyo açısından genotipleri karşılaştırarak, genotipleri kendi içinde değerlendirdiğimizde; FT-509 no'lu genotipin anter kültürü performansı 44.44 embriyo/100 canlı anter ile yüksek; FT-508, FT-1181, FT-905, FT-501, FT-1179, FT-1174, FT-908, FT-507, FT-1173, FT-1180, FT-1182, FT-903, FT-901, FT-1183 FT-907 ve FT-263 genotiplerinin anter kültürü

performansı 11.47-23.61 embriyo/100 canlı anter ile orta; FT-900, FT-500, FT-906, FT-902, FT-1175 ve FT-1178 genotiplerinin performansı 0.83-9.87 embriyo/100 canlı anter ile düşük olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada kullanılan genotipler, özel bir firma tarafından ıslah çalışmalarında kullanılmaktadır. Bu genotiplerin androgenesis etkinliklerinin belirlenmesi ve bu genotiplerden haploid ve sonrasında dihaploid bitkilerin elde edilmesi ile özel firma tarafından yürütülen ıslah çalışmalarının hızlandırılması amaçlanmıştır.





TEŞEKKÜR

Öncelikle kısa bir süre önce aramızdan ayrılan rahmetli Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA Hocamızı rahmetle anıyor, kendisine verdiği desteklerden dolayı sonsuz teşekkürler ediyorum.

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen değerli hocam, Zir. Yük. Müh. Gökhan BAKTEMUR'a teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım süresince her zaman yardımcı olan arkadaşım Edanur KORKUT'a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim süresince her zaman benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve sevgili arkadaşım Abdullah TUMBÜL'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Ayşe ÇELİK'e teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	9
3. MATERYAL VE METOT	23
3.1. Materyal	23
3.2. Metot.....	24
3.2.1. Bitki Yetiştirme ve Tomurcuk Alma.....	24
3.2.2. Uygun Anter Safhasının Belirlenmesi	25
3.2.3. Çiçek Tomurcuklarının Dezenfeksiyonu ve Anterlerin Ayrılması	26
3.2.4. Kullanılan Besin Ortamları ve Besin Ortamlarının Hazırlanması.....	26
3.2.5. Kültür Koşulları ve Ön Uygulamalar	27
3.2.6. Bitkilerin Dış Ortama Aktarılması	27
3.2.7. İncelenen Parametreler.....	28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	59



ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1. Çalışmada Kullanılan Biber Genotipleri.....	23
Çizelge 4.1. Anter Kültürü Denemesinde Kullanılan Biber Genotiplerinin Canlı Anter, Embriyo Ve Kallus Oluşturan Anter Sayıları	30
Çizelge 4.2. Denemede Farklı Biber Genotiplerden Anter Kültürü Yoluyla Elde Edilen Embriyo Ve Bitki Sayıları.....	34
Çizelge 4.3. Denemede Kullanılan Biber Genotiplerinin Anter Kültürü Performansları Açısından Gruplandırılması (Embriyo Sayısı/100 Canlı Anter İçin).....	47



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1. Uygun Safhadaki Biber Çiçek Tomurcuklarının Toplanması	25
Şekil 4.1. Denemede Kullanılan Bazı Biber Genotiplerinin Anter Kültürüne Tepkisi; Ft-1174 (A), Ft-906 (B), Ft-1183 (C).....	37
Şekil 4.2. Denemede Kullanılan Bazı Biber Genotiplerinin Anter Kültürüne Tepkisi; Ft-263 (A), Ft-508 (B), Ft-501 (C).....	37
Şekil 4.3. Denemede Kullanılan Bazı Biber Genotiplerinin Anter Kültürüne Tepkisi	38
Şekil 4.4. Anter Kültürü Sonucu Geliştirilerek Dış Koşullara Ağıştırılan Biber Bitkileri; Dış Koşullara Ağıştırma (A), Dış Koşullara Adapte Olup Ürün Aşamasındaki Biber Bitkileri (B).....	39



SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
2,4-D	: 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
ABA	: Absisik asit
AgNO ₃	: Gümüş nitrat
B5	: B5 besin ortamı (Gamborg ve ark, 1968)
BAP	: 6-Benzil amino pürin
CP	: CLC/Ipomoea besin ortamı
DAPI	: 4',6-diamidino-2-phenylindole
FeSO ₄	: Demir sülfat
g/L	: gram/Litre
HCl	: Hidroklorik asit
IAA	: İndol-3-asetik asit
KOH	: Potasyum hidroksit
mg/L	: miligram/Litre
mL/L	: mililitre/Litre
mm	: milimetre
M	: Mol
MS	: Murashige ve Skoog besin ortamı
N	: Normal
Na ₂ EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic Acid, Disodium Salt
NAA	: Naftalen asetik asit
NaClO	: Sodyum hipoklorit
pH	: Hidrojenin gücü



1. GİRİŞ

Anavatanı Amerika kıtası olan biber, Solanaceae familyası ve *Capsicum* cinsi içerisinde yer alır. Birçok türü barındıran *Capsicum* cinsinde en çok tüketimi yapılan tür *Capsicum annuum* L.'dur. Türkiye'nin 2018 yılında kapyalı biber üretimi 1128060 ton, dolmalık üretimi 397175 ton, sivri üretimi 930349 ton, çarliston üretimi ise 99390 ton (toplam 2554974 ton) iken, 1988 verileri incelendiğinde kapyalı ve çarliston için kayıtlı üretim bulunamazken, dolmalık üretim 470000 ton, sivri üretim ise 260000 ton olmuştur (TÜİK, 2018). Örtüaltı dolmalık biber üretimi 1996'da 21870 ton iken, 2018'de 100253 ton, 1996 yılına kapyalı tipinde biber üretimi gerçekleştirilmez iken 2018'de 136242 ton, sivri üretimi 1996'da 261205 ton iken, 2018'de 282029 ton, çarliston üretimi 1996'da gerçekleştirilmezken, 2018'de 70645 ton olarak kaydedilmiştir (TÜİK, 2018). Dünya taze ve kuru toplam biber üretiminde 2018 yılı FAO verilerine göre; ilk sırayı 18 506 001 ton ile Çin alırken, Çin'i sırası ile 3 440 044 ton ile Meksika, 2 569 269 ton ile Türkiye, 2 542 358 ton ile Endonezya, 1 887 679 ton ile Hindistan, 1 281 896 ton ile İspanya, 818 238 ton ile Nijerya, 776 321 ton ile Mısır ve 706 225 ton ile Amerika Birleşik Devletleri izlemektedir. Sadece taze biber üretiminde 18 184 711 ton ile yine Çin ilk sırada, 3 379 289 ton ile Meksika ikinci, 2 554 974 ton ile Türkiye üçüncü, 2 542 358 ton ile Endonezya dördüncü, 1 275 457 ton ile İspanya beşinci, 747 367 ton ile Nijerya altıncı, 713 752 ton ile Mısır yedinci ve 705 790 ile Amerika Birleşik Devletleri sekizinci sırada yer almaktadır. Sadece kuru biber üretiminde ise ilk sırada 1 808 011 ton ile Hindistan yer almaktadır. Hindistan'ı 321 290 ton ile Çin, 294 299 ton ile Etiyopya, 247 010 ton ile Tayland, 148 114 ton ile Pakistan, 141 177 ton ile Bangladeş ve 130 335 ton ile Myanmar izlemektedir (FAO, 2018). Türkiye toplam taze ve kuru ve aynı zamanda sadece taze biber üretiminde dünya üçüncülüğünü korumakla beraber, Endonezya'nın çok az bir farkla Türkiye'yi takip etmesi de dikkate değer bir durumdur. Kuru biber

üretiminde ise Hindistan'ın çok açık şekilde görülebilecek üstünlüğü bulunmaktadır.

Sebze ıslahında doku kültürü yöntemlerinden, haploid bitki üretimini hedefleyen erkek gametten haploid uyartımı (androgenesis) ve dişi gametten haploid uyartımı (ginogenesis) ve partenogenesis önemli kolaylıklar ve zamandan kazanım sağlamaktadırlar. Erkek gametten haploid uyartımı anter kültürü ve mikrospor kültürü; dişi gametten haploid uyartımı ise ovül ve ovaryum kültüründen oluşmaktadır. Kromozom eliminasyonu ve eksik veya yetersiz polenle tozlama yöntemleri de haploid bitki üretimi amaçlı kullanılmaktadır. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, biberde bu yöntemlerden anter kültürünün başarılı bir şekilde uygulanabildiği görülmüş ve uygun bir protokolün oluşturulması amacı ile çalışmalar devam ettirilmektedir. Biber anter kültürü için, çok sayıda besin ortamı bileşimi çalışılmış ve başarılı protokoller geliştirilmiştir. Haploid embriyo oluşumunda başarıyı en fazla etkileyen faktörler; donör bitki, genotip, kültür ortamı içeriği, büyüme düzenleyicileri ve konsantrasyonları olarak bilinmektedir.

Comlekcioglu ve Ellialtioglu (2018) tarafından yapılan bir derleme çalışmasında, ülkemizde biberde anter kültürü konusunda yapılan çalışmalar ayrıntılı bir şekilde sunulmuştur. Bu çalışmadan elde edilen bilgilere göre, ülkemizde yapılan çalışmalarda, büyüme düzenleyicilerinin farklı konsantrasyonları ve kombinasyonlarını içeren Murashige ve Skoog-MS (1962) ile Dumas de Vaulx ve ark (1981) temel besin ortamlarının başarılı oldukları belirlenmiştir. Embriyo gelişimi için, Naftalen asetik asit (NAA) (1-4 mg/L) ile 6-Benzil amino purin (BAP) (0.1-1 mg/L) veya kinetin (5 mg/L) kombinasyonu, gümüş nitrat (AgNO_3) (10-15 mg/L) ve aktif kömür (%0.1-0.25) diğer ek bileşenlerden daha başarılı bulunmuştur. Hem anter hem de mikrospor kültürü için, embriyo gelişim oranının 0 ila 250 embriyo/100 anter arasında çeşitlendiği görülmüştür. Çoğunluğu yerel popülasyonlar ve ıslah hatları olan 143'den fazla farklı genotip ile gerçekleştirilen çalışmalar, genotipin etkisinin androgenik yanıt üzerinde en önemli ve sınırlayıcı faktör olduğunu göstermiştir. Genotipe ek olarak,

kullanılan protokolün de çok önemli olduğu ve bazı genotiplerin androgenik indüksiyon açısından yanıtı olmadığı, birçok çalışmanın ortak sonucu olmuştur. Biberlerde, *in vitro* androgenesis için tek bir protokol olmamakla beraber, farklı protokoller uygulama olasılığı, her çeşit için uygun bir protokol seçme fırsatı vermektedir. Her bir genotip için en uygun besin ortamı kompozisyonunun belirlenmesinin gerekliliği, tüm çalışmalarda kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmalarda, kültür öncesi tomurcuklara yapılan ön uygulamalar ve inkübasyon koşullarının haploid embriyo oluşumunda önemli etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir. Ön uygulamaların amacı, mikrosporların gametofitik gelişimini sporofitik gelişime dönüştürmek için gerekli olan stresi oluşturmaktır. Ön uygulamalar, düşük ya da yüksek sıcaklık şoklarını, mannitol kullanılarak anterlerin aç bırakılmasını ya da bunların kombinasyonunu içermektedir. Abak (1983a), çiçek tomurcuklarını doymuş nem koşullarında tutma ön uygulamasını denemiş, ancak 25/35°C'de 1-2 gün boyunca doymuş nem koşullarında tutulan tomurcuklar, kısa sürede canlılıklarını kaybetmişlerdir. Bal ve ark (2003) tomurcukları 10°C'de 7 gün boyunca 0.3 M mannitol kullanarak açlık koşullarında ön-uygulamaya tabi tutmuşlardır. Mannitol uygulamasının, ozmotik strese bağlı mikrospor kaynaklı kallus kolonilerinin oranını arttırdığı belirlenmiştir. En yaygın olarak kullanılan ön-uygulama yöntemlerinden birisi, tomurcukların düşük sıcaklıklılarda tutulduğu soğuk uygulamasıdır. Anterlere soğuk uygulaması, Absisik asit (ABA) içeriğinde azalmaya neden olurken, kültürden önce tomurcuklara farklı sürelerde 4°C soğuk uygulamasının, embriyogenesi teşvik etmediği bildirilmiştir. Biner ve ark (2001) anterlerin 1-2 gün boyunca 4°C'de tutulmasının, çeşitlere bağlı olarak daha yüksek embriyo oranlarına yol açtığını bildirmişlerdir. Birçok çalışmada, farklı sürelerde (kültürün ilk 2-8 günlerinde) yüksek sıcaklık (35°C) ön uygulamasının, sabit karanlık koşullar altında embriyogenesi teşvik etmek için daha etkili uygulamalardan biri olduğu bildirilmiştir. Terzioğlu ve ark (2000) ve Ellialtıoğlu ve ark (2001) kültürün ilk 8 günü süresince, 29°C'de ve sürekli ışık koşullarında tutmanın, 35°C ve sürekli karanlık koşullarda bekletmekten daha fazla embriyo

gelişimini teşvik ettiğini belirtmişlerdir. Normal gametofitik gelişimin mikrosporların sporofitik gelişimine yönelmesini etkilemek için, düşük veya yüksek sıcaklık gibi stres uygulamalarına yanıt, genotiplere göre değişmiştir. Ancak, anterler alınmadan önce çiçek tomurcuklarının soğuk (4°C) ön-uygulamasına tabi tutulması, androgenik yanıt üzerinde önemli bir etki göstermemiş, fakat yüksek sıcaklık (35°C) uygulamaları daha etkili bir şekilde embriyogenesi uyarmıştır. Anterler veya çiçek tomurcuklarına ön uygulama değişken olduğu için genotip etkisi, bitkinin fizyolojik durumu ve donör bitki yetiştirilme koşulları beraber tartışılmalıdır. Daha önceki birçok araştırmada, büyüme koşullarının, bitkinin yaşının ve anterlerin toplandığı mevsimin, androgenik embriyo oluşumu oranı ve bitkiye dönüşüm üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Buyukalaca ve ark (2004) sera bitkilerinden elde edilen anterlerin, açık alan bitkilerinden elde edilen anterler ile karşılaştırıldığında, daha fazla embriyo geliştirdiğini belirlemişlerdir. Ercan ve ark (2006) yaz aylarında açık alanda dikilen ve aynı zamanda kışın ısıtılmamış bir serada yetiştirilen iki farklı biber çeşidinin, farklı mevsimsel etkilere farklı embriyogenik yanıtlar verdiklerini tespit etmişlerdir. Çalışma sonuçları, donör bitkilerin yaşının da androgenik yanıt açısından önemli bir faktör olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar, optimum anter safhası belirlendiğinde, yaşlı bitkilerden toplanan anterlerin, tatmin edici bir embriyogenik tepki vereceğini belirtmişlerdir. Donör bitkilerin yetiştigi mevsimin, yaşın ve anter kültürünün yapıldığı mevsimin androgenik tepki üzerine etkileri, kapsamlı bir çalışmada (serada, Kasım, Mart ve Ekim aylarında, 3 dönem boyunca, Adana koşullarında, beş genotip) incelenmiştir (Taşkın, 2005; Taskin ve ark, 2011). Kasım ayında dikilen fidelerden Ocak, Şubat ve Mart aylarında tomurcuklar alınmış; ikinci dönemde yapılan dikimden, tomurcuklar Nisandan Eylül ayına kadar ve 3. periyotta dikilen fidelerden, Kasım, Aralık ve Ocak aylarında tomurcuklar alınmıştır. En başarılı sonuçlar Nisan ve Mart aylarında yapılan anter kültüründen elde edilmiştir. Mart ve Nisan aylarında optimal çevre koşulları nedeniyle, bu aylarda alınan anterlerin daha yüksek bir embriyo verimi sağladığı

düşünülmüştür. Temmuz ve Ağustos aylarında alınan anterlerin kültürlerinden sonuç alınamamıştır. Farklı genotipler ile çalışan Ata (2011), farklı iklim koşullarına (düşük ve yüksek sıcaklıklara karşı toleranslı ve duyarlı) farklı adaptasyonlara sahip biber genotiplerinden Mersin’de sera içinde Ekim ayında dikilen bitkilerden farklı aylar boyunca (12 ay süresince) alınan anterlerin, önemli farklılıklar gösterdiğini bildirmiştir. Kuvvetli sürgün gelişiminin meydana geldiği ilkbahar ve yaz aylarında alınan anterlerin, bitkideki yüksek içsel oksin seviyeleri nedeniyle yüksek miktarda sitokinin bulunduğu bir ortamda geliştirilmesinin daha başarılı sonuçlar verdiği ve içsel oksin düzeylerinin düştüğü kış aylarında, daha az sitokinin seviyeli besin ortamı ile daha iyi sonuçlar alındığı rapor edilmiştir. Farklı dönemlerde yapılan anter kültürleri ile ilgili olarak, en başarılı sonuçlar (%66.36) Ağustos ayında (11 aylık bitkilerden) elde edilmiştir. Çevresel koşulları arasında, bitkinin yetiştiği dönemde çevrenin sıcaklığı ve bitkinin maruz kaldığı stres faktörlerinin olumlu etkisinin olduğu ve haploid embriyo gelişiminin teşvik edilmesi için kültürün, genotip tarafından ihtiyaç duyulan iklim koşullarına uygun bir dönemde yapılması gerektiği vurgulanmıştır. Arı ve ark (2016a), Kasım ve Aralık aylarında toplanan ve Antalya’da ısıtılmamış bir serada yetiştirilen 64 adet süs biberinde mikrospor kültürü üzerinde çalışmışlar, 64 genotipin sadece 48’i farklı oranlarda embriyo üretmiştir. Araştırmacılar, androgenik tepki veren ve ilkbaharda bir serada yetiştirilen bitkilerden daha fazla sayıda haploid embriyo elde edilen 48 genotip üzerinde çalışmayı sürdürmüşlerdir. Donör bitkilerin yetiştirme koşullarının, bitki yaşının, bitki sağlığının ve vegetasyon dönemindeki stres faktörlerinin genotipleri etkilediği belirtilmiştir. Başarılı bir anter ve mikrospor kültürü için, donör bitkilerde stresin önlenmesinin büyük önem taşıdığı açıktır. Androgenesis yöntemi ile geliştirilen embriyolar, haploid veya spontan dihaploid (SDH) olabilir. Ercan ve ark (2006) anter kültürü ile elde ettikleri 76 bitkinin hepsinin haploid olduğunu, Alremi ve ark (2014) 40 bitkinin %94’ünün haploid olduğunu, Arı ve ark (2016b) ise 122 bitkiden 63’ünün (%51.6) SDH, 52’sinin (%42.6) haploid ve 7’sinin (%5.73) mikstoploid olduğunu saptamışlardır. Keleş ve

ark (2015) tarafından bu konuda yapılan kapsamlı bir çalışmada, toplam 611 bitkinin 373'ünün (%60) haploid ve 238'inin (%39) SDH olduğu belirlenmiştir. SDH oranı, genotipe göre önemli farklılıklar göstermiştir. Çalıştıkları biber genotipleri arasında, en yüksek SDH oranı dolma tipinde ortalama %53.4 (en yüksek %61.7) iken, en düşük ortalama %22 ile sivri tipte gözlemlenmiştir (en düşük %8). Anter kültürü yöntemiyle haploid embriyo oluşumu ve bitkiye dönüşümü sağlamak amacıyla, iki donör bitki yetiştirme mevsimi ile Antalya'da 2016 yılında başlatılan bir çalışmada 24 genotip araştırılmıştır. Bu çalışmada, 1 mg/L BAP ve 4 mg/L NAA, 30 g/L sakkaroz, 15 mg/L AgNO₃ ve %1 aktif kömür içeren MS ortamı kullanılmıştır. Kültürün ilk iki gününde, anterler sürekli karanlık koşullara ve 35°C'lik yüksek bir sıcaklık şokuna maruz bırakılmışlardır. Daha sonra, 25°C'lik bir sıcaklık, düşük ışık yoğunluğu (1000-3000 lux) ile 16 saat fotoperiyoda sahip bir iklim odasında tutulmuşlardır. İlk sezonda 17 biber genotipi (Kapy, C. Wonder, Charleston, Dolma, Sivri tipleri) incelenmiştir. Çalışmada, hem genotip hem de donör bitkinin yetiştirilme mevsiminin androgenik yanıt üzerinde önemli etkileri olduğu belirlenmiştir. Donör bitki büyüme koşullarının optimizasyonu, genotipin etkilerini ortadan kaldırmamıştır (tüm paragraf alıntılanma: Comlekcioglu ve Ellialtioglu, 2018).

Türkiye'de, 1983 yılında ve takip eden 37 yıl boyunca biberlerden (*Capsicum* sp.) haploidlerin elde edilmesi çabalarının başlangıcından bu yana, çalışmaların amacı, çoğunlukla donör genotiplerin, besin ortamı bileşimi ve katkı maddelerinin, büyüme düzenleyicilerin, inkübasyon koşullarının, donör bitki büyüme koşullarının ve anterlerin alındığı farklı zamanların etkilerine odaklanarak yeni etkili teknikler geliştirmek olmuştur (Comlekcioglu ve Ellialtioglu, 2018). Bu yöntemle oluşturulan haploid bitkilerden elde edilen saf hatlar, yeni çeşitlerin geliştirilmesinde başarıyla kullanılmaktadır (Comlekcioglu ve Ellialtioglu, 2018). Sunulan bu çalışmanın amacı, 23 farklı biber genotipinde anter kültürü performansının belirlenmesidir. Çalışmada kullanılan genotipler, özel bir firma tarafından ıslah çalışmalarında kullanılmaktadır. Bu genotiplerin androgenesis

etkinliklerinin belirlenmesi ve bu genotiplerden dihaploid bitkilerin elde edilmesi ile özel firma tarafından yürütülen ıslah çalışmaları hızlandırılmış olacaktır.





2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Türkiye’de biberde anter kültürü konusunda yapılan çalışmalar Comlekcioglu ve Ellialtioglu (2018) tarafından yapılan bir derleme çalışmasında ayrıntılı olarak özetlenmiştir. Aşağıda sunulan bilgilerin bir kısmı, bu derleme çalışmasından alınmıştır.

Türkiye’de ilk olarak, Abak (1983b), Fransa’da biber ıslah çalışmalarında başarıyla kullanılan Sibi ve ark (1979) ve sonrasında Dumas de Vault ve ark (1981) tarafından geliştirilen anter kültür ortamının (C), aynı laboratuvar koşullarında Türkiye orjinli genotiplerde başarılı sonuçlar vermediğini bildirmiştir. Araştırmacı, 'İnce Sivri 35 x PM217 (İnce Sivri 35’e BC2 geri melez) hibritlerinden elde edilen anter kültürleri için C besin ortamı içerisine 5 mg/L kinetin ve 5 mg/L 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) eklemiştir. Aynı zamanda, dört farklı sakkaroz (30-60-90-120 g/L) uygulaması yapılmış ve demir tek-çift dozları [18.65-37.3 mg/L disodyum etilen diamin tetraasetat (Na_2EDTA), 13.90-27.8 mg/L Demir II sülfat heptahidrat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)] değiştirilmiştir. En başarılı sonuçların (18.57 embriyo/100 anter ve 10.38 bitki/100 anter) 5 mg/L kinetin, 5 mg/L 2,4-D, 120 g/L sakkaroz ve çift doz demir eklenmiş besin ortamından elde edildiği bildirilmiştir.

Çömlekçioğlu ve ark (1999) tarafından Şanlıurfa (U; 10 hatları) ve Kahramanmaraş (KM; 5 hatları) biber popülasyonlarından saf hatların oluşturulması ve ıslah çalışmalarının başlatılması amacıyla, bazı protokoller denemiştir: 1) 5 mg/L kinetin, 5 mg/L 2-4 D, 120 g/L sakkaroz, 37.3 mg/L Na_2EDTA , 27.8 mg/L $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ içeren Abak (1983a, b) tarafından önerilen ortam, 2) 0.01 mg/L 2,4-D, 0.01 mg/L kinetin, 30 g/L sakkaroz içeren C ortamı, 3) 4 mg/L kinetin, 1 mg/L NAA, 30 g/L sakkaroz ve toksik bileşikleri adsorbe etmek için %0.25 aktif kömür içeren Chunling (1992) ortamı, 4) 0.1 mg/L BAP ve 4 mg/L NAA ve 30 g/L sakkaroz içeren ve üçüncü ortamın modifiye edilmesiyle üretilen besin ortamı. En yüksek haploid embriyogenesis oranı, üçüncü (U-56

hattından 250 embriyo/100 tomurcuk) ve dördüncü (U-216 hattından 92.0 embriyo/100 tomurcuk ve U-56'dan 37.5 embriyo/100 tomurcuk) besin ortamından elde edilmiştir. Embriyolar, KM popülasyonundan sadece besin ortamı 4 (4.2 embriyo/100 tomurcukları)'de gözlemlenmiştir. KM popülasyonu arasında, sadece dördüncü besin ortamı (4.2 embriyo/100 tomurcuk) kullanıldığında, embriyolar oluşmuştur. Oksin ve sitokinin miktarlarının eşit olduğu dördüncü ortam ve 2,4-D'nin kullanıldığı 1. ve 2. ortamlarda embriyogenesis elde edilememiştir. NAA'nın kinetin veya BAP ile kombinasyonu daha etkili olmuştur. Aynı popülasyonda iki hat olmasına rağmen, aynı kültür koşulları altında genotiplerin yanıtları önemli ölçüde değişmiştir. Genotip, besin ortamı ve bitki büyüme düzenleyicilerinin, androgenesis başarısını etkileyen önemli faktörler olduğu bulunmuştur. KM biber popülasyonu için, Terzioğlu ve ark (2000), Malatya biber popülasyonu için ise Özkum ve Tıpırdamaz (2001) ile Özkum Çiner ve Tıpırdamaz (2002) iki hormon kombinasyonu üzerinde çalışmışlardır. Bu ortamlar MS besin ortamına %0.25 aktif kömür eklenmiş veya eklenmemiş 4 mg/L NAA ve 1 mg/L BAP ve 1 mg/L NAA ve 4 mg/L BAP ile kombinasyonlarıdır. Her iki biber popülasyonunda da besin ortamına aktif kömürün eklenmesi, embriyo oluşumu üzerinde olumlu bir etkiye sahip olmuştur. Her iki popülasyonda, en yüksek embriyo oluşumu 4 mg/L NAA, 1 mg/L BAP ve %0.25 aktif kömür eklenmiş ortamdan elde edilmiştir. KM biberleri için, %3.8 oranında bitkiye dönüşen %4.8 oranında embriyo elde edilirken, Malatya biberlerinde %0.5 oranında bitkiye dönüşen %12.5 oranında embriyo kaydedildiği bildirilmiştir. Özkum ve Tıpırdamaz (2011), besin ortamına L-prolin (0, 40, 125 ve 500 mg/L) ilavesinin, biberlerde haploid embriyo oluşumu üzerinde hiçbir olumlu etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. Comlekcioglu ve ark (2001) daha önceki çalışmalarından en düşük sonuç veren U ve KM biber popülasyonlarında embriyogenesis yoğunluğunu arttırmak için, en iyi sonuçları veren besin ortamına bir etilen inhibitörü olan AgNO₃ eklemişlerdir. Aynı genotiplerle MS ortamına 4 mg/L NAA, 0.1 mg/L BAP, %0.25 aktif kömür, 30 g/L sakkaroz ve 10 mg/L AgNO₃ ekleyerek çalışmışlardır. U ve KM popülasyonlarında

100 tomurcuk başına embriyo sayısı sırasıyla, 7.5 ve 50 olmuştur. AgNO_3 'ün biber anter kültürlerinde haploid yoğunluğunu artırdığı ve farklı AgNO_3 dozlarının farklı genotiplerde test edilmesi gerektiği bildirilmiştir. Anter kültürlerde AgNO_3 varlığının embriyo oluşumuna yol açtığı ve yokluğunda embriyo oluşumunun gözlemlenmediği de rapor edilmiştir. Ellialtıoğlu ve ark (2001), KM biber genotipinde, 1 mg/L BA ve 4 mg/L NAA içeren MS ortamı ile 5 mg/L 2,4-D ve 5 mg/L kinetin içeren C ortamına %1 aktif kömür ve 200 mL/L havuç ekstraktı eklenmesini araştırmışlardır. Havuç ekstraktının androgenik embriyo frekansı üzerinde önemli bir etkisi olmadığı ve embriyoların bitkilere gelişiminin önlenmiş olmasına rağmen, aktif kömürün embriyo oluşumunda pozitif etkisinin olduğu ve MS ortamının daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Aktif kömür ve havuç ekstraktlarının etkilerini inceleyen bir diğer çalışma; Ege Acı Sivri, Demre Sivrisi, Kandil Dolma, Bağcı Çarliston, Tatlı Sivri Kıl (ince ve uzun) ve Acı Sivri Ilıca-256 biber çeşitleri üzerinde yapılmıştır. Sadece Ege Acı Sivri çeşidinden, 1 mg/L BA, 4 mg/L NAA içeren veya %0.1 aktif kömür içermeyen MS ortamından, bir embriyo elde edilmiştir. Araştırmacılar bir kez daha, %0.1 aktif kömürlü 4 mg/L NAA, 0.1 mg/L BA içeren veya içermeyen MS ve Nitsch ve Nitsch (1969) (N) besin ortamlarını araştırırken, aynı zamanda aktif kömür ve havuç ekstraktı (200 mL/L) ortam hazırlamışlardır. Bu denemede, en iyi androgenik yanıt (%1.6), Çarliston Bağcı çeşidinde gözlemlenmiştir. Aktif kömürün tek başına kullanılmasında olumlu bir etki saptanmazken, havuç ekstraktı ile kombine edildiğinde pozitif bir etki olduğu bildirilmiştir. Bağcı Çarliston, Demre Sivrisi, Yalova Çarliston, Sirena F1 ve Amazon F1 çeşitlerini kullanarak, Boyacı (2001) ve Ercan ve ark (2001) tarafından eşzamanlı olarak yürütülen bir çalışmada, farklı kinetin, BA, NAA, 2,4-D dozları ve %0.1 aktif kömür eklenmesi ya da eklenmemesi MS, N ve C olmak üzere üç temel besin ortamında araştırılmıştır. Sirena F1 çeşidi, tüm ortamlarda kallus geliştirmiştir. En yüksek kallus oranı, aktif kömür içermeyen MS ortamından elde edilmiştir. Diğer taraftan, aktif kömür embriyo oluşumunu teşvik etmiştir. Çalışmada, aktif kömürün pozitif bir etkiye sahip olduğu ve aktif kömür içeren

ortamlarda sadece Sirena F1 ve Charleston çeşitlerinde embriyo oluşumunun meydana geldiği bildirilmiştir. Sirena çeşidinde, 5 mg/L 2,4-D ve 5 mg/L kinetin içeren N ortamında en yüksek embriyogenesis oranı (%4) elde edilmiştir. Ercan ve Ayar Şensoy (2011), anter kültür çalışmaları için 11 genotip (Kekova F1, Demre, Demre Sivrisi, Sera-Demre 8, Kandil, Odesa F1, Atris, kapyra biber, DRH-7118, Sirena F1 ve Yalova Charleston) kullanmışlardır. Yalova Charleston ve Kandil çeşitlerinde, 4 mg/L NAA ve 1 mg/L BA ve 30 g/L sakkaroz içeren MS ortamında embriyo oluşumu gözlemlenmemiştir. Sera Demre 8 (%2.3) ve Odessa (%3.0) çeşitleri, diğer çeşitlerden daha yüksek oranda embriyo üretmişlerdir. Biber genotiplerinin daha önceki çalışmalarda belirtildiği gibi, farklı androgenik tepkilere sahip olduğu da bildirilmiştir. Gümüş nitratin biberdeki haploid embriyoların verimine etkisinin araştırıldığı ilk çalışmada, tek bir doz (10 mg/L) denenmiştir (Comlekcioglu ve ark, 2001). Bu çalışmanın sonuçları, AgNO₃ içeren bir ortamda embriyoların sayısının, gümüş nitrat içermeyen ortama göre (Çömlekçioğlu ve ark, 1999) önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Gümüş nitratin biberdeki haploid embriyoların oluşumu üzerindeki olumlu etkisi belirlendikten sonra, Buyukalaca ve ark (2004), 2 farklı Urfa biberi popülasyonunda (U-247 ve U-238) dört farklı AgNO₃ (5, 10, 15 ve 20 mg/L) konsantrasyonunu test etmişlerdir. En yüksek embriyogenesis, U-247 genotipinden (yaklaşık 45.7 embriyo/100 anter) 15 mg/L AgNO₃ içeren ortamda elde edilirken, 238 genotipinde %9.1 olmuştur. U-238 genotipindeki en yüksek embriyo oranı, 15 mg/L AgNO₃ içeren ortamda %11.3 olarak bulunmuştur. Aynı popülasyondan iki hat olmasına rağmen, aynı kültür koşulları altında genotiplerin yanıtları önemli ölçüde değişmiştir. Genotiplerin etkisinin, biberlerde androgenik tepkileri etkileyen en baskın faktör olduğu bildirilmiştir. Çağlar ve ark (2004), KM biberleri için MS besin ortamına eklenen farklı oksin ve sitokinin kombinasyonlarını incelemişlerdir. Başlangıçta farklı BAP (1-2-3 mg/L) ve NAA (2-4 mg/L) kombinasyonları kullanılmış ve %0.25 g/L aktif kömür eklenmiştir. Sadece bazı anterlerde kallus oluşumu gözlemlenmiştir. Haploid embriyoların elde edilememesi nedeniyle, NAA'nın yanında 2,4-D (1.0,

2.0, 3.0, 4.0 mg/L) eklenmiştir. On dört farklı ortam kombinasyonunda, sadece bazı anterlerde kallus oluşumu kaydedilmiştir. Sonuçlara göre, besin ortamına kinetin (0.5-0.1-5 mg/L) eklenmesiyle, farklı NAA (0.1-1-4 mg/L) ve 2,4-D (0,1-1-4 mg/L) kombinasyonları oluşturulmuştur. Herhangi bir kallus gelişimi olmaksızın, 0.1 mg/L BAP, 4 mg/L NAA, %0.25 aktif kömür ve 10 mg/L AgNO₃ eklenmiş MS ortamında %2.8 oranında haploid embriyo gelişiminin elde edildiği bildirilmiştir. Taşkin ve ark (2011), 5 biber genotipinde (düşük sıcaklığa toleranslı A71, A269, A313, düşük sıcaklığa orta toleranslı A109 genotipi ve düşük sıcaklığa duyarlı A74 genotipi), 4 mg/L NAA ve farklı oranlarda BAP içeren (0.1, 0.5 ve 1 mg/L) MS ortamı ve modifiye edilmiş (amonyum oranı 40:20'den ila 55: 5'e değiştirilmiş) ve 4 mg/L NAA ile 1 mg/L BAP içeren MS besin ortamını test etmişlerdir. Tüm ortamlara 15 mg/L AgNO₃, 30 g/L sakkaroz ve %0.25 aktif kömür eklenmiştir. Hem embriyo oluşumu hem de oluşan embriyoların bitkiye dönüşümü, genotip ve besin ortamına göre değişmiştir. Genotipler arasından, 269 genotipinden en yüksek embriyo oranı (%18 globüler ve %9.0 olgun embriyo) elde edilmiştir. 4 mg/L NAA ve 1 mg/L BA içeren MS (%14.8 globüler ve %13.3 olgun embriyo) ve 4 mg/L NAA ve 0.1 mg/L BA içeren modifiye MS (%8.8 globüler ve %14.9 olgun embriyo) besin ortamlarından diğerlerine göre daha fazla sayıda embriyo kaydedilmiştir. Olgunlaşmamış embriyoların 10 gün boyunca 0.5 mg/L ABA içeren ortamda bekletilmesinden, olumlu sonuçlar alınmamıştır. Ata (2011) düşük sıcaklık toleranslı/duyarlı (sırasıyla 421 ve 195) ve yüksek sıcaklık toleranslı/duyarlı (sırasıyla, İnan 3363 ve 277A) genotipler üzerinde çalıştığı araştırmasında, Buyukalaca ve ark (2004) ve Taşkin ve ark (2011) tarafından olumlu bulunan 2 farklı BAP konsantrasyonu içeren MS ortamını kullanmıştır. Genotip ve besin ortamı birlikte değerlendirildiğinde, en yüksek embriyo oranı %26.47 ile 4 mg/L NAA, 0.5 mg/L BAP, %0.25 aktif kömür, 30 mg/L sakkaroz ve 15 mg/L AgNO₃ içeren ortamda İnan 3363 çeşidinden elde edilirken, 4 mg/L NAA, 0.1 mg/L BAP, %0.25 aktif kömür, 30 g/L sakkaroz ve 15 mg/L AgNO₃ içeren ortamda oran %20.95 olmuştur. Diğer genotiplerde, ikinci ortamın embriyo oluşum

oranını arttırdığı saptanmıştır. Alremi ve ark (2014) Alfajer çeşidi, B ıslah hattı, No. 151 Cankiri biber hattı ve No. 171 Yağlık genotipi üzerinde çalışmışlardır. Çalışmada, MS ortamı (4 mg/L NAA, 0, 5, 10, 15 mg/L AgNO₃, 0.1 mg/L BAP'ın 8 kombinasyonu) ve C ortamı (0.01 ve 0.5 mg/L kinetin, 0.01 ve 0.5 mg/L 2,4-D, 15 mg/L AgNO₃'un 8 kombinasyonu) kullanılmıştır. Tüm ortam kombinasyonlarına %0.25 aktif kömür ve 30 g/L sakkaroz eklenmiştir. En başarılı sonuçlar, Alfajer çeşidinde ve B hattı genotipinde Kinetin ve 2,4-D içeren C ortamından, 151 ve 171 yerel genotiplerinde NAA ve BAP içeren MS ortamından elde edilmiştir. Genel olarak, 4 mg/L NAA ve 0.1 mg/L BAP içeren ve AgNO₃ içermeyen MS ortamı, embriyo oluşumunda yüksek sonuçlar vermiştir. En yüksek embriyo oranı (%11.14) Alfajer çeşidinde, gümüş nitrat içermeyen 0.01 mg/L kinetin ve 2,4-D içeren C ortamında kaydedilmiştir. Keleş ve ark (2015), 4 mg/L NAA, 0.5 mg/L BAP, %0.25 aktif kömür, 30 g/L sakkaroz ve Buyukalaca ve ark (2004), Taşkin ve ark (2011) ve Ata (2011) tarafından başarılı olduğu tespit edilmiş 15 mg/L AgNO₃ içeren MS besin ortamında, farklı biber tiplerine ait 28 genotipi (7 çarliston, 6 dolma, 8 kapyra ve 7 sivri biber) test etmişlerdir. Bitkiler, tüm genotiplerden değişen oranlarda elde edilirken (çarliston %6.2, dolma %11.6, kapyra %7.5 ve sivri %4.3), en yüksek oran %20.0 ile dolma 5 no'lu genotipte belirlenmiştir.

Yukarıda Comlekcioglu ve Ellialtioglu (2018) tarafından yapılan derleme çalışmasının dışında, ülkemizde 2017 yılında Ozsan ve Onus'un yeni bir çalışması tamamlanmış ve son zamanlarda antioksidanlar olarak önemli rol oynadığı düşünülen B vitamini bileşikleri, B vitamininin biber androgenesi üzerindeki etkisini görmek için kullanılmıştır. Bu çalışmada, ayrıca genotip etkisi de araştırılmıştır. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, besin ortamına eklenen farklı B vitamini bileşiklerinin androgenesi olumlu yönde etkilediği ve genotipler arasında da anter kültürüne tepkide farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Yine aynı araştırmacılar Ozsan ve Onus (2019) tarafından dört farklı biber çeşidi (Erciyes, Filinta, Ergenekon ve Bellisa F1) ve 12 farklı besin ortamı kombinasyonu

kullanılarak yapılan bir anter kültürü çalışmasında, embriyo oluşumunu arttırmak için MS ve Gamborg B5 besin ortamlarının farklı kombinasyonlarına glutamin ilavesinin etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, kullanılan glutamin konsantrasyonunun biber androgenesisini olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Elde edilen sonuçlar, Bellisa ve Ergenekon çeşitlerinin diğerleri üzerinde dikkate değer olmasına rağmen, ortam X (Gamborg B5 + 4.0 mg/L NAA + 0.1 mg/L BAP + %0.25 aktif karbon + 15.0 mg/L AgNO₃ + 1.0 g/L glutamin) ve ortam XII (Gamborg B5 + 4.0 mg/L NAA + 1.0 mg/L BAP + %0.25 aktif karbon + 15.0 mg/L AgNO₃ + 1.0 g/L glutamin)'nin, çeşitlerle ilgili olarak başarılı görüldüğünü göstermiştir. Shimira ve ark (2019a) tarafından yapılan bir çalışmada, iki nematoda dayanıklı biber genotipinin, anter kültürüne tepkisi ve soğuk ön uygulamasının çiçek tomurcuklarına etkisi araştırılmıştır. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilmiş Alata 2095 ve Alata 2096 genotipleri (nematoda dayanıklı) bitki materyali olarak kullanılmıştır. Bu çalışmada, soğuk uygulaması ve kontrol olmak üzere iki ön işlem kullanılmıştır. Soğuk uygulamasında, çiçek tomurcukları, anter kültüründen önce 24 saat boyunca 4°C'de tutulmuştur. Besin ortamı olarak %0.25 aktif kömür, 6.5 g/L agar, 0.5 mg/L BAP, 4 mg/L NAA, 15 mg/L AgNO₃ ve 30 g/L sakkaroz içeren MS kullanılmıştır. Değerlendirmelerden sonra, en yüksek bitki sayısı ortalaması Alata 2095 genotipi için 100 anter başına 39.08 adet olmuştur. Soğuk uygulaması yapılmış ve yapılmamış olanlarda sırasıyla 46.61 ve 31.56 bitki/100 anter olarak kaydedilmiştir. Alata 2096 genotipi için, ortalama 1.96 bitki/100 anter olarak hesaplanmıştır (1.68 ve 2.25, sırasıyla soğuk uygulaması yapılmış ve soğuk uygulaması yapılmamış). İstatistiksel analizlerle, uygulamalar, genotipler ve ayrıca bu faktörler arasında anlamlı bir interaksiyon olduğunu doğrulamıştır. Çalışma sonuçları, Alata 2095 genotipinin androgenik tepkisinin iyi olduğunu ve biber ıslahı çalışmaları için kullanılabileceğini göstermiştir. Shimira ve ark (2019b) tarafından yapılan çalışmada, Ruanda'da yaygın kullanılan Pili-Pili çeşidinin anter kültürü performansı, düşük (A111 genotipi-Kahramanmaraş tipi) ve yüksek (İnan

3363 çeşidi-Urfa tipi) androgenesis kapasitesine sahip iki Türk *C. annuum* kontrolü ile birlikte, Türkiye'nin Akdeniz Bölgesi'nde değerlendirilmiştir. Örneklenen anterler, ilk aşamada 30 g/L sakkaroz, 2.5 g/L aktif kömür, 15 mg/L AgNO₃, 4 mg/L NAA, 0.5 mg/L BAP ve 6.5 g/L agar içeren ortamda kültüre alınmışlardır. Anterler daha sonra 30 g/L sakkaroz ve 6.5 g/L agar içeren MS ortamına aktarılmışlardır. Elde edilen embriyolar, aynı besin ortamında (ikinci besin ortamı) kültüre alınmışlardır. Çalışmanın sonunda, kontrol İnan 3363 çeşidinden 100 anter başına 19.4 embriyo ve A111'den 4.46 embriyo elde edilmiştir. Beklendiği gibi, İnan 3363 çeşidi, A111 genotipinden daha iyi performans göstermiştir. Ruanda çeşidi Pili-Pili'den embriyo elde edilememiştir. Sitolojik incelemeler, klasik biber anter kültürü morfolojik belirteçlerinin Ruanda'lı Pili-Pili çeşidinde çalışmadığını göstermiştir.

Denli (2019) tarafından yapılan doktora tezi çalışmasında, anter kültürüne tepkisi iyi bilinen *C. annum* L. 253 no'lu biber genotipi ve İnan3363 çeşidi ile anter kültürüne tepkisi düşük olarak bilinen bir *C. chinense* genotipi ve bunların melezlerinde anter kültürü denemeleri yaparak biberde anter kültürüne tepkinin kalıtımını araştırmıştır. Çalışmasının sonucunda, *C. annuum* genotiplerinde %48 ve %38.66, *C. chinense* genotipinde ise %0.26 oranında embriyo elde etmiştir. Türler arası hibritlerde ise %0.24 ve %0.26 oranlarında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Ata ve ark (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü (Mersin, Türkiye) biber koleksiyonundan seçilen üç genotip (düşük sıcaklığa karşı toleranslı Alata 421, toleranslı olmayan Alata 195 ve yüksek sıcaklığa karşı toleranslı olmayan Alata 277A), yüksek sıcaklığa karşı toleranslı bir çeşit olan İnan3363 ile birlikte anter kültürü performansları açısından değerlendirilmiştir. Çalışmada, iki farklı besin ortamı (Ortam 1 - MS + 4 mg/L NAA + 0.1 mg/L BAP + %0.25 aktif kömür + 8 g/L agar + 30 g/L sakkaroz + 15 mg/L AgNO₃; Ortam 2 - MS + 4 mg/L NAA + 0.5 mg/L BAP + %0.25 aktif kömür + 8 g/L agar + 30 g/L sakkaroz + 15 mg/L AgNO₃) kullanılmıştır. Anterler, en yüksek embriyo oluşumu ve haploid bitki rejenerasyonunu belirlemek için, farklı

periyotlarda (12 ay) kültüre alınmışlardır. Ayrıca, tüm anterler farklı ayların kültür öncesi ve 1., 2., 3., 4., 8. ve 14. günlerinde alınmış ve Carnoy solüsyonu ile fikse edilmiştir. Mikrosporların gelişimi, sitolojik olarak 4'-6-diamidino-2-phenylindole-2HCl (DAPI) ve asetokarmin boyası kullanılarak gözlemlenmiştir. Çalışmanın sonunda, hem embriyo oluşumunun hem de haploid bitki gelişiminin, genotip ve kültür periyoduna bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir. Besin ortamları arasında, elde edilen embriyo sayısında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. En yüksek haploid embriyo yüzdesi, yüksek sıcaklığa toleranslı olduğu bilinen Inan3363 çeşidinden elde edilmiştir. Ek olarak, Inan3363 çeşidinin androgenik kapasitesi, bazı anter kültürü kültür dönemlerinde %65'e kadar yükselmiştir. Eylül ve Temmuz-Ağustos aylarında kültüre alınan anterler, haploid embriyoların sayısı açısından, diğer dönemlere göre en verimli sonuçları üretmişlerdir. Sağlıklı ve gelişmiş bitkiler; Nisan, Ağustos, Eylül, Mart ve Mayıs aylarında diğer aylardan daha başarılı olarak elde edilmiştir. Mikrosporlar üzerine yapılan çalışmalar, kültür başlangıcındaki tek çekirdek fazının yüksek oranının, takip eden günlerde hızla azaldığını ortaya koymuştur.

Ülkemiz dışında dünyada da bu konuda yapılan çalışmalarda aşağıda sunulmuştur:

Capsicum annuum'daki ilk başarılı androgenik embriyogenesis, Asya çeşitleri ile Wang ve ark (1973) tarafından Çin'de ve George ve Narayanaswamy (1973) ve Kuo ve ark (1973) tarafından Hindistan'da tanımlanmıştır. *Capsicum frutescens* için ise Avrupa çeşitleri, Polonya'da Novak (1974) tarafından çalışılmıştır. Bu ilk çalışmalarda elde edilen haploid embriyo ve bitki sayısı çok düşük olmuştur. Daha sonraki çalışmalarda, *Capsicum annuum* ve türler arası hibritlerinde elde edilen haploid bitki oranlarını arttırmak için çeşitli faktörler üzerinde çalışılmıştır (Comlekcioglu ve Ellialtioglu, 2018).

MS besin ortamına eklenen FeEDTA ve aktif kömürün biberde anter kültürü üzerine etkisi, Vagera ve Havranek (1985) tarafından araştırılmıştır. Araştırmacılar, FeEDTA'nın globüler embriyo oranını, aktif kömürün ise embriyo gelişimini ve

kültür süresini uzattığını tespit etmişlerdir. Biberde genotip etkisi ile ilgili de Morrison ve ark (1986), Mityko ve ark (1995), Rodeva ve ark (2004), Irikova ve ark (2011) ve Niklas-Nowak ve ark (2012) tarafından çalışmalar yapılmıştır. Morrison ve ark (1986) genotiplerin haploid embriyo oluşumu ve bitkiye dönüşümde etkili olduğunu, embriyoların büyük bir kısmının bitkiye dönüşmemesi ve bitki oluşumunda anormallikler gibi bulgular elde etmişlerdir. Mityko ve ark (1995); 4 adet ıslah hattı, 7 adet çeşit ve bunların melezlerinin anter kültürü performanslarını araştırmışlar, denenen bitkisel materyalin çoğundan pozitif sonuçlar alabilmişlerdir. Flow sitometri ile ploidi incelemeleri sonucunda haploid ve spontan dihaploid bitkiler rapor etmişler ve bitkiye dönüşümün genotiplere göre değiştiğini bildirmişlerdir. Rodeva ve ark (2004), 16 Bulgar biberinin (6 hat, 6 çeşit ve 4 hibrid) anter kültüründe *in vitro* tepkisini araştırmışlardır. Anterlerin tepkisi direk embriyogenesis veya kallus oluşumu şeklinde olmuş, sadece 2 genotipte indirek organogenesis gözlemlenmiştir. Irikova ve ark (2011) Bulgaristan'da ondokuz adet biber genotipinde (8 adet ıslah hattı, 7 adet çeşit, 4 adet melez) besin ortamı ve genotipin anter kültürü üzerine etkisini incelemişlerdir. İndüksiyon (C ve Cm besin ortamı) ve rejenerasyon (R ve Rm ortamı) için farklı besin ortamları kullanmışlar, iki tip besin ortamına aktarma çalışması için 12 ve 40 gün aralıklı aktarmanın etkisini de belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda C ortamı için 12 gün aralıklı aktarma yeterli olmamış, embriyo gelişimi tamamlanamamış, R ortamına aktarmadan sonra %50-100 oranında bitkiye dönüşüm sağlanabilmiştir. Cm ortamında ise 12 gün aralık embriyo oluşumu için yeterli olmuş, ancak Rm ortamına aktarmadan sonra bitkiye dönüşüm gözlemlenmemiştir. Çalışmada genotip etkisi açıkça görülmüş; 6 hat, 6 çeşit ve 3 melez genotipte kültürden 35-40 gün sonra direkt embriyolar oluşmuş, bitkiler 4 adet hat, 6 adet çeşit ve 1 adet hibritten kaydedilmiştir. Niklas-Nowak ve ark (2012) hibrit *C. annuum* F2 (ATZ1×TG), türler arası hibrit F2 (*C. frutescens* x *C. chinense*) ve AT6 hattında androgenesis tepkisini araştırmışlar, en düşük cevap türler arası melez hibrit F2'de kaydedilmiş (%2), hibrit *C. annuum* F2'de %0.5-

%16.5, AT6 dihaploid bitkilerde %3 oranlarında başarı sağlanmıştır. Kristiansen ve Andersen (1993) biber anter kültüründe donör bitki yaşı, inkübasyon süresince sıcaklık (22°C, 26°C ve 30°C) ve fotoperiyod (11, 15 ve 19 saat) etkisini araştırmışlar, embriyo oluşumunda sıcaklığın ve bitki yaşının önemli olduğunu, fotoperiyodun ise etkisinin olmadığını kaydetmişlerdir. Matsubara ve ark (1998) tarafından yapılan bir çalışmada, biber anter kültüründe farklı kültür periyotlarının etkisi gözlemlenmiştir. Kasım ayından Temmuz ayına kadar tekrarlanan denemelerde, 6 genotip kullanılmıştır. Genotip etkisi açıkça görülmüş, sıcaklığın 15-25°C arasında olduğu Eylül-Ekim aylarından, daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Farklı kolhisin uygulama süreleri (%0.04 kolhisin içeren besin ortamında 2, 4 ve 6 gün bekletme) Gemesne Juhasz ve ark (2001) tarafından denenmiştir. Denemede flow sitometri ile yapılan ploidi analizi sonucunda bitkilerin %70'inin haploid olduğu, %75.8 ile en yüksek katlanmanın 6 gün bekletmede gözlemlendiği, kolhisin uygulamasından sonra canlılık oranının %90'dan fazla olduğu tespit edilmiştir. Farklı besin ortamları (MS, N, LS, NN ve CP) ve inkübasyon koşulları (7°C'de karanlıkta 7 gün bekletme ve sonrasında 4 hafta için ışık koşullarına alma (12 saat fotoperiyod-25°C), 25°C'de 7 gün karanlıkta bekletme ve sonrasında 4 hafta için ışık koşullarına alma (12 saat fotoperiyod-25°C), 35°C'de karanlık koşullarda 8 gün bekletme sonrasında eksplantları 4 gün için ışık koşullarına CP ortamına alma (12 saat fotoperiyod-25°C) ve 4 hafta için R1 ortamına alma) Koleva-Gudeva ve ark (2007) tarafından denenmiştir. İlk inkübasyon koşullarında LS ve NN ortamlarında anterlerde kallus oluşumu gözlemlenmiş, ikinci inkübasyon koşullarında MS ve N ortamlarında anterlerde kallus oluşmuş, üçüncü inkübasyon koşulunda ise embriyo gelişimi sağlanabilmiştir. Farklı karbonhidat kaynaklarının (sakkaroz ve maltoz) ve büyümeyi düzenleyicilerin (2,4-D, NAA, zeatin, kinetin ve 6-BA) biber anter kültürüne etkisi Zhao ve ark (2010) tarafından incelenmiştir. Büyümeyi düzenleyicilerden 2,4-D, ZT, NAA ve KT kallus ve embriyo oluşumunda etkili olmuş; kallus oluşumunda 2, 4-D > ZT > NAA > KT > 6-BA; embriyo oluşumunda

ise 2, 4-D > NAA > ZT > KT > 6-BA sırasını takip etmiştir. En başarılı kombinasyon 1.0 mg/L 2, 4-D ve ZT, 0.5 mg/L NNA ve KT şeklinde olmuş, karbon kaynağı olarak maltoz sakkarozdan daha başarılı bulunmuş, her iki karbon kaynağında da %3-6 arası doz optimal, %6'nın üzeri ise olumsuz olarak belirlenmiştir. Olszewska ve ark (2014), biber anter kültüründe genotip (17 adet genotip), CP besin ortamına eklenen 2 farklı kinetin dozu (0.1 ve 0.3 mg/L) ve üç farklı inkübasyon süresi (CP besin ortamında 12, 14 ve 16 gün kültür) ile ilgili çalışmalar yapmışlardır. CP ortamında 16 gün bekletme ile 0.1 mg/L kinetin içeren R1 ortamı kombinasyonu en başarılı olarak bulunmuş, 0.3 mg/L kinetin içeren ortamlar ise 12 ve 14 gün bekletmede daha etkili olmuşlardır. Rajakaruna ve ark (2018) tarafından yapılan çalışmada, *Capsicum annuum* L. türü 1782 no'lu ıslah hattında anter kültürü çalışmaları yapılmış, Lanka Yellow Wax (LYW) çeşidi de karşılaştırma amaçlı kullanılmıştır. Anterler, 2,4-D ve BA [1 mg/L 2,4-D, 2 mg/L BA (ortam 1), 2 mg/L 2,4-D, 2 mg/L BA (ortam 2), 2 mg/L 2,4-D, 2.5 mg/L BA (ortam 3) ve 2 mg/L 2,4-D, 3 mg/L BA (Ortam 4)] içeren dört farklı MS besin ortamı üzerinde kallus oluşumunu teşvik etmek için kültüre alınmışlardır. Kültüre alınan anterler, 25°C'de 14 gün karanlıkta inkübe edilmiştir. Kallus oluşumundan sonra, seçilen kalluslar 5 mg/L BA ve 1 mg/L İndol-3-asetik asit (IAA) içeren rejenerasyon MS ortamına aktarılmıştır. Rejenere olan kültürler, 25°C'de 16 saat ışık koşullarında inkübe edilmiş ve gözlemler, kallusların oluşumu ve yeşillenmesiyle yapılmıştır. Sonuçlar, ortam 1 ve ayrıca ortam 3'ün, diğer ortamlardan daha fazla oranda, anterlerde kallus indüksiyonu üzerinde önemli etkisinin olduğunu göstermiştir. Ortam 3'de kallus indüksiyonu için geçen zaman minimum olmuş ve aynı zamanda kallus indüksiyon yüzdesi, diğer kallus indüksiyon ortamlarından daha yüksek olarak kaydedilmiştir. Ortam 1 ve 3 her iki ıslah hattında da kallus indüksiyonu için benzer şekilde olsada, en yüksek performans ortam 3'de görülmüştür. LYW çeşidi, 1782 ıslah hattından daha iyi sonuç vermiş ve kallus oluşumunda öne çıkmıştır. 1782 ıslah hattının kallus indüksiyon yüzdesi, %59.6 olarak kaydedilmiş ve LYW'den (%83.9) daha düşük

olmuştur. Ortam 3'te oluşan kallus, regenerasyon ortamında en iyi performansı göstermiş ve 1782 no'lu ıslah hattının kallusu, LYW çeşidinden daha iyi olmuştur. Rejenerasyon ortamında, kallus farklı şekillerde davranmıştır. Beyaz kristalli kalluslar, rejenerasyon ortamına ve kallus genişlemesine iyi cevap vermiş ve daha sonraki aşamada yeşillenme gözlemlenmiştir. Açık kahverengi renkli kallus kristal kallus ile karşılaştırıldığında, genişleme ve yeşillenme göstermemiştir. Bu çalışmada geliştirilen anter kallus üretim protokolü, seçilen biber çeşitlerinin haploid bitki rejenerasyonu için kullanılabilir bulunmuştur.





3. MATERYAL VE METOT

Çalışma 2018-2019 yılları arasında, ARGEERA Bilimsel Araştırma Geliştirme Üretim Danışmanlık San. ve Tic. Ltd. Şti. (Antalya)'nde yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Bitkisel materyal olarak, ıslah çalışmalarında kullanılan ve özel firma tarafından kodlanan 23 adet biber genotipi kullanılmıştır. Genotiplerin kodları ve tipleri Çizelge 1'de sunulmuştur.

Çizelge 1.1. Çalışmada kullanılan biber genotipleri

Genotip No	Tip
FT-263	Sivri
FT-500	Çarliston
FT-501	Çarliston
FT-507	Çarliston
FT-508	Çarliston
FT-509	Çarliston
FT-900	Kapya
FT-901	Kapya
FT-902	Kapya
FT-903	Kapya
FT-905	Kapya
FT-906	Kapya
FT-907	Kapya
FT-908	Kapya
FT-1173	Dolma
FT-1174	Dolma
FT-1175	Dolma
FT-1178	Dolma
FT-1179	Dolma
FT-1180	Dolma
FT-1181	Dolma
FT-1182	Dolma
FT-1183	Dolma

3.2. Metot

3.2.1. Bitki Yetiştirme ve Tomurcuk Alma

Genotiplere ait tohumların ekimi, 2018 yılı Ağustos ayında, içerisinde 2 hacim torf ve 1 hacim perlit bulunan viyollere yapılmıştır. Eylül ayı içerisinde, 6-7 gerçek yapraklı dönemde iken fideler, her genotipten 30 bitki olacak şekilde, 110 x 50 x 50 cm aralıklarla plastik seraya dikilmiştirlerdir. Buyukalaca ve ark (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, serada yetiştirilen bitkilerin anter kültürüne cevabının, açıkta yetiştirilenlere göre daha fazla olduğu ortaya çıkarılmıştır. Literatürde, anter kültüründe kullanılacak donör bitkilerin yetiştiricilik koşulları ve bakım işlemlerinin embriyogenesis başarında önemli olduğu açıkça ortaya konulmuştur. Bu nedenle, bitki gelişimi boyunca gerekli bakım işlemleri (sulama, gübreleme, budama, hastalık ve zararlılarla mücadele, yabancı otların temizlenmesi vb.) dikkatli bir şekilde uygulanmıştır. Sera koşullarında yetiştirilen ve çiçeklenmeye başlayan bitkilerden anter kültürü için uygun safhadaki tomurcuklar sabah saatlerinde toplanarak, doku kültürü laboratuvarına getirilmişlerdir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Uygun safhadaki biber çiçek tomurcuklarının toplanılması

3.2.2. Uygun Anter Safhasının Belirlenmesi

Mevcut çalışmalar incelendiğinde, androgenesis esnasında kültür edilen anterlerin embriyogenik başarısını etkileyen önemli faktörlerden birisinin de mikrosporların uygun gelişim safhası olduğu görülmektedir. Bazı araştırmacılar uygun aşamayı tespit ederken sitolojik çalışmaları kullanırken, diğerleri morfolojik markörleri kullanmaktadırlar. En uygun mikrospor gelişim safhası, hala tek çekirdekli aşama olan mayozdan sonra birinci mitoz döneminden, genç çift çekirdekli polenin görüldüğü orta ve geç tek çekirdekli dönem arasındır. Embriyogenesinin başlatılması için optimum mikrospor gelişim safhası ile

tomurcukların ve anterlerin morfolojik özellikleri, türler ve bir türün çeşitleri arasında farklılık göstermekte ve farklı çalışmalarda belirlenen morfolojik özellikler; çiçek tomurcukları 3.6-4.0 mm çapında olduğunda, taç ve çanak yapraklar aynı yükseklikte ya da taç yaprağın yüksekliği çanak yaprağın biraz üzerinde olduğu ve aynı zamanda anterlerin yarısında antosiyanin üretimi olduğu dönem olarak tanımlanmaktadır (Comlekcioglu ve Ellialtioglu, 2018). Morfolojik özellikler, genotiplere ve anter kültürünün yapıldığı dönemdeki ekolojik koşullara göre değiştiği için çalışmanın başında sitolojik gözlemlerin yapılması gerekmektedir. Bu nedenle, denemelere başlarken uygun aşama, asetokarmen ile boyama yöntemiyle teyit edilmiştir (Keleş ve ark, 2015).

3.2.3. Çiçek Tomurcuklarının Dezenfeksiyonu ve Anterlerin Ayrılması

Uygun anter safhasına sahip tomurcuklar, sabahın erken saatlerinde toplanarak, doku kültürü laboratuvarına getirilmiş ve yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuşlardır. Bu amaçla tomurcuklar, steril kabin içerisinde %70'lik etil alkolde 30 saniye bekletilmiş ve steril saf su ile birkaç defa durulanmıştır. Sonrasında 10 dakika süresince 1-2 damla Tween-20 içeren %15'lik sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisinde tutulmuş ve tekrardan birkaç defa steril saf su ile durulanmışlardır. Tomurcuklardan anterlerin alınması için, steril kabinde steril edilmiş filtre kağıtları üzerinde, steril edilmiş pens ve bistüriler ile tomurcuklar açılarak, anterlere zarar verilmeden filamentlerinden ayrılarak petri kaplarındaki besin ortamlarına yerleştirilmişlerdir. Her bir tomurcuktan çıkarılan 5-6 adet anter, tek bir petri kabına yerleştirilmiştir. Enfeksiyonun önlenmesi için petri kaplarının etrafı streç film ile sarılmış ve sıcaklık ön uygulaması için inkübatöre yerleştirilmiştir (Taşkın ve ark, 2011).

3.2.4. Kullanılan Besin Ortamları ve Besin Ortamlarının Hazırlanması

Temel besin ortamı olarak MS (Murashige ve Skoog, 1962) kullanılmıştır. Ortamların katılaşması için agar, karbon kaynağı olarak ise sakkaroz eklenmiştir.

Besin ortamının pH'sı, 1 N Hidroklorik asit (HCl) ve 1 N Potasyum hidroksit (KOH) kullanımıyla 5.8'e ayarlanmıştır. Besin ortamlarının, filtre kağıtlarının, pens ve bistürilerin sterilizasyonu 121°C sıcaklık ve 1.2 kg/cm² basınç altındaki otoklavda 15 dakika süre ile yapılmıştır. Alınan anterler ilk aşamada; 30 g/L sakkaroz + 2.5 g/L aktif kömür + 15 mg/L AgNO₃ + 4 mg/L NAA + 0.5 mg/L BAP + 6.5 g/L agar içeren MS besin ortamında kültüre alınmışlardır (Shimira ve ark, 2019b). Sonrasında anterler, 30 g/L sakkaroz ve 6.5 g/L agar içeren ve büyümeyi düzenleyici içermeyen MS besin ortamına aktarılmışlardır (Shimira ve ark, 2019b). Elde edilen embriyolar da aynı besin ortamına alınmışlardır (ikinci besin ortamı) (Shimira ve ark, 2019b). Anterlerin kültürü için petri kapları, elde edilen embriyoların çimlendirilmesi ve bitkilerin geliştirilmesi için ise cam kültür tüpleri kullanılmıştır.

3.2.5. Kültür Koşulları ve Ön Uygulamalar

Petri kaplarına yerleştirilen anterler ön-uygulama amacıyla, inkübatörde +35°C'de ve karanlık koşullarda 2 gün süresince ön uygulamaya tabi tutulmuşlardır (Taşkin ve ark, 2011). Ön uygulamayı takiben petriler, 25±1°C sıcaklık, 3600 lux gücündeki floresan ile aydınlatılan, 16 saat aydınlık-8 saat karanlık ışık rejimine sahip kültür odasında bekletilmişlerdir (Taşkin ve ark, 2011).

3.2.6. Bitkilerin Dış Ortama Aktarılması

Köklenen bitkilerin dış ortama adaptasyonlarını sağlamak amacıyla, tüplere sarılı streç film çıkarılarak 1 gün, kültür tüplerinin kapakları gevşetilerek 1 gün ve kapaklar tamamen açılarak 1 gün bekletilmişlerdir. Sonrasında bitkiler tüplerden uzun pens yardımıyla köklere zarar vermeden dikkatlice çıkarılmış ve kökleri besin ortamı kalıntılarından tamamen temizlenene kadar musluk suyu altında yıkanmıştır. Bitkilerin kökleri fungusitli suya daldırılmış, bitkiler steril 2 hacim torf - 1 hacim perlit karışımı bulunan viyollere-saksılara dikilmiş ve ilk sulama fungusitli su ile yapılmıştır. Bitkiler birkaç hafta süresince %90-100 nem içeren

alçak plastik tüneller içine yerleştirilmiş, bitkilerin bulunduğu ortam, yapraklara ve tünel içine sürekli su püskürtülmesi yoluyla nemli tutulmuştur. Tünellerin örtüleri kademeli olarak açılarak dış ortama yavaş şekilde alışmaları sağlanmıştır.

3.2.7. İncelenen Parametreler

Denemelerde; canlı anter sayısı, embriyo oluşturan anter sayısı, kallus oluşturan anter sayısı, embriyo sayısı, bitkiye dönüşen embriyo sayısı ve gelişen bitki sayıları kaydedilmiştir.

Embriyo oluşturan anter oranı; embriyo oluşturan anter sayısının, canlı anter sayısına oranı ile hesaplanmıştır.

Kallus oluşturan anter oranı; kallus oluşturan anter sayısının, canlı anter sayısına oranı ile hesaplanmıştır.

Embriyo oranı; embriyo sayısının, canlı anter sayısına oranı ile hesaplanmıştır.

Bitkiye dönüşen embriyo oranı; bitkiye dönüşen embriyo sayısının tüm oluşan embriyolara oranı ile hesaplanmıştır.

Deneme, tesadüf parselleri düzenine göre 4 tekerrürlü, her tekerrürde 5 petri olacak şekilde yapılmıştır. Hesapla bulunan yüzde değerlere açılı transformasyonu uygulandıktan sonra, varyans analizi yapılmıştır. Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde, SAS temeli üzerine kurulu JMP 8.1 istatistik paket programı kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, %5 önem düzeyinde LSD testi ile karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çizelge 4.1’de, her bir genotip için canlı anter sayısı, embriyo oluşturan anter sayısı ve kallus oluşturan anter sayısı 4 tekerrür için ayrı ayrı ve her bir genotip için tekerrür ortalaması şeklinde verilmiştir. Embriyo oluşturan anter sayısı ortalamaları, 5 ile 42.5 arasında değişmiştir. Genotiplerde canlı anter sayısı farklı olduğu için (Çizelge 4.1), genotipleri tekerrürlerin embriyo oluşturan anter sayılarının ortalamaları şeklinde karşılaştırmak doğru sonuca yöneltmeyecektir. Bu nedenle, hem embriyo oluşturan hem de kallus oluşturan anter sayısı için, 100 canlı anter başına embriyo ve kallus oluşturan anter sayıları hesaplanarak Çizelge 4.1’de sunulmuştur. Bu açıdan, 100 canlı anter başına embriyo oluşturan anter sayısı ortalamaları, 9.16 ile 74.52 arasında değişmiş, en yüksek değer 74.52 embriyo oluşturan anter/100 canlı anter ile FT-1173 no’lu genotipten elde edilmiştir. Bu genotipi, FT-500 (72.91 embriyo oluşturan anter/100 canlı anter), FT-501 (71.87 embriyo oluşturan anter/100 canlı anter), FT-509 (63.88 embriyo oluşturan anter/100 canlı anter), FT-908 (48.96 embriyo oluşturan anter/100 canlı anter) ve FT-508 (48.21 embriyo oluşturan anter/100 canlı anter) no’lu genotipler izlemiş, en düşük değer ise FT-1178 (9.16 embriyo oluşturan anter/100 canlı anter) no’lu genotipten elde edilmiştir. Yüz anter başına ortalama kallus oluşturan anter sayısı açısından ise, sonuçlar 2.37 ile 45.83 arasında değişmiş, FT-902 (45.83 kallus oluşturan anter/100 canlı anter) ve FT-903 (39.25 kallus oluşturan anter/100 canlı anter) genotiplerinden en yüksek değerler elde edilmiştir. Bu genotipleri; FT-1175 (21.43 kallus oluşturan anter/100 canlı anter), FT-1178 (20.83 kallus oluşturan anter/100 canlı anter), FT-1181 (15.41 kallus oluşturan anter/100 canlı anter), FT-1173 (14.85 kallus oluşturan anter/100 canlı anter) ve FT-1180 (14.09 kallus oluşturan anter/100 canlı anter) takip etmiş, en düşük performans ise FT-501 (2.37 kallus oluşturan anter/100 canlı anter) no’lu genotipte gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.1. Anter kültürü denemesinde kullanılan biber genotiplerinin canlı anter, embriyo ve kallus oluşturan anter sayıları

Genotip	CAS (adet)	EOAS (adet)	EOAS/100 CA (%)	KOAS (adet)	KOAS/100 CA (%)
FT-263-1	230	50	21.74	10	4.35
FT-263-2	80	15	18.75	3	3.75
FT-263-3	30	5	16.67	2	6.67
FT-263-4	30	10	33.33	1	3.33
Ortalama	92.5	20	22.62	4	4.52
FT-500-1	40	30	75.0	2	5.0
FT-500-2	30	25	83.33	1	3.33
FT-500-3	15	10	66.67	1	6.67
FT-500-4	15	10	66.67	1	6.67
Ortalama	25	18.75	72.91	1.25	5.42
FT-501-1	60	35	58.33	3	5.0
FT-501-2	40	25	62.50	1	2.5
FT-501-3	10	10	100.0	2	2.0
FT-501-4	15	10	66.67	0	0
Ortalama	31.25	20	71.87	1.5	2.37
FT-507-1	70	20	28.57	0	0
FT-507-2	60	25	41.67	2	3.33
FT-507-3	40	10	25.0	1	2.5
FT-507-4	20	5	25.0	2	10.0
Ortalama	47.5	15	30.06	1.25	3.96
FT-508-1	70	40	57.14	2	2.86
FT-508-2	200	100	50.0	10	5.0
FT-508-3	35	10	28.57	4	11.43
FT-508-4	35	20	57.14	3	8.57
Ortalama	85	42.5	48.21	4.75	6.96
FT-509-1	45	30	66.67	1	2.22
FT-509-2	30	30	100.0	1	3.33
FT-509-3	90	50	55.55	0	0
FT-509-4	15	5	33.33	3	20.0
Ortalama	45	28.75	63.88	1.25	6.38
FT-900-1	50	15	30.0	3	6.0
FT-900-2	40	15	37.5	3	7.5
FT-900-3	20	8	40.0	3	15.0
FT-900-4	20	7	35.0	1	5.0
Ortalama	32.5	11.25	34.61	2.5	8.37
FT-901-1	50	15	30.0	2	4.0
FT-901-2	50	15	30.0	1	2.0
FT-901-3	15	8	53.33	3	20.0
FT-901-4	15	7	46.67	4	26.67
Ortalama	32.5	11.25	40.0	2.5	13.17
FT-902-1	60	15	25.0	2	3.33

Çizelge 4.1 Devamı

FT-902-2	10	6	60.0	6	60.0
FT-902-3	10	5	50.0	6	60.0
FT-902-4	10	4	40.0	6	60.0
Ortalama	22.5	7.5	43.75	5	45.83
FT-903-1	50	13	26.0	1	2.0
FT-903-2	20	7	35.0	7	35.0
FT-903-3	10	6	60.0	6	60.0
FT-903-4	10	5	50.0	6	60.0
Ortalama	22.5	7.75	42.75	5	39.25
FT-905-1	90	45	50.0	3	3.33
FT-905-2	50	20	40.0	1	2.0
FT-905-3	30	10	33.33	5	16.67
FT-905-4	40	15	37.50	6	15.0
Ortalama	52.5	22.5	40.21	3.75	9.25
FT-906-1	70	12	17.14	1	1.43
FT-906-2	180	30	16.67	5	2.78
FT-906-3	90	35	38.89	5	5.55
FT-906-4	20	2	10.0	2	10.0
Ortalama	90	19.75	20.68	3.25	4.94
FT-907-1	40	15	37.5	1	2.5
FT-907-2	20	8	40.0	1	4.0
FT-907-3	15	5	33.33	1	6.67
FT-907-4	15	7	46.67	2	13.33
Ortalama	22.5	8.75	39.37	1.25	6.62
FT-908-1	60	35	58.33	1	1.67
FT-908-2	40	25	62.50	3	7.5
FT-908-3	40	15	37.5	3	7.5
FT-908-4	40	15	37.5	3	7.5
Ortalama	45	22.5	48.96	2.5	6.04
FT-1173-1	35	25	71.43	2	5.71
FT-1173-2	25	20	80.0	2	8.0
FT-1173-3	15	10	66.67	6	40.0
FT-1173-4	25	20	80.0	2	5.71
Ortalama	25	18.75	74.52	3	14.85
FT-1174-1	100	30	30.0	5	5.0
FT-1174-2	40	12	30.0	1	2.5
FT-1174-3	10	3	30.0	2	20.0
FT-1174-4	10	2	20.0	2	20.0
Ortalama	40	11.75	27.50	2.5	11.87
FT-1175-1	35	8	22.86	1	2.86
FT-1175-2	35	9	25.71	1	2.86
FT-1175-3	10	2	20.0	4	40.0
FT-1175-4	10	1	10.0	4	40.0
Ortalama	22.5	5	19.64	2.5	21.43

Çizelge 4.1 Devamı

FT-1178-1	60	9	15.0	5	8.33
FT-1178-2	60	9	15.0	5	8.33
FT-1178-3	30	1	3.33	10	33.33
FT-1178-4	30	1	3.33	10	33.33
Ortalama	45	5	9.16	7.5	20.83
FT-1179-1	40	15	37.5	2	5.0
FT-1179-2	40	10	25.0	3	7.5
FT-1179-3	25	10	40.0	3	12.0
FT-1179-4	25	5	20.0	7	28.0
Ortalama	32.5	10	30.62	3.75	13.12
FT-1180-1	45	11	24.44	2	4.44
FT-1180-2	45	11	24.44	2	4.44
FT-1180-3	40	11	27.50	3	7.5
FT-1180-4	20	2	10.0	8	40.0
Ortalama	37.5	8.75	21.59	6.25	14.09
FT-1181-1	150	60	40.0	20	13.33
FT-1181-2	40	20	50.0	3	7.5
FT-1181-3	40	9	22.50	7	17.5
FT-1181-4	30	11	36.67	7	23.33
Ortalama	65	25	37.29	9.25	15.41
FT-1182-1	35	15	42.86	3	8.57
FT-1182-2	40	10	25.0	2	5.0
FT-1182-3	40	10	25.0	3	7.5
FT-1182-4	35	5	14.28	3	8.57
Ortalama	37.5	10	26.78	2.75	7.41
FT-1183-1	150	60	40.0	15	10.0
FT-1183-2	30	15	50.0	7	23.33
FT-1183-3	35	15	42.86	3	8.57
FT-1183-4	35	20	57.14	2	5.71
Ortalama	62.5	27.5	47.5	6.75	11.90

CAS: Canlı Anter Sayısı, EOAS: Embriyo Oluşturan Anter Sayısı, EOAS/100 A: Embriyo Oluşturan Anter Sayısı/100 Canlı Anter, KOAS: Kallus Oluşturan Anter Sayısı, KOAS/100 A: Kallus Oluşturan Anter Sayısı/100 Canlı Anter

Anter kültürü denemelerinde genotiplerin performanslarının karşılaştırılmasında, genellikle 100 anter başına hesaplanan embriyo sayısı göz önünde bulundurulmaktadır. Bu çalışmada da, bu hesaplamalar yapılarak Çizelge 4.2’de sunulmuştur (Şekil 4.1-4.3). Yüz canlı anter için ortalama embriyo sayıları, 0.83 ile 44.44 arasında değişmiştir. En yüksek oran, 44.44 embriyo/100 canlı anter ile FT-509 genotipinde gözlemlenmiş, bu genotip; FT-508 (23.61 embriyo/100

canlı anter), FT-1181 (23.37 embriyo/100 canlı anter), FT-905 (22.89 embriyo/100 canlı anter), FT-501 (21.67 embriyo/100 canlı anter) ve FT-1179 (20.37 embriyo/100 canlı anter) genotipleri tarafından takip edilmiştir. En düşük performansı 0.83 adet embriyo/100 canlı anter ile FT-1178 genotipi göstermiştir. Ortalama bitkiye dönüşen embriyo sayısı 0.5 (yaklaşık 1) ile 20 arasında değişmiştir. Genellikle oluşan embriyoların tamamı bitkiye dönüşebilmiştir. Bu nedenle, 100 canlı anter için ortalama bitki oluşturan embriyo sayısı değerleri, 100 canlı anter için ortalama embriyo sayıları ile aynı olmuştur. Her genotipte bitki oluşturan embriyo sayısı ortalamaları açısından ise, en yüksek bitki sayısı ortalama 20 adet ile FT-508 no'lu genotipte gözlemlenmiş ve FT-509 (17.5 bitki-yaklaşık 17 bitki), FT-1181 (16 bitki), FT-905 (12 bitki), FT-263 (10.5 bitki-yaklaşık 10 bitki) ile FT-507 (8.25 bitki-yaklaşık 8 bitki) genotipleri tarafından takip edilmiştir. En düşük bitki sayısı ise 0.5 (yaklaşık 1 bitki) adet ile FT-1178 no'lu genotipte gözlemlenmiştir. Gelişen bitki sayısı ise, 0.5 (yaklaşık 1 bitki) ile 15.75 (yaklaşık 16 bitki) arasında değişmiştir (Şekil 4.4). En yüksek performans FT-508 (15.75 bitki-yaklaşık 16 bitki), FT-1181 (14.75 bitki-yaklaşık 15 bitki), FT-509 (12.5 bitki-yaklaşık 12 bitki), FT-263 (8.25 bitki-yaklaşık 8 bitki) ve FT-908 (7.25 bitki-yaklaşık 7 bitki) genotiplerinde kaydedilirken, en düşük performansı 0.5 (yaklaşık 1 bitki) ile FT-902 ve FT-1178 genotipleri göstermiştir.

Çizelge 4.2. Denemede farklı biber genotiplerden anter kültürü yoluyla elde edilen embriyo ve bitki sayıları

Genotip	ES (adet)	ES/100 CA (%)	BDES (adet)	GBS (adet)
FT-263-1	26	11.30	26	20
FT-263-2	9	11.25	9	8
FT-263-3	3	10.00	3	2
FT-263-4	4	13.33	4	3
Ortalama	10.5	11.47 efg (19.77)	10.5	8.25
FT-500-1	3	7.50	3	2
FT-500-2	3	10.0	3	2
FT-500-3	2	13.33	2	2
FT-500-4	1	6.67	1	0
Ortalama	2.25	9.37 fg (17.68)	2.25	1.5
FT-501-1	10	16.67	10	8
FT-501-2	8	20.0	8	7
FT-501-3	3	30.0	3	3
FT-501-4	3	20.0	3	2
Ortalama	6	21.67 bc (27.61)	6	5
FT-507-1	13	18.57	13	10
FT-507-2	12	20.0	12	8
FT-507-3	5	12.50	5	6
FT-507-4	3	15.0	3	3
Ortalama	8.25	16.52 bcdef (23.89)	8.25	6.75
FT-508-1	18	25.71	18	10
FT-508-2	46	23.0	46	37
FT-508-3	8	22.86	8	7
FT-508-4	8	22.86	8	9
Ortalama	20	23.61 b (29.06)	20	15.75
FT-509-1	20	44.44	20	15
FT-509-2	10	33.33	10	5
FT-509-3	30	33.33	30	25
FT-509-4	10	66.67	10	5
Ortalama	17.5	44.44 a (41.8)	17.5	12.5
FT-900-1	6	12.0	6	4
FT-900-2	5	12.5	5	3
FT-900-3	2	10.0	2	3
FT-900-4	1	5.0	1	2
Ortalama	3.5	9.87 fg (18.08)	3.5	3
FT-901-1	6	12.0	6	3
FT-901-2	5	10.0	5	3
FT-901-3	2	13.33	2	1
FT-901-4	2	13.33	2	1
Ortalama	3.75	12.16 efg (20.38)	3.75	2
FT-902-1	5	8.33	5	2
FT-902-2	1	10.0	1	0

Çizelge 4.2 Devamı

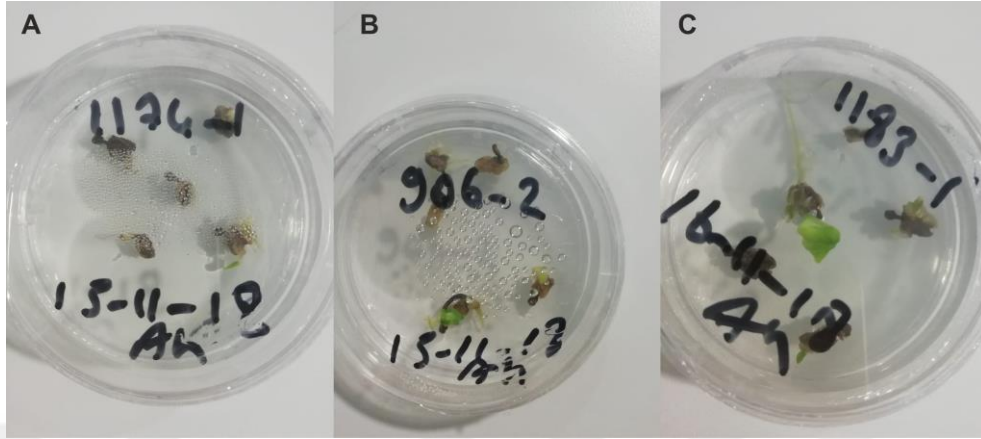
FT-902-3	0	0	0	0
FT-902-4	0	0	0	0
Ortalama	1.5	4.58 h (8.80)	1.5	0.5
FT-903-1	3	6.0	3	2
FT-903-2	3	15.0	3	3
FT-903-3	2	20.0	2	1
FT-903-4	1	10.0	1	1
Ortalama	2.25	12.75 defg (20.49)	2.25	1.75
FT-905-1	20	22.22	20	8
FT-905-2	13	26.0	13	8
FT-905-3	7	23.33	7	3
FT-905-4	8	20.0	8	6
Ortalama	12	22.89 bc (28.56)	12	6.25
FT-906-1	4	5.71	4	2
FT-906-2	12	6.67	12	6
FT-906-3	10	11.11	10	10
FT-906-4	1	5.0	1	1
Ortalama	6.75	7.12 g (15.29)	6.75	4.75
FT-907-1	4	10.0	4	4
FT-907-2	2	10.0	2	2
FT-907-3	2	13.33	2	2
FT-907-4	2	13.33	2	2
Ortalama	2.5	11.66 efg (19.92)	2.5	2.5
FT-908-1	9	15.0	9	8
FT-908-2	8	20.0	8	7
FT-908-3	7	17.50	7	7
FT-908-4	7	17.50	7	7
Ortalama	7.75	17.50 bcde (24.70)	7.75	7.25
FT-1173-1	4	11.43	4	3
FT-1173-2	4	16.0	4	3
FT-1173-3	2	13.33	2	1
FT-1173-4	6	24.0	6	4
Ortalama	4	16.19 bcdef (23.52)	4	2.75
FT-1174-1	18	18.0	18	13
FT-1174-2	7	17.50	7	5
FT-1174-3	2	20.0	2	2
FT-1174-4	2	20.0	2	1
Ortalama	7.25	18.87 bcde (25.74)	7.25	5.25
FT-1175-1	2	5.71	2	1
FT-1175-2	3	8.57	3	2
FT-1175-3	0	0	0	0
FT-1175-4	0	0	0	0
Ortalama	1.25	3.57 h (7.71)	1.25	0.75
FT-1178-1	1	1.67	1	1

Çizelge 4.2 Devamı

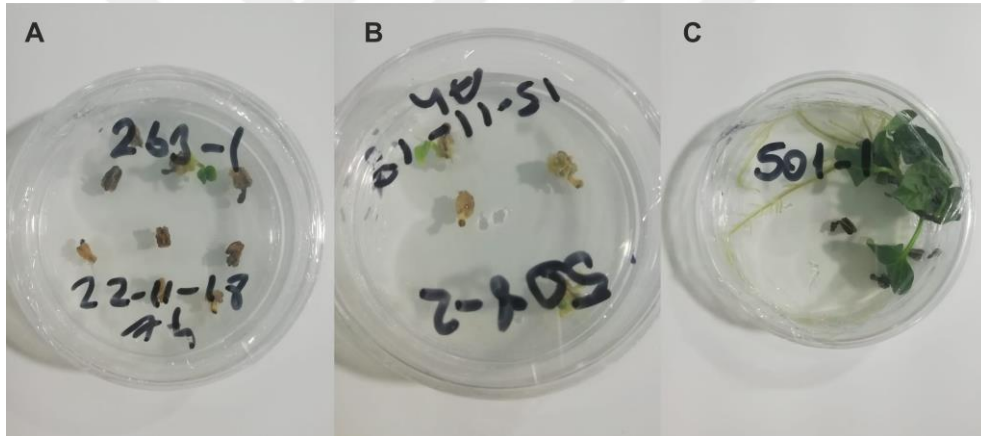
FT-1178-2	1	1.67	1	1
FT-1178-3	0	0	0	0
FT-1178-4	0	0	0	0
Ortalama	0.5	0.83 h (3.71)	0.5	0.5
FT-1179-1	7	17.50	7	6
FT-1179-2	8	20.0	8	5
FT-1179-3	6	24.0	6	3
FT-1179-4	5	20.0	5	1
Ortalama	6.5	20.37 bcd (26.80)	6.5	3.75
FT-1180-1	10	22.22	10	6
FT-1180-2	7	15.56	7	5
FT-1180-3	6	15.0	6	4
FT-1180-4	2	10.0	2	1
Ortalama	6.25	15.69 bcdef (23.14)	6.25	4
FT-1181-1	39	26.0	39	39
FT-1181-2	13	32.5	13	9
FT-1181-3	6	15.0	6	7
FT-1181-4	6	20.0	6	4
Ortalama	16	23.37 bc (28.69)	16	14.75
FT-1182-1	8	22.86	8	6
FT-1182-2	5	12.5	5	5
FT-1182-3	5	12.5	5	4
FT-1182-4	4	11.43	4	2
Ortalama	5.5	14.82 cdef (22.43)	5.5	4.25
FT-1183-1	17	11.33	17	14
FT-1183-2	4	13.33	4	2
FT-1183-3	4	11.43	4	4
FT-1183-4	4	11.43	4	4
Ortalama	7.25	11.88 efg (20.15)	7.25	6

ES: Embriyo Sayısı, ES/100 CA: Embriyo Sayısı/100 Canlı Anter, BDES: Bitkiye Dönüşen Embriyo Sayısı, GBS: Gelişen Bitki Sayısı

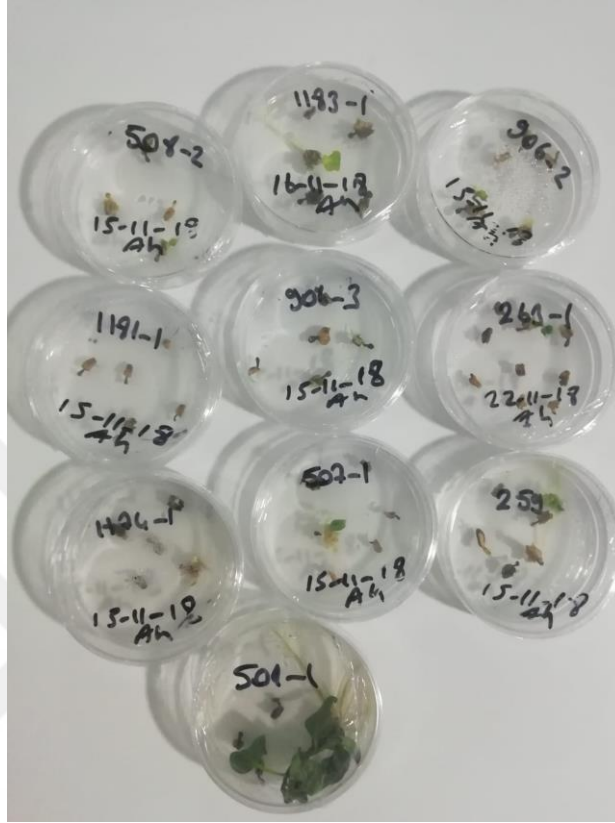
Parantez içindeki değerlere, açılı transformasyonu yapılmıştır.



Şekil 4.1. Denemede kullanılan bazı biber genotiplerinin anter kültürüne tepkisi; FT-1174 (A), FT-906 (B), FT-1183 (C)



Şekil 4.2. Denemede kullanılan bazı biber genotiplerinin anter kültürüne tepkisi; FT-263 (A), FT-508 (B), FT-501 (C)



şekil 4.3. Denemede kullanılan bazı biber genotiplerinin anter kültürüne tepkisi



Şekil 4.4. Anter kültürü sonucu geliştirilerek dış koşullara alıştırılan biber bitkileri; dış koşullara alıştırma (A), dış koşullara adapte olup ürün aşamasındaki biber bitkileri (B)

Biberde anter kültürüne tepkide genotipin en önemli faktörlerden birisi olduğu, günümüze kadar yapılan birçok çalışma ortaya konulmuştur. Comlekcioglu ve ark (2001) Kahramanmaraş ve Şanlıurfa'dan iki lokal biber popülasyonunun anter kültüründe $AgNO_3$ (10 mg/L) etkisini test etmişlerdir. Bu popülasyonların seçim nedeni, araştırmacıların daha önce yapmış oldukları çalışmalarda cevaplarının iyi olmaması olmuştur. Çalışmalarının sonunda, her iki popülasyonda da $AgNO_3$ 'süz ortamlarda sonuç alamazken, $AgNO_3$ 'lü ortamlardan sonuç almışlardır. Şanlıurfa popülasyonunda, 116 embriyo/100 tomurcuk ve 51.6 normal embriyo/100 tomurcuk sonuçları elde edilirken, Kahramanmaraş popülasyonunda sonuçlar, 35 embriyo/100 tomurcuk ve 35.7 normal embriyo/100 tomurcuk

şeklinde olmuştur. Boyacı (2001) iki hibrid (Sirena F1 ve Amazon F1) ve üç standart biber çeşidinin (Demre Sivrisi, Bağcı Çarliston ve Yalova Çarliston) anter kültüründe, farklı besin ortamlarının (2,4-D ve kinetinli MS, N, C&R besin ortamları-aktif kömürlü ve aktif kömürsüz) etkisini araştırmıştır. Çalışma sonucunda; Demre Sivrisi, Bağcı Çarliston, Yalova Çarliston ve Amazon F1 çeşitlerinde sadece kallus oluşumu gözlemlenmiştir. En yüksek kallus oluşumu, aktif kömür içermeyen C&R besin ortamında kaydedilmiştir. Kallustan bitki rejenerasyonu, sadece N besin ortamında gözlemlenmiştir (5 mg/L 2,4-D ve 5 mg/L kinetin). Embriyogenesise en iyi cevap, %4.4 oran ile N ortamında (5 mg/L 2,4-D, 5 mg/L kinetin ve %1 aktif kömür) gerçekleşmiştir. Sirena F1 ve Bağcı Çarliston çeşitlerinden embriyo ve sürgünler elde edilmiş, ancak bunların gelişimleri sağlanamamıştır. Ellialtioglu ve ark (2001) tarafından yapılan çalışmada, Kahramanmaraş biber popülasyonunda, aktif kömür ve havuç ekstraktı eklenmiş iki besin ortamı ve iki farklı inkübasyon koşulunun, anter kültürü üzerindeki etkisi denenmiştir. DDV kontrol ortamında, %0.45 cevap veren anter ve embriyo, DDV+aktif kömür ortamından %1.05 cevap veren anter ve embriyo, DDV+aktif kömür+havuç ekstraktı besin ortamından %0.83 cevap veren anter ve %1.17 embriyo; MS ortamında ise sadece kontrol besin ortamından %0.66 cevap veren anter ve %0.82 embriyo oranları ile sonuç alınabilmektedir. Her iki besin ortamının da tüm kombinasyonlarında, 35°C’de 8 gün karanlıkta bekletme ve sonra 25°C sıcaklığa aktarma uygulamasından sonuç alınamamıştır. Yukarıda verilen sonuçların tamamı, 29°C’de sürekli bekletme uygulamasından elde edilmiştir. Buyukalaca ve ark (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, AgNO₃’ün farklı dozlarının (5, 10, 15 and 20 mg/L) ve donör bitki yetiştirme koşullarının (açık alan ve sera) anter kültürü üzerindeki etkisi, iki genotipin (Urfa: U-247 ve U-238) kullanımı ile araştırılmıştır. Çalışmada en başarılı sonuçlar, U-247 genotipinin seradan toplanan tomurcuklarının 15 mg/L AgNO₃ içeren besin ortamından elde edilmiştir. Genotiplerde, U-247 genotipinin tüm uygulamalardaki performans ortalaması 17.5 embriyo/100 anter olurken, U-238 genotipinin performansı 4.9

embriyo/100 anter olarak kaydedilmiştir. Rodeva ve ark (2004) tarafından biber anter kültüründe genotip etkisi araştırılmış ve bu amaçla hatlar, çeşitler ve hibridlerin performansı ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Altı farklı hattın ortalaması; %12.8 cevap veren anter, %1.38 embriyogenesisle cevap veren, %10.66 kallus oluşumu ile cevap veren, %0.04 toplam anter sayısına regenerantlar, %3.13 direk embriyo sayısına regenerantlar, altı çeşidin ortalaması; %12.69 cevap veren anter, %2.29 embriyogenesisle cevap veren, %10.36 kallus oluşumu ile cevap veren, %0.21 toplam anter sayısına regenerantlar, %9.99 direk embriyo sayısına regenerantlar; dört farklı hibridin ortalaması; %12.24 cevap veren anter, %1.39 embriyogenesisle cevap veren, %10.85 kallus oluşumu ile cevap veren şeklinde olmuştur. Ercan ve ark (2006) donör bitki yetiştirme sezonunun ve bitki yaşının (kış için Kasım'dan Mayıs'a haftalık kültür, yaz için Nisan'dan Aralık'a haftalık kültür) biber anter kültürü üzerindeki etkisini, Kekova ve Sera Demre 8 biber çeşitlerinde araştırmışlardır. Kekova çeşidi; yaz sezonunda 4.97 embriyo/100 anter ve 2.26 bitki/100 anter, kış sezonunda ise 2.69 embriyo/100 anter ve 1.22 bitki/100 anter performansını göstermiştir. Sera Demre 8 çeşidinden ise yaz sezonunda 1.49 embriyo/100 anter ile 0.59 bitki/100 anter; kış sezonundan 4.26 embriyo/100 anter ve 1.36 bitki/100 anter sonuçları alınmıştır. Deneme sonuçları, farklı genotiplerin farklı zamanlarda daha iyi performans gösterdiğini doğrulamıştır. Çalışmada kullanılan çeşitlerin bir tanesi yaz döneminde, diğeri ise kış döneminde daha başarılı olmuştur. Çağlar ve ark (2004), Kahramanmaraş biberlerinde NAA (2.0, 4.0, 6.0 mg/L), 2,4-D (1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mg/L), BAP (0.1, 1.0, 2.0, 3.0 mg/L) ve kinetin (0.1, 1.0, 5.0 mg/L)'in farklı dozlarını, aktif kömür (%0.25) ve AgNO₃ (10 mg/L) ilaveli ve farklı ön uygulamalı (4°C karanlıkta, 29°C karanlıkta, 35°C karanlıkta) 37 adet denemelerinin, 0.1 mg/L BAP, 4 mg/L NAA, %0.25 aktif kömür ve 10 mg/L AgNO₃ eklenmiş MS besin ortamı ve 327 adet anterle kurulan kısmında, kallus gelişimi olmaksızın, %2.8 oranında haploid embriyo gelişimi gözlemlemişlerdir. Çalışmada, 327 adet anterin üç adedinden dokuz adet embriyo gelişimi gözlemlenmiş, embriyo oluşturan anter oranı 0.92 olmuştur. Diğer

denemelerde ise toplam 2903 anter kullanılmış, bu anterlerden 117 adet kallus oluşturan anter gözlemlenmiş, ancak bu anterlerden embriyo elde edilememiştir. Kallus oluşturan anter sayısı 4.03 anter/100 anter olmuştur. Ercan ve Ayar Şensoy (2011) tarafından biberin anter kültüründe genotip etkisinin araştırıldığı çalışmada; Atris çeşidinde 0.33 embriyo/100 anter, %39.10 kallus oluşturan anter sayısı, 0.32 bitki/100 anter; Odesa çeşidinde 3.01 embriyo/100 anter, %44.15 kallus oluşturan anter, 0.67 bitki/100 anter; Demre çeşidinde 1.30 embriyo/100 anter, %19.48 kallus; DRH-7118 çeşidinde 0.73 embriyo/100 anter, %21.10 kallus oluşturan anter; Yağlık biber’de 1.97 embriyo/100 anter, %39.76 kallus oluşturan anter, 0.39 bitki/100 anter; Yalova Çarliston’da %17.31 kallus oluşturan anter sayısı/100 anter; Kandil’de %34.35 kallus oluşturan anter; Demve Sivrisi’nde 7.69 embriyo/100 anter, %19.41 kallus oluşturan anter, 2.20 bitki/100 anter; Sirena’da 0.35 embriyo/100 anter, %29.37 kallus oluşturan anter, 0.35 bitki/100 anter; Kekova’da 1.50 embriyo/100 anter, %33.83 kallus oluşturan, 0.43 bitki/100 anter; Sera-Demre 8’de 2.26 embriyo/100 anter, %28.51 kallus oluşturan anter, 1.13 bitki/100 anter elde edilmiştir. Alremi ve ark (2014) tarafından B, 151 ve 171 no’lu biber genotipleri ile Suriye’de kullanılan Alfajer çeşidi ve 16 farklı besin ortamı ile yapılan anter kültürü çalışmasında, Alfajer biber çeşidinde 1.32 embriyo/100 anter, 0.90 bitki/100 anter; B biber genotipinde 1.33 embriyo/100 anter, 1.26 bitki/100 anter; 171 no’lu biber genotipinde 0.24 embriyo/100 anter, 0.16 bitki/100 anter ve 151 no’lu biber genotipinde 0.57 embriyo/100 anter ile 0.42 bitki/100 anter gözlemlenmiştir. Olszewska ve ark (2014) farklı biber çeşit ve genotipleri, bunların F1’leri, farklı hatlar, farklı biber türleri (*C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens*), farklı türlerin melezlenmesiyle oluşan F1’ler ve dihaploid hatlarda anter kültürü denemeleri yapmışlar ve değişken sonuçlar elde etmişlerdir. Bu denemeler esnasında, farklı kinetin dozları ve anterlerin farklı inkübasyon süreleri de test edilmiştir. Farklı türlerden sadece *C. frutescens*’de 16 gün inkübasyonda 0.1 mg/L kinetinde %1.54, 0.3 mg/L kinetinde ise %0.77 oranında başarı elde etmişlerdir. En yüksek sonuçlar, 16 gün inkübasyon 0.1 mg/L kinetinde AC7 dihaploid hattında

%6.15 olarak ve takibinde 16 gün inkübasyonda 0.1 mg/L kinetinde F1 (ATZ × PO) bitkilerinde %4.62 olarak tespit edilmiştir. Ozsan ve Onus (2017), dört farklı biber çeşidinin anter kültüründe, vitamin B bileşiklerinin etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarında denenen altı farklı besin ortamında, Belissa çeşidinde 3.73 embriyo/100 anter, 2.67 bitki/100 anter, 7.66 kallus oluşturan anter/100 anter; Benino çeşidinde 1.15 embriyo/100 anter, 0.39 bitki/100 anter, 0 kallus oluşturan anter/100 anter; Kanyon çeşidinde 0.19 embriyo/100 anter, 0.19 bitki/100 anter, 0.38 kallus oluşturan anter/100 anter ve Filinta çeşidinde 0.16 embriyo/100 anter, 0.17 bitki/100 anter, 0 kallus oluşturan anter/100 anter kaydetmişlerdir. Çalışma sonucunda, farklı vitamin B bileşiklerinin androgenesis olumlu etkilediğini tespit etmişlerdir. Ozan ve Onus (2018), dört farklı biber çeşidi ve 12 farklı besin ortamı kombinasyonu kullanarak anter kültürü çalışması yapmışlardır. Temel besin ortamı olarak MS ve Gamborg B5'i kullanmışlar ve aynı zamanda glutamin etkisini de test etmişlerdir. Çalışma sonucunda, Erciyes ve Filinta çeşidinde embriyo elde edilememiş; Belissa çeşidinde 34.46 embriyo/100 anter, 0.58 bitki/100 anter ve Ergenekon çeşidinde 30.0 embriyo/100 anter ile 0.61 bitki/100 anter kaydedilmiştir. Gelişen anter yüzdesi ise Erciyes çeşidinde %57.10, Belissa çeşidinde 42.79, Filinta çeşidinde %70.74 ve Ergenekon çeşidinde %58.69 olmuştur. Glutaminin androgenesis üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu da gözlemlenmiştir. Ata ve ark (2019) tarafından üç biber genotipi, bir çeşidi ve iki farklı besin ortamında bir sene süresince her ay tekrarlanan anter kültürü çalışmasında, Inan3363 çeşidinden 22.14 embriyo/100 anter, 12.17 embriyo oluşturan anter/100 anter; genotip 277A'dan 10.01 embriyo/100 anter, 5.30 embriyo oluşturan anter/100 anter, genotip 195'de 4.29 embriyo/100 anter, 2.13 embriyo oluşturan anter/100 anter ve genotip 421'de 1.40 embriyo/100 anter ile 1.19 embriyo oluşturan anter/100 anter elde etmişlerdir. Shimira ve ark (2019a) tarafından yapılan ve 2 farklı nematoda dayanıklı olarak tespit edilen biber genotipinin anter kültürüne tepkisinin belirlenmesinin hedeflendiği çalışmada; Alata 2095 genotipinde 45.51 embriyo/100 anter, 39.04 bitki/100 anter ve Alata

2096 genotipinde 2.25 embriyo/100 anter, 1.97 bitki/100 anter kaydedilmiştir. Shimira ve ark (2019b) yine Ruanda'dan temin edilen Pili-Pili (*C. chinense*) çeşidinin anter kültürü performansını, bir Türk genotipi (A111) ve çeşidi (Inan 3363) ile karşılaştırmalı olarak değerlendirmişlerdir (iki Türk materyali, *C. annuum*'a aittirler). İki Türk genotipinden, Inan 3363 çeşidinde 19.4 embriyo/100 anter kaydedilirken, A111 genotipinden 4.46 embriyo/100 anter tespit edilmiştir. Ata ve ark (2019)'nın çalışmasında da Inan 3363 çeşidinin anter kültürü performansı araştırılmış ve iki farklı besin ortamının ve 12 ay deneme tekrarının ortalaması 22.14 embriyo/100 anter olmuştur. Ancak bu çeşit bazı ay ve besin ortamlarında, %60'ın üzerinde de performans göstermiştir. Shimira ve ark (2019b)'nın araştırmasında Inan 3363 çeşidinin seçilmesi nedeni, Ata ve ark (2019)'nın denemelerinde yüksek performans göstermesi olmuştur. Denli (2019) tarafından yapılan biberde anter kültürü kalıtımının araştırıldığı bir doktora tezi çalışmasında, *C. annuum* genotipi 253A ve çeşidi Inan3363 (ön çalışmalarda anter kültürü performansı yüksek bulunmuştur), anter kültürü performansı düşük olarak bilinen *C. chinense* genotipi PI 159236 kullanılmıştır. 253A ve PI 159236 ile Inan3363 ve PI 159236 arasında yapılan melezlemelerle, anter kültürü kalıtımı araştırılmıştır. 253A ve PI 159236 ile oluşturulan popülasyonlarda 253A genotipinde 38.66 embriyo/100 anter, 38 embriyo oluşturan anter/100 anter; PI 159236 genotipinde 0.66 embriyo/100 anter, 0.66 embriyo oluşturan anter/100 anter; F1'de 0.26 embriyo/100 anter, 0.22 embriyo oluşturan anter/100 anter; F2'de 5.03 embriyo/100 anter, 2.42 embriyo oluşturan anter/100 anter; GM1P1'de 9.09 embriyo/100 anter, 5.46 embriyo oluşturan anter/100 anter; GM1P2'de 2.09 embriyo/100 anter ile 1.67 embriyo oluşturan anter/100 anter gözlemlenmiştir. Inan3363 ve PI 159236 ile oluşturulan popülasyonlarda ise, Inan3363 çeşidinde 48 embriyo/100 anter, 24.67 embriyo oluşturan anter/100 anter; PI 159236'de 0.66 embriyo/100 anter, 0.66 embriyo oluşturan anter/100 anter; F1'de 0.24 embriyo/100 anter, 0.20 embriyo oluşturan anter/100 anter; F2'de 6.5 embriyo/100 anter, 4.12 embriyo oluşturan anter/100 anter; GM1P1'de 8.10 embriyo/100 anter,

4.69 embriyo oluşturan anter/100 anter ve GM1P2’de 4.48 embriyo/100 anter ile 2.11 embriyo oluşturan anter/100 anter kaydedilmiştir. Tüm bu çalışmalarda açıkça görülebildiği gibi, biberde anter kültüründe genotip etkisi yüksektir. Bazı genotiplerin, aynı besin ortamında ve aynı koşullarda anter kültürüne tepkisi olumlu olurken, bazı genotiplerinki zayıf kalabilmektedir. Tepkisi zayıf olan genotipler, farklı dozlardaki büyümeyi düzenleyicilerle desteklenmiş besin ortamlarında veya farklı zamanlarda (sezonlarda) kültüre alındığında veya farklı ön uygulamalara maruz bırakıldığında (Ata ve ark, 2019) performansları yükseldebilmektedir. Örneğin, sıcak koşullara adapte genotipler, Temmuz-Ağustos gibi sıcak aylarda (normalde Akdeniz iklim kuşağı ülkeleri için tavsiye edilmeyen dönemler) androgenesise yüksek tepki verebilmekte ya da soğuğa dayanıklı genotipler, normalde çoğu genotipten tepki alınmayan Aralık-Ocak gibi soğuk aylarda yüksek performans (Ata ve ark, 2019) gösterebilmektedir. Büyümeyi düzenleyicilerin tipi ve konsantrasyonu da, kültür sezonuna veya genotipe göre değişebilmektedir (Ata, 2011). Sunulan bu tez çalışmasında da genotiplerin anter kültürüne cevabı açısından, önemli farklılıklar görülmüştür (istatistiksel açıdan da) (Çizelge 4.2). İstatistiksel analizler, sadece anter kültürüne tepkiyi karşılaştırmada en belirleyici hesaplama yöntemi olan, tekerrür ortalaması embriyo sayısı/100 anter değerlerine uygulanmıştır. Bitki sayıları da, karşılaştırmada önemli bir faktördür. Bu çalışmada, embriyo sayısı ile bitki sayıları aynı olduğu için, istatistiksel analizler ayrıca bitki sayılarına uygulanmamıştır. FT-509 no’lu genotip, diğer genotiplere nazaran önemli derecede yüksek performans gösterirken, FT-1178 androgenesise en düşük cevabı vermiştir.

Niklas-Novak ve ark (2012) (‘ATZ1’ × ‘TG’) F2 hibridinin 20 adet bitkisinin, bireysel olarak anter kültürü performanslarını değerlendirmişlerdir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, 0.5 ile 16.5 embriyo/100 anter arasında değişmiş, ortalama 3.53 embriyo/100 anter olmuştur. Bu çalışma, anter kültürüne cevabın genotipin yanı sıra, aynı genotip içerisindeki bitkilerde bile değişken olduğunu göstermektedir.

Koleva-Gudeva ve ark (2007) tarafından yapılan bir çalışmada; dokuz biber çeşidinin androgenesis tepkisi araştırılmıştır. Feferona, Slatko Luta, Vezena Luta, Sivrija, Zlaten Medal, Kurtovska Kapija, California Wonder, Rotund ve Féherözön çeşitlerinden; Feferona, Vezena Luta, Sivrija ve Rotund çeşitleri anter kültürüne tepki vermemiş; Slatko Luta çeşidi %2.43 embriyogenik anter ve 3.33 embriyo/100 anter, Zlaten Medal çeşidi %3.31 embriyogenik anter ve 3.66 embriyo/100 anter, Kurtovska Kapija çeşidi %1.55 embriyogenik anter ve 2.66 embriyo/100 anter, California Wonder çeşidi %6.16 embriyogenik anter ve 5.66 embriyo/100 anter ve Féherözön çeşidi %33.66 embriyogenik anter ve 55.36 embriyo/100 anter oranlarında tepki vermişlerdir. Araştırmacılar çeşitleri anter kültürüne cevapları açısından kendi aralarında gruplamışlar; bu bağlamda Feferona, Vezena Luta, Sivrija ve Rotund çeşitleri cevap vermeyenler; Slatko Luta, Zlaten Medal ve Kurtovska Kapija çeşitleri zayıf cevap verenler; California Wonder çeşidi orta-iyi cevap veren ve Féherözön çeşidi çok iyi-mükemmel cevap veren olarak gruplandırılmıştır. Sunulan bu tez çalışmasında da, 100 canlı anter sayısı başına embriyo açısından genotipleri karşılaştırarak, genotipleri kendi içinde değerlendirdiğimizde, Çizelge 4.3'deki gibi bir gruplama yapılabilir.

Çizelge 4.3. Denemede kullanılan biber genotiplerinin anter kültürü performansları açısından gruplandırılması (embriyo sayısı/100 canlı anter için)

Genotip No	Anter Kültürü Performansı	Biber Tipi
FT-263	Orta (11.47)	Sivri
FT-500	Düşük (9.37)	Çarliston
FT-501	Orta (21.67)	Çarliston
FT-507	Orta (16.52)	Çarliston
FT-508	Orta (23.61)	Çarliston
FT-509	Yüksek (44.44)	Çarliston
FT-900	Düşük (9.87)	Kapya
FT-901	Orta (12.16)	Kapya
FT-902	Düşük (4.58)	Kapya
FT-903	Orta (12.75)	Kapya
FT-905	Orta (22.89)	Kapya
FT-906	Düşük (7.12)	Kapya
FT-907	Orta (11.66)	Kapya
FT-908	Orta (17.50)	Kapya
FT-1173	Orta (16.19)	Dolma
FT-1174	Orta (18.87)	Dolma
FT-1175	Düşük (3.57)	Dolma
FT-1178	Düşük (0.83)	Dolma
FT-1179	Orta (20.37)	Dolma
FT-1180	Orta (15.69)	Dolma
FT-1181	Orta (23.37)	Dolma
FT-1182	Orta (14.82)	Dolma
FT-1183	Orta (11.88)	Dolma

Bu gruplama genotiplerin kendi aralarında değerlendirmeleri ile kendimiz tarafından yapılmıştır: 0-10 embriyo/100 anter: Düşük, 10-30 embriyo/100 anter: Orta, 30-50 embriyo/100 anter: Yüksek

Anter kültürüne tepkinin kalıtımı, Denli (2019) tarafından bir Doktora çalışmasında ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Araştırmacı bu amaçla, anter kültürüne cevabı daha önce yapılan çalışmalarda yüksek bulunan *C. annuum*'a ait bir genotip

ve bir çeşitle, anter kültürüne tepkisi düşük olan bir *C. chinense* genotipinde resiprokal melezlemeler yaparak, anter kültürüne cevabı incelemiştir. Anter kültürüne tepkinin, bu yolla artırılacağı ortaya konulmuş ve biberde anter kültürüne cevabın, çalışmasında iki genle kontrol edildiğini bildirmiştir. Bu tür melezlemeler yapılarak tepkinin yükseltilip yükseltilemeyeceği üzerine literatürde farklı çalışmalar bulunmakla beraber, araştırmacının çalışması ile ilk defa kalıtım formülize edilerek ortaya konulmuştur.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sunulan bu çalışmada, özel bir firma tarafından ıslah çalışmalarında kullanılan 23 farklı biber genotipinde, anter kültürü performansının belirlenmiştir. Besin ortamı olarak ilk aşamada; 30 g/L sakkaroz, 2.5 g/L aktif kömür, 15 mg/L AgNO₃, 4 mg/L NAA, 0.5 mg/L BAP ve 6.5 g/L agar içeren MS ortamı kullanılmış, sonrasında anterler 30 g/L sakkaroz ve 6.5 g/L agar içeren ve büyümeyi düzenleyici içermeyen MS besin ortamına aktarılmışlardır. Elde edilen embriyolar ise ikinci besin ortamında kültüre alınmışlardır. Ön-uygulama olarak, biber anter kültüründe rutin olarak kullanılan, kültüre alınan anterlerin inkübatörde +35°C sıcaklık ve karanlık koşullarda, 2 gün bekletilmesi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

- FT-509 no'lu genotip, 44.44 embriyo/100 anter ile en yüksek performansı göstermiştir. FT-509 no'lu genotipe en yakın olan FT-508'in 23.61 embriyo/100 anter olan tepkisi ile kıyaslanacak olursa, denenen 23 genotip içerisinde FT-509 no'lu genotipin kendisine en yakın olan genotipin bile neredeyse iki katı değerinde performans gösterdiği açıkça görülmektedir.

- FT-1178 genotipi, 0.83 embriyo/100 anter ile androgenesise en düşük tepkiyi vermiştir. Bu genotipin gerçekten anter kültürüne tepki açısından inatçı olup olmadığını görebilmek için, farklı besin ortamları ve farklı büyümeyi düzenleyici konsantrasyonları ile denemeler yapılabilir.

- FT-1175 (3.57 embriyo/100 anter), FT-902 (4.58 embriyo/100 anter), FT-906 (7.12 embriyo/100 anter), FT-500 (9.37 embriyo/100 anter) ve FT-900 (9.87 embriyo/100 anter) genotipleri de, diğer genotiplere göre düşük performans göstermişlerdir. Ancak FT-1178 ile karşılaştırıldığında, bu genotiplerin en düşük değerini veren FT-1175 bile, FT-1178'in üç katından fazla embriyo üretmiştir.

- FT-263 (11.47 embriyo/100 anter), FT-907 (11.66 embriyo/100 anter), FT-1183 (11.88 embriyo/100 anter), FT-901 (12.16 embriyo/100 anter), FT-903 (12.75 embriyo/100 anter), FT-1182 (14.82 embriyo/100 anter), FT-1180 (15.69

embriyo/100 anter), FT-1173 (16.19 embriyo/100 anter), FT-507 (16.52 embriyo/100 anter), FT-908 (17.50 embriyo/100 anter), FT-1174 (18.87 embriyo/100 anter), FT-1179 (20.37 embriyo/100 anter), FT-501 (21.67 embriyo/100 anter), FT-905 (22.89 embriyo/100 anter), FT-1181 (23.37 embriyo/100 anter) ve FT-508 (23.61 embriyo/100 anter) genotiplerinin androgenesise cevabı orta düzeyde olmuştur.

Bu çalışmada kullanılan genotiplerin androgenesis etkinliklerinin belirlenmesi ve bu genotiplerden dihaploid bitkilerin elde edilmesi ile özel firma tarafından yürütülen ıslah çalışmaları hızlandırılmıştır. Biberde, anter kültürüne genotiplerin tepkisi değişken olmaktadır. Bu değişkenlikte genotiplerin genetik yapıları, donör bitki yetiştirilme koşulları, yetiştiricilik sezonu, besin ortamı ve besin ortamına ilave edilen büyümeyi düzenleyicilerin tipi ve konsantrasyonu gibi faktörler etkili olmaktadır. Bazı genotiplerin, bazı besin ortamı ve yetiştiricilik sezonlarında androgenesise cevabı düşük olurken, farklı besin ortamı ve dönemlerde performas yükselebilmektedir. Bu nedenle, sunulan bu çalışmada anter kültürüne cevabı düşük olarak tespit edilen genotiplerin, farklı besin ortamlarında da denenmesi önerilebilir. Benzer şekilde sezon etkisinin olup olmadığının anlaşılabilmesi için, genotiplerin yüksek sıcaklığa/düşük sıcaklığa tolerans/hassaslık durumları kontrol edilerek, daha uygun kültüre alma zamanları kontrol edilebilir.

KAYNAKLAR

- Abak, K., 1983a. Biberde (*Capsicum annuum* L.) anter kültürü yoluyla haploid bitki elde etme üzerine araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı, 33: 155-163.
- _____, 1983b. Study on anther culture *in vitro* of pepper (*Capsicum annuum*). Capsicum Newsletter, 2: 72-73.
- Alremi, F., Taşkın, H., Sönmez, K., Büyükalaca, S., and Ellialtıoğlu, S., 2014. Effect of genotype and nutrient medium on anther culture of pepper (*Capsicum annuum* L.). Turkish J. Agr. Natural Sci., 1: 108-116.
- Arı, E., Bedir, H., Yıldırım, S., and Yıldırım, T., 2016a. Androgenic responses of 64 ornamental pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes to shed-microspore culture in autumn season. Turk. J. Biol., 40: 706-717.
- _____, Yıldırım, T., Mutlu, N., Büyükalaca, S., Gökmen, Ü., and Akman, E., 2016b. Comparison of different androgenesis protocols for doubled haploid plant production in ornamental pepper (*Capsicum annuum* L.). Turk. J. Biol., 40: 944-954.
- Ata, A., 2011. Biberlerde (*Capsicum annuum*) anter kültüründe mevsim etkisi ve mikrospor gelişimi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 89 s.
- _____, Keleş, D., Taşkın, H., and Büyükalaca, S., 2019. Effects of season, genotype, and nutrient medium on pepper anther culture and microspore development. Turk. J. Agric. For., 43: 123-137.
- Bal, U., Abak, K., Buyukalaca, S., and Comlekcioglu, N., 2003. Development of callus colonies from the isolated microspore culture of *Capsicum annuum* L. Biotechnol. Biotec. Eq., 17(2): 37-43.
- Biner, B., Ercan, N., ve Akıllı, M., 2001. Biberde (*Capsicum annuum* L.) anter kültürü yoluyla haploid bitki eldesi üzerine farklı sıcaklık ve ışık

- uygulamalarının etkileri. GAP II. Tarım Kongresi, 24-26 Ekim 2001, Şanlıurfa, ss. 47-54.
- Boyacı, H.F., 2001. The effects of different culture media added activated charcoal on production of haploid plant via anther culture of pepper (*Capsicum annuum* L.) (K. Abak., S. Büyükalaca, Y. Daşgan editors). Proc. of the XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant, 9-13 April 2001, Antalya, Turkey, pp. 137-141.
- Buyukalaca, S., Comlekcioglu, N., Abak, K., Ekbic, E., and Kılıc, N., 2004. Effect of silver nitrate and donor plant growing conditions on production of pepper (*Capsicum annuum* L.) haploid embryos via anther culture. Europ. J. Hort. Sci., 69(5): 206-209.
- Chunling, L., 1992. Successful development of new (hot) pepper cultivars by anther culture. Asia-Pacific Conference on Agricultural Biotechnology (APAB), 20-24 August 1992, Beijing, China.
- Comlekcioglu, N., Buyukalaca, S., and Abak K., 2001. Effect of silver nitrate on haploid embryo induction by anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.) (K. Abak., S. Büyükalaca, Y. Daşgan editors). Proc. of the XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant, 9-13 April 2001, Antalya, Turkey, pp. 133-136.
- _____, and Ellialtıoglu, S., 2018. Review on the Research carried out on in vitro Androgenesis of Peppers (*Capsicum annuum* L.) in Turkey. Research Journal of Biotechnology, 13(6): 75-84.
- Çağlar, Ç., Aras, V., and Bayram, A., 2004. Kurutmalık kırmızı biberlerde androgenesis yoluyla *in vitro* haploid embriyo uyartımı. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 17(1): 87-94.
- Çömlekçioglu, N., Büyükalaca, S., ve Abak, K., 1999. Şanlıurfa ve Kahramanmaraş biber populasyonlarında anter kültürü yöntemiyle haploid bitki elde etme olanakları. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ankara, Türkiye, 14-17 Eylül 1999, ss. 897-901.

- Denli, N., 2019. Türler Arası Melezleme ile Biberde (*Capsicum annuum*) Genetik Tabanın Genişletilmesi ve Androgenesisin Kalıtımının Belirlenmesi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 170 s.
- Dumas De Vault, R., Chambonnet, D., and Sibi, M., 1981. Culture *in vitro* d'antheres de piment (*Capsicum annuum* L.): amelioration des taux d'obtention de plantes chez differents genotypes par de traitements a +35°C. Agronomie, 11: 859-864.
- Ellialtıoğlu, S., Kaplan F., and Abak, K., 2001. The effect of carrot extract and activated charcoal on the androgenesis of pepper (K. Abak., S. Büyükalaca, Y. Daşgan editors). Proc. of the XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant, 9-13 April 2001, Antalya, Turkey, pp. 142-145.
- Ercan, N., Boyacı, F., ve Ayar, F., 2001. Biberde (*Capsicum annuum* L.) anter kültürü yoluyla haploid bitki eldesi üzerine farklı besin ortamlarının etkisi. GAP II. Tarım Kongresi, 24-26 Ekim 2001, Şanlıurfa, 1: 121-128.
- _____, Ayar Sensoy, F., and Sensoy, A.S., 2006. Influence of growing season and donor plant age on anther culture response of some pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.). Sci. Hortic., 110: 16-20.
- _____, and Ayar Şensoy, F., 2011. Androgenic responses of different (*Capsicum annuum* L.) cultivars. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi, 4: 59-61.
- FAO, 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Gemesne Juhasz, A., Petus, M., Venzcel, H., Sági, Z.S., and Zatykó, L., 2001. Colchicine, an efficient genome doubling agent for anther derived haploid paprika (*Capsicum annuum* L.) plants (K. Abak., S. Büyükalaca, Y. Daşgan editors). Proc. of the XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant, 9-13 April 2001, Antalya, Turkey, pp. 146-151.
- George, L., and Narayanaswamy, S., 1973. Haploid *Capsicum* through experimental androgenesis. Protoplasma, 78: 467-470.

- Irikova, T., Grozeva, S., and Rodeva, V., 2011. Anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.) *in vitro*. Acta Physiol. Plant., 33: 1559-1570.
- Keleş, D., Pınar, H., Ata, A., Taşkın, H., Yıldız, S., and Büyükalaca, S., 2015. Effect of pepper types on obtaining spontaneous doubled haploid plants via anther culture. HortScience, 50(11): 1671-1676.
- Koleva-Gudeva, L.R., Spasenoski, M., and Trajkova, F., 2007. Somatic embryogenesis in pepper anther culture: The effect of incubation treatments and different media. Sci. Hortic., 111: 114-119.
- Kristiansen, K., and Andersen, B., 1993. Effect of donor plant temperature, photoperiod and age on anther culture response of *Capsicum annuum* L. Euphytica, 67: 105-109.
- Kuo, J.S., Wang, Y.Y., Chien, N.F., Ku, S.J., Kung, M.L., and Hsu, H.C., 1973. Investigations on the anther culture *in vitro* of *Nicotiana tabacum* L. and *Capsicum annuum* L. Acta Bot. Sin., 15: 47-52.
- Matsubara, S., Yamamoto, M., Jo, M.H., and Murakami, K., 1998. Embryoid and callus formation from microspor by anther culture from July to November in pepper (*Capsicum annuum* L.). Scientific Report of the Faculty of Agriculture, Okayama University, 87: 117-122.
- Mityko, J., Andrasfalvy, A., Csillery, G., and Fari, M., 1995. Anther culture response in different genotypes and F1 hybrids of pepper (*Capsicum annuum* L.). Plant Breeding, 114: 78-80.
- Morrison, R., Koning, R.E., and Evans, D.A., 1986. Anther culture of an interspecific hybrid of *Capsicum*. J. Plant Physiol., 126: 1-9.
- Murashige, T., and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant, 15: 473-497.
- Niklas-Nowak, A., Olszewska, D., Kisiala, A., and Nowaczyk, P., 2012. Study of individual plant responsiveness in anther cultures of selected pepper (*Capsicum* spp.) genotypes. Folia Horticulturae, 24(2): 141-146.

- Nitsch, J., and Nitsch, C., 1969. Haploid plants from pollen grains. *Science*, 163: 85-87.
- Novak, F.J., 1974. Induction of a haploid callus in anther cultures of *Capsicum* sp. *Zeitschrift Pflanzenzucht*, 72: 46-54.
- Olszewska, D., Kisiala, A., Niklas-Nowak, A., and Nowaczyk, P., 2014. Study of *in vitro* anther culture in selected genotypes of genus *Capsicum*. *Turk. J. Biol.*, 38: 118-124.
- Ozsan, T., and Onus, N., 2017. *In vitro* Pepper (*Capsicum annuum* L.) Anther Culture: Can be Affected Via Vitamins B?. *Biotechnology Journal International*, 20(1): 1-13.
- _____, and Onus, A.N., 2019. Does Glutamine Promote the Development of Pepper (*Capsicum annuum* L.) Anthers *in vitro*? *Journal of Scientific and Engineering Research*, 5(11): 228-236.
- Özkum Çiner, D., and Tıpırdamaz, R., 2002. The effects of cold treatment and charcoal on the *in vitro* androgenesis of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Turk. J. Bot.*, 26: 131-139.
- Özkum D., and Tıpırdamaz, R., 2011. Effects of L-proline and cold treatment on pepper (*Capsicum annuum* L.) anther culture (S. Gökçekus, U. Türker, J.W. LaMoreaux editors) *Survival and Sustainability, Environmental concerns in the 21st Century*, Springer, Berlin, pp. 137-143.
- Özkum D., Tıpırdamaz, R., and Ellialtıoğlu, S., 2001. The relationship between the endogenous abscisic acid content of anthers and *in vitro* androgenesis in peppers (*Capsicum annuum* L.). *Acta Hortic.*, 560: 327-329.
- Rajakaruna, R.H.M.S.V., Kumari, H.M.P.S., and Seran, T.H., 2018. Callus induction in anther culture of selected *Capsicum annuum* L. varieties. *Proceedings of the 3rd International Research Symposium on Pure and Applied Sciences*, 26 October 2018, Faculty of Science, University of Kelaniya, Sri Lanka, p. 19.

- Rodeva, V.N., Irikova, T.P., and Todorova, V.J., 2004. Anther culture of pepper (*Capsicum annuum* L.): Comparative study on effect of the genotype. Biotechnol. Biotec. Eq., 18(3): 34-38.
- Shimira, F., Keleş, D., Taşkın, H., and Abak, K., 2019a. The Assessment of Androgenic Response of Two Nematode Resistant Pepper (*Capsicum annuum* L.) Genotypes. Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 7(12): 2103-2110.
- _____, Yıldız, S., Baktemur, G., Keleş, D., Aydın, M.Z., Büyükalaca, S., and Taşkın, H., 2019b. Investigation of Androgenesis Capacity of Rwandan Pili-Pili Variety (*Capsicum chinense* L.) in Turkey. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi,
- Sibi, M., Dumas De Vault, R., and Chambonnet, D., 1979. Obtention de plantes haploides par androgenese *in vitro* chez le piment (*Capsicum annuum* L.). Ann Amelior Plantes, 29(5): 583-606.
- Taşkın, H., Büyükalaca, S., Keleş, D., and Ekbiç, E., 2011. Induction of microspore-derived embryos by anther culture in selected pepper genotypes. Afr. J. Biotechnol., 10: 17116-17121.
- Taşkın, H., 2005. Bazı biber genotiplerinde anter kültürü ile haploid embriyo uyarımında embriyo kalitesinin artırılmasına yönelik bazı uygulamalar. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 82 s.
- Terzioğlu, Ş., Ellialtıoğlu, Ş., ve Abak, K., 2000. İnkübasyon koşullarının biber anter kültüründe embriyo oluşumu üzerine etkisi. III. Sebze Tarımı Sempozyumu, 11-13 Eylül 2000, Isparta, Türkiye, ss. 233-238.
- TÜİK, 2018. Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr>.
- Vagera, J., and Havranek, P., 1985. *In vitro* induction of androgenesis in *Capsicum annuum* L. and its genetic aspects. Biol. Plantarum, 27(1): 10-21.
- Wang, Y.Y., Sun, C.S., Wang, C.C., and Chien, N.F., 1973. The induction of the pollen plantlets of tritcale and *Capsicum annuum* from anther culture. Sci. Sinica, 16(1): 147-151.

Zhao, J., Zou, X., Zhang, Z., Yang, B., and Zhou, S., 2010. Influences of carbon sources and plant growth regulators on anther culture efficiency of pepper. *Agricultural Science and Technology*, 11(4): 102-105.





ÖZGEÇMİŞ

1993 yılında Malatya’da doğdu. İlköğretim ve Lise öğrenimini tamamladıktan sonra, 2012 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Lisans eğitime başladı ve 2016 yılında mezun oldu. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN danışmanlığında yüksek lisans eğitime başladı.

