

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA ANTER VE İKİ FARKLI SHED-
MİKROSPOR KÜLTÜRÜNÜN KAPYA VE DOLMA TİPLERİNDE SAF HAT
ELDESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

M. Gökçe KANMAZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA ANTER VE İKİ FARKLI SHED-
MİKROSPOR KÜLTÜRÜNÜN KAPYA VE DOLMA TİPLERİNDE SAF HAT
ELDESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

M. Gökçe KANMAZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA ANTER VE İKİ FARKLI SHED-
MİKROSPOR KÜLTÜRÜNÜN KAPYA VE DOLMA TİPLERİNDE SAF HAT
ELDESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

M. Gökçe KANMAZ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 07/07/2021 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / ~~Oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. A. Naci ONUS (Danışman)

Prof. Dr. Ersin POLAT

Doç. Dr. Halime ÜNLÜ

ÖZET

BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA ANTER VE İKİ FARKLI SHED-MİKROSPOR KÜLTÜRÜNÜN KAPYA VE DOLMA TİPLERİNDE SAF HAT ELDESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

M. Gökçe KANMAZ

Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Temmuz 2021; 50 sayfa

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak sonbahar ve ilkbahar aylarında sera yetiştiriciliğine uygun dolma ve kopya biber tipine ait 2 farklı genotip seçilmiştir. Çalışmada dolma biber tipinden Doğanay F₁ ve Tesla F₁, kopya biber tipinden ise Serenad F₁ ve Demrisa F₁ kullanılmıştır.

Çalışmada 3 farklı ortam hazırlanmıştır. Anter kültürü için P1, mikrospor kültürleri için ise P2 ve P3 besi ortamları kullanılmış olup, bu temel besi ortamlarına anter kültürü ortamı olan P1 ortamı için; 4mg/l NAA, 0,5 mg/l BAP, % 0,25 aktif kömür, 30 g/l süktroz ve 15 mg/l AgNO₃ kombinasyonları ilave edilirken, mikrospor kültürlerinden P2 ortamı için; 2,5 µm/l Zeatin, 5 µm/l IAA + 20 g/l maltoz IAA, 20 g/l maltoz ve %1 aktif kömür, P3 ortamı için ise; 0,1 mg/l Kinetin, 0,004 mg/l 2,4-D, 30 g/l süktroz ve %0,5 aktif kömür kombinasyonları eklenen besi ortamlarına kullanılmıştır.

Çalışmanın anter kültürü kısmında P1 ortamı için kültüre alınan anterler, karanlıkta 2 gün +35°C’de inkübasyona tabii tutulmuştur. Karanlık inkübasyonuna tabii tutulan petriler daha sonra 16 saat ışık / 8 saat karanlık olan ışık periyodu, 25°C sıcaklık, ortalama 3000 lux ışık şiddetine sahip iklim odalarında embriyo oluşuncaya kadar bekletilmiştir. Mikrospor kültürlerinden P2 ortamı için kültüre alınan anterler, +4°C’de 7 gün karanlığa tabii tutulmuştur. Daha sonra embriyo oluşuncaya dek 28°C’de karanlıkta bekletilmiştir. P3 ortamında kültüre alınmış anterler ise, 2 gün +35°C’de inkübasyona tabii tutulmuştur. Daha sonra embriyo oluşuncaya dek 28°C’de karanlıkta bekletilmiştir.

Yapılan bu çalışma sonucu, kopya ve dolma biber tiplerinde haploid embriyo ve haploid bitki oluşumunda anter kültürü yönteminin shed mikrospor yöntemine göre daha başarılı olduğu saptanmıştır. Anter kültürü ve shed mikrospor kültürlerinde kopya biber tipi dolma biber tipine göre en iyi tepkiyi veren biber tipi olmuştur. Çalışılan çeşitler arasında anter kültürüne gösterdikleri tepki bakımından P1 ortamında ilk embriyo gözlemi Serenad F₁ çeşidinde % 0,5 oranında gözlenmiştir. Mikrospor kültürlerine ait P2 ve P3 ortamlarında yapılan değerlendirmelere göre ise P3 ortamından kopya biber tipinden toplam 7 embriyo elde edilmiş, bu embriyolardan sadece Demrisa F₁ çeşidinden 2 tanesi haploid bitkiye dönüşmüştür. Dolma biber tipinden Doğanay F₁

çeşidi ise P2 ortamında olduğu gibi shed mikrospor kültürüne hem haploid embriyo hem haploid bitki eldesine olumlu yanıt vermemiştir. Bu sonuçlar neticesinde ise P2 ve P3 ortamında kullanılan hormonların ve ön ön uygulamanın önemli olduğu saptanmıştır. Yapılan bu çalışma sonucu, kapy ve dolma biber tiplerinde haploid embriyo ve haploid bitki oluşumunda anter kültürü yönteminin shed mikrospor yöntemine göre daha başarılı olduğu saptanmıştır. Anter kültürü ve shed mikrospor kültürlerinde kapy biber tipi dolma biber tipine göre en iyi tepkiyi veren biber tipi olmuştur.

ANAHTAR KELİMELEER: Anter kültürü, Biber, *Capsicum annuum* L., Çift katmanlı besi ortamı, Doku kültürü, Embriyo, Haploid bitki, Mikrospor kültürü, Shed mikrospor

JÜRİ: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Ersin POLAT

Doç. Dr. Halime ÜNLÜ

ABSTRACT

THE EFFECTS OF ANTER AND TWO DIFFERENT SHED-MICROSPORTS CULTURES IN PEPPER (*Capsicum annuum* L.) BREEDING ON THE PURE LINE ACHIEVEMENT IN CAPIA PEPPER AND BELL PEPPER

M. Gökçe KANMAZ

MSc Thesis in Agricultural Engineering

Supervisor: Prof. Dr. A. Naci ONUS

July 2021; 50 pages

The pepper (*Capsicum annuum* L.) which has *solanaceae* family is very important vegetable in our country because of high adaption ability, advantages about economic and growing fields. Agriculture fields low because of population growth will be serious trouble. The goal is for need food, is produced high product from unit area because of with low agricultural fields. In this reason, the studies about plant breeding and tissue culture was so important in recent years. This vegetable group which valuable economy be important issue with developments new varieties about resistance of disease and pestisit, high quality and yield. In this reasons, using classical breeding methods because of goal gain new varieties to our producer, consumer and country. In recent years, biotechnology methods was gain so signifance because of studies about classical breeding methods be long years, high cost and seed produce be difficult stage. The plant tissue culture which between biotechnology methods and very be popular in recent year prefer for using of breeding new varieties, healthy and short produce to commercial varieties and new varieties. The haploid plant which inside tissue culture is so important techniques and is take turn to studies about plant breeding.

In this study, was choiced two different genotypes which bell pepper and capia pepper suitable for green house in autumn and spring seasons. Used bell pepper genotypes Doğanay F₁ and Tesla F₁, capia pepper genotypes Serenad F₁ and Demrisa F₁.

In this study, prepared 3 different medias. Used for anther culture basic media was P1 and microspore cultures basic media P2 and P3. In this study, prepared 3 different medias. Used for anther culture basic media was P1 and microspore cultures basic media P2 and P3. In this study, for P1 basic media 4 mg/l NAA, 0,5 mg/l BAP, % 0,25 activated carbon, 30 g/l sucrose and 15 mg/l AgNO₃, for P2 basic media 2,5 µm/l Zeatin, 5 µm/l IAA + 20 g/l maltose and %1 activated carbon and P3 basic media and for P3 basic media 0,1 mg/l Kinetin, 0,004 mg/l 2,4-D, 30 g/l sucrose and % 0,5 activated carbon was used for microspore cultures.

At anther culture of study in P1, anthers were subjected to heat pretreatment during for 2 days at +35°C temperature. Petri dishes belong to anther culture were transferred to growth chamber having 25°C, 16 h light / 8 h dark photoperiod and 3000

lux illumination. At microspore culture of study in P2, anthers were subjected to heat pretreatment during for 4 days at +4°C temperature. It has been then kept in the dark at 28°C until embryo formation. At microspore culture of study in P3, anthers were subjected to heat pretreatment during for 2 days at +35°C temperature. It has been then kept in the dark at 28°C until embryo formation.

At anther culture of study in P1, anthers were subjected to heat pretreatment during for 2 days at +35°C temperature. Petri dishes belong to anther culture were transferred to growth chamber having 25°C, 16 h light / 8 h dark photoperiod and 3000 lux illumination. At microspore culture of study in P2, anthers were subjected to heat pretreatment during for 4 days at +4°C temperature. It has been then kept in the dark at 28°C until embryo formation. At microspore culture of study in P3, anthers were subjected to heat pretreatment during for 2 days at +35°C temperature. It has been then kept in the dark at 28°C until embryo formation.

As a result of the study, shed microspore culture is more successful than anther culture for be haploid embryo and haploid plant in bell pepper and capia pepper. Capia pepper was the best to answer than bell pepper in anther culture and microspore culture. In terms of their response to anther culture among the studied cultivars, the first embryo observation in P1 medium was observed at a rate of % 0.5 in Serenad F₁ cultivar. According to the evaluations made in P2 and P3 media of microspore cultures, a total of 7 embryos of capia pepper type were obtained from P3 media. Doğanay F₁ variety from the stuffed pepper type did not respond positively to both haploid embryo and haploid plant production in shed microspore culture as in P2 medium. As a result of these results, it was determined that the hormones used in the P2 and P3 environments and the pre-application were important. As a result of this study, it was determined that the anther culture method was more successful than the shed microspore method in the formation of haploid embryos and haploid plants in capia and bell pepper types. In anther culture and shed microspore cultures, capia pepper type was the pepper type that gave the best response compared to the stuffed pepper type.

KEYWORDS: Anther culture, *Capsicum annuum* L., Double layer culture media, Embryo, Haploid plant, Microspore culture, Pepper, Shed microspore, Tissue culture

COMMITTEE: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Ersin POLAT

Assoc. Prof. Dr. Halime ÜNLÜ

ÖNSÖZ

Solanaceae familyasına ait hem ülkemiz hem dünyada önemli bir ekonomik değere sahip olan biber (*Capsicum annuum* L.) bitkisi en önemli sebze grupları arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Bulunduğumuz bölgede hem açıkta hem de sera koşullarında yetiştiriciliği uygundur. Bu yapılan çalışmada sebze gruplarında önemli bir yere ait olan biber bitkisi ile bitki ıslahı alanında son zamanlarda popüler olan doku kültürü yöntemine yönelik bir çalışma gerçekleştirdik.

Bu çalışmada ve akademik hayatımın her döneminde bana desteğini ve emeğini hiç esirgemeyen, çalışma konumu belirleyip yardımlarını esirgemeyen, her süreçte yanımda olan, kendim olmamı sağlayan, yol göstericim, mesleki hayatımda bulunduğum noktaya gelmemde yardımcı olan, hem danışman hocam hem de aile sevgisini bana gösteren kıymetli hocam Prof. Dr. A. Naci Onus'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Bu çalışma süresince benimle ilgilenen, yoğunluğunun her sürecinde bana zaman ayıran, bilgisini ve tecrübesini bana aktaran, kısa bir zamanda olsa hayatıma kazandırdığım, benim için çok değerli olan Uzm. Biyolog Özgecan TANYOLAÇ'a göstermiş olduğu tüm içtenlik ve yardımları için sonsuz teşekkür ederim.

Bu süreçte elinden gelen her şeyi büyük özveri ve sabırla yapıp, mesleğimde beni hep başarıya teşvik eden, hayattaki bu yolu sayesinde güvenle yürüyebildiğim en iyi yol arkadaşım Batuhan BAL'a ve desteğini her yerde hep hissettiren, her anımda hep yanımda olan dostum, çocukluk arkadaşım Gülçin AKBAŞ ŞAŞIOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Beni her zaman destekleyen, beni motive eden, okul hayatımda ve iş hayatımda da hiç ayrılmadığım hep birlikte olduğum canım arkadaşım Ziraat Yük. Müh. Ayşenur GÜLYÜZ'e hayatımda bana hep güzellikler sunarak desteğini hiç esirgemediği için sonsuz teşekkür ederim.

Lisans eğitimim boyunca, bilgi ve tecrübelerini paylaşmayı esirgemeyen, onunla birlikte çalışmaktan büyük bir keyif aldığım, öğrendiğim her şeyi kendisine borçlu olduğum Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü öğretim üyesi hocam Dr. Tuğçe ÖZSAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Son olarak beni yetiştiren, her durumda benim arkamda duran, koşulsuz sevgiyi, güveni bulduğum, bu günlerde olmamı sağlayan, her zorlukta yanımda bulduğum, her doğrumda beni ilk alkışlayıp takdir eden, mesleğimde ve her anımda benden maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen, tüm sabır ve özveriyle hala daha bana katkı sağlayan annem Neşe KANMAZ'a, babam İbrahim KANMAZ'a ve kardeşim Gökberk KANMAZ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
AKADEMİK BEYAN.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	10
2.1. Anter Kültürü İle İlgili Kaynak Taramaları.....	11
2.2. Shed Mikrospor Kültürü Tekniği İle İlgili Kaynak Taramaları.....	17
3. MATERYAL VE METOT.....	19
3.1. Materyal.....	19
3.1.1. Bitkisel materyal.....	19
3.1.2. Araştırmada kullanılan biber çeşitlerinin özellikleri	19
3.2. Metot.....	19
3.2.1. Donör bitkilerin yetiştirme koşulları.....	19
3.2.2. Genel laboratuvar ekipmanları ve sterilizasyon işlemleri.....	20
3.2.3. Uygun anterlerin seçimi ve tomurcuk alınma evresi.....	23
3.2.4. Anter ve shed mikrospor kültüründe kullanılacak tomurcuk- ların sterilizasyonu.....	24
3.2.5. Besi ortamları, anterlerin tomurcuktan uzaklaştırılması, anterlerin kültüre alınması, inkübasyon koşulları	24
3.2.6. Embriyo ortamı.....	30
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	31
4.1. Tohum Çimlenme Yüzdesi Sonuçları.....	31
4.2. P1 Anter Kültürü Ortamından Elde Edilen Sonuçlar.....	32
4.3. P2 Shed Mikrospor Kültürü Ortamından Elde Edilen Sonuçlar.....	36
4.4. P3 Shed Mikrospor Kültürü Ortamından Elde Edilen Sonuçlar.....	37

5. SONUÇLAR.....	41
6. KAYNAKLAR.....	42
7. EKLER.....	46
EK-1. a) Kotiledon aşamasına sahip embriyodan bir görüntü, b) Tüpe aktarılmış olan embriyodan bir görüntü.....	46
EK-2. Tüpe aktarılmış olan embriyodan bir görüntü.....	47
EK-3. Sera ortamına adaptasyonu sağlanmış olan bitkilerden bir görüntü.....	48
EK-4. Sera ortamına adaptasyonu sağlanmış kapya biber bitkisine ait görüntü.....	49
EK-5. Sera ortamına adaptasyonu sağlanmış dolma biber bitkisine ait görüntü.....	50

ÖZGEÇMİŞ

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Biber (*Capsicum annuum* L.) Islahında Anter Ve İki Farklı Shed-Mikrospor Kültürünün Kopya Ve Dolma Tiplerinde Saf Hat Eldesi Üzerine Etkileri” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

07.07.2021

M. Gökçe KANMAZ

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	: Santigrat derece
cm	: Santimetre
cm ²	: Santimetrekare
g	: Gram
kg	: Kilogram
l	: Litre
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
μM	: Mikromolar
μm	: Mikrometre
%	: Yüzde

Kısaltmalar

2,4-D	: 2,4 Diklorafenoksiasetik Asit
AgNO ₃	: Gümüş nitrat
BA	: Benzil adenin
BAP	: Benzil amino pürin
CaCl ₂ .2H ₂ O	: Kalsiyum klorür dihidrat
CoCl ₂ .6H ₂ O	: Kobalt(II) klorür hekzahidrat
CuSO ₄ .5H ₂ O	: Bakır(II) sülfat pentahidrat
DAPI	: 4,6-diamidino-2-phenylindole
da	: Dekar

F1	: First Filial Generation
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
FeSO ₄ .7H ₂ O	: Demir sülfat
H ₃ BO ₃	: Borik asit
HCL	: Hidrojen Klorür
IAA	: İndol asetik asit
KH ₂ PO ₄	: Mono potasyum fosfat
KOH	: Potasyum hidroksit
KI	: Potasyum iyodür
KNO ₃	: Potastum nitrat
M	: Molar
MgSO ₄ .7H ₂ O	: Magnezyum sülfat heptahidrat
MnSO ₄ .H ₂ O	: Mangan(II) sülfat monohidrat
MS	: Murashige & Skoog besin ortamı (1962)
MÖ	: Milattan önce
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	: Sodyum molibdat dihidrat
NAA	: Naftalen asetik asit
Na ₂ EDTA	: Sodyum EDTA
NaOCL	: Sodyum hipoklorid
NH ₄ NO ₃	: Amonyum nitrat
TUIK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UV	: Ultraviyole (Morötesi)
yy	: Yüzyıl
ZnSO ₄ .7H ₂ O	: Çinko sülfat heptahidrat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Ülkemizde yıllara göre biber üretim miktarları (ton) (Anonim 2).....	3
Şekil 1.2. Son 5 yıla ait dünya biber üretimi (ton) (Anonymous 1).....	3
Şekil 1.3. Ülkemize ait 2020 biber üretim miktarı (ton) (Anonim 3).....	4
Şekil 1.4. Anter kültürü tekniği aşamaları (Anonymous 2).....	7
Şekil 3.1. Sterilizasyon işlemlerinin gerçekleştiği otoklav.....	21
Şekil 3.2. PH metreden bir görüntü.....	21
Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan hassas terazilerden bir görüntü.....	22
Şekil 3.4. Mikrospor aşaması belirlemede kullanılan mikroskop.....	22
Şekil 3.5. Pens ve bistürü sterilizasyon için kullanılan cam boncuk sterilizatörü.....	23
Şekil 3.6. Morfolojik olarak uygun anter aşaması.....	24
Şekil 3.7. Anterlerin tomurcuklardan uzaklaştırılma işlemi.....	25
Şekil 3.8. Anter kültürü çalışmasında kullanılan inkubatör.....	26
Şekil 3.9. Anterlerin besi ortamlarına aktarıldıktan sonra iklim odalarında bekletilme aşaması.....	28
Şekil 4.1. P1 ortamına ait kopya biber tipinde petri başına embriyo sayısı (adet)	34
Şekil 4.2. P1 ortamına ait kopya biber tipinde petri başına haploid bitki sayısı (adet).....	35
Şekil 4.3. P1 ortamına ait dolma biber tipinde petri başına embriyo sayısı (adet).....	35
Şekil 4.4. P1 ortamına ait dolma biber tipinde petri başına haploid bitki sayısı (adet).....	36
Şekil 4.5. P3 ortamına ait kopya biber tipinde petri başına embriyo sayısı (adet).....	39
Şekil 4.6. P3 ortamına ait kopya biber tipinde petri başına haploid bitki sayısı (adet).....	39
Şekil 4.7. P3 ortamına ait dolma biber tipinde petri başına embriyo sayısı (adet).....	40

Şekil 4.8. P3 ortamına ait dolma biber tipinde petri başına haploid bitki sayısı (adet).....	40
---	----



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Biber (<i>Capsicum annuum</i> L.) taksonomisi.....	1
Çizelge 1.2. Türkiye’de 2010- 2019 yılların arası biber toplam biber üretim alanları (da) (Anonim 4).....	4
Çizelge 1.3. Türkiye’de 2015- 2019 yılları arası örtüaltı dolma biber ve salçalık kopya biber üretim miktarları (ton) (Anonim 5).....	5
Çizelge 3.1. Donör bitkilerin kültüre alma işlemleri ve denemelerin kurulma tarihleri.....	20
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılmış olan besi ortamları.....	24
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılmış olan P1 ortamının bileşimi.....	26
Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılmış olan P2 ortamının bileşimi.....	28
Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılmış olan P3 ortamının bileşimi.....	29
Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılmış çeşitlerin fide miktarları ve çimlenme yüzdesi.....	31
Çizelge 4.2. Donör bitkilerin çimlenme yüzdeleri.....	32
Çizelge 4.3. P1 ortamına ait sonuçlar.....	33
Çizelge 4.4. P1 ortamına ait kopya ve dolma çeşitlerinde petri başına embriyo sayısı (adet).....	33
Çizelge 4.5. P1 ortamına ait kopya ve dolma çeşitlerinde petri başına haploid bitki sayısı (adet)	34
Çizelge 4.6. P2 ortamına ait sonuçlar.....	36
Çizelge 4.7. P3 ortamına ait sonuçlar.....	37
Çizelge 4.8. P3 ortamına ait farklı biber tiplerinde petri başına embriyo sayısı (adet).....	38
Çizelge 4.9. P3 ortamına ait kopya biber tipinde petri başına haploid bitki sayısı (adet).....	38

1. GİRİŞ

Son yıllarda dünya nüfusunun artması sebebiyle, gıdaya yönelik talebin de arttığı görülmektedir. Özellikle *Solanaceae* familyasına ait domates, biber, patlıcan ve patates türlerinde Türkiye ve dünya üretiminde önde gelen önemli sebzeler arasında yer almaktadırlar. *Solanaceae* familyası özellikle Avusturalya, Orta ve Güney Amerika'da yayılış göstermektedir. *Solanaceae* familyasının genel özellikleri;

- Yaprakları basit ve parçalı yapıdadır
- Çiçekleri genellikle erselik özellik göstermektedir.
- Karpelleri birleşiktir ve ovaryum üst durumludur.
- Korolla ve kaliks 5 üyeli, stamen sayısı 5 ve korollaya yapışık haldedir.
- 102 cins ve 2.480 türü bulunmaktadır.
- Önemli sebze türlerini bulundurmakla birlikte aynı zamanda, bazı süs bitkilerini ve bazı otlar da bu familyada yer almaktadır.

Solanaceae familyasında bulunan biber (*Capsicum annuum* L.) bitkisi *Capsicum* cinsinde yer almaktadır. *Capsicum* cinsine ait yaklaşık 30 tür bulunmaktadır (Greenleaf 1986). Bu türlerden 5 tanesi ticari olarak üretimi yapılanlardır : *C. baccatum* L., *C. chinense* Jacq., *C. annuum* L., *C. frutescens* L. ve *C. pubescens* Ruiz & Pav. Bu türler arasında en yaygın olarak yetiştirilen ve ekonomik anlamda önemli olanı *Capsicum annuum* L.'dir. Hastalık etmenleri ve zararlılara karşı dayanıklılık genlerini bulundurması sebebiyle diğer türlerden önemli olduğu söylenmektedir (Pernezny et al. 2003) *Solanaceae* familyasında yer alan biber (*Capsicum annuum* L.), anavatanı Orta ve Güney Amerika olup günümüzde dünya çapında yetiştiriciliği yapılan, en önemli sebze türleri içerisinde yer almaktadır. (Pickersgill 1997).

Capsicum ismi, Latin kökenli olup Yunancada acı ve yakıcı anlamına gelen 'Kapto'dan geldiği bilinmektedir. Arkeologlar; yabani olan biberin MÖ 7000'de doğada toplanıp tüketildiğini ve büyük olasılıkla MÖ 5.200- 3.400 yılları arasında Amerika'daki yerlilerin kültüre aldığını bildirmişlerdir. Amerika'yı keşfeden Kristof Kolomb'un gemisiyle birlikte Avrupa'ya getirilmiştir. *Capsicum*, Kolomb vasıtasıyla İspanya'ya götürülerek, orta ve güney Avrupa'da 15.yy'ın ortalarına doğru medikal ve baharat amaçlı olarak yetiştirilip kullanılmaya başlanmıştır. (Basu ve De 2003; Muchena 2009)

Biberin anavatanı tropik Amerika olarak bilinir ancak günümüzde her yerde üretilmektedir. Biberin taksonomisi;

Çizelge 1.1. Biber (*Capsicum annuum* L.) taksonomisi

Alem	<i>Plantea</i>
Bölüm	<i>Magnoliophyta</i>
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i>
Takım	<i>Solanales</i>

Çizelge 1.1'in devamı

Familya	<i>Solanaceae</i>
Cins	<i>Capsicum</i>

Biber $2n = 24$ kromozom yapısına sahip bir bitkidir. Kazık kök yapısına sahip olan biber, toprağın yapısına ve sulamaya bağlı olarak yaklaşık olarak 10-15 cm derinliklere kadar inebilir.

Gövdesi, ilk zamanlarda otsu yapıdadır. Daha sonra bitkinin büyümesine bağlı olarak gevrek ve kısmen odunsu yapı haline gelmektedir. Gövde yüzeyi parlaktır ve üzerinde tüylenme görünmez.

Biber bitkisinde yaprak yapısı ve şekli, bitkinin çeşidine ve meyve şekline bağlı olarak farklılık göstermektedir. Meydana gelen bu farklılıklar:

- Sivri biberde yapraklar genellikle küçük, uzun ve oval,
- Dolma biberde yuvarlak, oval ve yaprak daha büyük ve uçları sivri,
- Süs biberlerde yapraklar küçük,
- Genel olarak ise biberde yaprak sapları ince olup, yapraklar hafif oluklu yapıdadır.

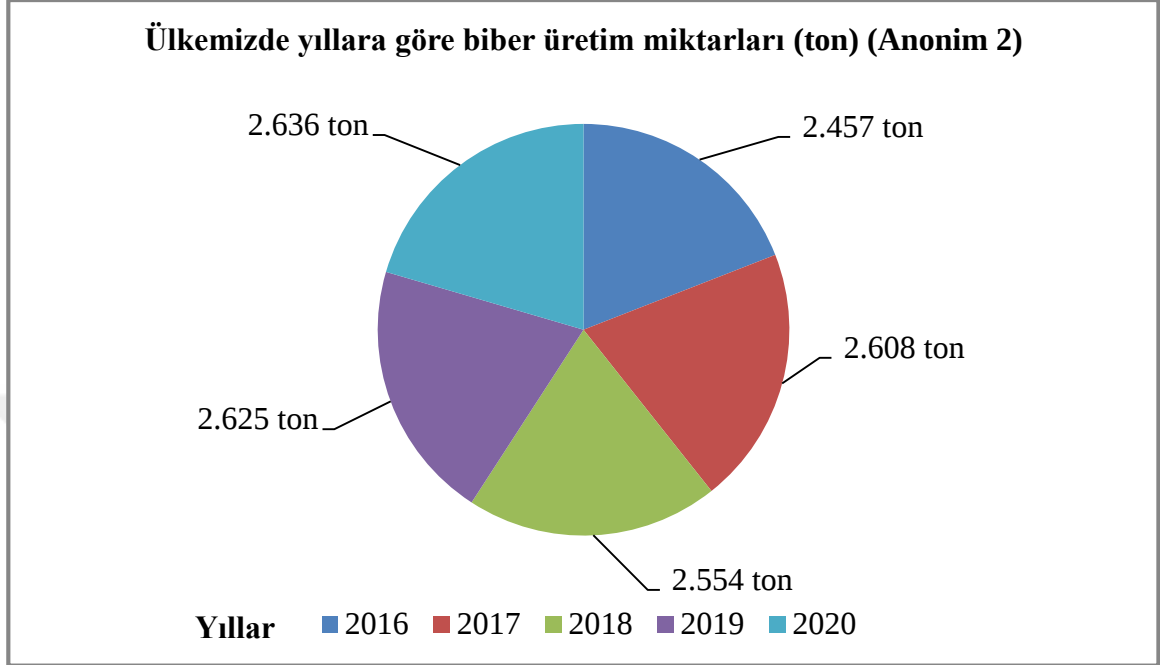
Biber'de çiçek yaprak koltuklarında ve dal koltuklarında tek veya salkım halinde 2-3 çiçek bir arada olacak şekilde bulunmaktadır. Çiçekler erselik yapıdadır, düz ve kıvrık bir şekilde gövde üzerinde yer alır. 5 adet taç yaprak, 5 adet çanak yaprak, dişi organ etrafında 5 adet erkek organ ve 2-5 karpelli dişi organ bulunur.

Biber'de meyveler renk, şekil, kabuk kalınlığı, et kalınlığı ve lezzet bakımından farklılıklar göstermektedir. Meyve şekline göre biber tiperi;

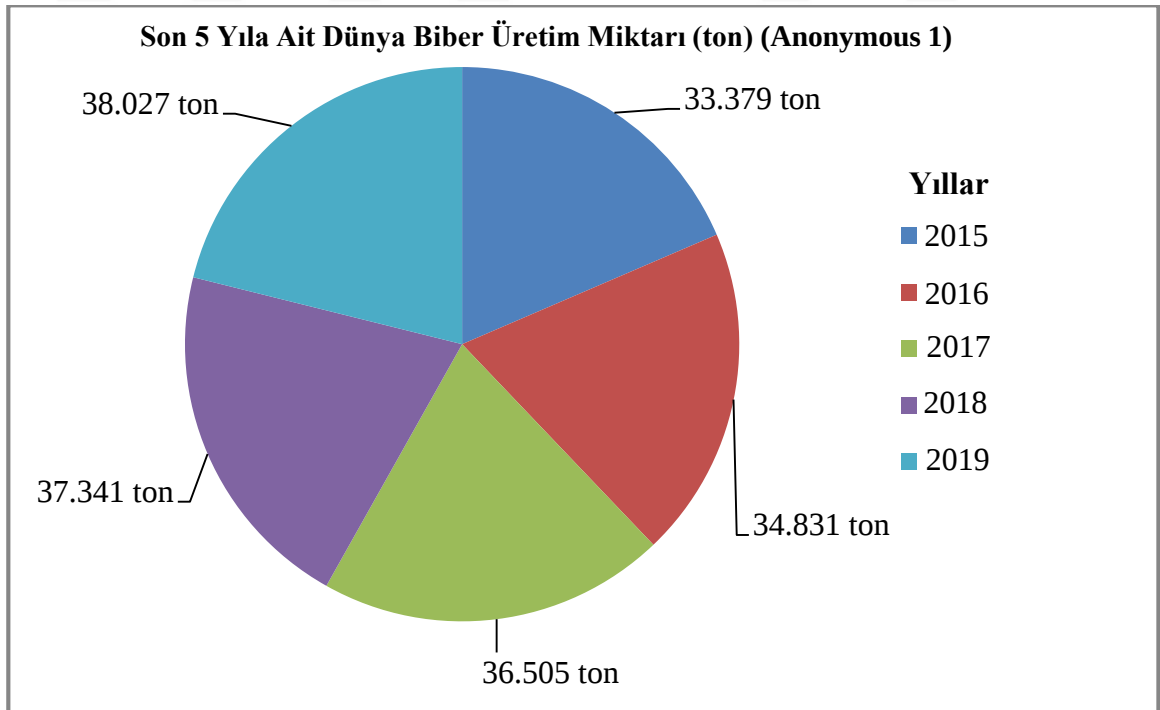
- Sivri biberler
- Charleston biberler
- İri kırmızı biberler
- Dolmalık biberler
- Konik biberler
- Kırmızı domates biberler olarak gruplandırılmaktadır.

Ancak biber sıcak iklim sebzesi olmasından dolayı yetiştiricilik döneminde sıcaklık 5°C 'nin altına düştüğünde gelişim yavaşlamakta, 0°C 'nin altına düştüğünde de ölüm gerçekleşmektedir. Biber için optimum yetiştiricilik değeri $15^{\circ}\text{C} - 32^{\circ}\text{C}$ aralığıdır. Sağlığımız açısından önemli bir yere sahip ve aynı zamanda besin değeri oldukça yüksek olan sebze grubuna ait biber, özellikle C vitamini (103 mg/100 g) açısından zengin olarak bilinmektedir (Anonim 1). Vitamin yönünden zenginliğinin yanı sıra, magnezyum, sodyum, demir, fosfor, kalsiyum, çinko, bakır gibi maddeler yönünden de oldukça zengindir (Rubio ve ark. 2002). Aynı zamanda biberde acılığın ana maddesi olan kapsaisinin bulunması sağlık üzerine etkisi oldukça fazladır.

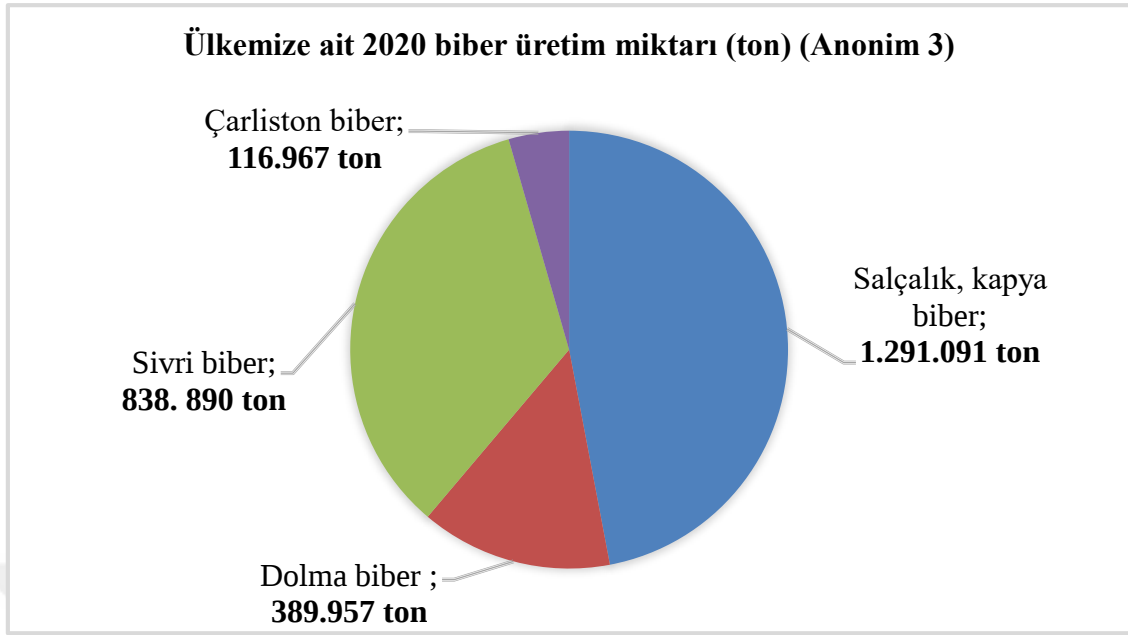
Biberde var olan kapsaisinoidler, insanlarda özellikle birçok aktiviteye sebep olmaktadır. Kapsaisinoidlerin tümör önleyici, ağrı kesici, çok güçlü antioksidan olduğu bilinmektedir. Ağrıya karşı ise analjezik etkileri vardır. Aynı zamanda solunum ve kalp – damar sistemini uyarmaktadırlar. (Muchena 2009).



Şekil 1.1. Ülkemizde yıllara göre biber üretim miktarları (ton) (Anonim 2)



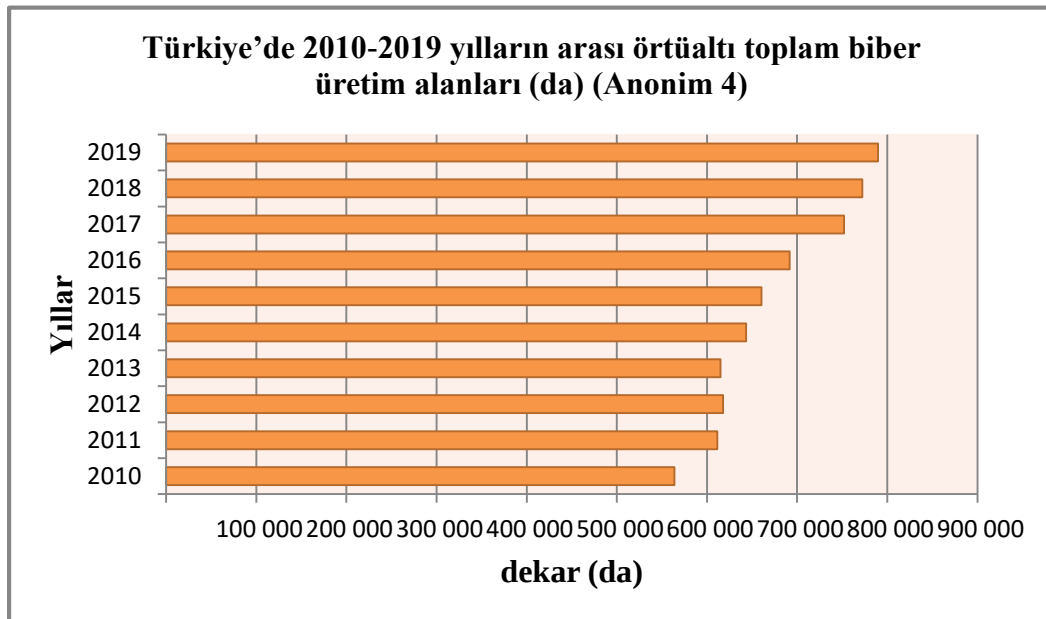
Şekil 1.2. Son 5 yıla ait dünya biber üretimi (ton) (Anonymous 1)



Şekil 1.3. Ülkemize ait 2020 yılı verilerine göre biber üretim miktarı (ton) (Anonim 3)

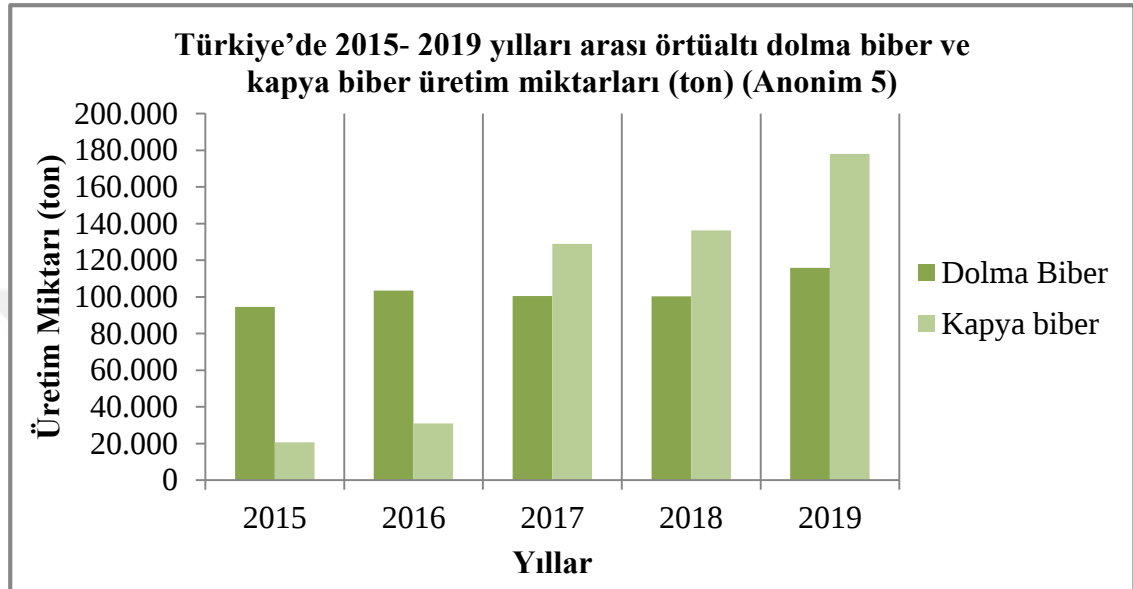
Yukarıdaki Şekil 1.1 ve Şekil 1.2'ye ait şemada son 5 yıla ait ülkemizin ve dünyadaki toplam biber üretim miktarları verilmiştir (Anonymous 1 ve Anonim 3). *Solanaceae* familyasının önemli bir sebzesi olan biberin üretim miktarının hem ülkemizde hem de dünyada yıllara göre arttığı görülmektedir. Şekil 1.3'e ait şemada ülkemize ait 2020 TUIK verilerine göre biber üretim miktarı gösterilmektedir. Son 5 yıla ait biber üretim miktarının artmakta olduğunu ve üretim miktarı bakımından gruplandırıldığında ise salçalık kapyra biber ilk sırada yer alırken, bunu sırasıyla sivri biber, dolma biber ve çarliston biber takip etmektedir (Anonim 1).

Çizelge 1.2. Türkiye'de 2010-2019 yılların arası örtüaltı toplam biber üretim alanları (da) (Anonim 4)



Yukarıdaki şekilde ise ülkemize ait yapılan tarım üretimin önemli bir parçası haline gelen örtüaltı üretim alanları verilmiştir. TUIK 2019 verilerinde; yıllara göre tabloya baktığımızda biber üretiminde nitelikli olarak gruplandırılan örtüaltı tarım alanlarının arttığı görülmektedir (Anonim 4).

Çizelge 1.3. Türkiye’de 2015- 2019 yılları arası örtüaltı dolma biber ve kapy biber üretim miktarları (ton) (Anonim 5)



Bu çalışmada biber ıslahında ülkemizde ekonomik değeri yüksek olan sebze grupları içerisinde yer alan dolma biber ve kapy biberin son 5 yıla ait örtüaltı üretim miktarları yukarıdaki tabloda verilmiştir. 2019 TUIK verilerine göre, ülkemizin tarımsal potansiyeli ve örtüaltı üretiminin de önemi göz önüne alındığında verilen grafiğe göre her geçen yıl dolma biber ve salçalık kapy biber üretiminde yıllara göre doğrusal bir artış gözlenmiştir (Anonim 5).

Sera veya açık tarla olmak üzere iki farklı yetiştiriciliği söz konusu olan dolma biberler; serada yetiştiriciliği söz konusu olduğunda soğukta takoz yapmayan düzgün şekilli meyveler tercih edilir. Dolma biberin genel özellikleri ise; etli (kalın duvarlı) yapıya sahip ve iri meyvelidir. Dolma biberler de kendi içlerinde Blocky (kare) tip, yarı lamuyo tip ve lamuyo tip olarak gruplandırılmaktadır. Bu grup biberler ihraç amaçlı yetiştirilmekle birlikte büyük marketlere ve otellere de satışları yapılmaktadır (Aybak 2007).

Uzun konik yapıya sahip, kırmızı renkli, etli ve tatlı olan kapy biber [*Capsicum annuum* L. var. *Conoides* (Mill.) Irish], ülkemizde “yağlık”, “taze” ve “salçalık” tüketim şekli olarak ülkemizde uzun senelerdir kullanılmaktadır. (Akgün 2010; Demirel ve ark. 2012). Taze ve kurutulmuş olarak sofralarımıza gelen kapy biberi, aynı zamanda biber suyu, dondurulmuş ürünler, konserve, sos ve kızartma şeklinde de gıda sanayisinde önemli bir yere sahiptir. Ayrıca sağlık alanında antibiyotik hammaddesi, boya yapımı ve yem maddesinde kullanıldığı bilinmektedir (Hekimoğlu ve Altındağ 2009; Akgün 2010). Kullanım yönünden çok zengin olan biber bitkisinin günümüzde

ıslah çalışmaları yapılarak halen daha iyileştirilmesi söz konusudur. Islah çalışmalarının özünde saf hat eldesi bulunmaktadır. Yeni çeşit üzerine çalışmalar yapılarak geliştirilmesi sürdürülmektedir. Klasik yolla saf hat eldesi oldukça uzun zaman, işçilik ve diğer üretim girdileri ile birlikte masraf gerektirmektedir. Buna karşılık haploidi yöntemi ile oldukça kısa bir sürede %100 homozigot saf hatların elde edilmesi mümkündür. Bu durum sadece masrafların ve sürelerin kısaltılması üzerine değil ıslah çalışmaları yapan kurum ve kuruluşların rekabetçi güçlerine de olumlu etki yapmaktadır.

Hücrelerinde tek kromozom grubuna sahip olan bitkilere haploid bitki denir. Haploid bitkiler; doğada kendiliğinden meydana geldiği gibi aynı zamanda bazı teknik uygulamalar ile de meydana gelmektedir. Kendiliğinden doğada meydana gelen haploid bitkilerin var olma oranı oldukça azdır (%0,1-0,001) ve ıslah anlamında da önemli bir yeri yoktur (Ellialtıoğlu ve ark. 2000). Haploid bitkilerde somatik hücreler ile üreme hücrelerindeki kromozom sayıları eşittir. Doku kültüründe yer alan haploid yolla bitki üretim metodu bitki ıslahında önemli bir konumdadır. (Andrews 1985). Haploid yolla bitki üretimi 3 temel başlık altında toplanmaktadır;

1) Dişi gametten haploid uyartımı

2) Eksik veya yetersiz polenle tozlama

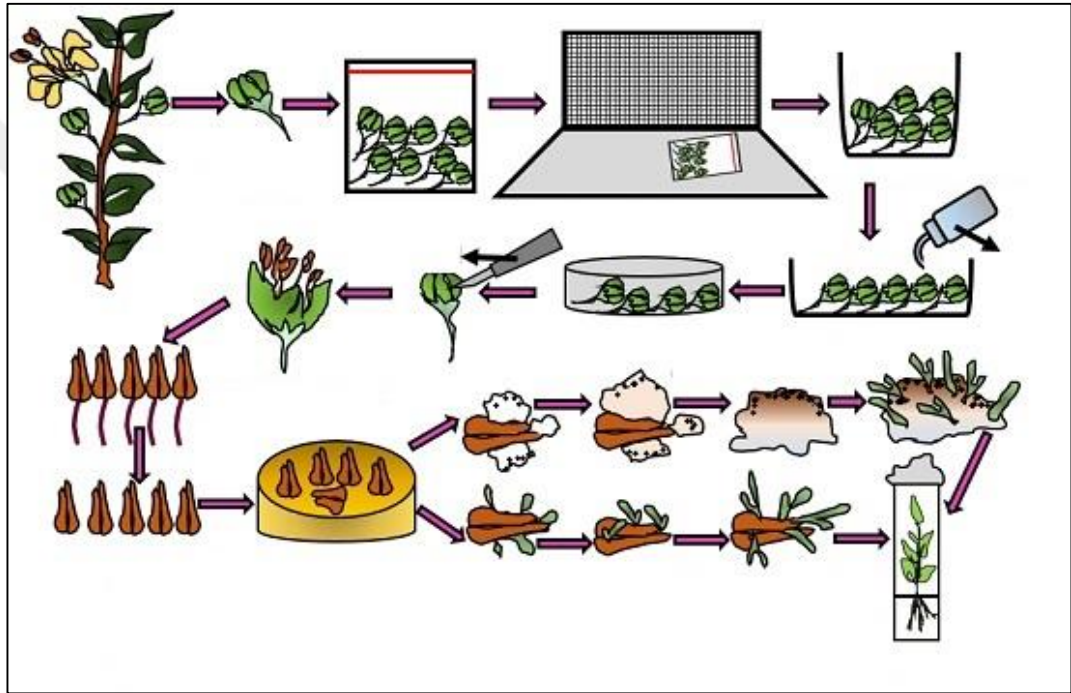
3) Erkek gametten haploid uyartımı (Androgenesis) Androgenesiste anter ve mikrospor kültürü yoluyla haploid bitki elde edilmektedir.

Hibrit çeşitlerin kullanılarak, üreticilerin kullanmış olduğu ürünlerin veriminin artması, güvenliğinde ihtiyaç demektir ve aynı soydaki hatların hibrit üretimi için en önemli ön koşuldur. Geleneksel ıslah metoduna kıyasla haploid yöntemi, homozigot yapıda bitki elde etmede etkili ve hızlı sonuç veren bir yöntemdir (Bajaj 1990). Ülkemizde ve dünyamızda yaygın olarak tüketilen ve üretilen biber bitkisi sebzeler arasında önemli bir yere sahiptir. Ülkemizin neredeyse her bölgesinde önemli ölçüde biber üretimi yapılmakta ve aynı zamanda farklı şekillerde (salçalık, kurutmalık, sos şeklinde pul biber vb.) sofrada kullanılmaktadır.

Hibrit sebze çeşitlerinin ortaya çıkması ve geliştirilmesi; maddiyata, üst düzey bilgi birikimine ve son teknolojinin kullanılarak zaman açısından ve emek anlamında büyük uğraşlar sonucunda elde edilmektedir (Balkaya 2008). Saf hatların meydana gelmesi, özelliklerinin belirlenmesi hibrit sebze ıslahı kriterlerinde ilk sırada yer almaktadır. Klasik ıslah metoduyla, homozigot ebeveyn hatlarının uzun seneleri kapsayan kendilenmesi sonucunda hibrit çeşitlerin üretimi meydana gelmektedir (Pink ve ark. 2008). Klasik kendileme metodu ile genetik materyallerin saflaştırılması %100 oranında olmamaktadır. Bu sebepten dolayı biyoteknolojik yöntemlerin kullanımı çeşit ıslahı alanında birden fazla katkı sağlamaktadır. Saf hatların elde edilmesinde kullanılan androgenesis ve ginogenesis yoluyla dihaploidizasyon metodunun kullanılması %100 oranında homozigot genetik materyaller elde etmede ve yaşanan zaman problemini ortadan kaldırarak önemli ölçüde tasarruf sağlamaktadır (Kurtar ve ark. 2009). Tüm bu sorunların önüne geçmek, zamanı kısaltmak ve daha kesin sonuçlar için günümüzde popülaritesi oldukça artan doku kültürü tekniklerinden faydalanılmaktadır. Bu teknikler

arasında yer alan ve bitki ıslahı için oldukça önemli olan teknik haploid bitki üretimidir (Heiser 1976; Andrews 1985).

Islah alanında zaman kavramını kısalttığı için haploid yöntemi sebze ıslahı alanında önemli ölçüde yaygın hale gelmiştir. Haploid bitkilerin elde edilmesinde daha çok tercih edilen anter kültürü, yaygın hale gelen yöntemler arasında yer almaktadır. Günümüze kadar yürütülmüş çalışmalarda, biberde anter kültürü tekniği ile ilgili genotip, gibberellin, sitokinin ve oksin gibi bitki büyüme düzenleyicileri, kullanılan besin ortamı, farklı ön uygulamalar, besin ortamında ek olarak kullanılan farklı maddeler (aktif karbon, gümüş nitrat ve L-glutamin gibi), donör bitkilerde farklı dönemlerde anter alma ve donör bitkinin yetiştirilme koşulları gibi konular üzerinde yoğunlaşmıştır (Wang ve ark. 1973).



Şekil 1.4. Anter kültürü tekniği aşamaları (Anonymous 2)

Aynı zamanda da polen kültürü olarak bilinen anter kültürü; bitki tomurcuğu içerisinde yer alan anterlerin içindeki polenler olgunlaşma aşamasına gelmeden, ait oldukları bitkinin tomurcuklarından zarar verilmeyecek şekilde tomurcuklardan uzaklaştırılıp *in vitro* şartlarda hazırlanan yapay besi ortamlarına aktarılarak, bu ortamda olgunlaşmadan alınan polenlerden elde edilen haploid embriyo işlemi anter kültürü olarak adlandırılmaktadır (Kurt 2019). İlk kez anter kültürü metoduyla *in vitro* koşullarında haploid bitki üretimi Wang ve ark. (1973) tarafından biberde yapılmıştır. Anter kültüründe başarıyı etkileyen bir çok koşul bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri (Bajaj 1990);

- Bitkinin genotipi,
- Antere yapılacak olan ön uygulamalar,
- İnkübasyon koşulları,
- Besi ortamı ve

- Çalışma yapılacak bitkinin yetiştirilme koşulları gibi unsurlar ilk sırada yer almaktadır.

Haploid bitki elde etme yöntemlerinde mikrospor kültürü ve anter kültürüne alternatif bir yöntem olan shed-mikrospor kültürü, anter ve mikrospor kültüründen farklı olarak uygun anterlerin filamentlerinden uzaklaştırılarak ve anterlere zarar verilmeksizin bütün haliyle, hazırlanmış uygun sıvı besin ortamında kültüre alma yöntemidir. Günümüz çalışmalarında henüz yeni bir yöntem olan ve geliştirilmeye devam edilen shed-mikrospor kültürünün acı biber üzerinde çalışmaları yapılmakta olup, tatlı biber grubunda da çalışmaları sürmektedir. Bu tekniğin daha da geliştirilip yaygın hale getirilmesi sağlanarak bitki ıslahı alanına ve bitki ıslahçılarına ışık tutacağı düşünülmektedir.

Shed-mikrospor kültürünü diğer *in vitro* kültürlerinden ayıran en önemli özelliği çiçek tomurcuklarından toplanmış olan anterler filamentlerden ayrılıp, ayrıştırma ve ezme yardımıyla mikrosporların izole edilmeden, anterler bütün olarak besin ortamının çift katmanlı olduğu ortama konulup kültüre alma işleminin gerçekleştirilmesidir. Bu çift katmana sahip ortamda anterlerin içinde bulunan mikrosporlar sıvı ortamda serbest halde yüzer konumda kültüre alınmış olur. Bunun avantajı mikrosporların zarar görmeden anterler içerisinde belirli bir olgunluğa geldikten sonra sıvı ortama geçişlerinin sağlanması ve gelişimlerini sürdürmeye devam etmeleridir. Ayrıca mikrosporların besin ortamından kolaylıkla yararlanması sağlanmış olmaktadır.

Anter kültüründe gözlenmiş olan kallus yapıları ve embriyoidler shed-mikrospor kültürü tekniğinde görülmez. Shed-mikrospordan elde edilmiş olan embriyolar sıvı ortamda oluşup gelişimlerini tamamlamış olan haploid mikrospordan elde edilmiş embriyolardır. Bu yöntemin bir diğer avantajı ise embriyolar sıvı ortamda bulundukları için yapılan çalışmada gözlem yapmak ve çalışmak diğer kültür tekniklerinden daha kolay olmasıdır.

Supena vd. (2006a), yapmış oldukları araştırmalara göre shed-mikrospor kültürünün klasik mikrospordan kültüründen ve anter kültüründen daha avantajlı olduğunu belirtmişlerdir. Bu avantajlar şunlardır:

- Ortamın çift katmanlı olması sebebiyle kültürün daha sonraki seviyelerinde kültüre eklenecek olan farklı maddelerin eklenmesi ve ortamın yenilenmesinde kolaylık sağlamaktadır.
- Petri içerisinde bulunan birden fazla embriyonun oluşmasında sıvı besin ortamının yenilenmesi ile embriyoların yerlerinin değiştirilmeden bir arada gelişimlerinin sürdürülmesi sağlanmaktadır.
- Ortama eklenecek olan antibiyotikler ortamın sıvı olmasından dolayı daha etkili ve kolay biçimde uygulanabilmektedir. Özellikle ortamlarda görülen donör bitkiden kaynaklanan enfeksiyonlara karşı da etkili bir koruma yöntemidir.

- Anterler bütün olarak çift katmanlara konulduğundan dolayı mikrosporlara koruyucu bir zırh görevi görür ve bu aşamada mikrosporlar daha kolay gelişimlerini tamamlayıp yüksek miktarda embriyo oluşumu sağlamaktadır.
- Bu yöntemle meydana gelen bitkiciklere kolhisin ön uygulamasının kolay ve başarılı olması, haploid bitki oranını önemli ölçüde yükseltmiştir.
- Shed-mikrospor kültüründe elde edilmiş olan bitkiciklerin kloroplast sayımı ve flow sitometrisi teknikleri ile ploidi aşamasının belirlenmesinde kolaylık sağlanmaktadır.
- Embriyo sayısını artıran uygulamalardan biri olan %1 oranında aktif kömür, shed-mikrospor kültürü tekniğinde ortama eklenmesi ile ortamdan aktif kömürün daha kolay alınması sağlanmıştır.

Yapılan bu çalışmada ülkemizde dolma ve kopya türlerinin ekonomik olarak değeri göz önüne alındığında, klasik ıslaha göre anter kültürü ve shed-mikrospor yöntemi kullanılarak zamandan tasarruf edilip saf hat elde edilerek genetik havuzun genişletilmesi, anter kültürü ve shed-mikrospor yöntemlerinin bu biber tiplerinde etkinliklerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

Bilindiği üzere dünya nüfusunun hızla artması, düzensiz kentleşmeye bağlı olarak tarım arazilerinin giderek azalması sebebiyle üretim gücünü son derece zora sokmaktadır. İnsanoğlunun beslenmesinin garanti altına alınabilmesinin sadece birim alandan daha fazla ürünün elde edilmesi ile mümkün olacağı ortaya çıkmaktadır. Bu sebepten dolayı, günümüz çalışmalarında bitkisel üretimde birim alandan elde edilen ürün miktarını artırmaya yönelik çalışmalara daha çok önem verilmiştir. Son yıllarda teknolojinin hayatımıza girmesi, birçok alanda yenilik getirmeye devam etmektedir. Günümüzde teknolojinin bitki üzerinde de uygulandığı bilinmektedir. Bitki biyoteknolojisi olarak bilinen bu teknoloji; yapay ortamda kontrolün tamamen sizde olduğu bu yöntemle, bitkinin organ, doku ve hücrelerinin steril koşulların sağlanıp uygun besi ortamlarında çoğaltılması ve aynı zamanda genetik olarak iyileştirilmesini kapsamaktadır.

Bitki alanına yenilik getiren bitki biyoteknolojisi, klasik ıslah metodunu iyileştirerek çağın gereği olan yeni teknik ve teknolojileri uyarlayıp bitki ıslahına adapte etmeyi sağlayarak günümüz ıslahçılarına yol göstermektedir. Tarımsal biyoteknoloji alanındaki uygulamalar doku kültürü ve genetik mühendisliği olarak iki gruba ayrılmaktadır.

Bitki ıslahında en çok tercih edilen ve yaygın olan uygulamalar şu şekildedir (Oğlakçı ve Tiryaki 2014):

1. Türler Arası Melezlemelerden Sonra Embriyo Kültürü
2. Yapay Koşullarda Haploid Bitki Elde Etme
3. *In vitro* Tozlanma, Döllenme ve Seleksiyon Teknikleri
4. Ovaryum/Embriyo Kültürü
5. Somatik Hücre Melezlemesi

In vitro koşullarda haploid bitki elde etme metodundaki amaç, bitkinin tomurcuklarından alınan henüz olgunlaşmamış anterleri veya polen tanelerini uygun ortamlara alarak kallus veya embriyo gelişiminin sağlanıp bitkicik elde edilmesidir.

Anter kültürünün bir ileri aşaması olarak bilinen polen taneleri ya da mikrospor kültürü arasındaki fark anterlere kıyasla sadece mikrosporların kültürünün yapılmasıdır. Bu kültürlerin bitki ıslahında ilk olarak kullanılması sebebi ise, zamandan tasarruf sağlanarak kısa sürede haploid bitkiler elde etmektir. Böylelikle kısa sürede homozigot hale gelen saf hatlarla melezleme çalışmaları da hız kazanmış olmaktadır (Oğlakçı ve Tiryaki 2014).

2.1. Anter Kültürü İle İlgili Kaynak Taramaları

Bitki ıslahı, mevcut durumdaki bitki materyalleri ile birlikte hastalık, adaptasyon, verim, erkencilik vb. gibi nitelikli özelliklerin o çeşitte olmasını sağlayarak var olan çeşidin daha iyi hale getirilip, iyileştirilmesinde yer alan aşamalara verilen addır. Klasik ıslah metodunun zaman alması ve getirmiş olduğu bir takım zorluklar sebebiyle günümüzde ‘doku kültürü’ çalışmaları önem kazanarak, bitki ıslahında önemli bir konuma gelmiştir.

Anter kültüründe dikkat edilmesi gereken hususlar; anterlerin alınma zamanı, antere yapılacak olan ön uygulamalar, bitkinin yetişeceği ortam ve bitki genotipi olarak sınıflandırabilmemiz mümkündür.

Anter kültüründe başarıyı ve anter kültürü yoluyla oluşan embriyo miktarını etkileyen etmenleri birçok başlık altında toplamak mümkündür. Bu etmenleri etkileyen bir kısım faktörler, anter kültürü uygulamasında tekniğe bağlı oluşan durumlar ve donör bitkiye bağlı olan koşullar olarak sınıflandırmamız mümkündür (Ellialtıoğlu vd. 2001). Donör bitkiye bağlı olan koşullardan en önemlisi çalışılacak olan donör bitkinin doku kültürüne adaptasyonluğu, donör bitkinin yetişeceği ortam olarak özetlenirken, anter kültürüne bağlı olan koşullar ise; uygun anter alma zamanı, kullanılacak olan besin ortamının içeriği, oluşacak olan inkubasyon koşulları ve anterlere yapılacak olan uygulama koşulları şeklinde başlık altında toplanmaktadır.

1838 yılında totipotens teorisi ile doku kültürü çalışmalarını ilk öne sürenler Schwan ve Schleiden’dir (Pierik 1987). Anter kültürüne yönelik biber bitkisine ait çalışmaların 1973 yılında yapıldığı bilinmektedir.

Parra-Vega vd. (2013) yapmış oldukları çalışmada aşamalarının mikrogametogenesis ve mikrosporogenesisine bağlı olduğu ve bu süreçte gelişim gösteren polen ya da mikrospor tanesinin oluşumuna ait uygulanabilir ve temel hedeflere yönelik olduğunu vurgulamışlardır. Double haploid yöntemi olan adrogenetik ve diğer haploidi teknikleri polen ya da mikrospordaki gelişimlerinde bitkiye ait çiçek tomurcuklarını belirlemede güvenilir, doğru, hızlı ve kesin kriterlere dayalı olduğu görüşünü desteklemektedirler. Çiçek gelişim özelliği bakımından çalışma için faydalı olan bu kriter göz önüne alındığında antosiyanin bakımından önemli olan biber genotiplerinde, buna benzer belirlemede önemli olacak birçok morfolojik etmenlerin ortaya çıkmasında yarar sağlamaktadır. Yapılan bu çalışmada, mikrogametogenesis ile mikrosporogenesis yöntemlerine bağlı olarak anter ve tomurcuk gelişim aşamalarının ölçülebilir, görülebilir vb. gibi özelliklerini bağdaştırabilmek için en kısa ve basit yöntemler ile çalışmalarını yürütmeyi amaçlamışlardır. Bu çalışmada, İspanyol biberine ait 3 farklı çeşite yönelik bir çalışma yürütülmüştür. Polen ve mikrospor gelişimini etkileyen faktörler arasında yer alan; ortama alınmış olan anter ve tomurcuk uzunluğunun, alınmış olan anterlerin istenilen mor pigmentasyonuna ait olması ve aynı zamanda kaliks boyutu ile alınan tomurcuğun uzunluğuna bağlı olarak aralarındaki oranının belirlenip uygulanmasının çalışmada kesin ve doğru neticeler meydana getirdiğini, aynı zamanda ise uygulanabilirliğinin basit ve kolay olduğunu öne sürmüşler ve incelemişlerdir. Bu çalışmanın sonucuna bağlı olarak, kaliks ile tomurcuk arasındaki uzunluğa bağlı oranı ve alınmış olan anterlerin sahip olduğu mor pigmentasyonu ile birleştirilip

uygulanmasının, biber genotiplerinde var olan antasiyoninin markörleri belirlemede hızlı, kesin, doğru bir yol olduğunu ispatlamışlardır.

Gönülşen (1987), biberde anter kültürü üzerine yapmış olduğu çalışmada, anter kültürünü etkileyen en önemli faktörler arasında anter alım zamanı olduğunu belirtmiş ve 3 aşamada mikrosporogenesi ayırmıştır. Bu aşama; mayoz bölünme, tetrat oluşumu ve ayrımı ve mikrospor gelişim safhası ve polen haline dönüşümü şeklinde sınıflandırmıştır. Bu 3 aşama arasında ikinci aşamanın polenlerin tek çekirdekli halde görüldüğü aşama olduğunu bildirmiştir. 1. Mitoz bölünmenin ise ikinci aşamadan üçüncü aşamaya geçişte olduğu ve çok hücreli gametofitler ise 3. aşama olarak belirtmiştir.

Andersen ve Kristiansen (1993) yapmış oldukları biber anter kültürü ile ilgili çalışmada, sıcaklık değerleri, fotoperiyot şartları ve donör bitkide yaş gibi faktörlerin embriyo oluşumunun üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Oluşturmuş oldukları denemede; üç ayrı hibrit çeşit, 11, 15 ve 19 saat olmak üzere 3 ayrı fotoperiyot ve 22°C, 26°C ve 30°C olmak üzere üç ayrı sıcaklık ortamını uygulamışlardır. Anterler 5 ile 9 haftalık periyotlarda olmak üzere farklı bitkilerden toplanarak embriyo oluşumunda kullanılan donör bitkide yaşın etkisini test etmişlerdir. Embriyoların optimum sıcaklık olarak hesaplanan 26.4°C'de oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Yapılmış olan bu çalışmanın sonucunda fotoperiyottaki farklılığın embriyo oluşumunu etkilemediğini tespit etmişlerdir. Bununla birlikte farklı sıcaklıklarda yetişen donör bitkilerin embriyo oluşumunda bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir. 26°C'de yetiştirilen bitkilerde embriyo oluşumunun maksimum (% 2 oranında) seviyede olduğunu, sıcaklığın düşük olduğu (16°C) koşullarda yetişmiş olan bitkilerden elde edilen embriyonun ise daha az (% 0.2 oranında) olduğunu tespit etmişlerdir. Embriyo oluşumu üzerinde etkili olan donör bitkinin yaşını test etmek amacı ile toplanmış olan anterleri haftalık olmak üzere kültüre almışlardır. Her 3 denemede de anlaşılmıştır ki, donör bitkinin yaşı ile oluşan embriyo arasında ters orantının olduğunu gözlemlemişlerdir. Kısacası, donör bitkinin yaşı arttıkça elde edilen embriyonun ciddi oranda azaldığını gözlemlemişlerdir. Genç bitkilerden toplanmış anterlerden elde edilen embriyolardan % 2 oranında bir oluşum gözlemlenirken, daha yaşlı olan bitkilerden (12-14 haftalık) toplanmış anterler ile embriyonun hiç oluşmadığını bildirmişlerdir.

Matsubara vd. (1998), temmuz ile kasım arası toplamış oldukları 6 biber çeşidine ait anterlerden oluşmuş olan mikrosporlardan embriyoid ile kallus rejeneresi üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Mikrosporların tek çekirdekli olduğu anterleri 0.004 mg/l 2,4D, 30 gr/l Sükroz, 2 gr/l Gelrite ve 0.1 mg/l Kinetin ekledikleri MS ortamına dikerek, 35°C sıcaklıkta 24 saat sürede tutup sonrasında ise 25°C sıcaklıkta 16 saat süre ile gün ışığında 40 gün boyunca tutmuşlardır. Açılmış olan anterlerden oluşan mikrosporlardan embriyoidlerin rejenere olduklarını ve 40 günün sonunda ise embriyoların torpedo ve kalp şeklinde dönüştüğünü gözlemlemişlerdir. Anter duvarlarından, mikrosporlardan ve filamentlerden kallusların geliştiğini gözlemlemişlerdir. Kallusları embriyolardan ayıran özelliklerinin canlılık oranlarının daha az olduğu, büyümelerinin embriyolara oranla biraz daha yavaş olduğu ve beyazımsı renkte olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmaya göre kallusun ve embriyo oluşumunun zamana ve çeşitlere göre farklılık gösterdiği gözlenmiştir. Ay bazında değerlendirdiklerinde ise eylül ve ekim aylarının embriyo oluşumunda iyi yanıt aldıklarını bununla beraber 15°C ile 25°C sıcaklıkta ise yüksek oranda embriyo

oluşumunu gözlemlemişlerdir. Bu çalışmadan kullanılmış olan tüm biber çeşitlerinden embriyo ve kallus elde edilmiş fakat bu oluşum oranlarının ise çeşit bazlı farklılıklar olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu çalışmadan MS ortamında kültüre alınmış olan embriyolardan bitkicikler elde edilmiş ve iklim ortamına adapte edilmiştir.

Terzioğlu vd. (2000) yapmış oldukları çalışmada Kahramanmaraş yöresine ait biber popülasyonlarından toplanan anterlerin kültüründe farklı inkübasyon ile besi ortamının embriyonun oluşumu üzerine etkilerini incelemişlerdir. Asetokarmin ile boyama yöntemini kullanarak uzunluklarının ortalama 5-7 mm, petallerin sepallerden çıkmadığı fakat az olarak görüldüğü ve ayrıca tek çekirdekli olan mikrosporları kapsayan tomurcukların çalışmada anter kültürü için uygun olduklarını belirlemişlerdir. Çalışmada farklı iki inkübasyon ortamı uygulamışlardır. İlk inkübasyon ortamında seçilen anterleri 16 saat aydınlık ortamda 35°C’de, daha sonra da 8 gün ise 8 saat karanlık ortamda tutarak 25°C’ye transfer etmişlerdir. Diğer inkübasyon ortamında anterleri aydınlıkta 2000 lux değerinde ve 29°C sıcaklıkta 3 ay sürede tutmuşlardır. Bu çalışmadan elde edilmiş sonuca göre, yüksek oranda embriyo oluşumu (%4.8) MS besi ortamına 4 mg/l NAA ile 1 mg/l BA ve ayrıca %0.25 oranında aktif kömür bulunan ortamlarda kültüre alınan ve 29°C sıcaklıkta aralıksız aydınlık ortamda tutulmuş olan anterlerden meydana gelmiştir. Aktif kömür ortamı olmadan yine aynı besin ortamı, sıcaklık ve ışıklandırma kombinasyonu ile embriyo oluşumunun 3.3% oranında olduğunu tespit etmişler ve böylece embriyo oluşumunda aktif kömürün olumlu etkide bulunduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca ortam, ışık şiddeti ve sıcaklık bazında değerlendirildiğinde; 4 mg/l NAA ve 1 mg/l BA MS ortamına eklenmiş hormonların 1mg/l NAA ve 4 mg/l BA hormon kombinasyonundan daha başarılı sonuç verdiğini, 29°C sıcaklıkta ışık şiddetinin 2000 lux olduğu ortamın ise 35°C sıcaklık sonrasında 25°C’de 16 saat süre ile aydınlık ortamdan daha başarılı olduğunu belirlemişlerdir.

Kim vd. (2004) biberde anter kültürü üzerine yapmış oldukları çalışmada, mikrospora ait gelişim aşamalarını araştırmışlardır. Araştırılan bu gelişim aşamalarında ise embriyo gelişiminde en uygun yanıt veren aşamayı gözlemlemişlerdir. Yapılan bu çalışmada biberden toplanan anterler MS ortamına 0.1 mg/l NAA ile 0.1 mg/l Kinetin eklenerek kültüre alma işlemini gerçekleştirmişlerdir. 31°C’de 3 gün orada tutarak daha sonra da sıcaklığın 25°C olduğu karanlık ortama aktarmışlardır. Araştırmacılar kültüre alma işleminden 6 hafta sonunda mikrospordan meydana gelmiş olan kallusları ve embriyo miktarlarını saymışlardır. Bu çalışmada araştırmacılar anterleri pigmentasyonlarına göre 4 grup altında toplamışlardır. Her aşamadan alınmış olan 10 anter, yapılmış olan kültürün belirli günlerinde (0, 2, 4, 7, 9 ve 14) fikse etmişler ve boyama yöntemi olan DAPI ile boyayarak meydana gelmiş olan mikrosporların gelişim süreçlerini sitolojik şekilde incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada kültüre alınmış olan anterlerin ikinci gününde ölü polen miktarında ciddi derecede bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Anterlerden meydana gelmiş olan embriyoları yüzde bakımından incelemişler ve 1., 2., 3.ve 4. aşamadaki gözlemlerin yüzdelik oranları sırasıyla; % 1.5, % 11.5, % 18.6 ve % 6 olarak ayrıca 100 anter bakımından meydana gelen embriyo yüzdelik oranları ise; % 3.0, % 34.3, % 57.8 ve % 12.6 olarak bildirmişlerdir. Yapılan çalışma neticesinde en iyi sonucu mor renge $\frac{3}{4}$ oranına sahip erken-çift çekirdek aşamasındaki polenleri kapsayan anterlerin olduğunu bildirmişlerdir.

Taşkın (2005), biber anter kültürüne yönelik gerçekleştirmiş olduğu çalışmada genotipin, besin ortamlarının ve farklı dönemlerde toplanan anterler arasındaki ilişkiyi 5 farklı genotiple gerçekleştirmiştir. Genotipleri düşük sıcaklığa hassas (A74 numaralı genotip), orta derecede dayanıklı (A109 numaralı genotip) ve düşük sıcaklığa toleranslı (A313, A71, A269 numaralı genotipler) olarak seçmiştir. Çalışmada dört farklı yetiştirme ortamı sağlayarak, 5 genotipe ait anterler farklı zamanlarda kültüre alınarak embriyogenesi ve bitki rejenerasyonu üzerine etkilerini araştırmıştır. Toplanmış olan anterleri kültür ortamına aldıktan gelişme geriliği gösteren embriyoları 0.5 mg/l ABA içeren ortamlara aktararak 10 gün süre boyunca tutmuştur. Bu ortamda absisik asitin embriyogenesi nasıl etkilediğini gözlemiştir. Yapılan bu çalışma neticesinde organogenesi ve embriyogenesi etkileyen faktörlerin besin yeri içeriği, anterlerin farklı dönemlerde alınma aşaması ve genotip olduğu ve bu faktörlere bağlı olarak değişim gösterdiği sonucuna varmıştır. Genotip faktörü bakımından incelendiğinde en yüksek embriyogenesis sonucunu 269 nolu soğuğa toleranslı olan genotipte elde ettiğini belirtmiştir. Döneme göre anterleri değerlendirdiğinde ise nisan ve mayıs dönemlerinde toplanmış olan anterlerin yüksek performans gösterdiği saptamıştır. Kültüre alınmış ortamları değerlendirdiğinde 3 numaralı ortamın 4 numaralı ortamdaki başarıları olduğu ve embriyo oluşum bakımından daha yüksek oranda olduğunu belirtmiştir. Ayrıca çalışmadan uygulanmış olan absisik asit uygulanmış ortamdan olumsuz sonuç alındığı ve bitki formuna dönüştürülmede hormon içermeyen Murashige and Skoog besin ortamından embriyoların elde edildiğini bildirmiştir.

Koleva Gudeva vd. (2007) yapmış oldukları çalışmada androgenesis yapıya sahip olan bitkilerin fazla olmasının nedeninin genotipe bağlı olduğunu bununla birlikte biber ıslah alanında anter kültürü üzerine yapılan çalışmalarının sınırlı olmasının da haploid bitki yüzdesinin düşük olması sebebi ile olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada biberde in vitro koşullarında anter kültürünün androgenesis üzerine etkinliğini araştırmak için 19 biber genotipini kullanmışlardır. Çalışmada, etkili ve iyi yanıt verecek in vitro ortamının kurulup haploid ve diploid rejenerasyonlarının başarılı bir şekilde hazırlanmasını, anter kültüründe embriyogenesis aşamasının oluşturularak embriyoların bitkicik haline dönüştürülmesi ve sağlıklı olarak adaptasyon süresi için sera koşullarına aktarılmasını amaçlamışlardır. Toplanmış olan anterler kültüre Dumas de Vaulx vd. (1981) metoduna uygun şekilde alınarak 35°C’de 8 gün sürede karanlık ortamda ön uygulamada bırakmışlardır. Denemeleri takiben androgenesisin oluşumunda genotipin ve kültür ortamının anter kültürünü sürdürülmesinde etkili olduğu anlaşılmıştır. Çalışmada 19 biber genotipi kullanılmış ve bu genotiplerden 12 tanesi embriyo oluşumuna yanıt vermiştir. Bu genotiplerden 2 tanesi iyi, 6 tanesi zayıf olarak ve 4 tanesi ise orta derecede androgenik yapıya sahip olurken, geriye kalan biber genotipinin 7 tanesinin de androgenik yapıya sahip olmadığını gözlemlemişlerdir. Elde edilmiş olan rejenerantların dış ortam adaptasyonundan sonra dış ortamdan ve sera ortamından toplamda 4 biber genotipinden tohum almışlardır. Bu çalışmanın neticesinde toplanmış olan bu tohumların ilerleyen zamanlarda ıslah sürecinde ve moleküler anlamda çalışmalar üzerine çok iyi imkanlar sağlayacaklarını bildirmişlerdir.

Ercan ve Ayar Şensoy (2011) farklı biber çeşitlerinde bir takım faktörlerin (alınan anterlere ve tomurcuklara ön uygulama, donör bitki, inkubasyon ortamı vb.) androgenesis üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada farklı biber grubuna ait olan 11 biber çeşidini kullanmışlardır. Toplanan çiçek tomurcukları korollanın kaliksin uzunluğunu biraz geçtiği ile korolla ve kaliksin aynı boyda olduğu zamanlarda toplamışlardır. Araştırmacılar toplanan bu tomurcukları 1 gün 4°C soğuk koşulda bekletmişlerdir. 30 g/l süktroz ile 8g/l agar hazırlayarak MS ortamını çalışmada kullanmışlardır. Tam karanlıkta 35°C’ de 8 gün beklemenin ardından 16/8 saat sürede aydınlık/karanlık koşulda 25°C’de 3000 lüks ortamlarını kullanmışlardır. Yapılan çalışma neticesinde, kullanılmış olan farklı biberlere ait genotiplerin aynı olmayan androgenesis tepkilerinin sonucuna varmışlardır. Çalışmada kullanılmış 11 farklı biber çeşitlerinde iki çeşitte embriyonun hiçbir şekilde elde edilemediğini, var olan diğer biber çeşitlerinde de embriyo oluşumunun genotiple ilgili olarak farklı oranlarda olduğu sonucuna varmışlardır. Elde edilmiş olan bu embriyoların da direkt embriyogenesisle olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Yapılan çalışmanın sonucunda oluşan embriyoların oranları % 0.33 - % 7.69 arasındadır. Çalışmada kullanılmış olan tüm genotiplere bağlı kallus elde etme frekansı ise % 17.31 - % 44.15 arasında bir değer almıştır. Elde edilmiş olan kalluslardan embriyonun olmadığı görülürken aynı zamanda da oluşan köklerin ve gelişimlerin ise anormal şekilde olduğu, renginin ise kahverengiye aldığı görülmüştür. 11 genotipten toplam 2398 anter ile çalışma gerçekleşmiş ve bu anterlerden 44 embriyo ile birlikte 12 adet bitkicik oluşmuştur. Çalışmada kullanılan 2 genotipten (Dolmalık – Kandil ile Çarliston - Yalova) ise embriyo gözlenmemiştir. Diğer 2 genotipten (Blok – Odessa ile Sivri - Sera Demre 8) ise diğer genotiplere göre daha iyi ve başarılı androgenesis yanıtı alınmıştır.

Irikova vd. (2011) Bulgar biber genotipinin anter kültürüne verdiği tepki üzerine bir çalışma yapmış, bu çalışmada ise 7 varyete, 8 hat ve 4 hibrit ile birlikte 19 Bulgar biber genotip kullanmışlardır. Çalışmada toplamda 2 ortam başlangıç ortamı (Cm ve C) ve bununla birlikte de 2 rejenerasyon ortamı (Rm ve R) kullanmışlardır. Bu ortamlar 12 ile 40 gün süre bazında iki kez olarak denemişlerdir. 35 – 40 gün sonra in vitro koşullarda inokülasyondan kültür ortamına geçirilen anterlerden direkt embriyo oluşumunu gözlemlemişlerdir. Bu direkt embriyo oluşumu ise 6 varyete, 6 hat ve 3 hibritten meydana gelmiş ve 6 varyete, 4 hat, 1 hibritten ise rejerene olan bitkiler görülmüştür. Çalışma sonucunda, embriyo gözlenmesi için hazırlanan başlangıç ortamı olan C ortamında 12 gün kültüre alma koşulu etkili olmazken, anterlerin 40 gün süre ile kültür ortamında tutulması genotiplerin direkt yolla embriyogenesis açısından yeteneklerini ortaya koymada başarılı olduğunu gözlemlemişlerdir. Rejenerasyon için hazırlanmış olan R ortamında, bu ortama aktarılan embriyolarda gözlemlenen bitki rejenerasyon oranının % 50 - 100 oranında olduğunu görmüşlerdir. Yapılan çalışmalar doğrultusunda embriyonik anter oranının en yüksek olduğu ortamın Cm koşulunda 12 gün tutulmuş olan kültürlerde olduğu fakat rejenerasyon ortamı olarak adlandırılan Rm ortamına aktarılan embriyolarda ise bitkicik oluşumunun olmadığını gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar tüm bu sonuçları değerlendirerek, kültür ve besin ortamındaki süreç boyunca genotiplerin özel gereksinimlere ihtiyaçları olduklarını belirtmişlerdir.

Ata (2011), yapmış olduğu çalışmasında farklı biber genotiplerine ait anterlerin ortama eklenen farklı oranlarda BAP hormonunun, kültüre alınma zamanlarının androgenesis üzerine etkilerini araştırmıştır. Çalışmada 4 farklı genotip kullanılmış

olup, yüksek sıcaklığa (İnan 3363 ile 277 numaralı genotip) ve düşük sıcaklığa (421 nolu genotip ve 195 kodlu çeşit) toleranlı genotipleri kullanmıştır. Anterleri yılın farklı aylarında (şubat, mayıs ve ağustos, ekim) ve aynı zamanda da kültüre alım zamanının farklı günlerinde (0., 1., 2., 3., 4., 8. ve 14.) almıştır. Alınmış olan anterler fiksasyon ile sabitleyerek, özel boyama yöntemlerini (asetokarmen, DAPI gibi) kullanarak mikrospor gelişim aşamalarını belirlemiştir. Çalışma sonucunda embriyo oranının en yüksek olduğu çeşidin İnan 3363 numaralı genotipe ait olduğunu belirlerken, anterlerin farklı aylarda topladığı zamanları karşılaştırdığında en yüksek embriyo veriminin nisan ve ağustos aylarına ait olduğunu belirtmiştir. Ayrıca eylül, kasım aralık ve nisan (MS + 30 g/l sakkaroz + % 0.25 aktif kömür+ 15 mg/l AgNO₃ + 4 mg/l NAA + 0.1mg/l BAP) dönemlerinden toplanmış olan anterlerin uygulandığı ortamın (MS + 30 g/l sakkaroz + % 0.25 aktif kömür+ 15 mg/l AgNO₃ + 4 mg/l NAA + 0.5 mg/l BAP) temmuz, ağustos, ekim, mart ve mayıs aylarında daha etkili olduğu sonucuna varmıştır. Bitki rejenerasyonu bakımından ise en yüksek oranın nisan ayında elde edildiği sonucuna varmıştır.

Alremi vd. (2014), biberde anter kültürüne yönelik yapmış oldukları çalışmada, 3 farklı biber genotipi (171, B ve 151 olan hatlar), 1 biber çeşidi (Alfajer çeşidi) ve hazırlanmış olan 16 farklı besi ortamlarının embriyo oluşumlarını karşılaştırarak ortam ve genotip arasındaki etkileşimleri araştırmaya yönelik bir çalışma yapmışlardır. Kullanılan 16 farklı besi ortamı arasında MS (1962) ortamı ile Dumas de Vault ve ark. (1981) besi ortamlarının 8 farklı kombinasyonlarını kullanmışlardır (B serisi, B1B8 ile C serisi, C1-C8). Genotip bakımından değerlendirme yapıldığında Alfajer çeşidi ile B hattının embriyogenik aşamadaki anter sayısı, anterde bulunan embriyo miktarı ve organogenesis oranları bakımından yüksek başarı gösterdiğini belirtmişlerdir. Değerlendirme ortamlar açısından yapıldığında ise, C besi ortamı serisinde 2,4-D + Kinetin içeren ortamlar daha başarılı bulunurken, B besi serisinde ise MS ortamı + (BAP, NAA) ortamında 171 ve 151 numaralı yerel hatların daha başarılı olduğu sonucuna varmışlardır. Genotipe bağlı olarak, embriyo oluşumunu besin ortamlarına aktif kömürün (% 0.25) eklenmesi sonucunda teşvik ettiğini bildirmişlerdir. Gümüş nitratı içermeyen B ortam kombinasyonlarında en yüksek embriyogenesis sonucunun alındığı ortam olduğu, bu ortamı da B2, B3, B7 ve C6 ortamlarının sırasıyla takip ettiğini bildirmişlerdir. B3 ortamında elde edilmiş olanlar dışında, elde edilen tüm embriyoların bitki halini aldığını saptamışlardır. En yüksek başarıyı gösteren genotipin B ıslah hattı olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada elde edilmiş olan embriyolardan haploid kromozom yapısında olanlarının oranının % 94 olduğunu saptamışlardır.

Özsan (2014), yapmış olduğu yüksek lisans tez çalışmasında, genetik ilerleme aşamasında olan 4 farklı biber genotipini kullanmıştır. Genetik ilerleme düzeyinde olan 4 biber genotipinde mikrospor ve anter kültürü yaparak haploid embriyo eldesine olan etkilerini içeren bir çalışma yapmıştır. Çalışmada biber genotiplerinden toplanan tomurcukları sınıflandırmıştır. Uygun mikrospor aşaması için, sınıflandırılması yapılan tomurcuklar boyama teknikleri arasında yer alan ethidium bromid uygulaması ile boyanmıştır. Mikrospor ve anter kültürü üzerine yönelik olan bu çalışmada mikrospor kültürü için B5, anter kültürü için ise MS ortamlarını kullanmıştır. Hormonlar arasından 0.1 mg/l 2,4-D + 0.2 mg/l kinetin kombinasyonu, mikrospor kültürü için B5 besi ortamına, 4 mg/l NAA + 1 mg/l BA bu ikili kombinasyon ise anter kültürü için MS ortamlarına ilave ederek kullanmıştır. Mikrospor kültürü için haploid embriyoyu teşvik

etmek amacı ile toplanan anterlerin kültüre alım aşamasından önce 0.3 M mannitol bulunduran ortamda bekletmiş ve +32°C sıcaklıkta 7 gün boyunca ön uygulamaya tabi tutmuştur. Anter kültüründe ise anterler +35°C sıcaklıkta 8 gün ön uygulamaya tabi tutmuştur. Anter kültürünün petrileri kültür aşamasını tamamladıktan sonra 25°C sıcaklıkta, aydınlatma şiddetinin 3000 lüks olduğu, sıcaklığın 25°C ve 16 saat boyunca aydınlık, 8 saat süre ile de karanlık ortamda olacağı büyüme odalarına almıştır. Mikrospor kültüründeki petriler ise sıcaklığın 25°C ve ortamın karanlık olduğu aşamada devamlılıkları sürdürmüştür. Çalışmanın sonucunda sıcaklık ön uygulamalarında herhangi bir etkinin olmadığı ve elde edilmiş sonuçlara göre embriyo oluşumunun, embriyo benzeri yapıların ve kallus oluşumunun olduğunu bildirmişlerdir. Anter kültüründe ise genotiplerin vermiş olduğu tepkiye göre F4 hattından toplanan anterlerde % 15.07 torpedo embriyo oluşumunu gözlemiş ve diğer genotipler arasında en başarılı genetik seviyede olan hat olarak bildirmiştir. Çalışmada belirlenmiş olan genotiplerin mikrospor kültüründeki sonuçlarına göre, yine F4 hattına ait % 13.89 oranında embriyo oluşumu gözlemleyerek, bu hattın mikrospor kültüründe de en iyi yanıtı veren genotip olduğunu saptamıştır. Diğer kullanılmış olan genotiplerde ise hiç embriyo oluşumu gözlenmezken, farklı oranlara sahip kallus oluşumu gözlemiştir.

2.2. Shed-Mikrospor Kültürü Tekniği ile İlgili Kaynak Taramaları

Supena vd. (2006b) yapmış oldukları çalışmada Endonezya'ya ait acı biber genotiplerinde mikrospor ve anter kültürlerine alternatif olarak daha etkili bir yolla double haploid bitki elde edilecek yeni bir teknik geliştirmeyi amaçlamışlardır. Çalışmada %50 oranında olan geç aşamadaki tek çekirdekli mikrosporları kapsayan anterlerin fiziksel parametreleri değerlendirerek materyal olarak seçmişlerdir. Toplanmış olan çiçek tomurcuklarını ilk aşamada 1 gün süreyle 4°C sıcaklıkta tutmuşlar ve 1 hafta süre boyunca da 9°C sıcaklıkta ön uygulamada bırakmışlardır. Kültürler, ön uygulama işlemleri tamamlandıktan sonra tam karanlık koşullarda ortamın 28°C sıcaklıkta olduğu büyüme odalarına transfer etmişlerdir. Çalışmada 2 katlı besin ortamına sahip ortamda ilk katmanın katı ve ikinci katmanın ise sıvı NN olduğu ortamı kullanmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda; 4°C'de soğuk uygulamaya tabi tutulup sonrasında 9°C sıcaklıkta 1 hafta süre boyunca tutulan kültürlerde embriyo miktarının çok fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte katı ortama eklenmiş olan %0-2 aralığındaki aktif kömürün embriyo oluşumunu teşvik ettiğini saptamışlardır. Aktif kömürün %2 oranından fazla olduğu durumlarda ise embriyo miktarında düşme olduğunu gözlemişlerdir. Araştırmada farklı oranlarda bitki büyüme düzenleyicisi, yapılan farklı ön uygulama sıcaklığı ve farklı aktif kömür oranları değerlendirildiğinde; aktif kömürün %1 oranında olduğu ve 1 gün süre ile 4°C'de bekletilip sonrasında 9°C sıcaklıkta 1 hafta boyunca ön uygulamaya tabi tutularak, sıvı besin ortamına 5 µM IAA ile 2.5 µM zeatin ilave edilmesinin optimum sonuçlar vereceğini bildirmişlerdir. Çalışmada kullanılmış olan 6 farklı acı biber genotipinden 168 adet bitkicik elde etmişlerdir. Elde edilen bu 168 bitkicikten 104 adetinin haploid olduğu, 1 adetinin tetraploid yapıda olduğunu, diploid yapıya sahip 61 adet ve 2 adet triploid olduğunu bildirmişlerdir.

Supena vd. (2006a) acı biber genotiplerinde anter ve mikrospor kültürü üzerine yapmış oldukları araştırmalarında donör bitkinin sebep olduğu enfeksiyonların önüne geçmek ve bununla birlikte çalışmalarında çeşitli antibiyotikleri de kullanarak bunların fitotoksik etkilerini raporlamak için farklı antibiyotiklerin shed-mikrospor kültürü ile

ilişisini araştırmışlardır. Çalışmalarında kendileri tarafından hazırlanmış %1'lik aktif kömür ortamı, 1 gün boyunca 4°C ve ardından 1 hafta süre ile 9°C sıcaklıkta ön uygulaması ve bununla birlikte 5 µM IAA ve 2.5 µM zeatin sıvı ortama ilave edilmesi protokolünü izlemişlerdir. Ayrıca 4 farklı antibiyotik içeriğini kullanarak sıvı ortama eklemişlerdir. Kurmuş oldukları kontrol ortamlarına %100 enfeksiyon oluşan Marathon, Prabu ve Gada çeşitlerinde 1) 100 mg/l Timentin, 2) 10 mg/l Rifampisin + 50 mg/l Timentin, 3) 20 mg/l Rifampisin + 100 mg/l Timentin, 4) 20 mg/l Rifampisin olacak şekilde 4 farklı antibiyotik kullanmışlardır. Uygulanmış olan bu 4 farklı antibiyotikten sırası ile 1) % 27, 2) % 73, 3) % 82, 4) % 64 oranlarında petrilerde sağlıklı embriyoların olduğunu ve enfeksiyonun olmadığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte ayrıca bu çalışmada ploidi seviyelerini belirlemek amacı ile yaprakta kloroplast sayımı ve flow-sitometri yöntemlerini kullanmışlardır. Yapılan çalışmanın neticesinde shed-mikrospor ile elde edilmiş olan bitkiciklerin yapraklarındaki kloroplast sayımı ve flow sitometri yöntemlerinin kullanılması sonucunda ploidi seviyelerinde %100 oranında doğru olduğunu, bu yöntemin kolay uygulanabildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca daha önceki çalışmalarında donör bitkiden kaynaklanan enfeksiyonların önüne geçilmesinde 20 mg/l Rifampisin + 100 mg/l Timentin antibiyotik kombinasyonun en iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

Yapılan bu tez çalışmasında da yukarıdaki yöntemlerden yapay koşullarda haploid bitki elde etme yöntemi seçilerek ülkemiz için ekonomik değeri son derece önemli olan biber bitkisinde, anter ve iki farklı shed mikrospor yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemlerin dolma ve kopya biberlerinde bitki ıslahına yol göstermesi amacıyla saf hat eldesi üzerine etkileri incelenmiştir. Ayrıca bu çalışmanın ileriki zamanlarda bitki ıslahı alanına, yeni nesil ve tecrübeli ıslahçılara ışık tutacağı düşünülmüştür.

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmada kullanılmış olan bitki materyali özel bir sektör serasında yetiştirilen biber bitkilerinden sağlanmış olup, doku kültürü çalışmaları da Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü doku kültürü laboratuvarında 2020 yılında yürütülmüştür.

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel materyal

Araştırmada bitkisel materyal olarak sonbahar ve ilkbahar aylarında sera yetiştiriciliğine uygun dolma ve kapy biber tipine ait ikişer genotip seçilmiştir. Çalışmada dolma biber tipinden Doğanay F₁ ve Tesla F₁, kapy biber tipinden ise Serenad F₁ ve Demrisa F₁ çeşitleri kullanılmıştır.

3.1.2. Araştırmada kullanılan biber çeşitlerinin özellikleri

Doğanay F₁: Bahar ve güz sera koşulları ile açık tarla yetiştiriciliğine uygun, güçlü bitki yapısına sahip, erkencilik yönüyle diğer çeşitlerin önüne geçebilen, verim kalitesi açısından başarılı, sıcaklığa ve kuraklığa dayanıklı bir dolma biber çeşididir. Ayrıca ince kabuklu ve yeşil meyve rengine sahiptir.

Tesla F₁: Güçlü bir bitki yapısına sahip, ilkbahar, sonbahar, tek ekim ve açık tarla yetiştiriciliğine uygun, meyve rengi yeşil ve ince kabuklu olan, piyasada erkenciliği ile ön planda tutulan önemli bir dolma biber çeşididir.

Kültüre alma işlemi sırasında yukarıdaki biber çeşitlerinin dolma grubunda olması sebebiyle anterlerinin ve çiçek tomurcuklarının büyük olması kültüre alma işleminde ciddi oranda kolaylık sağlamıştır.

Serenad F₁: Kış performansı açısından oldukça başarılı olan, erken ve geç dikime uygun, meyve çatlaması yönünden diğer çeşitlere kıyasla oldukça toleranslı, güçlü bitki yapısı, meyve rengi parlak kırmızı, meyvesi uniform, kalın etli ve sert ve meyve uzunluğu yaklaşık 17-20 cm olan kapy biber çeşididir.

Demrisa F₁: Uniform meyve yapısı, hasat zamanında yeşil ve kırmızı renkte hasata uygun, kırmızı ve uzun meyve, raf ömrü uzun, kısa boğumlu, yüksek verime sahip, sıcak sezonda yüksek meyve tutumu, güçlü bitki yapısı, kış döneminde yüksek performans gösteren ve bahar yenilenmesi olan piyasada önemli bir çeşit haline gelmiş kapy biber çeşididir. Ayrıca spotted wilt virüsünde '0' ırkına dayanıklı olması sebebiyle de sofralık biber ihtiyacı için ve özellikle ilaç maliyetlerini azaltmak amacı ile tercih edilebilecek bir kapy biber çeşididir.

3.2. Metot

3.2.1. Donör bitkilerin yetiştirme koşulları

Topraksız yetiştiricilikte önemli bir yere sahip olan kokopit, hem geri dönüşüm hem de gübreleme, sulama ve işçilik açısından oldukça tasarruflu olması sebebiyle

tercih edilen bir yetiştirme ortamıdır. Ayrıca yetiştiricilikte kokopitin verim üzerine etkilerinin olumlu olduğu bilinmektedir. Çalışmada da kullanılmış olan donör bitkiler güz sezonunda tam kontrollü sera koşullarında kokopit ortamında yetiştirilmiştir.

Sera koşullarında kullanılmış olan tüm bitkilerin periyodik olarak tüm bakım ve kontrolleri yapılmıştır. Bununla birlikte özel sektöre ait sera ortamında gübreleme, bakım işlemleri ve ilaç programları da düzenli olarak donör bitkilere uygulanmıştır.

Çizelge 3.1. Donör bitkilerin kültüre alma işlemleri ve denemelerin kurulma tarihleri

	Tohum Ekimi	Fide Dikimi	Tomurcuk Alma Zamanı
Denemelerin Kurulma Tarihleri	23.07.2020	28.08.2020	15.09.2020-15.10.2020

Çalışmada kullanılmış olan çeşitlerin her birinden 25 adet tohum ekimi viollerde gerçekleştirilmiştir. Fide aşamasına geldiğinde çeşitlerin çimlenme oranları hesaplanmıştır. Fide aşamasına gelmiş olan her çeşitten fide dikimi gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Genel laboratuvar ekipmanı ve sterilizasyon işlemleri

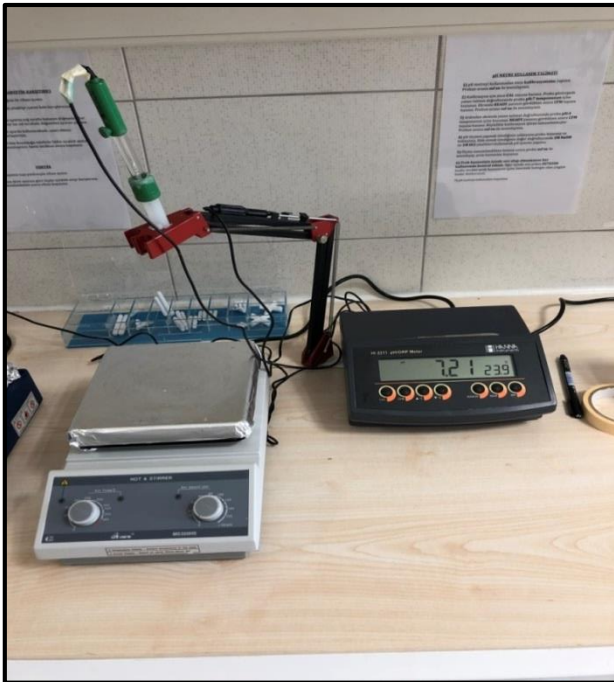
Çalışmada anter kültürü ve shed mikrospor kültür ortamları için hazırlanmış olan besin ortamlarını muhafaza edebilmek amacı ile farklı büyüklükte sterilizasyonu yapılmış steril petri kapları kullanılmıştır. Kullanılan besin ortamları hazırlanırken, pH metre, manyetik karıştırıcı, beher ve mezürler kullanılmıştır. Araştırmada laboratuvar ortamında kullanılmış olan kurutma kağıdı, pensler, petriler, bistüriler, cam kavanoz, mikro pipet uçları ve beher gibi gerekli olan malzemelerin sterilizasyonunun sağlanması için 20 dakika boyunca 121°C sıcaklıkta ve basıncın 1.2 kg/ cm² olduğu otoklav cihazında gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Otoklav cihazında sterilizasyonu gerçekleştirilemeyen streç film, asetat kalem, tomurcukların yer aldığı falkon tüpleri, havlu peçete gibi çalışmada kabinde kullanılması gereken malzemelerin yüzey sterilizasyonu %70'lik etil alkol ile sağlanmıştır. Kabinde kültüre alma işlemi gerçekleşmeden önce steril kabinin içi %70'lik etil alkol ile silinip ardından 20 dakika boyunca da UV ışık ile sterilizasyonu gerçekleştirilmiştir. UV ışık işlemi aynı şekilde otoklavdan çıkan malzemelere ve hazırlanmış olan besin ortamları hariç diğer ekipmanlara da uygulanmıştır.

Shed-mikrospor kültüründe ve anter kültürü işlemi sırasında anterler 6 cm çapına ait steril petrilere konulmuştur. Çalışmada mikrospor aşamalarını belirlemek amacı ile lamel, distile su, lam ve laboratuvar mikroskobundan destek alınmıştır. Anter kültürü işlemi sırasında tomurcukların içerisinde yer alan anterler, 15 cm uzunluğunda olan pens ile 3 numaralı olan bistüri ve 11 numaralı bistüri ucu yardımıyla çıkarılarak kültüre alınmıştır. Bu işlemler sırasında kullanılan bistüri ve penslerin sterilizasyonu

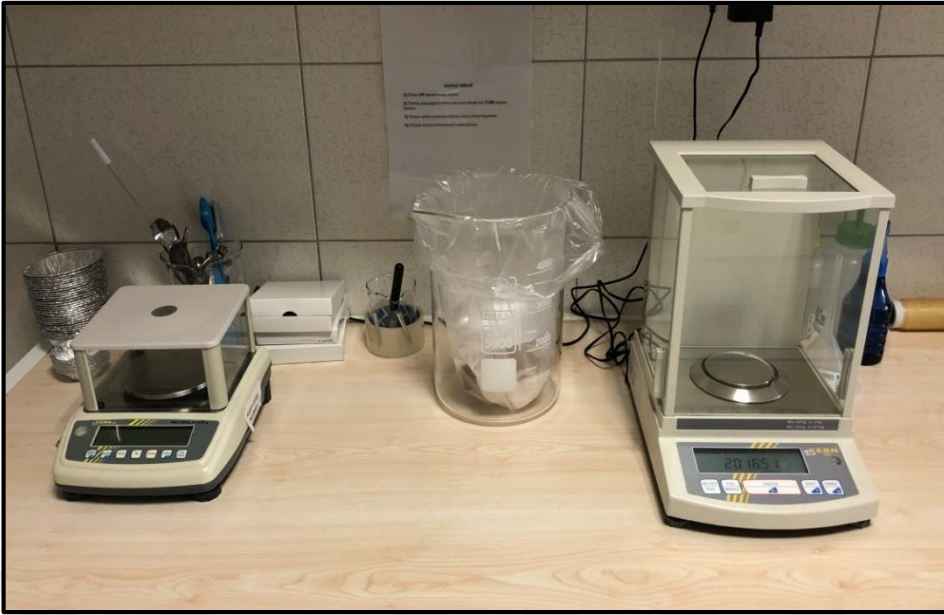
için her kullanımdan sonra ısısı yüksek olan cam boncuk sterilizasyonu aletinde bekletilmiştir. Otomatik pipet ile kültüre alma işlemi tamamlanmış olan petrilere sıvı ortamlar eklenmiştir. Ardından petrilere streç film ile sarılarak hem hava almasının önüne geçilmiş hem de inkübasyon ortamı lenmeye çalışılmıştır.



şekil 3.1. Sterilizasyon işlemlerinin gerçekleştiği otoklav



şekil 3.2. PH metreden bir görüntü



Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan hassas terazilerden bir görüntü



Şekil 3.4. Mikrospor aşaması belirlemede kullanılan mikroskop

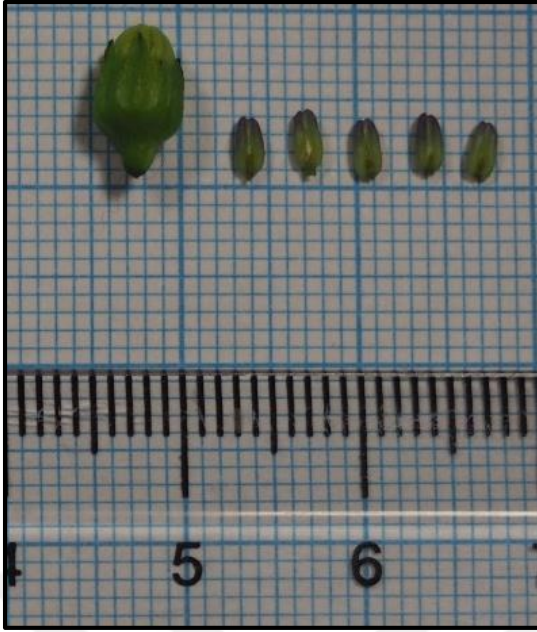


Şekil 3.5. Pens ve bistürü sterilizasyon için kullanılan cam boncuk sterilizatörü

3.2.3. Uygun anterlerin seçimi ve tomurcukların alınma evresi

Kültüre alınan anterlerin bulunduğu gelişme aşaması haploid embriyo elde edilmesini etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Bunun için en uygun aşama, mikrosporların tek çekirdekli aşamanın sonunda veya iki çekirdekli aşamanın başında olduğu (I. mitoz bölünmesinin başladığı) dönemdir. Daha önce yapılan çalışmalarda biber çiçek tomurcuklarında, çanak yaprak ve taç yaprak boylarının eşit olduğu veya taç yaprakların çanak yapraklardan biraz daha uzun olduğu, anterlerin yaklaşık 1/4 oranında antosiyanin oluşumunun görüldüğü gelişme aşamasında mikrosporların I. mitoz aşamasında olduğu bildirilmiştir (Chambonnet, 1988). Çalışmamızda da mikrosporların tek çekirdekli aşamanın sonunda veya iki çekirdekli aşamanın başında olduğu aşamadaki anterleri içeren tomurcuklar toplanmıştır.

Denemede tomurcuklar morfolojik görünümüne göre (taç yaprakların çanak yaprakları geçmeye başlamasından tomurcuk patlamasına yakın olan evreye uygun tomurcuk büyüklükleri) toplanmıştır. Toplanan tomurcukların anterlerindeki mikrospor oluşum aşamaları belirlenmiştir. Uygun aşamadaki anterler soluk yeşil ve kenarlarından uç kısma doğru açık mavidir. Çalışmada denenen bütün ortamlar için bahsedilen mikrospor aşamasındaki anterler kullanılmıştır.



Şekil 3.6. Morfolojik olarak uygun anter aşaması

3.2.4. Anter ve shed mikrospor kültüründe kullanılacak tomurcukların sterilizasyonu

Uygun gelişme döneminde mikrosporları bulunduran anterlere sahip çiçek tomurcukları, %10' luk sodyum hipoklorid (NaOCl) çözeltisi içinde 10 dakika süreyle dezenfekte edilmiş, daha sonra 3 kez steril distile su ile durulanmıştır.

3.2.5. Besi ortamları, anterlerin tomurcuktan uzaklaştırılması, anterlerin kültüre alınması, inkübasyon koşulları

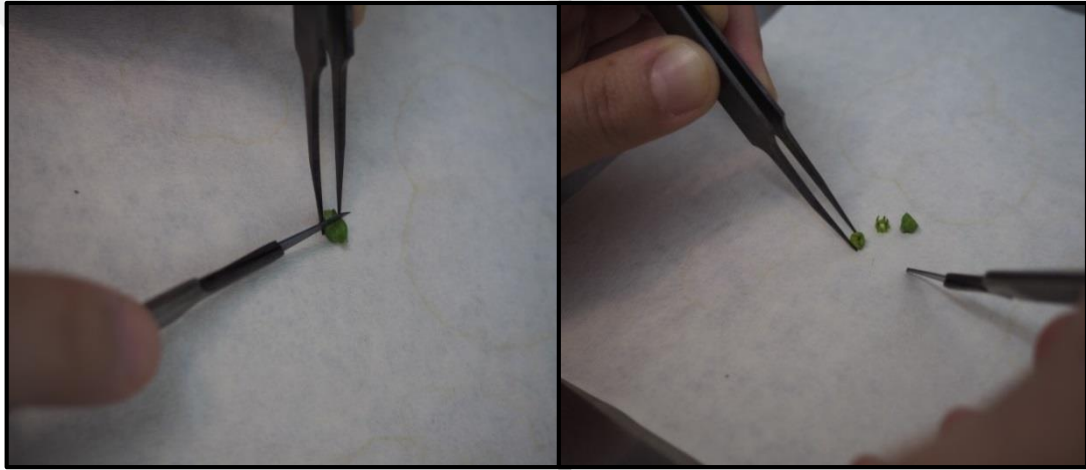
Çalışmada anter kültürü (P1) ve 2 farklı shed mikrospor kültürü (P2 ve P3) besi ortamı olarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılmış olan besi ortamları

P1	MS ortamı + 4mg/l NAA+ 0,5 mg/l BAP + % 0,25 aktif kömür + 30 g/l sükroz + 15 mg/l AgNO ₃
P2	Sıvı: Nitsch ortamı + 2,5 µm/l Zeatin + 5 µm/l IAA + 20 g/l maltoz Katı: Nitsch ortamı + % 1 aktif kömür + 20 g/l maltoz
P3	Sıvı: MS + 0,1 mg/l Kinetin + 0,004 mg/l 2,4-D + 30 g/l sükroz Katı: MS + 0,1 mg/l Kinetin + 0,004mg/l 2,4-D + 30 g/l sükroz + % 0,5 aktif kömür

Anterlerde oluşan embriyoların bitkiye dönüşümlerinin sağlanması için hormon içermeyen 30 g/l sakkaroz içeren MS ortamı kullanılmıştır. Ortam hazırlanırken bütün kimyasallar eklendikten sonra ortamların pH'sı 1 M'lik HCl ve 1 M'lik KOH kullanılarak 5.8 olarak ayarlanmıştır (Şekil 3.2). Katı ortamlarda katılaştırıcı olarak 7 g/l agar kullanılmıştır. Hazırlanan ortamlar 121°C sıcaklık ve 1.2 kg/cm² basınç altındaki otoklavda 20 dakika süre ile steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra steril kabin içerisinde ortamlar steril petrilere dağıtılmıştır.

Yüzey sterilizasyon işlemi tamamlandıktan sonra otoklavda sterilizasyon işlemi tamamlanan kurutma kağıtlarının üzerine çiçek tomurcukları alınarak taç yaprak, çanak yaprak ve ovaryumu çıkarılmak üzere alt kısmı kesilmiştir. Ayrılma işleminden sonra ortaya çıkan anterler ve filamentler pens ve bistürü yardımı ile birbirinden ayrılarak dorsal yüzeyi ortamla temas edecek şekilde yerleştirilme işlemi gerçekleştirilmiştir. Deneme desenine bağlı olarak her petriye eşit sayıda olacak şekilde anterler yerleştirilmiştir.



Şekil 3.7. Anterlerin tomurcuklardan uzaklaştırılma işlemi

P1 ortamı için kültüre alınan anterler, karanlıkta 2 gün +35°C'de inkübasyona tabii tutulmuştur. Karanlık inkübasyonuna tabii tutulan petriler daha sonra 16 saat ışık / 8 saat karanlık olan ışık periyodu, 25°C sıcaklık, ortalama 3000 lüks ışık şiddetine sahip iklim odalarında embriyo oluşuncaya kadar bekletilmiştir.



Şekil 3.8. Anter kültürü çalışmasında kullanılan inkubatör

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılmış olan P1 ortamının bileşimi

		mg/l
Makro Elementler (Murashige ve Skoog, 1962)	KNO ₃	1900
	NH ₄ NO ₃	1650
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
	KH ₂ PO ₄	170
Mikro Elementler (Murashige ve Skoog, 1962)	KI	0.83
	H ₃ BO ₃	6.2
	MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8

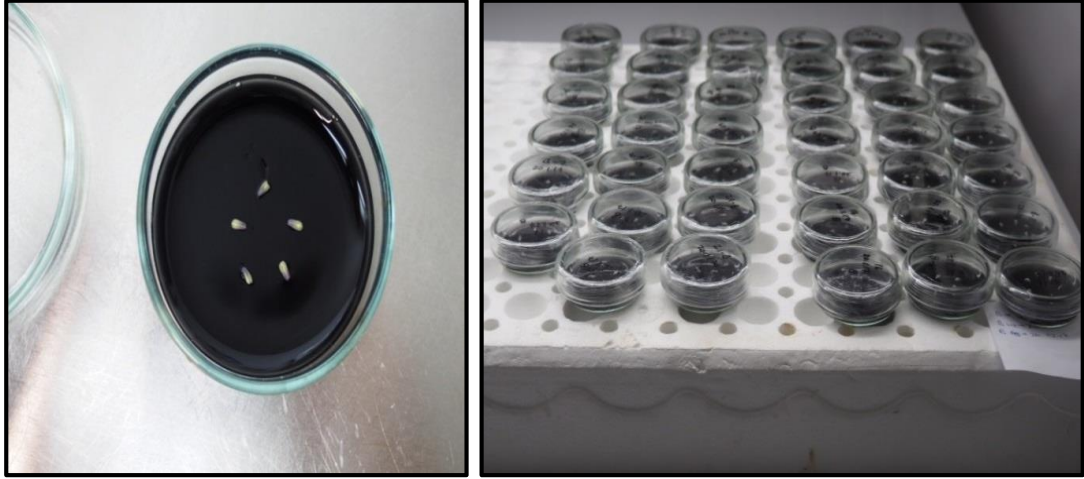
Çizelge 3.3'ün devamı

Mikro Elementler (Murashige ve Skoog, 1962)	Na ₂ EDTA	37.3
Bitki Büyüme	NAA	4
Düzenleyiciler	BAP	0.5
Diğer Maddeler	Aktif Kömür	2500
	Sükroz	15
	Agar	8000
Vitaminler (Murashige ve Skoog, 1962)	Pyrodoxine HCl	0.5
	Glycine	2.0
	Nicotinic Acid	0.5
	Thiamine-HCl	0.1
	Myo-inositol	100

Çalışmada shed mikrospor yönteminde kullanılmak için P2 ve P3 olmak üzere 2 farklı ortam hazırlanmış ve mikrosporlar bu ortamlara yerleştirilmiştir.

P2 ortamı için kültüre alınan anterler, +4°C'de 7 gün karanlığa tabii tutulmuştur. Daha sonra embriyo oluşuncaya dek 28°C'de karanlıkta bekletilmiştir.

P3 ortamı için kültüre alınan anterler, 2 gün +35°C'de inkübasyona tabii tutulmuştur. Daha sonra embriyo oluşuncaya dek 28°C'de karanlıkta bekletilmiştir. Anterlerdeki değişimleri gözleyebilmek adına anterler mikroskop altında görüntülenmiştir.



Şekil 3.9. Anterlerin besi ortamlarına aktarıldıktan sonra iklim odalarında bekletilme aşaması

Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılmış olan P2 ortamının bileşimi

		mg/l
	KNO ₃	950
	NH ₄ NO ₃	720
Makro Elementler (Nitsch ve Nitsch 1969)	MgSO ₄ .7H ₂ O	185
	CaCl ₂ .2H ₂ O	220
	KH ₂ PO ₄	68
	MnSO ₄ .4H ₂ O	25
	H ₃ BO ₃	10
Mikro Elementler (Nitsch ve Nitsch 1969)	ZnSO ₄ .7H ₂ O	10
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
	Na ₂ EDTA	37.3

Çizelge 3.4.'ün devamı

	Nikotinic asit	5
	Pridoksin-HCl	0.5
	Thiamin-HCl	0.5
Vitaminler (Nitsch ve Nitsch 1969)	Biotin	0.05
	Folik Asit	0.5
	Myo-inositol	100
	Glisin	2
	Zeatin	2,5 µM
Büyümeyi Düzenleyiciler	IAA	5 µM
Karbonhidratlar	Maltoz	20 g/l
	Agar	8000
Diğer Maddeler	Aktif Kömür	2500

Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılmış olan P3 ortamının bileşimi

		mg/l
	KNO ₃	1.900
	NH ₄ NO ₃	1.650
Makro Elementler (Nitsch ve Nitsch 1969)	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440
	KH ₂ PO ₄	170

Çizelge 3.5.'in devamı

	KI	0.83
	MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3
	H ₃ BO ₃	6.2
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
Mikro Elementler (Nitsch ve Nitsch 1969)	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
	Na ₂ EDTA	37.3
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
Vitaminler (Nitsch ve Nitsch 1969)	Nikotinik asit	0.5
	Pridoksin-HCl	0.5
	Thiamin-HCl	0.1
	Glisin	2
	Myo-inositol	100
	Kinetin	0.1 mg
Büyümeyi Düzenleyiciler	2,4-D	0.004 mg
Karbonhidratlar	Sükroz	30000 mg
	Agar	8000 mg
Diğer Maddeler	Aktif Kömür	5000 mg

3.2.6. Embriyo ortamı

Embriyo gelişimi gözlemlendikten sonra, oluşan embriyolar anterden ayrılıp hormon içermeyen MS ortamına aktarılmıştır. Petriler 16 saat ışık / 8 saat karanlık olan ışık periyodu, 25°C sıcaklık, ortalama 3000 lüks ışık şiddetine sahip iklim odalarında bitki gelişimi gözlenene dek bekletilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Mikrosporlardan meydana gelen embriyo miktarı; türlere göre değişiklik göstermekle birlikte aynı zamanda türler arasında genotipler bakımından da farklılık gösterir. Aynı kültür koşullarında yapılan anter ve mikrospor kültürü çalışmalarında kullanılmış olan bitki türlerinde elde edilen sonuçlara göre genotipler arasında ciddi oranda farklılıklar olduğu saptanmıştır.

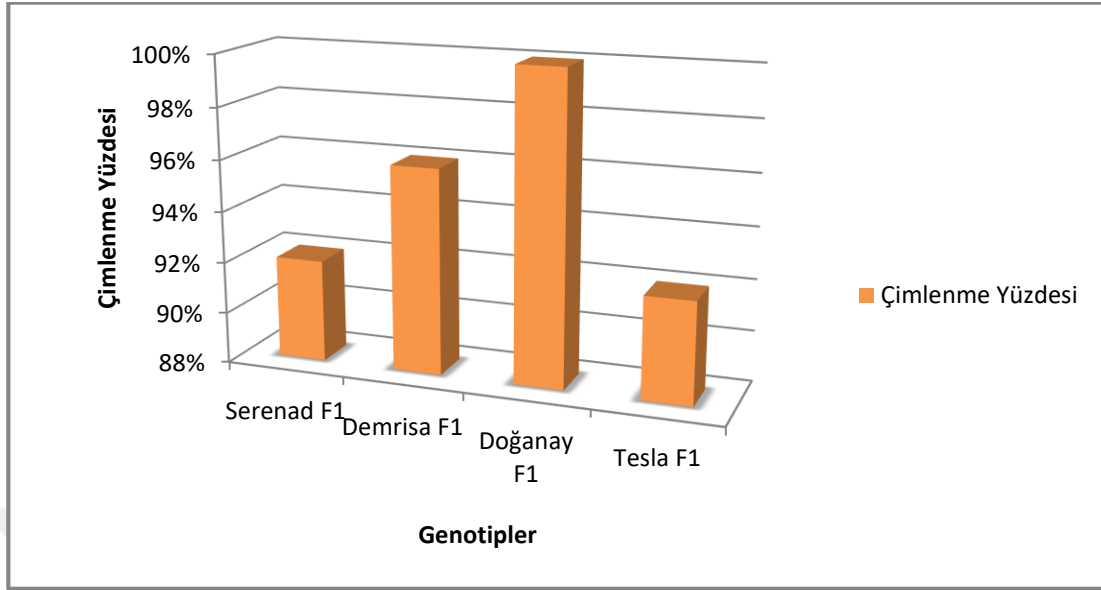
4.1. Tohum çimlenme yüzdesi sonuçları

Çalışmada 2 farklı biber tipine ait ikişer genotip kullanılmıştır. Bu genotipler agronomik yönden üstün özelliklere sahip olan çeşitler arasından dolma biber tipinden Doğanay F₁ ve Tesla F₁, kapa biber tipinden Serenad F₁ ve Demrisa F₁ seçilmiştir.

Kullanılan genotiplerin her birinden 25 adet tohum ekimi viyollerde gerçekleştirilmiştir. Fide aşamasına geldiğinde çeşitlerin çimlenme oranlarının %92 ve üzeri olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Fide aşamasına gelmiş olan her çeşitten aşağıdaki tabloda belirtilen miktarda fide dikimi gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılmış çeşitlerin fide miktarları ve çimlenme yüzdeleri

Çeşitler	Ekimi Gerçekleştirilen Tohum Miktarı	Çimlenmiş Fide Adedi	Çimlenme Yüzdesi
Serenad F ₁	25 adet	23 adet	%92
Demrisa F ₁	25 adet	24 adet	%96
Doğanay F ₁	25 adet	25 adet	%100
Tesla F ₁	25 adet	23 adet	%92

Çizelge 4.2. Donör bitkilerin çimlenme yüzdeleri

4.2. P1 anter kültürü ortamından elde edilen sonuçlar

Çalışmada anter kültürü için Büyükalaca vd. (2004)'de başarılı olduğu saptanan 4 mg/l NAA, 0,5 mg/l BA hormonları, % 3 sukroz, % 0,8 agar ve % 0,25 aktif kömür ilave edilmiş Murashige ve Skoog (1962) hazır besi ortamının Kapyra ve Dolma biber tiplerindeki etkisi incelenmiştir.

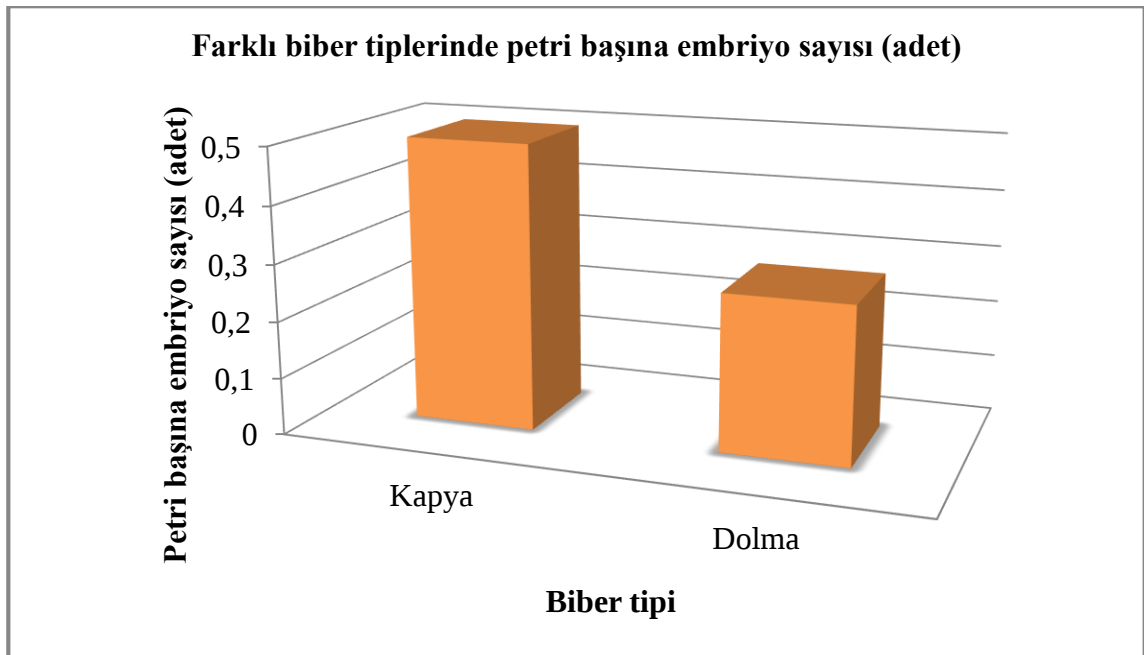
Büyükalaca vd. (2004)'de geliştirdikleri ve başarılı oldukları protokole uygun olarak, kültüre alınan petriler 35°C'de 2 gün boyunca karanlık ortam koşullarında bekletilerek sıcaklık ön uygulaması işlemine tabi tutulmuş ve 2. günün sonunda 25°C'de 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyot ve 3000 lüks aydınlatmaya sahip olan büyüme odasına transfer edilmiştir.

Çalışmada farklı 2 biber tipinden ikişer farklı genotip kullanılmıştır. Her bir genotipten 20'şer petri olacak şekilde deneme deseni oluşturulmuştur. Haftalık olarak gözlemleri yapılan petrilerin kültüre alındıktan 6 hafta sonra embriyo oluşumu başlamıştır. Besin ortamına embriyo aktarım işlemi yapıldıktan 40 gün sonra Serenad F₁ çeşidinden ilk bitki gelişimi gözlemlenmiştir (EK-1). Araştırma sonucunda anter kültürü çalışmasında ekim işlemi yapıldıktan sonra 1,5 ve 4 ay arasında yeni bitkicikler elde edildiği gözlemlenmiştir. Çeşitlerin anter kültürüne verdikleri tepkileri bakımından elde edilen sonuçlar çizelge 4.3'te sunulmuştur.

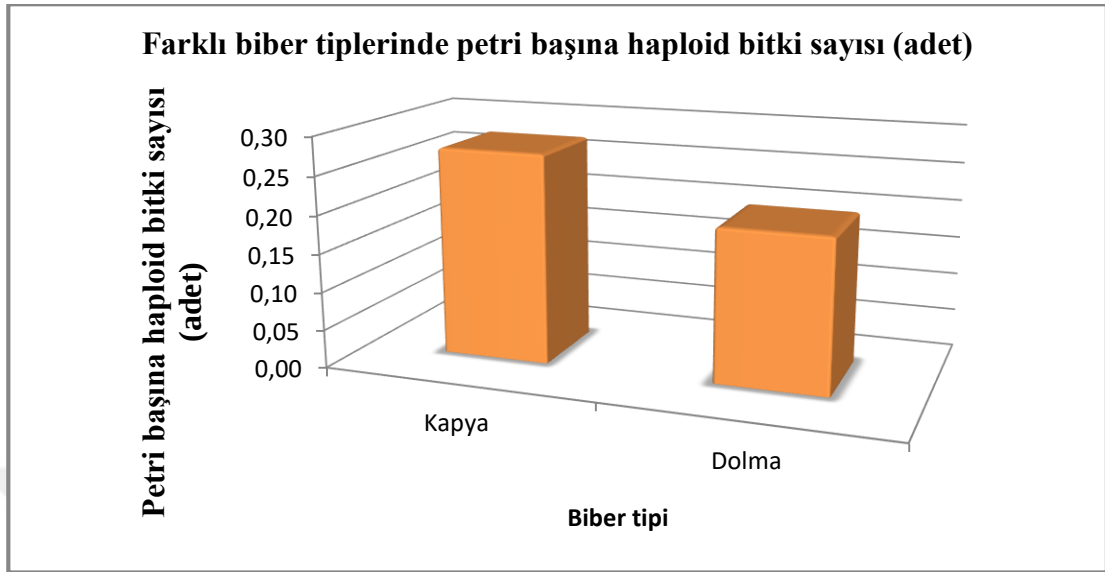
Çizelge 4.3. P1 ortamına ait sonuçlar

Çeşit İsmi	Tip	Petri sayısı (adet)	Toplam anter sayısı (adet)	Embriyo sayısı (adet)	Petri başına embriyo sayısı (adet)	Haploid bitki sayısı (adet)	Petri başına haploid bitki sayısı (adet)
Serenad F₁	Kapya	20	100	10	0,5	8	0,4
Demrisa F₁	Kapya	20	100	10	0,5	3	0,15
Doğanay F₁	Dolma	20	100	5	0,25	4	0,2
Tesla F₁	Dolma	20	100	6	0,3	4	0,2

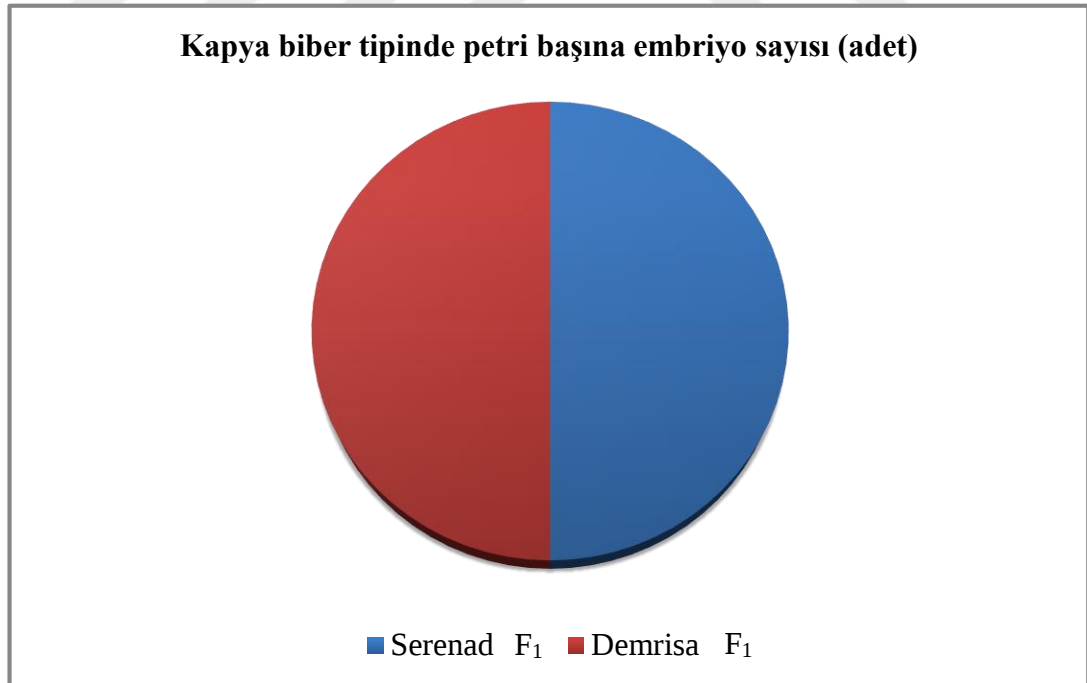
Çizelge 4.3.'te görüldüğü gibi anter kültürü çalışmasında her bir çeşit için 100 adet anter kültüre alınmıştır. Kültüre alınan anterlerde kontaminasyon gözlenmemiş olup, tüm anterlerde gelişim saptanmıştır.

Çizelge 4.4. P1 ortamına ait kapya ve dolma çeşitlerinde petri başına embriyo sayısı (adet)

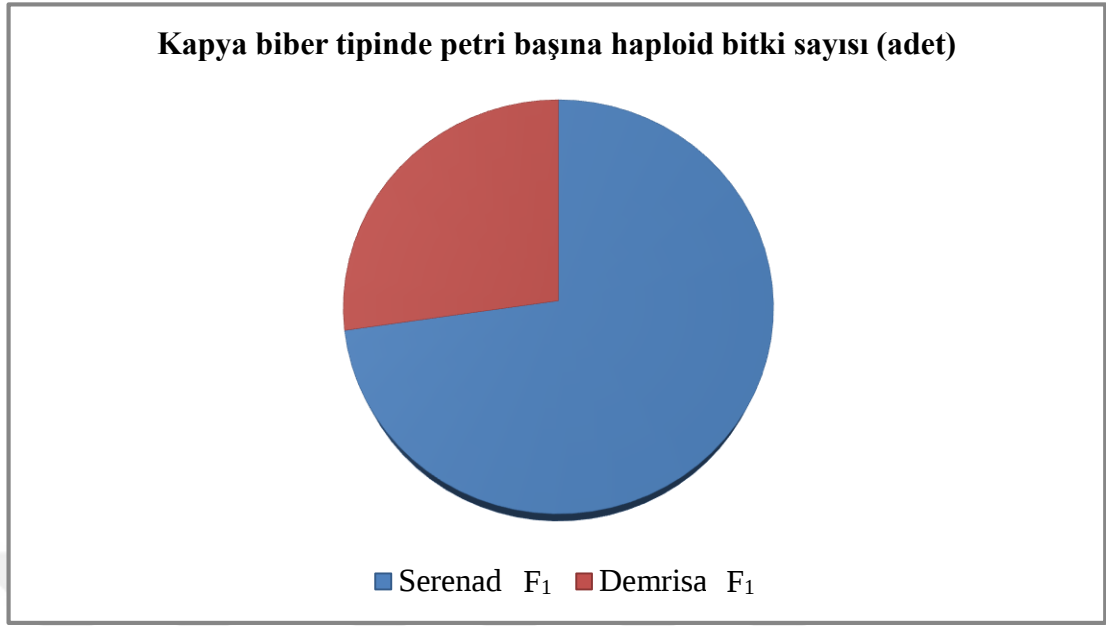
Çizelge 4.5. P1 ortamına ait kapy ve dolma çeşitlerinde petri başına haploid bitki sayısı (adet)



Anter kültürü çalışmalarında yapılan gözlemler sonucunda, Kapy biber tipi petri başına hem embriyo hem de haploid bitki oluşum oranı bakımından Dolma biber tipine göre daha yüksek yanıt vermiştir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5).



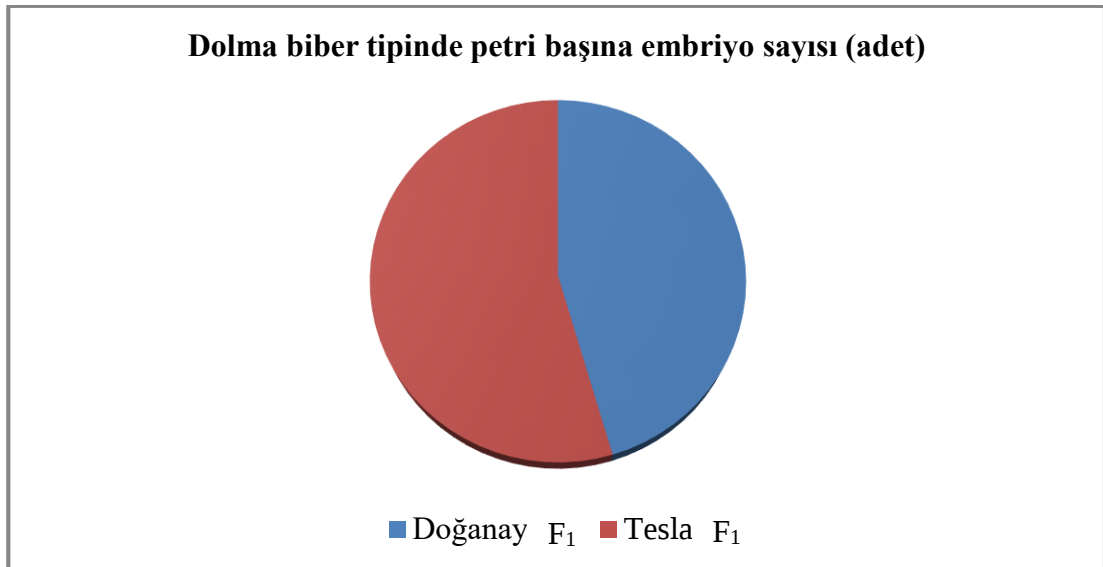
Şekil 4.1. P1 ortamına ait kapy biber tipinde petri başına embriyo sayısı (adet)



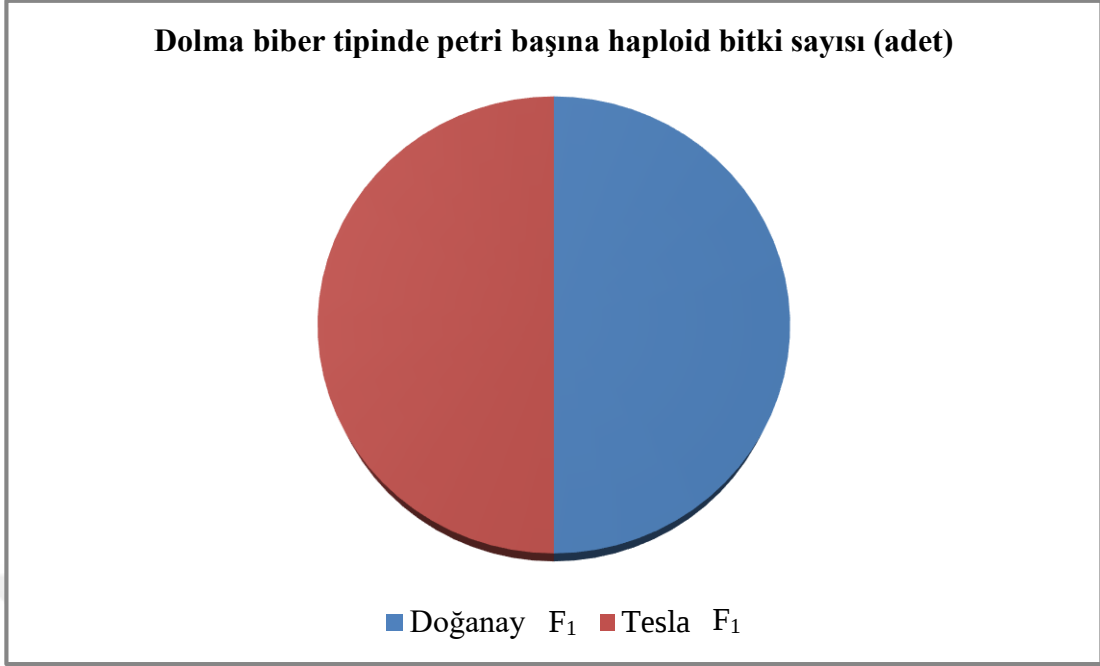
Şekil 4.2. P1 ortamına ait kapy biber tipinde petri başına haploid bitki sayısı (adet)

Kapya biber tipinde Serenad F₁ ve Demrisa F₁ çeşitleri karşılaştırıldığında; anter kültürüne embriyo oluşum bakımından her iki çeşidin aynı oranda yanıt verdiği; haploid bitki eldesi bakımından ise en iyi yanıtın Serenad F₁'e ait olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).

Dolma biber tipinde Doğanay F₁ ve Tesla F₁ çeşitleri karşılaştırıldığında; anter kültürüne embriyo oluşum bakımından en iyi yanıtı veren genotip Tesla F₁ iken; haploid bitki eldesi bakımından ise Doğanay F₁ ve Tesla F₁ aynı oranda yanıt vermiştir (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).



Şekil 4.3. P1 ortamına ait dolma biber tipinde petri başına embriyo sayısı (adet)



Şekil 4.4. P1 ortamına ait dolma biber tipinde petri başına haploid sayısı (adet)

4.3. P2 shed mikrospor kültürü ortamından elde edilen sonuçlar

Çizelge 4.6. P2 ortamına ait sonuçlar

Çeşit İsmi	Tip	Petri sayısı (adet)	Toplam anter sayısı (adet)	Embriyo sayısı (adet)	Petri başına embriyo sayısı (adet)	Haploid bitki sayısı (adet)	Petri başına haploid bitki sayısı (adet)
Serenad F ₁	Kapya	20	100	0	0	0	0
Demrisa F ₁	Kapya	20	100	0	0	0	0
Doğanay F ₁	Dolma	20	100	0	0	0	0
Tesla F ₁	Dolma	20	100	0	0	0	0

Çalışmada farklı 2 biber tipinden ikişer farklı genotip kullanılmıştır. Her bir genotipten 20'şer petri olacak şekilde deneme deseni oluşturulmuştur. Haftalık olarak

gözlemler gerçekleştirilmiştir. Ancak Supena vd. (2006a)'da başarılı olduğu shed mikrospor yönteminde yapmış olduğumuz çalışmadaki P2 ortamında dolma biber ve kapy a biber tiplerine ait embriyo ve haploid bitki oluşumu elde edilememiştir (Çizelge 4.6).

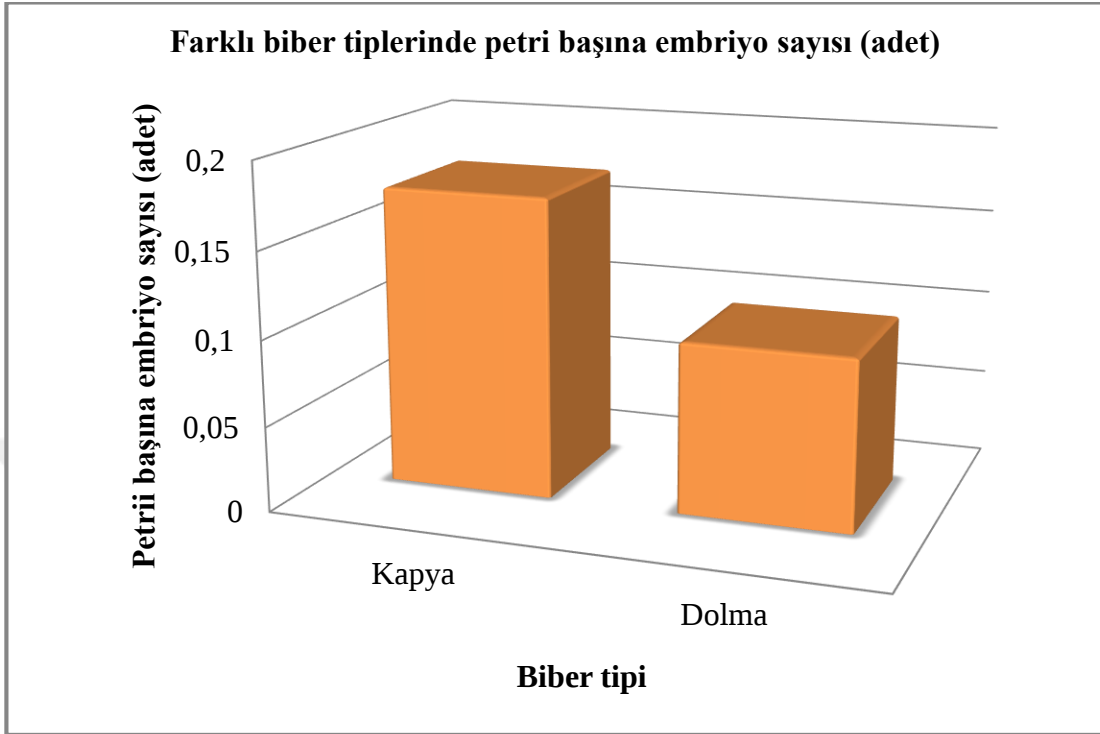
4.4. P3 shed mikrospor kültürü ortamından elde edilen sonuçlar

Çizelge 4.7. P3 ortamına ait sonuçlar

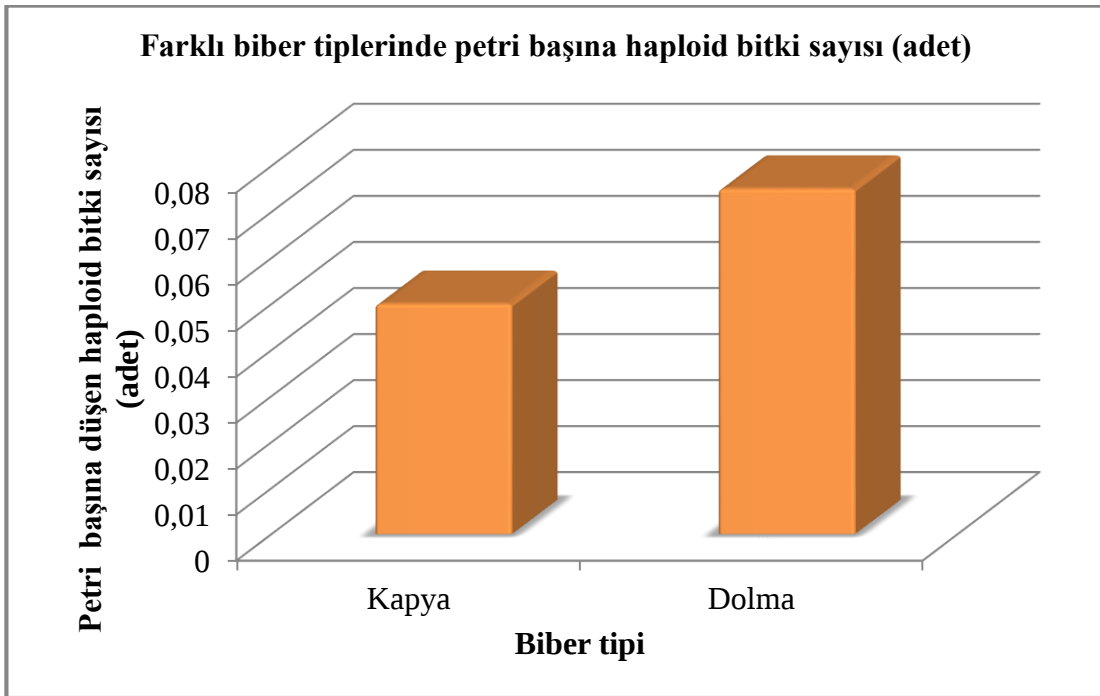
Çeşit İsmi	Tip	Petri sayısı (adet)	Toplam anter sayısı (adet)	Embriyo sayısı (adet)	Petri başına embriyo sayısı (adet)	Haploid bitki sayısı (adet)	Petri başına haploid bitki sayısı (adet)
Serenad F₁	Kapya	20	100	2	0	0	0
Demrisa F₁	Kapya	20	100	5	0	2	0
Doğanay F₁	Dolma	20	100	0	0	0	0
Tesla F₁	Dolma	20	100	4	0	3	0

Çizelge 4.7'de görüldüğü gibi shed mikrospor kültürü çalışmasında her bir çeşit için 100 adet anter kültüre alınarak 20'şer adet petrilerde kültüre alma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kültüre alınan anterlerde kapy a biber Serenad F₁ çeşidinden P3 ortamında haploid bitki elde edilememiştir. Dolma biber Tesla F₁ çeşidinden ise P3 ortamında hem embriyo hem de haploid bitki eldesi olumsuz sonuçlanmıştır.

Çizelge 4.8. P3 ortamına ait farklı biber tiplerinde petri başına embriyo sayısı (adet)

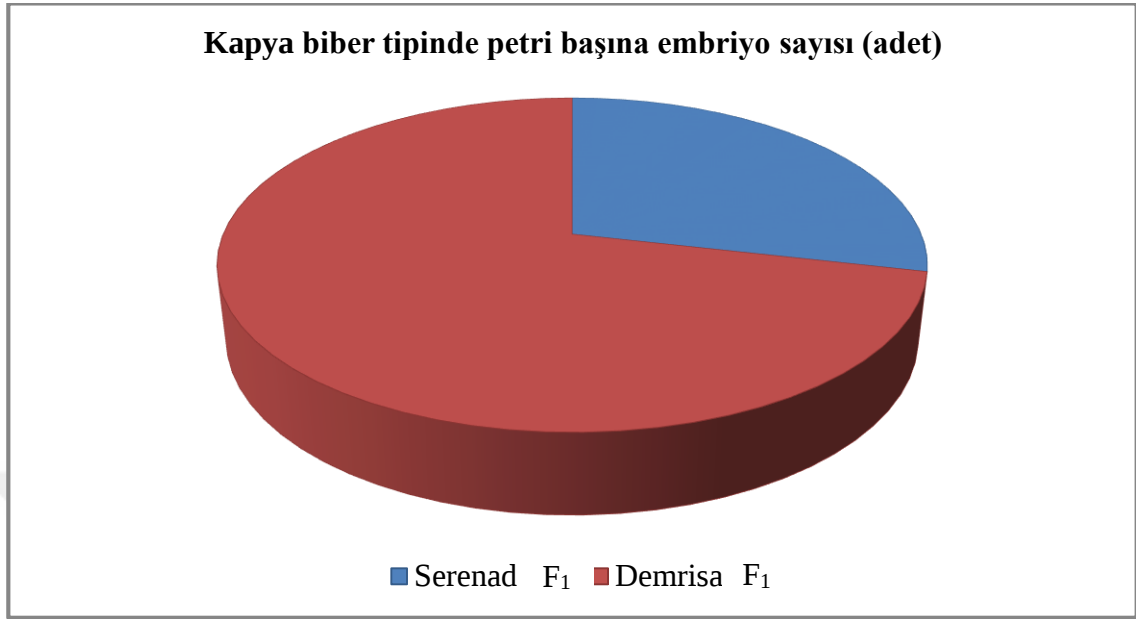


Çizelge 4.9. P3 ortamına ait farklı biber tiplerinde petri başına haploid bitki sayısı (adet)

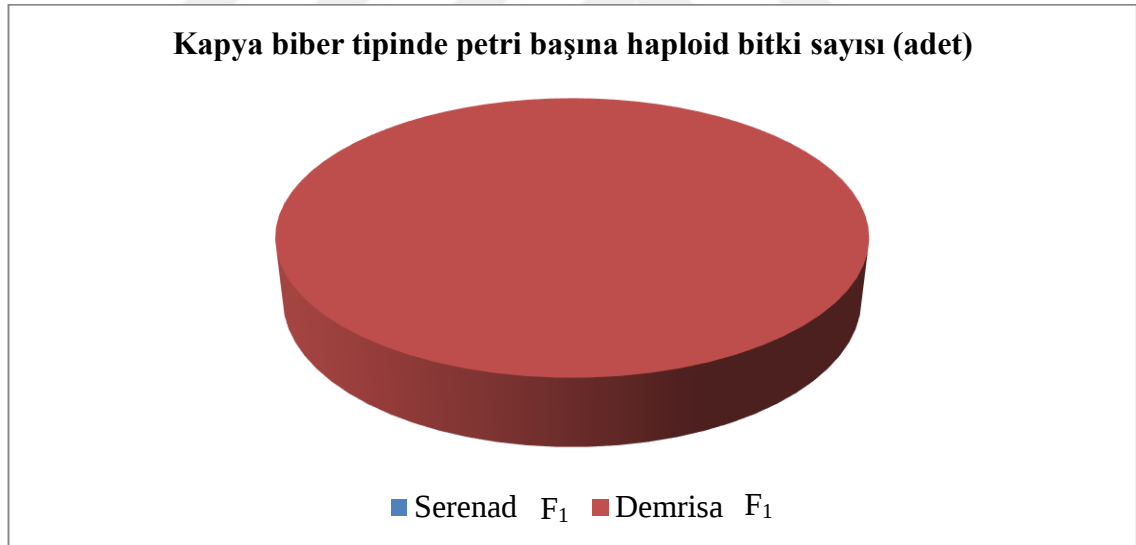


Shed mikrospor kültürü çalışmalarında yapılan gözlemler sonucunda, Kapya biber tipi Dolma biber tipine göre petri başına embriyo oranında daha yüksek yanıt

verirken, Dolma biber tipi ise petri başına haploid bitki oluşum oranı bakımından Kapya biber tipine göre daha yüksek yanıt vermiştir (Çizelge 4.9).

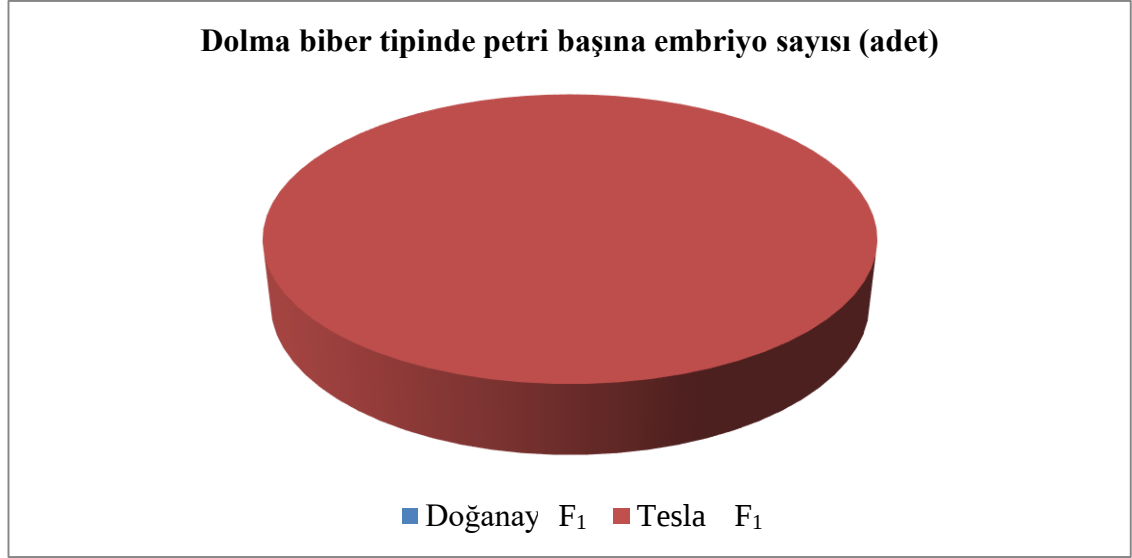


Şekil 4.5. P3 ortamına ait kapya biber tipinde petri başına embriyo sayısı (adet)

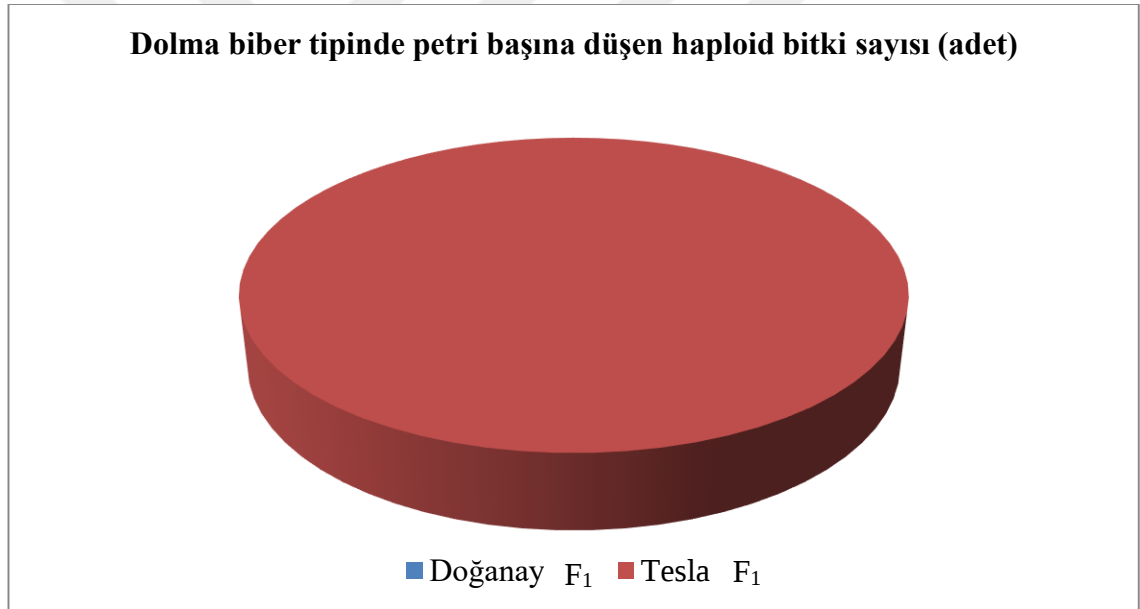


Şekil 4.6. P3 ortamına ait kapya biber tipinde petri başına haploid bitki sayısı (adet)

Kapya biber tipinde Serenad F₁ ve Demrisa F₁ çeşitleri karşılaştırıldığında; P3 shed mikrospor kültüründe hem embriyo hem de haploid bitki oluşum oranı bakımından en iyi yanıtın Demrisa F₁'e ait olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6)



Şekil 4.7. P3 ortamına ait dolma biber tipinde petri başına embriyo sayısı (adet)



Şekil 4.8. P3 ortamına ait dolma biber tipinde petri başına düşen haploid bitki sayısı (adet)

Dolma biber tipinde Doğanay F₁ ve Tesla F₁ çeşitleri karşılaştırıldığında; P3 shed mikrospor kültüründe hem embriyo hem de haploid bitki oluşum oranı bakımından en iyi yanıtın Tesla F₁'e ait olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8).

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada bitki ıslahında agronomik yönden çok önemli olan biber (*Capsicum annuum* L.) bitkisine ait iki farklı biber tipi olan kapy ve dolma biber tiplerinden ikişer farklı çeşidin anter ve shed mikrospor kültürlerine yanıtları araştırılmıştır. Kapy biber tipinden Serenad F₁ ve Demrisa F₁, dolma biber tipinden Doğanay F₁ ve Tesla F₁ çeşitlerinin anter kültürü ve P2, P3 shed mikrospor kültürü yöntemlerinden hangisinin haploid embriyo ve haploid bitki elde edilmesinde daha başarılı olduğu saptanmıştır.

Anter kültürüne alınan toplam 400 anterden 100 tanesi Serenad F₁, 100 tanesi Demrisa F₁, 100 tanesi Doğanay F₁ ve 100 tanesi de Tesla F₁ çeşitlerine aittir. Anterlerin besi ortamlarına yerleştirilmesinden 6 hafta sonra ilk embriyo oluşumu Serenad F₁ çeşidinde gözlenmiştir. Bunu takriben sırasıyla Demrisa F₁, Tesla F₁ ve Doğanay F₁ çeşitlerinde embriyo oluşumu meydana gelmiştir. Embriyoların tüplere aktarımından itibaren bitki gelişimi gözlenmeye başlanmıştır (EK-2). Anter kültüründe kapy biber tipinin dolma biber tipine göre haploid embriyo ve haploid bitki eldesi bakımından yanıtının daha iyi olduğu belirlenmiştir.

Araştırmada kullanılan bir diğer yöntem ise shed mikrospor yöntemidir. Bu yöntemde 2 farklı besin ortamı karşılaştırılmıştır. P2 besin ortamına yerleştirilen 400 anterden haploid embriyo ve haploid bitki eldesi gerçekleşmemiştir. P3 ortamında ise her bir çeşit için 100'er anter olmak üzere toplam 400 anter besi ortamına yerleştirilmiş ve kapy biber tipinden Demrisa F₁, dolma biber tipinden ise Tesla F₁ çeşitleri haploid embriyo ve haploid bitki eldesi bakımından en yüksek yanıtları veren genotipler olmuştur. P2 ve P3 ortamları bitki büyüme düzenleyicileri ve inkübasyon koşulları yönünden farklılıklar göstermektedir. P3 ortamında sıcaklık ön uygulaması yapılırken, P2 ortamında ise soğuk ön uygulaması yapılmıştır. P2 ve P3 ortamlarına verilen yanıtlarda ön uygulama ve bitki büyüme düzenleyicilerinin önemli bir rol aldığı saptanmıştır. P3 ortamından kapy biber tipinden toplam 7 embriyo elde edilmiş, bu embriyolardan sadece Demrisa F₁ çeşidinden 2 tanesi haploid bitkiye dönüşmüştür. Dolma biber tipinden Doğanay F₁ çeşidi ise P2 ortamında olduğu gibi shed mikrospor kültürüne hem haploid embriyo hem haploid bitki eldesine olumlu yanıt vermemiştir. P3 ortamından elde edilen haploid embriyoların gelişim süreleri, P1 ortamı ile kıyaslandığında daha yavaş olduğu saptanmıştır. Anterlerin besi ortamlarına yerleştirilmesinden 8 hafta sonra ilk embriyo oluşumu Demrisa F₁ çeşidinde gözlenmiştir. Çalışmadan elde edilen dolma ve kapy biber çeşitlerinin sera ortamında adaptasyonu sağlanmıştır (EK-3, 4, 5).

Yapılan bu çalışma sonucunda, kapy ve dolma biber çeşitlerinde haploid embriyo ve haploid bitki oluşumunda anter kültürü yönteminin shed mikrospor yöntemine göre daha başarılı olduğu saptanmıştır. Anter kültürü ve shed mikrospor kültürlerinde kapy biber tipi dolma biber tipine göre en iyi tepkiyi veren biber tipi olmuştur. Bu çalışma doğrultusunda biberde haploid embriyo ve haploid bitki eldesinin genotipe bağlı olduğu bir kez daha ispatlanmış olup, farklı protokollerde ve farklı biber tiplerinde yapılacak olan araştırmaların yapılması ile uygun protokollerin geliştirilerek ıslah programında yoğun şekilde kullanılması amaçlanmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Akgün, M. 2010. Biber Salçası Üretim Tesisi Sanayi Profili. Sanayi Araştırma ve Geliştirme Genel Müdürlüğü. T.C. Sanayi ve Ticaret Bakanlığı.
- Alremi, F., Taşkın, H., Sönmez, K., Büyükalaca, S. ve Ellialtıoğlu, Ş., 2014, Biber (*Capsicum annuum* L.)’de Genotip ve Besin Ortamının Anter Kültürüne Etkileri. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi* 1(2): 108–116.
- Anonim 1: http://www.tarimkutuphanesi.com/biber_yetistiriciligi_00026.html [Son erişim tarihi: 08.07.2021].
- Anonim 2, 3, 4, 5: <http://www.tuik.gov.tr> [Son erişim tarihi: 08.07.2021].
- Anonymous 1: <http://www.fao.com> [Son erişim tarihi: 08.07.2021].
- Anonymous 2: <https://www.plantcelltechnology.com/blog/production-of-haploids-from-microspore-culture/> [Son erişim tarihi: 08.07.2021].
- Andersen, S.B. and Kristiansen, K. 1993. Effects of donor plant temperature, photoperiod and age on anther culture response of *Capsicum annuum* L. *Euphytica*, 67: 105109.
- Andrews, J., 1985, Peppers. The Domesticated Capsicum. University of Texas Pres, Box 7819 Austin, Texas 78713.
- Ata, A., 2011, Biberlerde (*Capsicum annuum* L.) anter kültüründe mevsim etkisi ve mikrospor gelişimi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 89.
- Aybak, Ç.H. 2007. Hasad Yayıncılık Ltd.Şti.
- Bajaj, 1990. Y.P.S. Bajaj, In vitro production of haploids and their use in cellgenetics and plant breeding, Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 12, Haploids in Crop Improvement I (1990) pp. 372–380.
- Balkaya, A., 2008. Sebzelerde Çeşit Geliştirme Teknikleri, *Tarım Türk Dergisi*, Yıl:3, Sayı:14, Kasım-Aralık.
- Basu SK, De AK, 2003. Capsicum: historical and botanical perspectives. (Edited by A.K. De) Capsicum, The Genus Capsicum. Taylor&FrancisLtd. London, 1-16.
- Büyükalaca, S., Çömlekçioğlu, N., Abak, K., Ekbiç, E. and Kılıç, 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): 206209.

- Chambonnet, D., 1988. Production of Haploid pepper plants. Bulletin Interne de la Station d'Amélioration des Plantes Maraichères d'Avignon-Montfavet, 1- 10.
- Dumas De Vault, R., Chambonnet, D., Pochard, E. 1981. In vitro culture of pepper (*Capsicum annuum* L.) Anthers: high rate plant production from different genotypes by +35°C treatments. *Agronomie*, 1(10): 859-864.
- Ellialtıoğlu, Ş., Sarı, N., Abak, K. 2000. Haploid Bitki Üretimi. (Bitki Biyoteknolojisi Cilt:I, Ed: Babaoğlu, M., Özcan, S., Gürel, E.) 40 s.
- Ellialtıoğlu, Ş., Sarı, N., Abak, K., 2001. Haploid Bitki Üretimi.
- Ercan, N. ve Ayar Şensoy, F. 2011. Androgenic Responses of Different Pepper (*Capsicum annuum* L.) Cultivars. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4(2) : 6961.
- Gönülşen, N., 1987. Bitki doku kültürleri ve uygulama alanları. T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın no: 78, Menemen, İzmir, 137 ss.
- Greenleaf, W.H., 1986. Pepper Breeding. *Breeding Vegetable Crops*. A.V.I., 67-127.
- Heiser, C.B.J.R., 1976. Peppers, In: *Evolution of Crop Plants*. (Edited by N. W. Simmonds, 1986). Longman Sci.& Tech. Report, 265268.
- Hekimoğlu, B. and M. Altındağ, 2009. Samsun İli Kıpça Biber Üretimi. Samsun Tarım İl Müdürlüğü Strateji Geliştirme Birimi.
- Irikova, T., Grozeva, S. and Rodeva, V. 2011. Anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.) in vitro. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33 (5): 1559-1570.
- Kim, M., Kim, J., Yoon, M., Choi, D.I., Lee, K.M. 2004. Origin of multicellular pollen and pollen embryos in cultured anthers of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 77: 63-72.
- Koleva Gudeva, L., Trajkova, F. and Spasenovski, M. 2007. Effectiveness of androgenesis induced in anther culture of pepper (*Capsicum annuum* L.). M-Ch.
- Kurt, M., 2019. Biberde Anter Kültürü Çalışmalarında Farklı Besi Ortamlarının Etkilerinin Araştırılması.Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tohumluk Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı.
- Kurtar, E.S., Balkaya, A., Ozbakır, M., Ofluoglu, T. 2009. Induction of Haploid Embryo and Plant Regeneration Via Irradiated Pollen Technique in Pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex. Poir). *Afr J Bio* 8:5944–5951.

- Matsubara, S., Yamamoto, M., Jo, M.H. and Murakami, K. 1998. Embriyoid and CallusFormation from Microspores by Anther Culture from July to November in Pepper (*Capsicum annuum* L.). Scientific Reports of the Faculty of Agriculture, Okayama University, 87: 117-122.
- Muchena JK, 2009, Studies of capsaicinoids contents of locally grown and commercial chilles using reversed-phase high performance liquid chromatography. East Tennessee State University, Master Thesis.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. Arevised medium forrapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15:473– 49.
- Nitsch ,J.P. and C. Nitsch, 1969. Haploids Plants from Pgrains. *Science* 163:85- 87.
- Oğlakçı, M. ve Tiryaki, İ. 2014. Bitki Islahı ve Genetik. Ankara, 162 s.
- Özsan, T. 2014. Farklı genetik ilerleme seviyesinde bitki kullanımının biber (*Capsicum annuum* L.) anter ve mikrospor kültüründe haploid bitki eldesi üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı, 80 s.
- Parra-Vega, V., Gonzalez-Garcia, B. and Segui-Simarro, J.M. 2013. Morpgological markers to correlate bud and anthere development with microsporogenesis and microgametogenesis in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 35 : 627 - 633.
- Pernezny, K., Roberts, P. D., Murphy J. F., Goldberg, N. P., 2003. Compendium of Pepper Diseases, The American Phytopathological Society, 63.
- Pickersgill, B., 1997. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica* 96:129–133. <https://doi.org/10.1023/A:1002913228101>
- Pierik, R.L.M., 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers,Dordrecht, The Netherlands, 344 pages.
- Pink,D., Bailey, L., McClement, S., Hand, P., Mathas, E., Buchanan - Wollaston, V., Astley, D., King, G., Teakle, G. 2008. Double Haploids, Markers and QTL Analysis in Vegetable Brassicas. *Euphytica*, 164 (2): 509-514.
- Rubio, C., Hardisson, A., Martín, R.E., Báez, A., Martín, M.M. ve Álvarez, R., 2002. Mineral composition of the red and green pepper (*Capsicum annuum* L.) from Tenerife Island. *Eur Food Res Technol*, 214: 501-504.
- Supena, E.D.J., Muswita, W and Suharsono, S. 2006a. Evaluation of crucial factors for implementing shed-microspore culture of Indonesian hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae*, 107: 226-232.

- Supena, E.D.J., Suharsono, S., Jacobsen, E. and Custers, J.B.M. 2006b. Successful development of a shed-microspore culture protocol for doubled haploid production in Indonesian hot pepper (*Capsicum annuum* L.). Plant Cell Rep, 25: 1-10.
- Taşkın, H., 2005, Bazı biber genotiplerinde anter kültürü ile haploid embriyo uyartımında embriyo kalitesinin artırılmasına yönelik bazı uygulamalar. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 79.
- Terzioğlu, Ş., Ellialtıoğlu, Ş., Abak, K. 2000. İnkübasyon Koşullarının Biber Anter Kültüründe Embriyo Oluşumu Üzerine Etkisi. III. Sebze Tarım Sempozyumu, 1113 Eylül 2000, ss. 233-237, Isparta.
- Wang, Y.Y., Sun, C.S., Wang, C.C. ve Chien, N.J., 1973. The induction of polen plantlets of Triticale and *Capsicum annuum* L. from anther culture. Sci. Sin, 16: 147-151.

7. EKLER

EK-1. a) Kotiledon aşamasına sahip embriyodan bir görüntü, b) Tüpe aktarılmış olan embriyodan bir görüntü



EK-2. Tüpe aktarılmış olan embriyodan bir görüntü



EK-3. Sera ortamına adaptasyonu sağlanmış olan bitkilerden bir görüntü



EK-4. Sera ortamına adaptasyonu sağlanmış kapyra biber bitkisine ait görüntü



EK-5. Sera ortamına adaptasyonu sağlanmış dolma biber bitkisine ait görüntü



ÖZGEÇMİŞ

M.Gökçe KANMAZ

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2018 – 2021	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2013-2017	Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Ziraat Mühendisi	Anamas Tohum
2018-2021	