

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA ANTER VE SHED-MİKROSPOR
KÜLTÜRÜNÜN VE POLİAMİN UYGULAMALARININ HAPLOİD EMBRİYO
OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Züleyha SÜMER

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA ANTER VE SHED-MİKROSPOR
KÜLTÜRÜNÜN VE POLİAMİN UYGULAMALARININ HAPLOİD EMBRİYO
OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Züleyha SÜMER

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA ANTER VE SHED-MİKROSPOR
KÜLTÜRÜNÜN VE POLİAMİN UYGULAMALARININ HAPLOİD EMBRİYO
OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Züleyha SÜMER
BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2024

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA ANTER VE SHED-MİKROSPOR
KÜLTÜRÜNÜN VE POLİAMİN UYGULAMALARININ HAPLOİD EMBRİYO
OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Züleyha SÜMER
BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 26/07/2024 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. A. Naci ONUS
Prof. Dr. Hüsnü ÜNLÜ
Doç. Dr. Tuğçe ÖZSAN KILIÇ

ÖZET

BİBER (*Capsicum annuum* L.) ISLAHINDA ANTER VE SHED-MİKROSPOR KÜLTÜRÜNÜN VE POLİAMİN UYGULAMALARININ HAPLOİD EMBRİYO OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Züleyha SÜMER

Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Temmuz 2024; 42 sayfa

Biber (*Capsicum annuum* L.), *Solanaceae* familyasına ait olup ekonomik değeri yüksek, iklim ve yetiştirilme koşulları bakımından Akdeniz bölgesinde büyük bir öneme sahiptir. Örtüaltı yetiştiriciliğinin daha fazla olması, hibrit (F₁) tohum kullanımı ve biber ıslahını yaygın hale getirmiştir. Akdeniz bölgesinde çoğunlukla açık arazi ve serada yetiştirilen biberde, zararlılara ve hastalıklara dayanıklı, kaliteli ve yüksek verime sahip yeni hibrit çeşitlerin geliştirilmesi önemlidir. Klasik ıslah çalışmalarının uzun yıllar almasından dolayı, hibrid çeşit üretimi için biyoteknolojik yöntemlere başvurulmaktadır. Biyoteknolojik yöntemlerden biri bitki doku kültürüdür. Bitki doku kültürü teknikleri arasında haploid bitkilerin oluşturulması, ıslah çalışmalarına önemli katkılar sağlamaktadır. Islah çalışmalarında sıkça kullanılan bu yöntem sayesinde yeni çeşit/genotiplerin ıslahı daha kolay ve hızlı gerçekleştirilebilmektedir.

Türkiye’de ticari yetiştiriciliği yapılan 3 farklı kopya biber (*Capsicum annuum* L.) çeşidi (Diyar F₁, SF549 F₁ ve Zaruri F₁) kullanılarak anter ve shed-mikrospor kültürü ile haploid bitki elde edilmesi amaçlanmıştır. Uygulama olarak besin ortamlarına putresin ve spermidin ilave edilmiştir, poliaminlerin haploid bitki oluşturmada etkisi incelenmiştir. Anter kültürü tekniğinde P1, shed-mikrospor kültürü tekniğinde P2 katı ve P3 sıvı ortamları kullanılmıştır. Bu temel besin ortamlarına ilave olarak farklı dozlarda putresin ve spermidin eklenerek, değişik kombinasyonlar oluşturulmuştur.

Çalışma, besin ortamlarının hazırlığıyla başlamış ve çiçek tomurcukları toplanmıştır. Tomurcuklar, steril kabin içerisinde sterilize edilmiştir ve anterleri çıkarılmıştır. Çıkarılan anterler besin ortamlarına ekilmiştir. Her petride 15 anter olacak şekilde ekim gerçekleştirilmiştir. Ekim işlemi bittikten sonra petriler streç film ve parafilm ile sarılarak, etüvde 2 gün boyunca 35°C’de karanlığa konulmuştur. İklim odasında anterlerin gelişimleri gözlemlenmiştir. Yaklaşık 4 haftanın sonunda embriyolar belirmeye başlamıştır. Oluşan embriyolar MS0 besin ortamına aktarılmıştır. Gelişme gösteren embriyolar bitkiciğe dönüşmüştür ve haploid bitki elde edilmiştir. Çalışmada kültüre alınan petri sayısı (adet), ekim yapılan anter miktarı (adet), embriyo oluşum miktarı (adet), normal embriyo ve anormal embriyo oluşum miktarları (adet), bitki elde sayısı (adet) ve yüzdesi (%) değerlendirilmiştir. Poliaminlerin haploid bitki oluşturmada etkisi ortaya konulmuştur.

Bu çalışmanın ana hedefi, ülkemizde üretimi önemli olan kapyra biber çeşitlerinin haploid bitki elde edilmesinde, poliaminlerin etkilerini belirlemek ve çeşitlerin bu uygulamalara verdikleri tepkileri karşılaştırmaktır. Bu, bitki ıslahı çalışmalarında önemli bir adım olup biber ıslah çalışmalarının kısaltılmasına katkıda bulunabilir. Tezin yazım aşamasına kadar biber haploid çalışmalarında poliamin uygulamalarına rastlanılmamıştır. Bu yönü itibariyle çalışma bir ilki oluşturmaktadır. Çalışma sonucunda, poliaminlerin haploid bitki elde etme sürecinde önemli bir rol oynadığı ve genotipler arasındaki farklılıkların bu süreçte etkili olduğu gösterilmiştir. İlk kez böyle bir çalışma yürütüldüğü için özgün değeri yüksektir. Gelecekteki çalışmalarda, daha fazla çeşit/genotip, farklı biber tipleri ve farklı poliamin kombinasyonları ile araştırılmalar yapılmalıdır.

ANAHTAR KELİMELE: Anter kültürü, Biber, *Capsicum annuum* L., Doku kültürü, Embriyo, Haploid bitki, Poliamin, Shed-mikrospor kültürü

JÜRİ: Prof. Dr. A. Naci ONUS
Prof. Dr. Hüsnü ÜNLÜ
Doç. Dr. Tuğçe ÖZSAN KILIÇ

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF ANTER AND SHED-MICROSPORE CULTURE AND POLYAMINE APPLICATIONS ON HAPLOID EMBRYO FORMATION IN PEPPER (*Capsicum annuum* L.) BREEDING

Züleyha SÜMER

MSc Thesis in Horticulture Department

Supervisor: Prof. Dr. A. Naci ONUS

July 2024; 42 pages

Pepper (*Capsicum annuum* L.) belongs to the *Solanaceae* family and has high economic value and is of great importance in the Mediterranean region in terms of climate and growing conditions. More greenhouse cultivation has made the use of hybrid (F₁) seeds and pepper breeding widespread. It is important to develop new hybrid varieties that are resistant to pests and diseases, high quality and high yield in pepper, which is mostly grown in open fields and greenhouses in the Mediterranean region. Since classical breeding studies take many years, biotechnological methods are used to produce hybrid varieties. One of the biotechnological methods is plant tissue culture. Among plant tissue culture techniques, the creation of haploid plants provides significant contributions to breeding studies. Thanks to this method, which is frequently used in breeding studies, the breeding of new varieties/genotypes can be carried out more easily and quickly.

In Turkey, it was aimed to obtain haploid plants using anther and shed-microspore culture with three different commercially grown kapya pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties (Diyar F₁, SF549 F₁, and Zaruri F₁). Putrescine and spermidine were added to the nutrient media to investigate the effects of polyamines on haploid plant formation. In the anther culture technique, P1 was used, while P2 solid and P3 liquid media were used in the shed-microspore culture technique. In addition to these basic nutrient media, different combinations were created by adding various doses of putrescine and spermidine.

The study began with the preparation of nutrient media and the collection of flower buds. The buds were sterilized in a sterile cabinet, and their anthers were extracted. The extracted anthers were then planted in nutrient media, with 15 anthers per petri dish. After planting, the petri dishes were wrapped with stretch film and parafilm and placed in an incubator at 35°C in the dark for 2 days. The development of the anthers was monitored in a climate-controlled room. After approximately 4 weeks, embryos started to appear. The formed embryos were transferred to MS0 nutrient media. The developing embryos transformed into plantlets, resulting in the production of haploid plants. The study evaluated the number of petri dishes cultured, the number of anthers planted, the number of embryos formed, the number of normal and abnormal

embryos, the number of plants obtained, and the percentage of plant yield. The effect of polyamines on haploid plant formation was demonstrated.

The main objective of this study was to determine the effects of polyamines on the production of haploid plants in important kalya pepper varieties in our country and to compare the responses of these varieties to the applications. This is a significant step in plant breeding studies and can contribute to the shortening of pepper breeding efforts. Up to the writing of this thesis, polyamine applications in pepper haploid studies had not been encountered. In this respect, the study is a pioneering one. The results showed that polyamines play an important role in the process of obtaining haploid plants and that the differences among genotypes are influential in this process. Given that this type of study was conducted for the first time, its originality is high. Future studies should investigate more varieties/genotypes, different types of peppers, and different polyamine combinations.

KEYWORDS: Anther culture, *Capsicum annuum* L., Embryo, Haploid plant, Pepper, Polyamine, Shed-microspore culture , Tissue culture

COMMITTEE: Prof. Dr. A. Naci ONUS
Prof. Dr. Hüsni ÜNLÜ
Assoc. Prof. Dr. Tuğçe ÖZSAN KILIÇ

ÖNSÖZ

Ülkelerin ilk önceliği, tarımdaki üretim materyallerini iyileştirmektir. Kendi çeşitlerini kullanarak ihracat yapabilir, üreticisinin ve tüketicisinin arz ve taleplerine cevaplar bularak daha iyi hizmet verebilir ve bu şekilde kendi gelir düzeyini artırabilir. Ticari çeşitlerin yetiştirilmesi ve mevcut çeşitlerin geliştirilmesi önemlidir. Bitki çeşitlerinin iyileştirilmesi, zamandan ve maliyetten tasarruf sağlar. Bu gereksinim doğrultusunda bitki biyoteknolojisi, bitki ıslahı ve geliştirilmesi alanında önemli bir bilim dalı olarak ortaya çıkmıştır. Haploid bitki üretiminin önemi, zamanla giderek artacaktır.

Konu olarak anter kültürü ve shed-mikrospor uygulamalarında poliaminlerin etkisinin incelenmesinin nedeni daha önce biberde böyle bir çalışma yürütülmemiş olmasıdır, bu da çalışmanın özgün olmasını sağlamaktadır. Bu teknikle ilgili araştırmaların yapılması ve devam ettirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Yaptığım bu tez çalışmasının her aşamasında yardımcı olan, yönlendiren, motive ve desteklerini esirgemeyen çok değerli danışman hocam Prof. Dr. A. Naci ONUS'a teşekkürlerimi sunarım. Yardımlarıyla bana en büyük desteği sağlayan Ziraat Mühendisi arkadaşım Simge YILMAZ'a, tez yazım aşamasında desteğini esirgemeyen sevgili hocam Doç. Dr. Tuğçe ÖZSAN KILIÇ'a, bilgi ve deneyimleriyle öncülük eden, elinden geldiğince yardımcı olan değerli hocam Öğr. Gör. Dr. Buse ÖZDEMİR ÇELİK'e, her ihtiyacım olduğunda yardımcı olan Uzm. Biyolog Z. Özgecan Tanyolaç Yazan'a, güler yüzünü ve enerjisi ile yanımda olan Ziraat Yüksek Mühendisi arkadaşım Esra Suluhan'a teşekkürü borç bilirim.

Çalışmam boyunca desteklerini esirgemeyen birçok değerli hocalarım, maddi ve manevi destekleriyle beni yalnız bırakmayan ailem ve arkadaşlarıma sevgilerimle...

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMASI	5
2.1. Anter Kültürü Tekniği ile İlgili Kaynak Taraması	5
2.2. Shed-Mikrospor Kültürü Tekniği ile İlgili Kaynak Taraması.....	8
2.3. Poliamin Uygulamaları ile İlgili Kaynak Taraması	11
3. MATERYAL VE METOT	15
3.1. Materyal.....	15
3.2. Metot	16
3.2.1. Laboratuvarda kullanılan alet ve ekipmanlar	16
3.2.2. Besin ortamlarının hazırlanışı	17
3.2.3. Donör bitkilerin yetiştirilme koşulları, tomurcuk alma ve uygun anter aşaması	19
3.2.4. Anterlerin kültüre alma aşaması.....	22
3.2.5. Gelişen embriyoların MS0 besin ortamına aktarılması ve gelişen bitkiciklerin aklimitizasyonu.....	23
3.2.6. Çalışma sonucu değerlendirilecek parametreler	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1. Tomurcukların Uygun Aşamalarının Tespiti.....	25
4.2. Kültüre Alınan Anterlerin MS0 Besin Ortamına Aktarımı	26
4.3. Çalışmadan Elde Edilen Veriler	32
4.3.1. Diyar F ₁ çeşidinin anter kültürü tekniğine ait verileri	32
4.3.2. SF549 F ₁ çeşidinin anter kültürü tekniğine ait verileri	33
4.3.3. Zaruri F ₁ çeşidinin anter kültürü tekniğine ait verileri.....	33
5. SONUÇ	37
6. KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Biber (*Capsicum annuum* L.) Islahında Anter ve Shed-Mikrospor Kültürünün ve Poliamin Uygulamalarının Haploid Embriyo Oluşumu Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

26/07/2024

Züleyha SÜMER



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
μM	: Mikromolar
2n	: Diploid kromozom
g	: Gram
kg	: Kilogram
l	: Litre
lux	: Işık şiddeti
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
n	: Haploid kromozom
pH	: Hidrojenin gücü

Kısaltmalar

2,4-D	: 2,4 –Diklorofenoksiasetik asit
AgNO ₃	: Gümüş nitrat
B5	: Gamborg besi ortamı (1968)
BAP	: 6-Benzilaminopurin
C	: Dumas de Vaulx başlangıç ortamı (1981)
C ₄ H ₁₂ N ₂	: Putresin (Put)
C ₇ H ₁₉ N ₃	: Spermidin (Spd)
F ₁	: Hibrit çeşit
IAA	: Indol-3-Asetik asit

KIN	: Kinetin
MS	: Murashige & Skoog (1962)
NAA	: Naftalenasetik asit
NaClO	: Sodyum hipoklorit
NN	: Nitsch ve Nitsch besin ortamı (1967)
TSWV	: Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus)
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Bitki üzerinde bulunan çiçek ve çiçek tomurcuğunun görüntüsü.....	2
Şekil 2.1. Anter kültüründe, anterden embriyo ve bitki gelişim aşamaları.....	5
Şekil 2.2. Mikrospor bölünmesi aşamaları	6
Şekil 2.3. Shed-mikrospor kültürü	9
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan donör bitkilerin meyvelerinin bitki üzerindeki görünümü: a) Diyar F ₁ ; b) SF 549 F ₁ ; c) Zaruri F ₁	15
Şekil 3.2. Pens ve bistürilerin steril edilmesi için kullanılan kabin içindeki sterilizatör.....	16
Şekil 3.3. Ortam hazırlığında kullanılan malzemeler a) Hassas terazi; b) pH metre; c) Manyetik karıştırıcı	16
Şekil 3.4. a) Besin ortamlarının ve kullanılan malzemelerin steril edilmesinde kullanılan otoklav; b) İnkübasyon koşullarının sağlanmasında kullanılan etüv	17
Şekil 3.5. Otoklavlanmak üzere hazırlanan besin ortamları	19
Şekil 3.6. Tomurcuk alınan donör bitkilerin seradaki görünümü	20
Şekil 3.7. n: çekirdek, v: vakuol, nr: generatif çekirdek, nv: vejetatif çekirdek, a: nişasta, A: <i>in vivo</i> , B ve C1, C2: <i>in vitro</i>	20
Şekil 3.8. Toplama işleminde tomurcukların bitki üzerindeki durumu: a) Diyar F ₁ ; b) SF549 F ₁ ; c) Zaruri F ₁	21
Şekil 3.9. Uygun mikrospor dönemini belirlemek için hazırlanan cam lam üzerindeki anterler.....	21
Şekil 3.10. Tomurcukların steril kabin içerisinde alkol ve sodyum hipoklorit ile sterilizasyonu.....	22
Şekil 3.11. Shed-mikrospor kültüründe sıvı besin ortamının ilave edilmesi	23
Şekil 3.12. İklimlendirme odasında bulunan anter kültürüne ait petriler	23
Şekil 4.1. Mikroskop altında gözlemlenen anterlerin mid-mikrospor aşamasının belirlenmesi a) Diyar F ₁ , b) SF549 F ₁ , c) Zaruri F ₁	25
Şekil 4.2. a) Diyar F ₁ çeşidine ait tomurcuklar, b) SF549 F ₁ çeşidine ait tomurcuklar, c) Zaruri F ₁ çeşidine ait tomurcuklar	25
Şekil 4.3. Diyar F ₁ çeşidine ait farklı besin ortamlarında bulunan anterlerin embriyo oluşumlarının mikroskop altında incelenmesi a) Kontrol; b) 20 mg/l spd; c) 40 mg/l spd; d) 20 mg/l put; e) 40 mg/l put.....	26

Şekil 4.4. SF549 F ₁ çeşidine ait farklı besin ortamlarında bulunan anterlerin embriyo oluşumlarının mikroskop altında incelenmesi a) Kontrol; b) 20 mg/l spd; c) 40 mg/l spd; d) 20 mg/l put; e) 40 mg/l put	26
Şekil 4.5. Zaruri F ₁ çeşidine ait farklı besin ortamlarında bulunan anterlerin embriyo oluşumlarının mikroskop altında incelenmesi a) Kontrol; b) 20 mg/l spd; c) 40 mg/l spd; d) 20 mg/l put; e) 40 mg/l put	27
Şekil 4.6. Anterden gelişen embriyoların, MS0 besin ortamına aktarılırken bir görüntüsü.....	27
Şekil 4.7. İklim odasında anter kültüründen elde edilen bitkiciklerin görüntüsü	28
Şekil 4.8. Embriyolardan gelişen bitkicikler.....	28
Şekil 4.9. Köklenen ve yapraklarını oluşturan bitkiciklerin cam tüplere aktarımı yapılırken alınan görüntüler	29
Şekil 4.10. Cam tüp içinde kök ve yaprakları gelişmiş bitkicikler	29
Şekil 4.11. a) Anormal embriyodan gelişen bitkicik; b) Normal embriyodan gelişen bitkicik	30
Şekil 4.12. Anterlerden gelişen bitkiler a) Diyar F ₁ ; b) SF549 F ₁ ; c) Zaruri F ₁	30
Şekil 4.13. Aklimitizasyon yapılmış bitkilerin viyolde görüntüsü	31
Şekil 4.14. Gelişimini tamamlayan haploid bitkiler	31

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Biber (<i>Capsicum annuum</i> L.) bitkisinin sistematigi	1
Çizelge 1.2. Yıllara göre Türkiye’de biber üretim miktarları	3
Çizelge 3.1. P1 besin ortamı içeriği ve kullanılan miktarlar	17
Çizelge 3.2. P2 besin ortamı içeriği ve miktarları	18
Çizelge 3.3. P3 sıvı besin ortamı içeriği ve miktarları.....	18
Çizelge 3.4. P1 ve P2 besin ortamına eklenen poliaminler ve miktarları	18
Çizelge 3.5. P1 ve P2 besin ortamları için hazırlanan toplam petri sayısı ve kültüre alınan anter miktarı	19
Çizelge 4.1. Diyar F ₁ çeşidine ait anter sayısı, toplam embriyo sayısı, bitki sayısı ve yüzdesi.....	32
Çizelge 4.2. Diyar F ₁ çeşidine ait normal ve anormal embriyo oluşum miktarları	32
Çizelge 4.3. SF549 F ₁ çeşidine ait anter sayısı, toplam embriyo sayısı, bitki sayısı ve yüzdesi.....	33
Çizelge 4.4. SF549 F ₁ çeşidine ait normal ve anormal embriyo oluşum miktarları	33
Çizelge 4.5. Zaruri F ₁ çeşidine ait anter sayısı, toplam embriyo sayısı, bitki sayısı ve yüzdesi.....	34
Çizelge 4.6. Zaruri F ₁ çeşidine ait normal ve anormal embriyo oluşum miktarları.....	34
Çizelge 4.7. Oluşan bitki sayılarının kıyaslaması	35

1. GİRİŞ

Bitkilerin insan bünyesinde faydaları oldukça çoktur. Önceleri doğadan toplanarak tüketilen bitkiler zaman içinde üstün genotiplerin korunmasıyla tohumdan yetiştiricilik yapılmaya başlanmıştır. Ülkemiz gen merkezleri üzerinde olduğundan çok sayıda bitkiye anavatan olmakla beraber pek çok bitkinin de ikincil gen merkezi olarak bilinmektedir. Kültür bitkilerinin anavatanları üzerine araştırma yapan De Candolle (1908), *Capsicum annuum* L. ve *Capsicum frutescens* L. türlerinin anavatanı olarak Brezilya olduğunu ve Amerika'nın keşfiyle birlikte dünyaya yayıldığını belirtmiştir.

Solanaceae familyasının *Capsicum* cinsinden olan biberlerin kromozom sayısı $2n = 24$ iken, $2n = 48$ olan yabani türleri de mevcuttur (Çizelge 1.1). Biber tek yıllık bir sebzedir. Biber bitkisi çimlenmeyle birlikte 10-15 cm derinliğine inen kazık kök, 5-10 adet oluşan yan kökler ve yan köklerin üzerinde bulunan narin saçak kök sistemine sahiptir. Köklerin yanlara dağılımı 40-60 cm uzunluğu bulabilmektedir. Başlangıçta otsu yapıda gövdeye sahiptir ve dik olarak gelişme gösterir. Yaprakları çeşitlere göre değişiklik gösterse de genel olarak uzun, oval, üst yüzeyi parlak ve alt yüzeyleri mat yeşil renklidir. Yetiştirilme döneminde bitki yaşlandıkça gövde kısmı odunsu yapıya dönüşmektedir ve gevrek, kırılmaya meyilli bir yapıya dönüşür. Gövde boğum ve boğum aralarından oluşur, köşeli bir görünüme sahiptir. Gövde dallanması 2-3. boğumdan sonra başlar. Bazı genotiplerde gövde üzerinde, meyvelerde ya da boğumlarda antosiyanin (morlaşma) oluşumu gözlenmektedir (Şalk vd. 2008). Biber bitkisinin meyveleri, et kalınlıkları ve renkleri bakımından farklılık gösterirler. Meyve tiplerine göre değişik özelliktedirler. Kappa biber bitkisi genellikle orta uzunlukta, konik, etli ve koyu kırmızı renklidir. Çardak (2023) tarafından bildirildiğine göre Palevitch ve Craker (1996) biber meyvelerinin ürettiği doğal antioksidanlar sayesinde yaşadığı yıla bağlı olarak meydana gelen veya süregelen hastalıkları önleme ya da ortaya çıkma olasılığını azaltıcı etkisi bulunmaktadır. Bu nedenle özellikle acı biber geçmişten günümüze kadar tedavi amacıyla kullanıldığını ve modern herbolojide hala yer aldığını belirtmişlerdir.

Çizelge 1.1. Biber (*Capsicum annuum* L.) bitkisinin sistematigi (Krishna De 2003)

Bölüm	<i>Spermatophyta</i>
Alt bölüm	<i>Angiospermae</i>
Sınıf	<i>Dicotyledoneae</i>
Takım	<i>Solanes</i>
Familya	<i>Solanaceae</i> (Patlıcangiller)
Cins	<i>Capsicum</i>
Tür	<i>Capsicum annuum</i> L.

Biber bitkisinin çiçekleri salkım veya tekli olarak, yaprak ya da dal koltuklarında oluşmaktadır. Çiçeklerin yapısı erselik (hermafrodit)'tir. Çiçeklerinde 5 sepal, 5 petal, 5 erkek organ ve 1 dişi organ bulunmaktadır (Şekil 1.1). Çiçekler, dal ve yaprak koltuklarında tekli veya 2-3'lü salkımlar halinde oluşur, ancak genellikle bir çiçek meyve verir. Erselik çiçek yapısına rağmen, %7.6-36.8 oranında yabancı tozlanma görülür. Döllenme, polenin stigmaya ulaşarak çimlenmesi ve yumurta ile birleşerek zigot oluşturmasıyla gerçekleşir (Şalk vd. 2008).



Şekil 1.1. Bitki üzerinde bulunan çiçek ve çiçek tomurcuğunun görüntüsü

Biber, ılıman ve sıcak iklim bitkisi. En iyi gelişmeyi 25-30°C sıcaklıklarda gösterir (Wien, 1997). Gün uzunluğuna karşı nötrdür, ışık şiddetinin artması meyve tutumunu artırır. Hava oransal nem isteği %70-75'tir. Kökleri fazla suya hassastır, toprak neminin %65-70 olması yeterlidir. Ağır killi, havasız ve su tutan toprakları sevmez, iyi gelişmezler (Özalp 2021)

Biber, dünyada en fazla meyvesi tüketilen sebzelerden biridir ve ekonomik açıdan önem taşımaktadır. Çin ve Meksika'dan sonra dünyanın üçüncü büyük biber üretici ülkesi Türkiye'dir. Bu nedenle ıslah programları ile yeni çeşitlerin geliştirilmesi önemlidir (Comlekcioglu ve Ellialtıoglu 2018). Ülkemizde 2023 yılında 3.081.010 ton biber üretilmiştir. 1.602.457 tonluk üretimle kalya biber bir önceki yıla göre %8.2'lik artışla sebze üretim sıralamasında %5'lik dilimde yer almıştır. En fazla yetiştirilen biber çeşitleri sırasıyla kalya, sivri, dolma ve çarliston biber olarak kayıtlara geçmiştir (TÜİK 2023) (Çizelge 1.2). Açık alanda ve örtü altında üretimi yapılan biber yetiştiriciliği, yerli hibrit çeşitlerin gelişmesiyle birlikte miktar ve kalite bakımından artış göstermektedir. Açık tarla yetiştiriciliğinde açık tozlanan çeşitler daha uygun ve kolay temin edildiği için tercih edilirken, örtü altı yetiştiriciliğinde hibrit çeşitler tercih edilmektedir.

Çizelge 1.2. Yıllara göre Türkiye’de biber üretim miktarları (ton) (TÜİK 2023)

Meyve Tipleri	Yıllara göre üretim miktarları (ton)				
	2019	2020	2021	2022	2023
Çarliston	117.125	116.967	160.469	153.524	143.934
Dolma	371.918	389.957	420.918	404.459	395.441
Sivri	902.203	838.890	1.064.633	979.180	939.178
Kapya	1.234.423	1.291.091	1.445.275	1.481.612	1.602.457

Sıcak bölgelerde yaşayan insanlar sıcaklık ve kuraklığa dayanıklı bitkiler geliştirirken giyim ihtiyaçlarını da karşılamak için pamuk ve keten gibi lif bitkilerini kültüre almış ve yetiştirmişlerdir. Soğuk bölgelerde yaşamlarını sürdürenler ise yün ve kıl gibi lifli giysiler elde edebilmek için hayvancılığa ve hayvan ıslahının gelişmesine önem vermişlerdir. Tarımsal yetiştiricilik yaparken ürünlerine zarar veren, ürün kayıplarına neden olan hastalık ve zararlı etmenlere karşı mücadele etmişlerdir. Hastalık ve zararlılarla kimyasal mücadele ve tarımsal mücadelede kullanılan kimyasal maddelerin, çevre kirliliğinin yanı sıra bitkide oluşturduğu olumsuz (toksite) etkilerin sebebiyle, bu kimyasal maddelere dayanıklılık gösteren genotiplerin ıslahı üzerine çalışmalarını yoğunlaştırmışlardır (Demir 1980; Genç ve Yağbasanlar 2010).

Oğlakçı ve Tiryaki (2013)’ye göre günümüzde ıslahçılar, modern ve klasik yöntemleri kullanarak açlık sorununa kalıcı ve akılcı çözümler üretmekle sorumludur. Tarıma dayalı sanayinin ve genel tüketimin ihtiyaçlarını karşılayacak yeni ya da gelişmiş bitki türlerini geliştirmeyi amaçlayan bitki ıslahı çalışmalarında, ıslahçılar birçok farklı bilim dalını bir arada kullanmak zorundadır. Günümüzdeki bitki ıslahçıları, bu işbirliğinin gereksinimini giderek daha fazla hissetmektedir. Islahçının başarılı olması, disiplinler arası bilgiyi ne kadar iyi sentezleyebildiği ve bu bilgi birikimini ıslah programına ne kadar etkili aktarabildiği ile yakından ilişkilidir.

Klasik ıslah yöntemleri uzun yıllar sürdüğünden biyoteknolojik uygulamalar günümüzde daha çok tercih edilmektedir. Bitki doku kültürü teknikleri son zamanlarda bitkilerdeki hastalık eliminasyonu, bitkilerin çoğaltılması ve iyileştirilmesinin yanında ikincil metabolitlerin üretiminde önem kazanmıştır (Tefera 2019; Singh ve Kumar 2020). Bitki doku kültürü, bitkinin çeşitli aksamalarının (kök, gövde, yaprak gibi) ya da apikal ve meristem dokularından alınan eksplant parçalarının sterilize edilerek ve çeşitli ortamlar kullanılarak *in vitro* koşullarda kültüre alma işlemidir (Topcu ve Çölgeçen 2015; Dinçer vd. 2016; Aktaş ve Çölgeçen 2017; İçigen 2019). Bitki doku kültürlerinde çevre koşullarından bağımsız, laboratuvar koşullarında mikrobiyolojik hastalıklar taşımayan bitki yetiştirme, sentetik tohum üretimi, klonal çoğaltma, bitkideki fitokimyasal miktarını artırma, bitki gen transferi için ortam oluşturma ve nesli tükenme tehlikesi altında olan türlerin korunması sağlanmaktadır (Dinçer vd. 2016).

Solanaceae familyasına ait olan biber bitkisinin yüksek oranda yabancı tozlanma özelliği göz önüne alındığında buna bağlı olarak karakteristik özelliğini büyük oranda kaybettiği görülmüştür. Bu sorundan dolayı, uzun zaman alan klasik ıslah yöntemleri yerini zaman konusunda daha kısa sürede meydana gelen F_1 hibrit ıslahı üzerine yoğunlaştırarak çalışmalara başlanmıştır (Kalloo 1988; Wan ve Widholm 1988; Kristiansen ve Andersen 1993; Vagera 1990). Islah sürecinin uzun zaman alması ve çağımızın artık teknoloji çağı olduğu göz önüne alındığında, özellikle son yıllarda popülaritesi artan bitki biyoteknolojisinde son derece önemli olan doku kültüründe haploid tekniği, başta sebze ıslahı olmak üzere oldukça yaygın bir uygulama alanına sahip olmuştur (Ercan vd. 1997).

Kayın ve Turan (2023)'ın belirttiğine göre, bitkisel genetik kaynakların korunması dünya çapında genetik çeşitliliğe ihtiyaç duyan tarımsal biyoçeşitlilik ve gıda güvenliği için önemlidir. Yeni, hastalık ve zararlılara dayanıklı ve daha verimli genotiplerin seçimi için, *in vitro* kültürü teknikleri ve biyoteknoloji alanındaki gelişmeler kolaylık sağlamaktadır. *In vitro* kültür, bitki genetik kaynaklarının korunması için uygulanabilir bir alternatiftir. Tarımın sürdürülebilir üretiminde, bitki doku kültürü uygulamaları da önemli bir rol oynamaktadır. Bu amaçla doku kültüründe haploidizasyon uygulamaları yaygın olarak tercih edilmektedir.

Bu çalışmada ülkemizde ticari olarak yetiştiriciliği ve satışı yapılan kapy a biber çeşitleri (Diyar F_1 , SF549 F_1 ve Zaruri F_1) kullanılmıştır. Anter kültürü ve shed-mikrospor kültürü tekniği kullanılarak haploid bitki elde edilmesi amaçlanmıştır. 2 farklı besin ortamına, farklı oranlarda poliaminler (spermidin ve putresin) ilave edilmiştir ve haploid bitki elde etme potansiyelleri üzerine poliaminlerin etkisi incelenmiştir.

Daha önce biberde anter ve shed-mikrospor kültürü teknikleri ile haploid bitki oluşturmada poliaminlerin etkisi araştırılmamıştır. Bu yönüyle çalışmanın özgün değeri yüksektir. Bu çalışma, daha sonra yapılacak olan araştırmalara kaynak olabilir. Çalışma sonucunda elde edilen verilerin, kapy a biber çeşitlerinin ıslah çalışmalarında kullanılabilirliğini ortaya koyarak, sonraki araştırmalara önemli bir basamak oluşturması hedeflenmiştir. Çalışmanın özellikle kapy a biber tüketiminin yaygın olduğu ülkemizde ve dünya ülkelerinde yürütülen kapy a biber ıslah programlarına önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

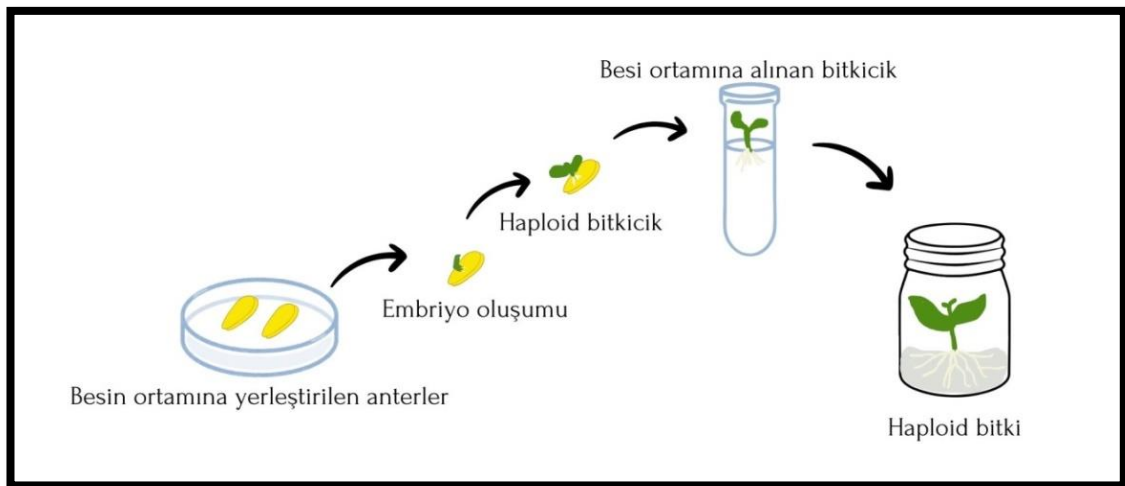
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMASI

Anter kültürü ve shed-mikrospor kültürü ile ilgili yapılan çalışmalar ve bilgilerin taranması, poliaminler ile ilgili yapılan çalışmaların araştırılması gerekmektedir.

2.1. Anter Kültürü Tekniği ile İlgili Kaynak Taraması

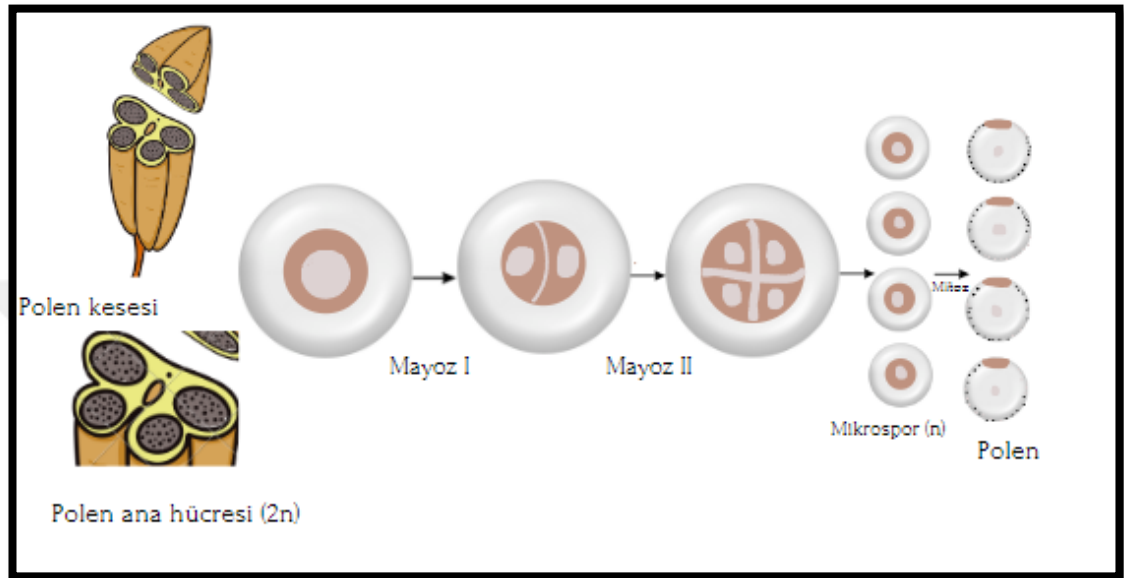
İslah çalışmalarında anter kültürü yöntemiyle saf hat/hatlar elde edilmektedir. Bu yöntem ıslah süresini kısalttığından dolayı araştırmacılar tarafından en çok tercih edilen biyoteknolojik yöntemdir. 1953 yılında Tulecke tarafından yapılan çalışmayla erkek gametten haploid bitki elde etmeye yönelik çalışmaların temeli atılmıştır. Guha ve Maheshwari'nin (1964) birlikte yürüttüğü olgunlaşmamış polen tanelerinden haploid embriyoların elde etmişlerdir (Ercan vd. 1997). 1967 yılına gelindiğinde Bourgin ve Nitsch *Nicotiana tabacum* bitkisinde haploid bitki elde etmeyi başarmışlardır ve bununla birlikte araştırmalar hızlanmıştır (Bajaj 1983; George ve Sherrington 1984; Pierik 1989; Ellialtıoğlu vd. 2002).

Haploid bitkiler gametik kromozom sayısına sahip bitkiler olarak tanımlanır ve bu bitkilerin kromozom sayılarının iki katına çıkmasıyla dihaploid bitkilerin elde edildiği bilinmektedir. Dihaploid hatlar kullanılarak ıslah ve genetik çalışmalarında kolaylık sağlanmış ve süreç hızlandırılmıştır. Erkek gametten (androgenesis) ve dişi gametten (ginogenesis) olmak üzere iki farklı haploid bitki elde etme yöntemleri bulunmaktadır. Androgenesis yöntemi anter ve mikrospor kültüründen oluşmaktadır. Anter kültürünün temel ilkesi, normalde erkek gamet oluşturacak polen hücresinin gelişimini durdurmak ve polen hücresini doğrudan bir bitki oluşturmaya zorlamaktır. Bu yöntem ile haploid bitkiler, doğrudan veya dolaylı olarak oluşur. Direkt androgenesis, zigotik embriyogeneze benzer ancak endosperm bulunmaz. Embriyolar uygun ortama yerleştirildikten sonra, gelişmeye devam ederler, 4-8 hafta sonra kotiledonlar oluşur ve böylece anterlerden bitkiler ortaya çıkar (Şekil 2.1). İndirekt androgenesiste ise globular aşamadan sonra, düzensiz bölünmeler meydana gelir ve haploid kallus oluşur (Reed 2005).



Şekil 2.1. Anter kültüründe, anterden embriyo ve bitki gelişim aşamaları

Her anter, iki tekadan oluşur. Her tekada iki polen kesesi bulunur. Polen keselerinde bulunan polen ana hücresi ($2n$) mayoz bölünme geçirerek dört polen tanesi (haploid kromozomlu tek çekirdekli) oluşturur. Bu polen tanesine mikrospor denir. Mikrosporlar haploid kromozom sayısına sahiptir. Polen kesesi yırtıldığında mikrosporlar etrafa yayılır, ancak yayılmadan önce mitoz bölünme geçirir ve vejetatif hücrelerle generatif hücre içeren poleni (haploid kromozomlu çift çekirdekli) oluşturur (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Mikrospor bölünmesi aşamaları (Erdoğan 2013)

Çömlekçioğlu vd. (1999), Şanlıurfa ve Kahramanmaraş biber popülasyonlarından saf hatlar oluşturmak ve ıslah çalışmaları yapmak için çeşitli besin ortamlarında, bitki büyüme düzenleyicileri kullanarak çalışmayı yürütmüşlerdir. Anter kültüründe bu farklı kombinasyonların etkilerini inceleyip değerlendirmişlerdir. Murashige ve Skoog (MS, 1962) temel besin ortamına eklenen naftalenasetik asitin (NAA), kinetin (KIN) ya da 6-benzilaminopurin (BAP) ile kombinasyonunun daha başarılı olduğu raporlanmıştır. Aynı popülasyonun içinde farklı hatların bulunmasına rağmen, genotiplerin birbirinden farklı yanıtlar gösterdiği belirtilmiştir. Çalışma, anter kültüründe haploid bitki elde edilmesini etkileyen önemli faktörlerin genotip, besin ortamı ve bitki büyüme hormonları olduğunu ortaya koymuştur.

Çömlekçioğlu vd. (2001), daha önce yapılan çalışmada iyi sonuç vermeyen Urfa ve Kahramanmaraş biber popülasyonlarında embriyogenesis frekansını artırmak için en etkili sonucu veren besin ortamına gümüş nitrat (AgNO_3) eklemişlerdir. Bu çalışmada, MS besi ortamına 4 mg/l NAA, 0.1 mg/l BAP, %0.25 aktif karbon, 30 g/l sükröz ve 10 mg/l AgNO_3 eklenerek Urfa biber popülasyonunda 7.5 embriyo/100 tomurcuk ve Kahramanmaraş biber popülasyonunda 50 embriyo/100 tomurcuk elde etmişlerdir. AgNO_3 'ün yokluğunda embriyo oluşumunun gözlenmediğini belirtmişlerdir. AgNO_3 'ün haploid yoğunluğunu artırdığı ve embriyo oluşumunu teşvik ettiği, farklı dozlarının farklı genotiplerde test edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Koleva Gudeva ve Trajkova (2012) yapmış oldukları çalışmada, kullanmış oldukları 19 farklı biber genotiplerinin anterlerini *in vitro* koşullar altında ortama alıp, androgenesis etkinliğinin artırılmasını hedeflemişlerdir. Yapılmış olan bu çalışmada bitkilerden elde edilen embriyolar bitkicik haline dönüştürülmüş, laboratuvar koşullarından dış ortama dikimi yapılarak adaptasyonu sağlanmıştır. Adaptasyon sağladıkları sera koşullarındaki androgenetik yolla elde ettikleri biber hatlarının, ıslah aşamasında kullanılmasını amaçlamışlardır. Çalışmada kullanılmış olan 19 farklı biber genotipinden, anter kültürü yoluyla embriyo oluşumu 12 tanesinde gerçekleşmiştir. Dış koşullara adaptasyonu sağlanan bitkilerden ise tohum materyalini 4 biber genotipinden elde etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda, anter kültürü yoluyla androgenesis etkinliğinin donör bitkilerin yetiştirilme koşullarıyla birlikte aynı zamanda genotipe bağlı olduğunu gözlemlemişlerdir.

Alremi vd. (2014) biberde anter kültürü tekniğinde genotipin ve kullanılan besin ortamlarının etkisini incelemek için bir araştırma yürütmüşlerdir. 1 adet çeşit ve 3 farklı biber genotipi kullanmışlardır. Dumas de Vault vd. (1981) tarafından önerilen C besin ortamını, MS temel besin ortamını kullanmışlardır. Bu besin ortamlarının farklı kombinasyonlarını deneyerek, 16 farklı besin ortamı olacak şekilde denemelerini yürütmüşlerdir. Sonuç olarak her genotip ve çeşitten anter kültürü ile embriyo elde etmişlerdir. Fakat embriyo oluşturma durumlarına bakıldığında, ortamlara ve genotipe/çeşide bağlı olduğunu göstermişlerdir. Anter kültüründe her genotipin gelişme gösterdiği besin ortamının değişebildiğini belirtmişlerdir.

Kurt (2019), farklı besi ortamlarının biber anter kültürü üzerine etkilerinin araştırılmasında yürütmüş olduğu yüksek lisans tezinde 4 farklı biber çeşidi kullanmıştır. Bu çeşitlerden alınan 3-5 mm boyutundaki anterlere iki ayrı ön sıcaklık uygulaması yapılmıştır. MS ortamına iki ayrı karbonhidrat kaynağı (sakkaroz ve maltoz) eklenerek hazırlanan, 4 farklı ortama ait kallus oluşum performansları incelenmiştir. Her petriye on adet anter MS besin ortamına ekilmiş, 25 ile 35 °C'lerde ve karanlık ortamda 6 gün ön uygulamaya tutulmuştur. Yapılan bu çalışmada anter kültüründe kallus oluşumunun iki farklı ön uygulama ile olan etkileri incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda tüm genotiplerde besin ortamı sakkaroz olan ortamdaki kallus oluşum oranının maltoz besi ortamına göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Uygulamalara bağlı olarak çeşitlerin kallus oluşturma frekansları farklılık göstermiştir. Kapyra B çeşidinin 25°C'deki ön uygulamasından en yüksek kallus oluşumu elde edilmiş, diğer çeşit olan Kapyra A çeşidinde ise en yüksek kallus oluşumunu 35 °C ön uygulaması takip etmiştir. Çalışmada genotipleri dikkate almadan, besi ortamındaki farklı iki karbonhidrat kaynağı ile ön uygulamalar değerlendirildiğinde, kallus oluşumları göz önünde tutularak en iyi uygulamanın maltoz + 35 °C ön uygulama olduğu belirtilmiştir. Sakkaroz + 35 °C ön uygulamasının ise başarı olarak en düşük olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışma neticesinde elde edilmiş olan kallus yapılarının kompakt, beyaz veya saydam, sert beyazımsı olduğu gözlemlenmiş ve tüm bu yapıların embriyo uyartımına uygun yapıda olmadıkları, tam tersine embriyo uyartımına pozitif yanıt veren kallusların yumuşak olması gerektiği belirtilmiştir. Sonuç olarak genotiplere bağlı olarak başarı oranı değerlendirildiğinde, tüm genotiplerde kallus oluşum oranı en yüksek 35°C'deki ön uygulama olarak belirlenmiştir.

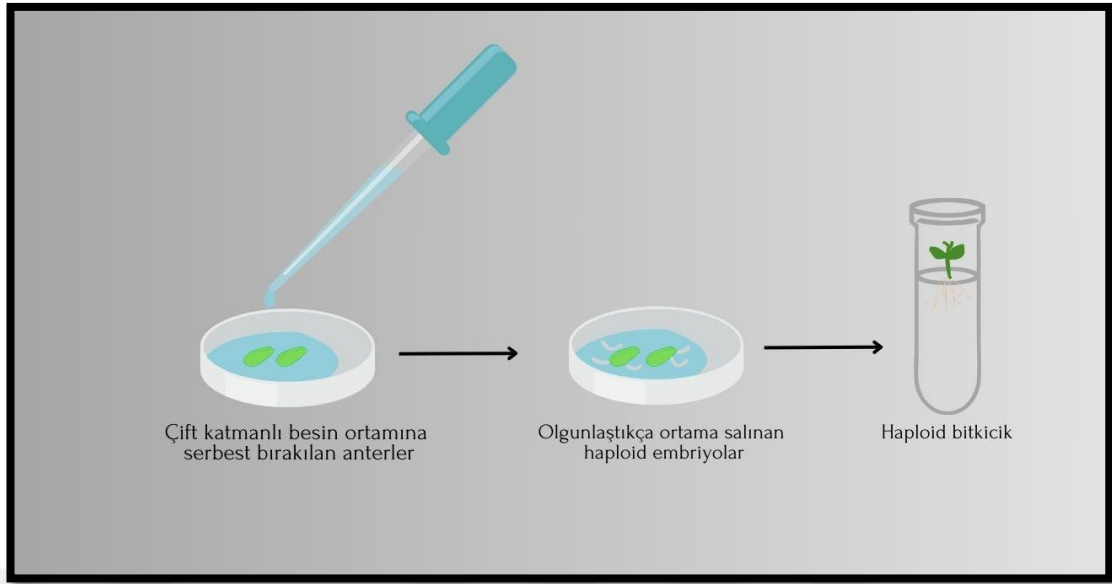
Atasoy (2020), 23 farklı biber genotipinde anter kültürü performansını incelemiştir. Anterler sterilize edildikten sonra MS besin ortamında kültüre alınmıştır.

Başlangıçta besin ortamı olarak agar içeren MS ortamı, süktroz, 2.5 g/l aktif karbon, 15 mg/l AgNO₃, 4 mg/l naftalenasetik asit ve 0.5 mg/L 6-benzilaminopürin kullanılmıştır. Daha sonra anterler süktroz ve agar içeren MS besin ortamına aktarılmıştır. Genotipler arasında 100 canlı anter başına ortalama embriyo sayıları 0.83 ile 44.44 arasında değişmiştir. En yüksek embriyo oranı FT-509 genotipinde (44.44 embriyo/100 canlı anter) gözlemlenmiş, en düşük performans ise FT-1178 genotipinde (0.83 embriyo/100 canlı anter) görülmüştür. Embriyoların çoğu bitkiye dönüşebilmiştir. En yüksek bitki sayısı 20 bitki ile FT-508 genotipinde ve en düşük 0.5 bitki ile FT-1178 genotipinde kaydedilmiştir. Sonuç olarak, bazı genotiplerin düşük gelişme gösterdiği belirtilmiştir.

Çardak (2023) 8 farklı biber genotipinde, 2 farklı besin ortamının haploid bitki oluşturma üzerine etkisini incelemiştir. Kullanılan besin ortamlarını BO1 ve BO2 ortamı olarak adlandırmıştır. Denemede toplam her genotipten 125 anter ve 3 tekerrürlü olmak üzere toplamda 3000 anter ekimi yapılmıştır. Denemede bitki oluşturan embriyo sayısı, gelişen bitki sayıları, canlı anter sayısı, embriyo sayısı ve stoma sayıları değerlendirilmiştir. Denemeden elde edilen sonuçlara göre, besi ortamındaki farklılık, embriyo miktarı üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olmuştur. BO2'de 100 anterden elde edilen embriyo miktarı 14.38 adet iken BO1'de 100 anterden elde edilen embriyo miktarı 12.63 adet olarak gerçekleşmiştir. Bu duruma bakılarak denemeye alınan tüm genotip ortalamaları dikkate alındığında ikinci besi ortamının daha iyi sonuç verdiğini belirtmiştir. Farklı besi ortamlarında bitkiye dönüşen embriyo miktarı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. BO2'de 100 anterden elde edilen bitkiye dönüşen embriyo miktarı %7.75 iken BO1'de bu değer %6.79 olarak gerçekleşmiştir.

2.2. Shed-Mikrospor Kültürü Tekniği ile İlgili Kaynak Taraması

Shed-mikrospor kültürü ilk kez Endonezya'da yerel acı biber çeşidinde uygulanmıştır ve başarılı olunmuştur. Mikrospor kültüründen farkı, tomurcuklardan alınan anterlere zarar vermeden, parçalamadan direkt olarak çift katmanlı (katı ve sıvı) olan besin ortamına ilave edilmesidir (Şekil 2.3). Anterlerin içindeki mikrosporlar sıvı ortamda serbest halde kültüre alınırlar ve mikrosporların gelişmelerine izin verilir. Embriyoların tamamı sıvı ortamda oluşum ve gelişimlerini tamamlayan haploid mikrospordan oluşan embriyolardır. Embriyoların sıvı ortamda gözlemlenmesi ve incelenmesi diğer yöntemlere göre çok daha kolaydır (Supena ve Custers 2002).



Şekil 2.3. Shed-mikrospor kültürü

Mikrospor kültürü yöntemiyle ilk haploid bitkinin elde edilmesini tütün ve mısır bitkilerinde 1974 yılında Nitsch'in başardığı ve ilk mikrospor kültürü çalışmaları ise 1989 yılında Pesticelli vd. tarafından uygulandığı rapor edilmiştir (Ellialtıoğlu vd. 2002). Çift katmanlı besin ortamı sayesinde sonraki aşamalarda besin ortamına ilave maddeler eklenebilmekte ve gerektiğinde sıvı katman yenilenebilmektedir. Tek bir petri kabında çok sayıda embriyo oluşması durumunda, embriyolara herhangi bir müdahale yapılmadan sıvı besin ortamı yenilenir ve embriyoların gelişimleri devam eder.

Supena ve Custers (2011)'in yapmış oldukları araştırmada, shed-mikrospor yöntemi ile Endonezya'ya ait olan acı biber çeşitlerinde meydana gelen normal embriyo miktarını ve meydana gelen embriyoların kalitesini arttırmayı hedeflemişlerdir. Çalışmadaki hedefler doğrultusunda, %1 oranındaki aktif kömür, 1 gün 4°C ile beraber 1 hafta süreyle 9°C ön uygulamaya tutulmuştur. Ön uygulama sonrasında 28°C'de karanlık ortamda ve bu sıvı ortama 5 µM Indol-3-Asetik asit (IAA) ile beraber 2.5 µM zeatin eklenerek, buna ilave olarak da ortama 5 farklı bitki büyüme düzenleyicisi uygulamışlar, ayrıca 4 farklı sıcaklığa ait büyüme ortamını da deneyerek çalışmalarını tamamlamışlardır. Çalışmadan elde etmiş oldukları sonuçlar doğrultusunda, kültürün 3. haftasında sıvı ortama ilave edilen 50 ve 100 µM olan bitki büyüme düzenleyicilerine ait petri ortamlarında meydana gelen toplam hem embriyo sayısında hem de embriyo kalitesinde azalma meydana gelmiştir. Bununla beraber, 5 µM IAA + 2.5 µM zeatin karışımının olduğu ortamlarda 6 anter başına yaklaşık 35.3 embriyo, bitki büyüme düzenleyicisi olmayan ortamlarda ise 24.7 embriyo elde edilmiştir. Normal embriyo elde ettikleri ortamın ise, 5 µM zeatin ile 18.4 embriyo, 2.5 µM zeatin ile 27.3 adet embriyo olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada denenmiş olan farklı sıcaklık koşulları sonucunda ise, 6 anter başına sıcaklığın 18°C olduğu ortamda 7.5 adet embriyo, 21°C olduğu ortamda 17.1 adet embriyo, 23°C olduğu ortamda 19.5 adet embriyo, 25°C olduğu ortamda 20.2 adet embriyo ve 28°C olduğu ortamda ise embriyo sayısının 20.6 adet olduğu belirtilmiştir. Tüm bu elde edilen veriler değerlendirildiğinde çalışmanın

sonucunda, normal embriyo oluşumu için en uygun sıcaklığın 28°C olduğu, ortam bakımından ise en iyi sonucu bitki büyüme düzenleyicilerinden 5 µM IAA ile birlikte 2.5 µM zeatinin kullanıldığı ortam olduğu bildirilmiştir.

Doğan (2016), 29 süs biber genotipinde (ticari ve yerel) çalkalayıcı kullanımının embriyo verimine etkisini shed-mikrospor yöntemi ile incelemiştir. Aynı zamanda, mikrosporların kültür aşamasındaki tomurcuk morfolojileri ve tomurcuk boyutlarını da incelemiştir. Çiçek tomurcukları, +4°C'de 24 saat karanlıkta ön soğutma yapılmış ve sonrasında shed-mikrospor yöntemini uygulamıştır. Araştırma sonucunda, çalkalayıcı üzerindeki ortamın embriyo oluşumu açısından daha başarılı olduğu ve embriyo oluşum performansının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Benli (2019), 2 farklı ticari biber çeşidinin (Lumbard RZ F₁ ve Üçburun F₁) shed-mikrospor kültürü yöntemini kullanarak anter gelişim aşamalarını, haploid ve dihaploid tepkileri belirtilmiştir. Anter kültürü MS ortamında yapılmış, biber tomurcukları toplanıp 1 gün boyunca +4°C'de ön uygulamaya tabi tutulmuştur. Sonra anterleri NN (1967) ortamına transfer edilip, %2 maltoz eklenen sıvı bir katmanla kaplamıştır. Araştırma bulgularına göre; anter kültüründe, Lumbard RZ F₁ çeşidinde embriyo gelişim oranı %8.94, embriyoların bitkiye dönüşüm oranı %23.63; Üçburun F₁ çeşidinde ise embriyo oluşum oranı %22.18 ve embriyoların bitkiye dönüşüm oranı %22.22 olarak bulunmuştur. Shed-mikrospor yönteminde embriyo gelişiminin sadece Lumbard RZ F₁ çeşidinde tespit edildiği belirtilmiştir.

Erim (2019), biber (*Capsicum annuum* L.)'de birbirinden farklı üç genotipin shed-mikrospor kültürü tekniğine olan yatkınlıklarını, mikrospor gelişim aşamalarını ve mikrosporogenesis potansiyellerini araştırmıştır. Mikrospor gelişim aşamalarının her genotipte farklı olduğunu ve farklı oranda antosiyanin miktarı içerdiğini, bununla birlikte antosiyanin (morlaşma) oranının yaklaşık %40'ın üstüne çıkmamasını belirtmiştir. Sıvı besin ortamının, mikrosporların serbest ve kolay gelişmesini teşvik ettiğini, böylece daha kolay embriyolar oluşturdıkları belirtilmiştir. Embriyo oluşumu için donör bitkilerin ilk 9 haftalık çiçek tomurcuğu verme sürecinin daha yararlı ve etkin olduğu belirtilmiştir. Araştırmada 300 adet petride kallus oluşumu görülmemiştir, bunlardan sadece 24'ünde kontaminasyon görüldüğünü; enfeksiyonların çoğunun petri kabının hava almasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Bu teknik ile 443 sağlıklı embriyo elde edilmiş, bunlardan 85 tanesi normal yapıda olduğu belirtilmiştir. Çoğunlukla dolmalık biber genotipinden (Benino F₁) embriyo oluştuğunu, shed-mikrospor kültürüne en iyi cevap veren genotipin dolmalık biber olduğunu, normal embriyo oluşum miktarında ise en yüksek kopya biber genotipinde, en az ise sivri biber genotipinde olduğu belirtilmiştir.

Vural (2019) tarafından patlıcanda (*Solanum melongena* L.) haploid embriyo ve bitki elde etme verimine yönelik bir araştırma yapılmıştır. Katı, sıvı anter kültürü ve shed-mikrospor kültürünü kullanarak etkinlik durumları incelenmiştir. İlkbahar ve sonbahar dönemi olarak iki farklı dönemde deneme kurulmuştur. İlkbahar döneminde kurulan denemeleri göz önüne alarak sonbahar döneminde genotip ve besin ortamlarında farklılıklar yapılmıştır. İlkbahar döneminde 3 genotip, 12 farklı besin ortamında kültüre alınmıştır. Katı besin ortamında kültüre alınan 3.600 anterden 64 embriyo, 45 bitkicik ve 45 aklimatize bitki edilmiştir. Sıvı ve shed-mikrospor

kültürlerinden ise sonuç alınamamıştır. Sonbahar döneminde 2 farklı genotip 12 farklı sıvı ortam ve 24 farklı katı ortam kullanılmıştır. Katı besin ortamındaki kültürlerden elde edilen sonuçların sıvı ortama göre daha başarılı olduğu belirtilmiştir. 9.600 anterden 1.445 bitki aklimatize edilmiştir, sıvı ortamdaki anter kültüründen ise 46 embriyo ve 2 bitki aklimatize edilmiştir. En başarılı ortamın Mod-C ortamı olduğunu belirtmiştir. Mod-C ortamı; MS, 90 g/l maltoz, 5 mg/l 2,4-Diklorofenoksi asit (2,4-D), 5 mg/l kinetin, 10 mg/l AgNO₃ ve 1 mg/l aktif kömürden oluşturulmuştur. Sonbahar döneminde artan embriyo ve bitkicik gelişiminin verimi, kullanılan maltoz miktarının artırılmasıyla ilişkilendirilmiştir. Maltoz, besin ortamında oksijen kaynağıdır ve verimin artmasıyla doğru ilişkilidir. Besin ortamında maltozun etkisini artırmak için uygun dozlarda aktif kömür ve AgNO₃ ilave edilmesinin önemi vurgulanmıştır. Bu çalışmayla birlikte patlıcanda ilk defa sıvı ortamda anter kültürü uygulaması yapılmıştır. Sıvı ortamların anter canlılığını artırdığı belirtilmiştir, agar kullanılmadığından maliyet azalacağı için sıvı kültürlerin geliştirilmesinin önemli olabileceği belirtilmiştir.

2.3. Poliamin Uygulamaları ile İlgili Kaynak Taraması

Poliaminler doğada ökaryotik ve prokaryotik canlılarda doğal olarak bulunan, önemli alifatik azotlardan oluşan ve düşük moleküler ağırlığa sahip bileşiklerdir (Galston 1983). Bitki bünyesinde kesin rolleri henüz bilinmese de çeşitli bitki süreçlerinde yer aldıkları bilinmektedir. Rol aldığı önemli süreçler şu şekilde belirtilmiştir: Hücre bölünmesi, protein sentezi, hücrenin farklılaşması, DNA'nın kendini eşlemesi, embriyogenez, köklenme, çiçeklenmenin uyarılması ve devamında çiçek gelişmesi, polen tüpünün büyümesi, çevresel strese karşı bitkinin tepkisi ve hücre canlılığı (Tabor ve Tabor 1984). Galston ve Kaur-Sawhney (1987) poliaminlerin bitkilerde belirgin bir fizyolojik rolleri olduğu için poliaminlerin ve poliaminlerle ilgili bileşiklerin, büyüme düzenleyicisi olarak ya da sekonder hormonal habercisi olarak görülmelerini savunmuşlardır.

Putresin (Put) ve Spermidin (Spd), biyolojik sistemlerde bulunan poliaminlerdir ve hücre büyümesi, farklılaşması ve hayatta kalması gibi birçok önemli biyolojik süreçte rol oynarlar. Ancak, yapıları ve işlevleri açısından bazı farklılıklar gösterirler. Putresin(C₄H₁₂N₂) daha basit bir yapıya sahiptir, spermidin (C₇H₁₉N₃) ise daha karmaşıktır. Putresin, poliamin biyosentezinin erken bir aşamasında üretilir; spermidin ise putresinden türetilir (Urano vd. 2003).

Son yıllarda, poliaminlerin bitkilerde abiyotik stres toleransını artırmadaki katkısı birçok çalışmada incelenmiştir. Poliamin metabolizmasında yer alan genler, çeşitli bitki türlerinden klonlanmış ve farklı stres koşulları ile gelişim aşamalarında ekspresyon profilleri analiz edilmiştir. Araştırmalar, poliaminlerin düzenlediği aktivitenin ya da plazma membranı H⁺-ATPase ekspresyonunun bitkilerin olumsuz durumlara karşı toleransını artırdığını göstermiştir (Şahin ve Örgenç 2022).

Kumar vd. (2003) iki farklı hıyar (*Cucumis sativus*) L. "Calypso ve Green Long" çeşitlerinde anterlerin *in vitro* kültüre tepkisi büyüme düzenleyicilerinin ve sıcaklık ön uygulamasının etkisini incelemişlerdir. Anterler, 2,4-D ve NAA ile ya da 2,4-D'nin BAP/kinetin/thidiazuron ile kombinasyonu ile zenginleştirilmiş B5 ortamına (Gamborg ortamı) yerleştirilmiştir. En uygun embriyojenik kalluslar/embriyolar, 2.0 µM 2,4-D ve 1.0 µM BAP ile zenginleştirilmiş B5 ortamında elde edilmiştir. Çiçek tomurcuklarının

0-10 gün boyunca 4°C'de ve 1 gün boyunca 32°C'de ısı ön işlemleri test edilmiş ve en iyi yanıt 2 gün boyunca 4°C'de elde edilmiştir. Embriyo farklılaşması, 0.09 M sakkaroz, 0.25 µM NAA ve 0.25 µM kinetin içeren B5 ortamında (1968) gerçekleştirilmiştir. Embriyo olgunlaşması, 5.0 µM absisik asit (ABA) ile zenginleştirilmiş B5 ortamında sağlanmıştır. Embriyolar, 0.09 M sakkaroz içeren B5 ortamında bitkiciklere dönüşmüştür. Bitkicikler kontrollü bir ortamda aklimatize edilmiştir. Her iki çeşitte de yeniden üretilen 24 bitkiciğinin kök uçları, ploidi seviyeleri açısından analiz edilmiş ve bunlardan sırasıyla Calypso ve Green Long'da 21 ve 17'sinin haploid olduğu tespit edilmiştir. Bu araştırma, poliaminlerin (putresin ve spermidin) uygun konsantrasyonlarda kullanılmasının embriyogenez ve bitki rejenerasyonu üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermektedir. Özellikle 200 µM spermidin, hıyar çeşitlerinde embriyogenez ve rejenerasyon etkinliğini optimize etmek için ideal bir konsantrasyon olarak belirlenmiştir. Daha yüksek konsantrasyonların (500 ve 1000 µM) embriyogenez üzerinde olumsuz etkiler gösterdiği bildirilmiştir.

Kara ve Sarı (2013) siyah ve sakız kabak çeşitlerinde anter kültüründe spermidin ve putresin ilavelerinin haploid bitki oluşturmada etkilerini incelemiştir. Çalışmada üç farklı sakız kabak çeşidi ve üç farklı siyah kabak çeşidi kullanılmıştır. Anter kültürü uygulamalarında embriyo uyartımı için 5 mg/l 2,4-D ilave edilmiş MS besin ortamı kullanılmıştır. Poliaminlerin tepkisini görmek için Spd ve Put'un 40, 80 ve 160 µM/l dozlarında farklı farklı ve her ikisi birlikte olacak şekilde 80, 160 ve 320 µM/l (1:1, v:v) dozlarında kullanılmıştır. Kontrol denemesi yalnızca 5 mg/l 2,4-D içermiştir. Anter gelişimi ve kallus oluşumunun her genotipte farklı durumlarda olduğu tespit edilmiştir. Her genotipte elde edilen anter gelişme oranları kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur. En iyi kallus gelişim oranı, 40 µM/l putresin içeren ortamda gözlenmiş, fakat bu kalluslardan bitki oluşmamıştır. İki farklı gelişme döneminde kurulan deneylerde belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir. İlk dönem kurulan denemede anter gelişim yüzdeleri daha yüksek iken, ikinci dönem kurulan denemede daha fazla kallus oluşumu gözlenmiştir. Bu durum, ovaryumların toplandığı dönemde çevre koşullarının, özellikle sıcaklığın, ovül kültürü üzerindeki etkisini vurgulamaktadır. Çalışmada genotip etkisi çok önemli bulunmuştur. Denemede yer alan çeşitlerden Brillante F1 genotipinin deneme şartlarında en başarılı olduğunu, Chivas F1'in ise en düşük ovül ve kallus gelişimine sebep olduğu belirtilmiştir. Ovül-ovaryum kültürü çalışmalarında poliaminlerin kullanılması ile başarılı sonuçlara ulaşılmasının önemi vurgulanmıştır. Ancak, haploid bitkilerin elde edilmesinde sadece poliaminlerin değil, aynı zamanda 2,4-D ve diğer bazı büyümeyi düzenleyicilerin de kültür ortamı bileşenlerinde yer alması gerektiği önerilmektedir. Bunun yanı sıra haploid bitki oluşturabilmek için poliaminlerin daha yüksek miktarlarda uygulanması önerilmektedir.

Ebrahimzadeh vd. (2018) yürüttükleri bir çalışmada hıyarda (*Cucumis sativus* L.) partenogenez yöntemi ile çeşitli konsantrasyonlarda poliamin püskürtmesi uygulayarak haploid bitki oluşumunda etkilerinin belirlenmesini incelemişlerdir. Ana bitkilere, çiçeklenmeden 9 gün öncesinden 9 gün sonrasına kadar farklı konsantrasyonlarda putresin, spermidin ve sikosel olmak üzere üç poliamini 0, 50, 500 ve 5000 mg/l olacak şekilde uygulamışlardır. Erkek çiçekler (sarımsı-yeşil renkli) çiçeklenmeden önce sabah erkenden toplanmıştır ve daha sonra anterler parçalara ayrılmıştır. 0.2 Gy/s doz hızına sahip bir Kobalt-60 gama ışını kaynağı kullanılarak 300 Gy'de gama ışınına maruz bırakılmıştır. Ertesi sabah, stigmalar alıcı olduğunda,

ışınlanmış anterlerden gelen polen tanelerini (çiçek başına 3 anter) tozlaşma için kullanmışlardır. Meyveler ışınlanmış polenle tozlandıktan 28 gün sonra hasat edilmiştir, aseptik koşullar altında etanol (%70) püskürtülerek yüzeyleri sterilize edilmiştir. Tohumlar çıkarılıp ve sodyum hipoklorit ile dezenfekte edilip steril suyla durulanmıştır. Sonrasında tohumlar %3 sakkaroz ve 0.01 mg/l IAA ile desteklenmiş sıvı E20 ortamı içeren petri kaplarına yerleştirmişlerdir. 10-20 gün sonra embriyo içerdiği görülen tohumlar aseptik olarak açılıp büyüteç altında incelenmiş ve embriyolar hormonsuz E20 ortamına aktarılmıştır. Yaklaşık 1-3 hafta sonra, bitkicikler daha fazla büyüme ve gelişme için 1/2 MS ortamına aktarılmıştır. Sonrasında torf ve perlit içeren saksılara aklimatize etmişlerdir. Sonuç olarak üç bileşiğin konsantrasyonu arttıkça büyük ölçüde haploid embriyo oluşumu azalmış ve en düşük haploid embriyolar, 5000 mg/l spermidin (0.4 embriyo/meyve) veya sikosel (2.0 embriyo/meyve) uygulamalarında gözlemlenmiştir. Sadece 50 mg/L spermidin, tamamen gelişmiş bitkiciklere %100 rejenerasyon sağlamıştır. Tohum tutumu ve meyve boyutu da poliaminler ve sikosel uygulamalarından etkilenmiştir. Bir flowsitometri kullanılarak yapılan ploidi analizi, tüm rejenerasyon geçiren bitkiciklerin ebeveyn bitkilerin gametik kromozom sayısını (n=7) içerdiğini ve kromozom sayımı sonuçlarının da rejenerasyon geçiren bitkiciklerin haploid olduğunu göstermiştir. Sonular, ışınlanmış polen ile tozlanmadan sonra döllenmemiş ovaryumlardan haploid embriyo oluşumu ve oluşan embriyoların bitkiciklere dönüşümü, uygun seviyelerde putresin, spermidin ve sikosel uygulanarak iyileştirilebileceğini göstermiştir.

Heidari-Zefreh vd. (2019) tatlı biberde (*Capsicum annuum* L.) mikrospor kültürü üzerine üç bağımsız deney gerçekleştirmişlerdir. İlk deneyde üç tatlı biber genotipinin (Inspiration F₁, Maratus F₁, ve Magno F₁) mikrospor kültürü üzerindeki soğuk (4 °C) ve sıcak (32 °C) ön işlemlerinin etkisini araştırmışlardır. Inspiration F₁ çeşidinin anterlerine uygulanan 7 günlük 32 °C sıcaklık şokunun, toplam embriyo sayısı, kotiledonlu embriyo sayısı ve rejenerasyon geçiren bitkilerin sayısında artış gösterdiğini ortaya koymuşlardır. İkinci deneyde, mikrospor kültüründe farklı putresin konsantrasyonlarının (0, 0.5, 1, 2, ve 5 mg/L) etkisi incelenmiştir. Mannitol açlığı ve 32 °C sıcaklık şoku sırasında 0.5-1 mg/L putresin uygulaması, Inspiration F₁ genotipinde en yüksek çok hücreli yapılar, kotiledonlu embriyolar ve rejenerant sayısını sağlamıştır. Yüksek putresin seviyelerinde (2 ve 5 mg/L) ise embriyogenezis etkinliği önemli bir azalma göstermiş ve 5.0 mg/L putresin seviyesinde embriyogenezisi tamamen engellediğini belirtmişlerdir. Üçüncü deneyde ise farklı askorbik asit konsantrasyonlarının (0, 20, 50, 100, ve 200 mg/L) etkisi araştırılmıştır. Mannitol açlığı ve 32 °C ısı şoku sırasında 20 ve 50 mg/L askorbik asit uygulamasının, üretilen kotiledonlu embriyoların sayısında ve rejenerasyon yeteneklerinde dikkat çekici bir artış sağladığını göstermiştir. Ancak, daha yüksek askorbik asit seviyeleri (100 ve 200 mg/L) mikrospor hücre bölünmelerini ve embriyogenezisi engellemiştir. Bu bulgular, uygun konsantrasyonlar kullanıldığında hem putresin hem de askorbik asidin tatlı biber mikrospor embriyogenezisi etkinliği üzerinde önemli etkileri olduğunu göstermektedir.

Yurdakul (2022), üç farklı hıyar tipini (baby, mini, pickling) ginogenesis yoluyla dört farklı kültür ortamına poliaminler ilave ederek incelemiştir. Kültüre aldığı ovaryumları farklı sıcaklık ve ışık koşullarında bekletmiştir. İki hafta sonra MS ve 4 BAP: 1 NAA hormonlarıyla kombine edilmiş rejenerasyon besi ortamına almış, üç hafta sonunda oluşan embriyoları kayıt altına almıştır. Mini hıyar tipinde en fazla embriyo

oluşumu spermidin içeren ortamda gözlemlemiştir. Baby ve pickling hıyar tipinde ise putresin içeren besin ortamı embriyo oluşumunu önemli ölçüde artırdığını belirtmiştir. Mini ve pickling tipleri putresin ve spermidinin birlikte kullanıldığı besin ortamları kontrole kıyasla daha başarılı olmuştur.



3. MATERYAL VE METOT

Çalışma 2023 Ekim - 2024 Nisan ayları arasında Akdeniz Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü Doku Kültürü Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

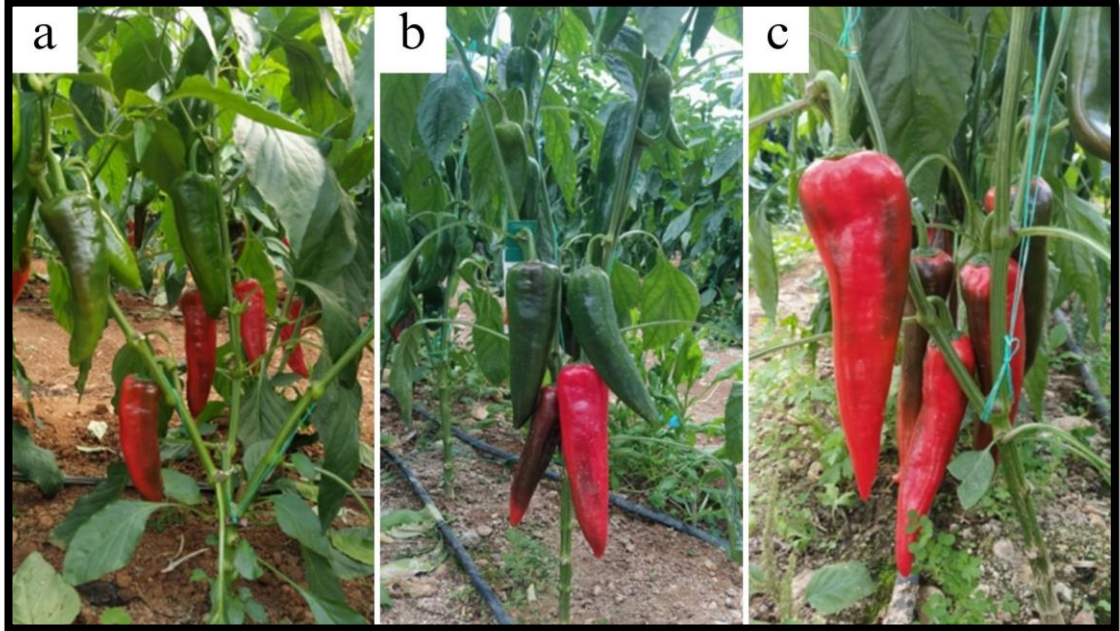
3.1. Materyal

Bitkisel materyal olarak, ıslah araştırmalarında kullanılan ticari çeşitlerden 3 adet kapyra biber (Diyar F₁, SF549 F₁ ve Zaruri F₁) kullanılmıştır.

Diyar F₁: Yüksek verimli, güçlü bitki yapısına sahip ve erkenci bir bitkidir. Meyve 20-22 cm uzunluğunda, iri ve kalitelidir. Sıcak dönemde ve geç dikime uygun bir çeşittir (Anonim 1) (Şekil 3.1a).

SF549 F₁: Sera yetiştiriciliğine uygun, çok güçlü bitki yapısına sahip ve yüksek verimli bir kapyra biber çeşididir. Domates lekeli solgunluk virüsüne (TSWV) toleranslıdır. Basık, etli, körüksüz ve 20-22 cm meyve uzunluğuna sahiptir. Yeşil ve kırmızı hasata uygun, uzun raf ömrü ve bekleme süresinin yanında yüksek brix oranına sahip kaliteli bir çeşittir (Anonim 2) (Şekil 3.1b).

Zaruri F₁: Orta erkenci, tek ekim baharlık ve yazlık örtü altı bir çeşittir. Meyve şekli; uzun, iri, düz, sert ve dizilimi süperdir. Meyveler tatlı, içi ve dışı parlak kırmızı renklidir. Güçlü bitki yapısı ve raf ömrü ile öne çıkar. Sıcağa ve soğuğa karşı dayanıklıdır. TSWV'ye karşı toleranslıdır (Anonim 3) (Şekil 3.1c).



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan donör bitkilerin meyvelerinin bitki üzerindeki görünümü: a) Diyar F₁; b) SF 549 F₁; c) Zaruri F₁

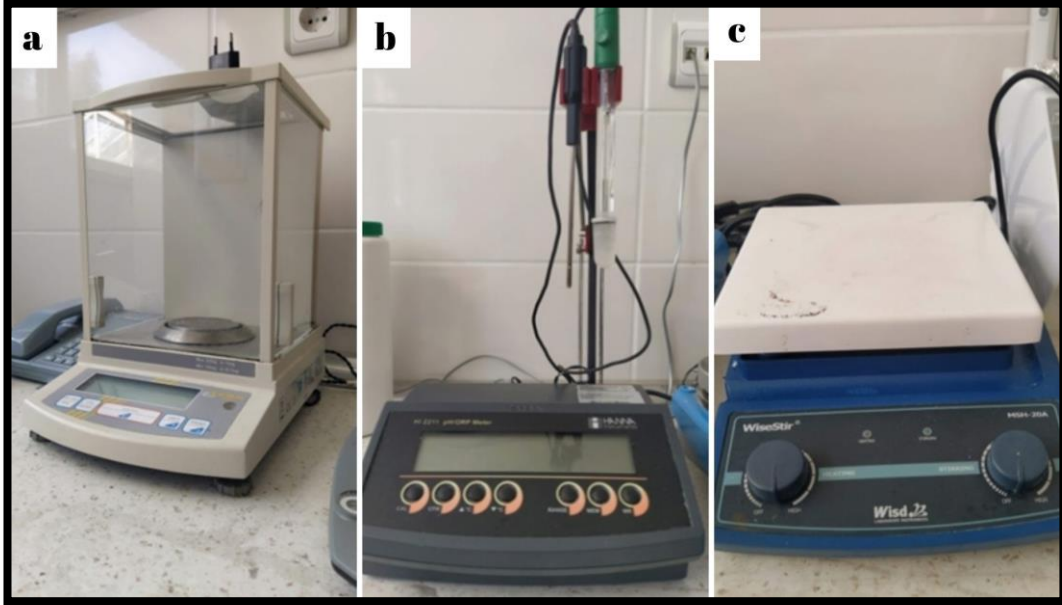
3.2. Metot

3.2.1. Laboratuvarda kullanılan alet ve ekipmanlar

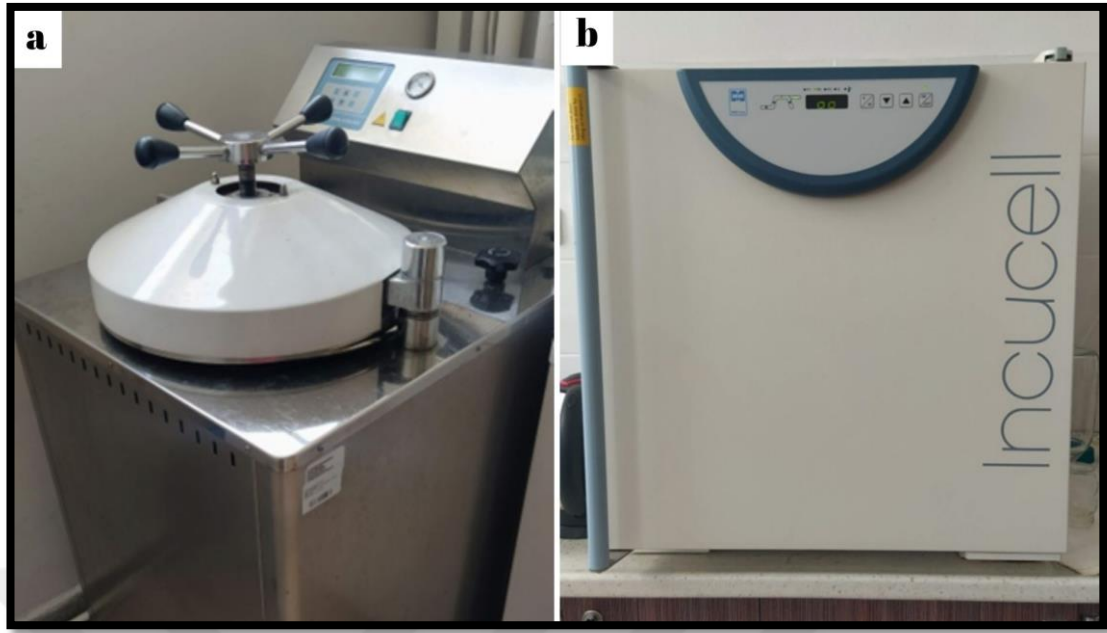
Steril kabin içinde pens, bistüri ve sterilizatör (Şekil 3.2), besin ortamı hazırlığında ise hassas terazi (Şekil 3.3a), pH metre (Şekil 3.3b) ve manyetik karıştırıcı (Şekil 3.3c) kullanılmıştır. Kullanılan bütün malzemelerin sterilizasyonu için otoklav (Şekil 3.4a), inkübasyon koşullarının sağlanması için etüv kullanılmıştır (Şekil 3.4b).



Şekil 3.2. Pens ve bistürilerin steril edilmesi için kullanılan kabin içindeki sterilizatör



Şekil 3.3. Ortam hazırlığında kullanılan malzemeler a) Hassas terazi; b) pH metre; c) Manyetik karıştırıcı



Şekil 3.4. a) Besin ortamlarının ve kullanılan malzemelerin steril edilmesinde kullanılan otoklav; b) İnkübasyon koşullarının sağlanmasında kullanılan etüv

3.2.2. Besin ortamlarının hazırlanışı

Anter kültürü için P1 besin ortamı hazırlanmıştır. MS, 30 g/l süktroz, 4 mg/l naftalenasetik asit (NAA), 0.5 mg/l 6-Benzilaminopurin (BAP), 15 mg/l gümüş nitrat (AgNO_3), %0.25 aktif kömür, ve 7.5 g/l agar içeren besin ortamı hazırlanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. P1 besin ortamı içeriği ve kullanılan miktarlar

P1 Besin Ortamı İçeriği	Miktarı
MS	4.4 g/l
Süktroz	30 g/l
NAA	4 mg/l
BAP	0.5 mg/l
AgNO_3	15 mg/l
Aktif kömür	%0.25
Agar	7.5 g/l

Shed-mikrospor kültürü için hem katı hem sıvı olmak üzere 2 farklı besin ortamı hazırlanmıştır. Katı besin ortamı içeriği (P2); MS, 30 g/l süktroz, 0.1 mg/l kinetin, 0.004 mg/l 2,4-Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D), %0.5 aktif kömür ve agardan oluşmaktadır (Çizelge 3.2). Sıvı besin ortamı (P3) ise P2 katı ortamı ile aynı miktarlarda agar

içermeyen MS, sükroz, kinetin ve 2,4-D içermektedir (Çizelge 3.3). P1 ve P2 besin ortamlarına spermidin ve putresin farklı miktarlarda eklenerek kombinasyonlar oluşturulmuştur (Çizelge 3.4). P3 sıvı ortamına poliaminler eklenmemiştir.

Çizelge 3.2. P2 besin ortamı içeriği ve miktarları

P2 Besin Ortamı İçeriği	Miktarı
MS	4.4 g/l
Sükroz	30 g/l
Kinetin	0.1 mg/l
2,4-D	0.004 mg/l
Aktif kömür	%0.5
Agar	7.5 g/l

Çizelge 3.3. P3 sıvı besin ortamı içeriği ve miktarları

P3 sıvı besin ortamı içeriği	Miktarı
MS	4.4 g/l
Sükroz	30 g/l
Kinetin	0.1 mg/l
2,4-D	0.004 mg/l

Çizelge 3.4. P1 ve P2 besin ortamına eklenen poliaminler ve miktarları

Spermidin	Putresin	Kontrol
20 mg/l - 40 mg/l	20 mg/l - 40 mg/l	-

Besin ortamlarının pH'sı 5.8 olarak ayarlanmıştır. Kültüre alınan toplam anter sayısı 6.750 adettir (Çizelge 3.5). Hazırlanan besin ortamları 121°C'de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir (Şekil 3.5). Besin ortamları için 60 mm'lik petri kaplarına ilave edilip kontaminasyonu engellemek için streç film ile sarılıp +4°C'de muhafaza edilmiştir. Hazırlanan besin ortamlarını içeren petrilerin yarısı anter kültürü diğer yarısı da shed-mikrospor kültürü için kullanılmıştır.

Çizelge 3.5. P1 ve P2 besin ortamları için hazırlanan toplam petri sayısı ve kültüre alınan anter miktarı

Çeşit	P1 ve P2 besin ortamları için hazırlanan toplam petri sayısı					Kültüre alınan toplam anter miktarı
	Kontrol	20 mg/L spermidin	40 mg/L spermidin	20 mg/L putresin	40 mg/L putresin	
Diyar	30	30	30	30	30	2.250
Zaruri	30	30	30	30	30	2.250
SF 549	30	30	30	30	30	2.250
Toplam	450					6.750



Şekil 3.5. Otoklavlanmak üzere hazırlanan besin ortamları

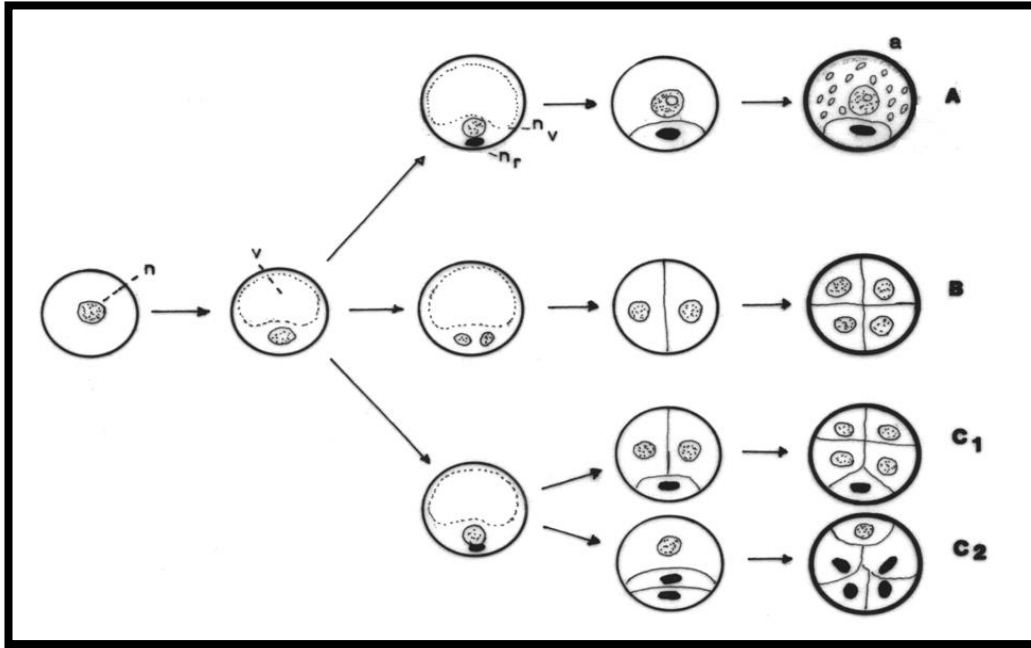
3.2.3. Donör bitkilerin yetiştirilme koşulları, tomurcuk alma ve uygun anter aşaması

Bitkiler Antalya, Yeşilkaraman köyündeki çiftçi serasında yetiştirilmiştir (Şekil 3.6). Sıcaklığı $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ olan serada, ışık yoğunluğu olarak sadece gün ışığından yararlanılmıştır. Bitki gelişimi süresince gerekli kültürel işlemler (zararlı ve hastalıklarla mücadele, gübreleme, sulama, yabancı ot mücadelesi vb.) çiftçi tarafından yapılmıştır.

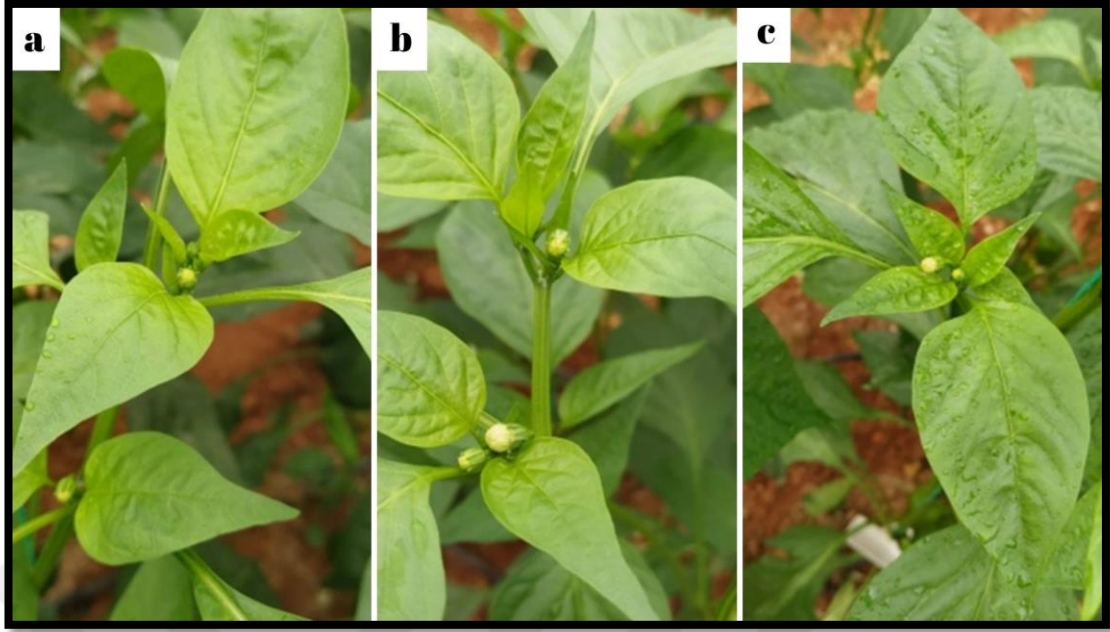


Şekil 3.6. Tomurcuk alınan donör bitkilerin seradaki görünümü

Anter ve shed-mikrospor kültüründe başarı sağlayabilmek için en önemli işlem tomurcukların uygun aşamada toplanmasıdır. Anterler mikroskop altında incelendiğinde tek çekirdekli mikrosporları bulunduran tomurcukların belirlenip, sonrası için de benzer büyüklükteki tomurcukları seçebilmek başarı için önemlidir. Bajaj (1983) tarafından kültüre alınan anterlerde farklı mikrospor aşamalarının görüldüğü belirtilmiştir (Ellialtıoğlu vd. 2002) (Şekil 3.7). Mikroskop incelemesi yaptıktan sonra belirlediğimiz kriterler tomurcukların taç yaprak uzunluklarını %80 tamamladığı ve petallerin sepallerden biraz daha uzun olduğu bunun yanında anter uçlarının da hafif morlaşmaya başladığı dönem olduğuna karar verilmiştir (Parra-Vega vd. 2013) (Şekil 3.8).



Şekil 3.7. n: çekirdek, v: vakuol, nr: generatif çekirdek, nv: vejetatif çekirdek, a: nişasta, A: *in vivo*, B ve C1, C2: *in vitro* (Bajaj 1983, Ellialtıoğlu vd. 2002)



Şekil 3.8. Toplama işleminde tomurcukların bitki üzerindeki durumu: a) Diyar F₁; b) SF549 F₁; c) Zaruri F₁

Çiçeklenmeye başlayan bitkilerden anter kültürü için uygun aşamadaki tomurcuklar sabah erken saatlerde toplanarak doku kültürü laboratuvarına getirilmiştir ve 1 gün boyunca ön soğutma (+4°C) işlemine tabi tutulmuştur. Araştırmada 3 farklı kapya biber çeşidinin her birinden, 2 ayrı boyutlardaki ve renklenme durumları farklı olan tomurcukların anterleri lam üzerinde ezilip floresan mikroskop altında incelenmiştir (Şekil 3.9). Kültüre alma sırasında kullanılacak anterler bu aşamada belirlenmiştir. Uygun mid-mikrospor döneminde olan anterler belirlenmiş ve sonrasında da yaklaşık olarak aynı özelliklerde tomurcuklar toplanmıştır. Yapılan gözlem sonrasında çeşit bazında, tomurcuk içinde bulunan anterlerin uygun aşamaları belirlenmiştir. Sonraki tomurcuk toplama işlemlerinde, bu gözlem doğrultusunda uygun aşamaya yakın tomurcuklar toplanmıştır.



Şekil 3.9. Uygun mikrospor dönemini belirlemek için hazırlanan cam lam üzerindeki anterler

3.2.4. Anterlerin kültüre alma aşaması

Anter ve shed-mikrospor kültürleri için uygun aşamada toplanıp, 1 gün +4°C’de ön soğutmaya tabi tutulmuştur. Tomurcukların sterilizasyonu, steril kabin içerisinde gerçekleştirilmiştir. Çiçek tomurcuklarının dezenfeksiyonunda, tomurcuklar öncelikle %70’lik etil alkolde 30 saniye bekletilmiş ve sonrasında 10 dakika süresince %15’lik sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisinde tutulmuştur. Saf suyla 3 kez durulandıktan sonra anter çıkarma işlemine başlanmıştır (Şekil 3.10).

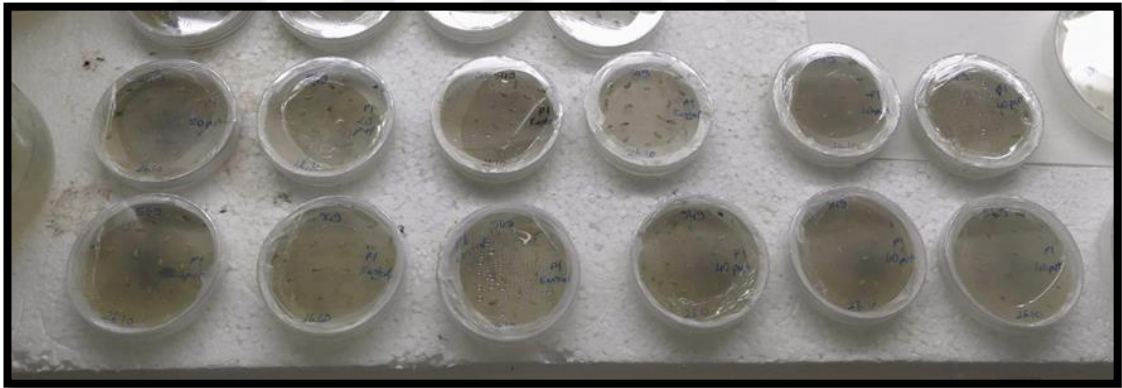


Şekil 3.10. Tomurcukların steril kabin içerisinde alkol ve sodyum hipoklorit ile sterilizasyonu

Filtre kağıtları üzerinde, steril pens ve bistüri yardımıyla tomurcuk içindeki anterler çıkarılmıştır. Anterler çıkarılırken filamentlerinden ayrılmasına dikkat edilmiştir ve hazırlanan besin ortamlarına yerleştirilmiştir. 60 mm’lik plastik steril petri kapları kullanılmıştır, her petriye 15’er adet anter ekilmiştir. Toplam 5 kez deneme kurulmuştur. 1 denemede her besin ortamından 3 petri kullanılmıştır. Anter kültüründe besin ortamına doğrudan ekim yapılmıştır. Shed-mikrospor kültüründe ise önce katı besin ortamına anterleri yerleştirilip, sonrasında P3 sıvı ortamı her petriye 5 ml olacak şekilde ilave edilmiştir (Şekil 3.11). Oluşabilecek kontaminasyon ihtimaline karşı bütün petriler önce parafilm ile sonra da streç film ile hava almayacak şekilde sarılarak, sıcaklık ön uygulaması için 35°C’deki etüve yerleştirilmiştir. 2 gün boyunca 35°C karanlık inkübasyona tabi tutulmuşlardır. Etüvden çıkarılan anter kültürüne ait petriler, 25°C sıcaklıkta, 16/8 saat aydınlık/karanlık ve ortalama 3000 lux ışık şiddetinde olan iklim odasında embriyo oluşuncaya kadar bekletilmiştir (Şekil 3.12). Shed-mikrospor kültürüne ait olanlar ise 25°C sıcaklığa sahip karanlık ortama yerleştirilmiştir ve embriyo oluşuncaya kadar bekletilmiştir. Gelişen embriyolar MS0 ortamına aktarılmıştır.



Şekil 3.11. Shed-mikrospor kültüründe sıvı besin ortamının ilave edilmesi



Şekil 3.12. İklimlendirme odasında bulunan anter kültürüne ait petriler

3.2.5. Gelişen embriyoların MS0 besin ortamına aktarılması ve gelişen bitkiciklerin aklimitizasyonu

Anter kültüründen oluşan embriyolar, gerçek kök ve yaprak dokularını oluşturabilmesi ve gelişmelerini sürdürebilmesi için MS0 besin ortamına aktarma yapılmıştır. 25°C’de, 16/8 saat aydınlık/karanlık ve aydınlanma şiddeti yaklaşık 3000 lux olan iklim odasında gelişimleri gözlemlenmiştir. Gelişen embriyolar tespit edilerek ortamı yenilenmesi için taze MS0 ortamına aktarılmıştır. MS0 besin ortamında gelişmelerini tamamlayan bitkiciklerin önce 1:1 oranında torf:perlit içeren viyollere, gelişmelerinin ilerleyen aşamalarında ise yine 1:1 torf:perlit içeren saksılara aktarımı yapılmış ve bitkilerin gelişimi gözlemlenmiştir.

3.2.6. Çalışma sonucu değerlendirilecek parametreler

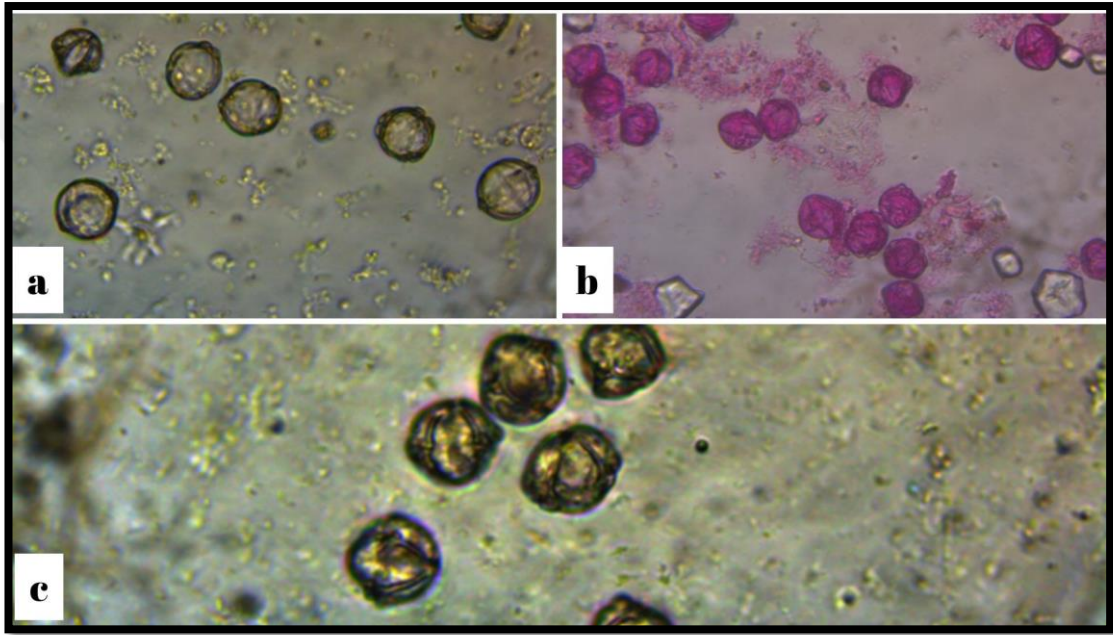
Çalışmada alınan gözlemler daha önce yapılan çalışmalar incelenerek belirlenmiştir. Bunlar; kültüre alınan petri sayısı (adet), ekim yapılan anter miktarı (adet), embriyo oluşum miktarı (adet), normal embriyo ve anormal embriyo oluşum miktarları (adet), gelişen bitki sayısı (adet) ve yüzdesi (%) Bu çalışmada da bu veriler ele alınmış ve değerlendirilmiştir.

- Kültüre alınan petri sayısı: Anter ve shed-mikrospor teknikleri için toplam 450 adet plastik petri kullanılmıştır. Her iki teknikte de karşılaşılan kontaminasyonlardan sonra bu petriler uzaklaştırılmış ve gözlemler sağlıklı petriler ile yürütülmüştür.
- Anter sayısı: Anter ve shed-mikrospor kültürü tekniklerinin her ikisinde de bir petride 15 adet anter olacak şekilde ekim yapılmıştır. Kültüre alınan anterler iklim odasında haftalık olarak kontrol edilmiştir.
- Embriyo oluşum miktarı: İklim odasında 4.hafta boyunca bekleyen anterler embriyo oluşturmaya başlamışlardır. Oluşan embriyolar MS0 temel besin ortamına aktarılmışlardır.
- Normal ve anormal embriyo: Embriyolar oluşmaya başladıktan sonra MS0 besin ortamına aktarılmışlardır. Büyüme noktası bulunan embriyolar normal embriyo, büyüme noktası olmayan embriyolar ise anormal embriyo olarak tanımlanmıştır.
- Bitki sayısı ve yüzdesi (%): Normal embriyoların gelişen, kök ve yapraklarına sahip bitkiciklerin miktarları her bir çeşit için ayrı ayrı gözlemlenip kaydedilmiştir. Oluşan bitkiciklerin yüzdeleri hesaplanarak kaydedilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Tomurcukların Uygun Aşamalarının Tespiti

In vitro anter kültürü ve mikrospor kültüründe önemli olan aşamalardan ilki, toplanan tomurcukların içindeki anterlerin uygun aşamada olup olmadığıdır. Anterler mikroskop altında incelendiğinde, tek çekirdekli mikrospor döneminin erken ya da geç aşamasında ise uygun dönemdir. Doğru aşamanın genotipe ve tomurcuğun alındığı donör bitkide bulunduğu konuma göre de değişebileceği belirtilmiştir (Ellialtıoğlu vd. 2002). Anter kültürüne başlamadan önce gerekli incelemeleri yapıp uygun aşama tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Çeşitler dikkate alınarak incelenmiş, tomurcuk büyüklüğünde ve taç yaprağın çanak yaprağa oranlarında farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2).



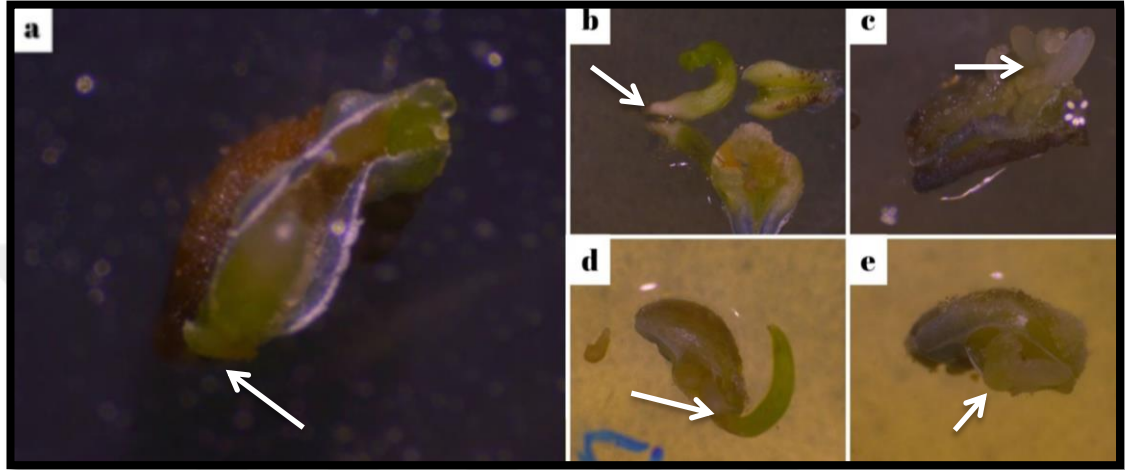
Şekil 4.1. Mikroskop altında gözlemlenen anterlerin mid-mikrospor aşamasının belirlenmesi a) Diyar F₁, b) SF549 F₁, c) Zaruri F₁



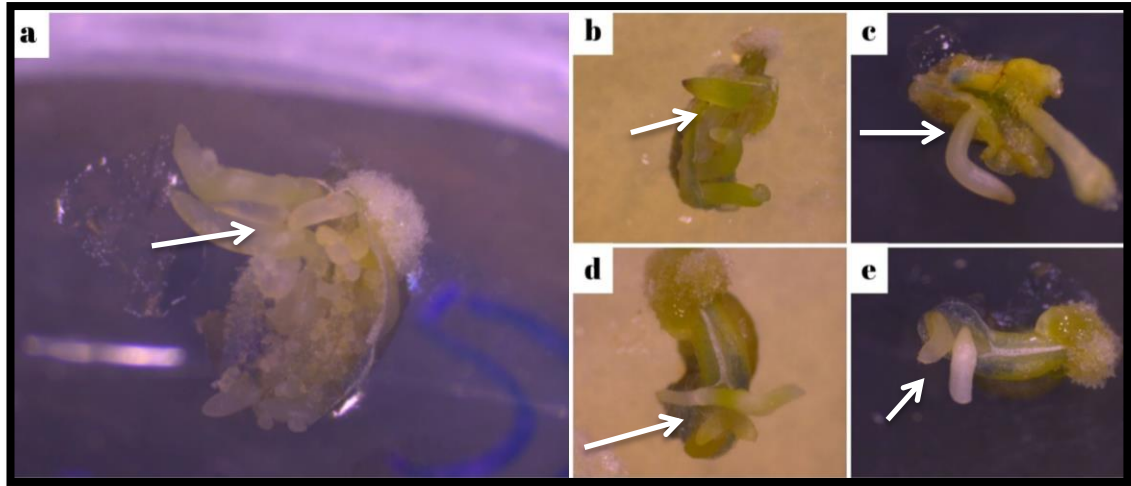
Şekil 4.2. a) Diyar F₁ çeşidine ait tomurcuklar, b) SF549 F₁ çeşidine ait tomurcuklar, c) Zaruri F₁ çeşidine ait tomurcuklar

4.2. Kültüre Alınan Anterlerin MS0 Besin Ortamına Aktarımı

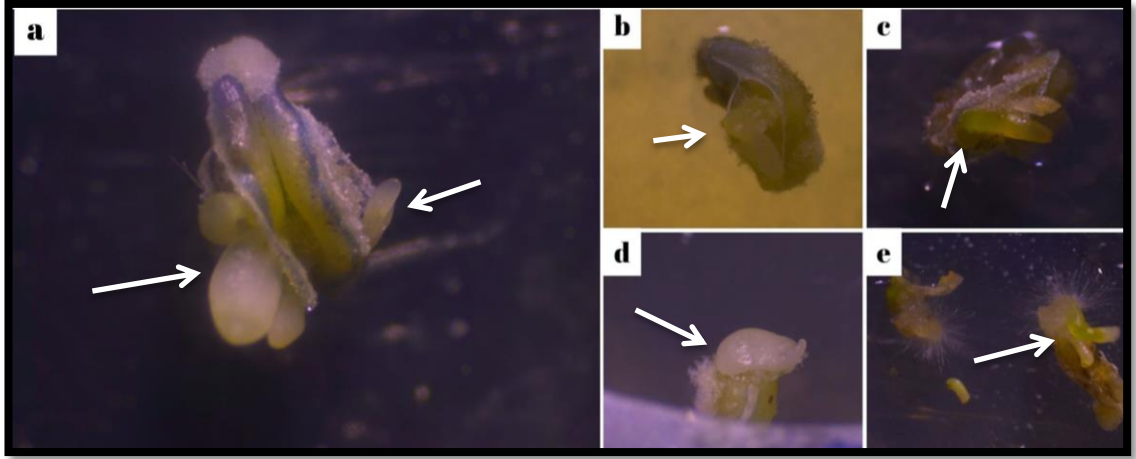
Kültüre alınan anterlerde yaklaşık 4 hafta boyunca bir gelişme gözlenmemiştir. Anter kültüründe 4. haftadan itibaren ilk kurulan denemelerde embriyo oluşumu gözlenmeye başlamıştır (Şekil 4.3 - Şekil 4.5). 10. haftaya kadar hiçbir müdahale edilmemiştir. 10. haftadan sonra embriyolar MS0 içeren 90 mm'lik steril plastik petri kaplarına ve 140 mm uzunluğunda ve 20 mm çapında olan cam tüplere aktarılmıştır (Şekil 4.6).



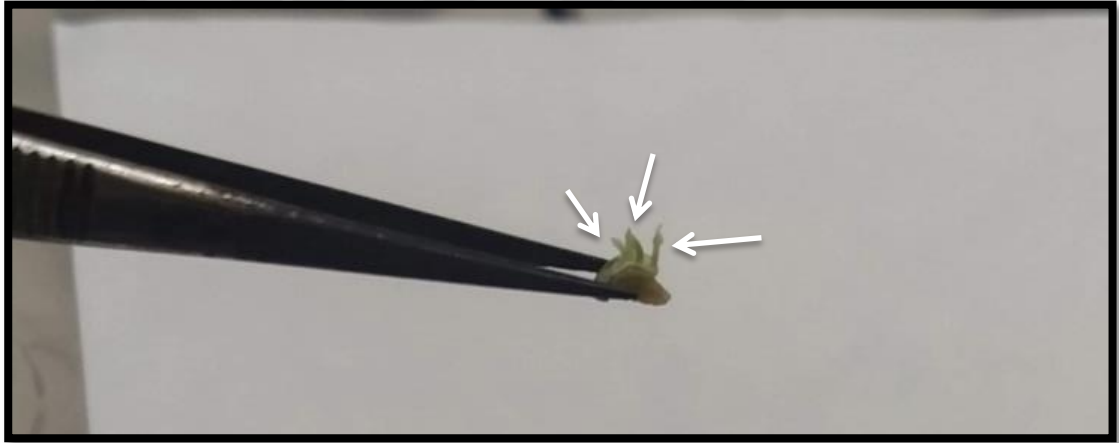
Şekil 4.3. Diyar F₁ çeşidine ait farklı besin ortamlarında bulunan anterlerin embriyo oluşumlarının mikroskop altında incelenmesi a) Kontrol; b) 20 mg/l spd; c) 40 mg/l spd; d) 20 mg/l put; e) 40 mg/l put



Şekil 4.4. SF549 F₁ çeşidine ait farklı besin ortamlarında bulunan anterlerin embriyo oluşumlarının mikroskop altında incelenmesi a) Kontrol; b) 20 mg/l spd; c) 40 mg/l spd; d) 20 mg/l put; e) 40 mg/l put



Şekil 4.5. Zaruri F₁ çeşidine ait farklı besin ortamlarında bulunan anterlerin embriyo oluşumlarının mikroskop altında incelenmesi a) Kontrol; b) 20 mg/l spd; c) 40 mg/l spd; d) 20 mg/l put; e) 40 mg/l put

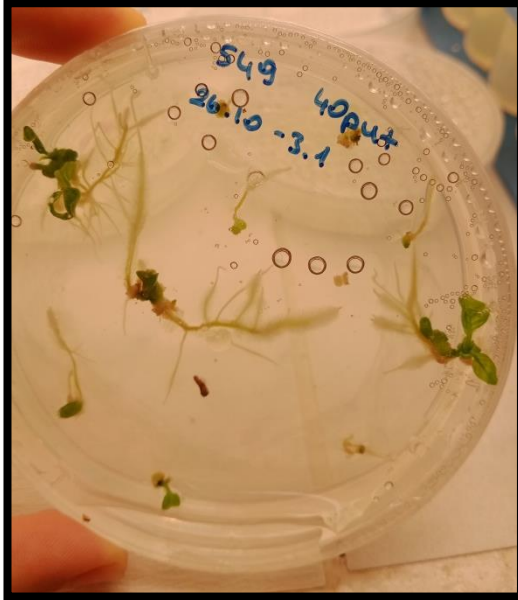


Şekil 4.6. Anterden gelişen embriyoların, MS0 besin ortamına aktarılırken bir görüntüsü

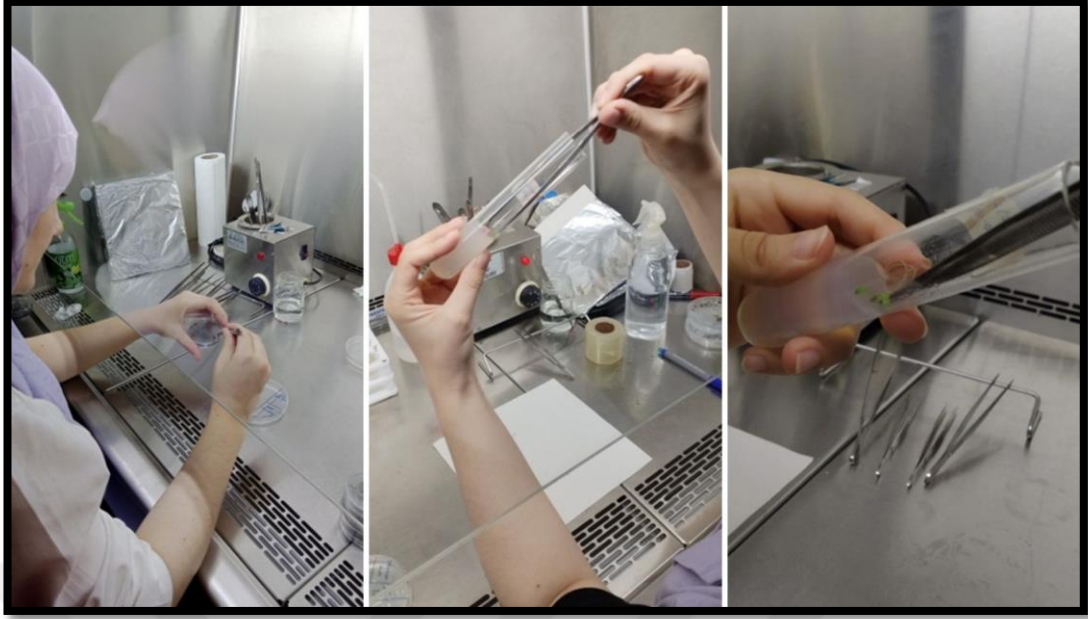
Taze MS0 besin ortamına aktarılan embriyolar, gelişimleri için iklim odasına konulmuştur ve bitkicik oluşumu için yaklaşık bir hafta beklenmiştir. Gelişen embriyolarda yaprak ve kök oluşumu gözlenmeye başladıktan sonra bitkicikler, MS0 besin ortamı içeren cam tüplere aktarılmıştır. Cam tüplere aktarılan bitkiciklerde kök ve yapraklar tamamen gelişene kadar gözlemlere iklim odasında devam edilmiştir (Şekil 4.7- 4.10).



şekil 4.7. İklim odasında anter kültüründen elde edilen bitkiciklerin görüntüsü



şekil 4.8. Embriyolardan gelişen bitkicikler

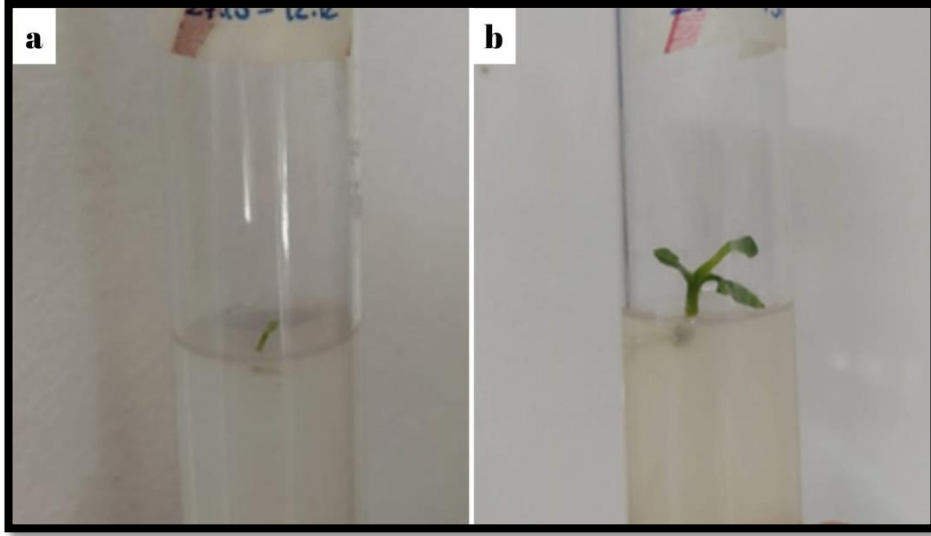


Şekil 4.9. Köklenen ve yapraklarını oluşturan bitkiciklerin cam tüplere aktarımı yapılırken alınan görüntüler



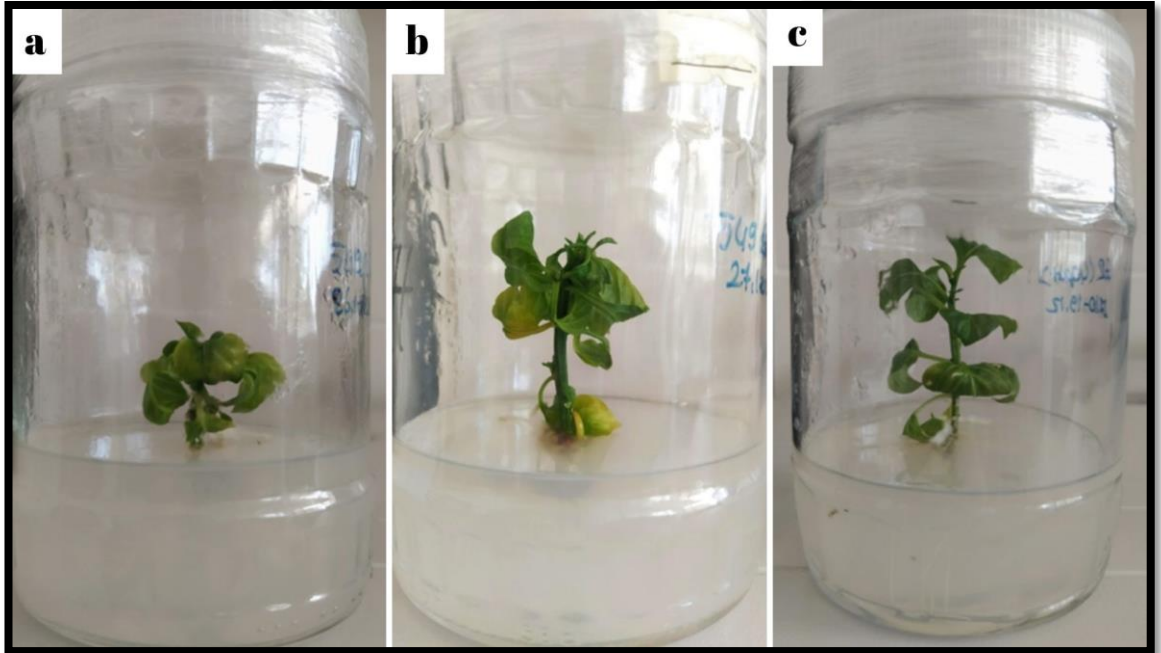
Şekil 4.10. Cam tüp içinde kök ve yaprakları gelişmiş bitkicikler

Büyüme noktası olmayan embriyolar anormal embriyo, büyüme noktası olan embriyolar ise normal embriyo olarak tanımlanmıştır. Anormal embriyoların MS0 besin ortamında ya hiç gelişme göstermediği ya da kök ve yapraklarını oluşturmadan yeşil bir aksam oluşturduğu gözlemlenmiştir. Normal embriyoların gelişerek gerçek kök ve yapraklarını oluşturduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.11).

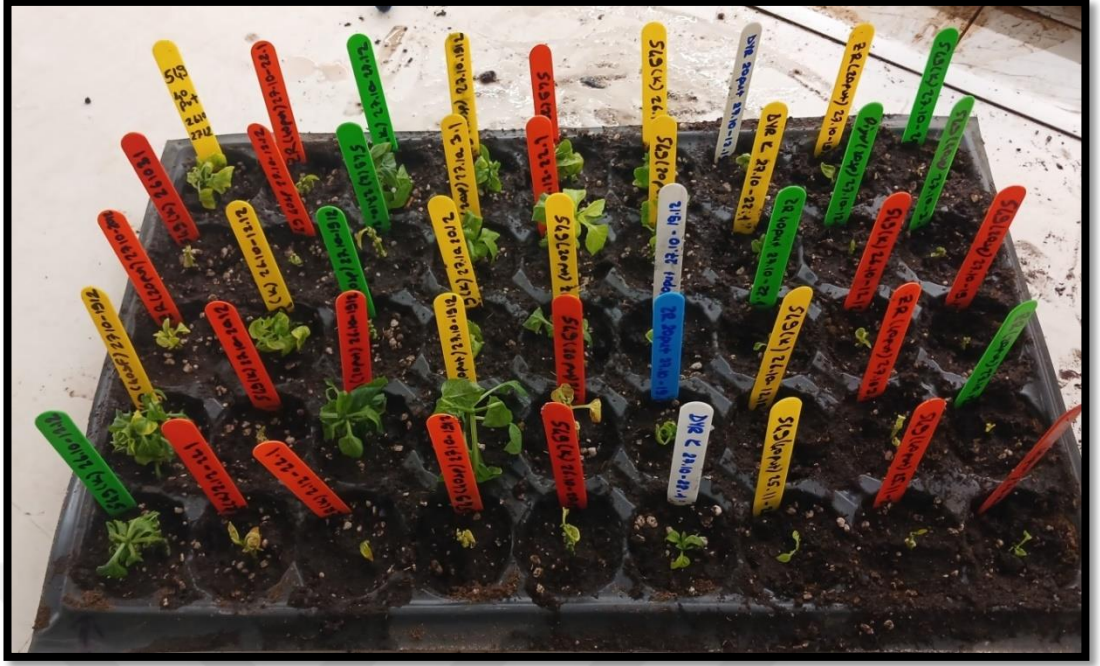


Şekil 4.11. a) Anormal embriyodan gelişen bitkicik; b) Normal embriyodan gelişen bitkicik

Büyümeye devam eden bitkiler, taze MS0 ortamı içeren cam kavanozlara aktarılmışlardır (Şekil 4.12). Sonrasında torf ve perlit içeren viyole aklimize edilmiştir (Şekil 4.13). Büyüyen bitkiler torf ve perlit içeren saksılara aktarılmıştır ve haploid bitkiler elde edilmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.12. Anterlerden gelişen bitkiler a) Diyar F₁; b) SF549 F₁; c) Zaruri F₁



Şekil 4.13. Aklimitizasyon yapılmış bitkilerin viyolde görüntüsü



Şekil 4.14. Gelişimini tamamlayan haploid bitkiler

4.3. Çalışmadan Elde Edilen Veriler

Çalışmada, ticari olarak üretilen 3 farklı biber çeşidi kullanılmıştır. P1, P2 ve P3 ortamı hazırlanmıştır. Hazırlanan ortamlara (P3 hariç) poliaminler eklenerek kombinasyon oluşturulmuştur. P1 anter kültürü, P2 ve P3 shed-mikrospor kültürü için kullanılmıştır. Shed-mikrospor kültüründen embriyo elde edilememiştir. Sadece anter kültürüne ait veriler hesaplanmıştır. Kontrol denemeleri ile poliamin uygulanan besin ortamlarının kıyaslaması yapılmıştır. Her çeşitte birbirinden farklı veriler elde edilmiştir.

4.3.1. Diyar F₁ çeşidinin anter kültürü tekniğine ait verileri

Diyar F₁ çeşidinde toplam 1.125 adet anter kültüre alınmıştır. Kültüre alındıktan sonra 2 gün boyunca karanlık ortamda ve 35°C’de inkübasyona tabi tutulmuştur. Sonrasında iklim odasına alınıp 4 hafta boyunca embriyo gelişimi için beklenilmiştir. Gelişen embriyolar, MS0 temel besin ortamı içeren plastik petrilere ve cam tüplere aktarılmıştır. Embriyolar geliştikçe gerçek kök ve yaprakları oluşanlar bitkiciğe dönüşmüştür. Bu veriler kayıt altına alınmıştır (Çizelge 4.1). Besin ortamı kombinasyonlarını kıyaslayacak olursak; bitki oluşumu en fazla 20 mg/l spermidin uygulanan besin ortamında görülmüştür. 40 mg/l poliamin içeren besin ortamlarında bir gelişme görülmemiştir.

Çizelge 4.1. Diyar F₁ çeşidine ait anter sayısı, toplam embriyo sayısı, bitki sayısı ve yüzdesi

Besin ortamları	Anter sayısı (adet)	Toplam embriyo sayısı (adet)	Bitki sayısı	
			Adet	Yüzde (%)
Kontrol	225	40	2	5
20 mg/l spermidin	225	10	3	30
40 mg/l spermidin	225	21	0	0
20 mg/l putresin	225	22	1	4.55
40 mg/l putresin	225	39	0	0

Diyar F₁ çeşidinde poliaminlerin, anormal embriyo oluşumu üzerine etkisini değerlendirdiğimizde Çizelge 4.2’deki veriler elde edilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında poliaminlerin Diyar F₁ çeşidinde embriyo oluşumunu ve anormal embriyo oluşumunu azalttığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.2. Diyar F₁ çeşidine ait normal ve anormal embriyo oluşum miktarları

Besin ortamı \ Embriyo	Kontrol	20 mg/l sp	40 mg/l sp	20 mg/l put	40 mg/l put
Normal	25	10	17	18	36
Anormal	15	2	4	4	3

4.3.2. SF549 F₁ çeşidinin anter kültürü tekniğine ait verileri

SF549 F₁ çeşidinde toplam 1.125 adet anter kültüre alınmıştır. Kültüre alındıktan sonra 2 gün boyunca karanlık ortamda ve 35°C’de inkübasyona tabi tutulmuştur. Sonrasında iklim odasına embriyo gelişimi için beklenilmiştir. Gelişen embriyolar, MS0 temel besin ortamı içeren plastik petrilere ve cam tüplere aktarılmıştır. Besin ortamı kombinasyonları kıyaslandığında; en fazla embriyo oluşumu ve bitki gelişiminin kontrol grubunda olduğu gözlemlenmiştir. Yüzde olarak bitki gelişimi kıyaslandığında %14.28 ile 40 mg/l putresin uygulanan besin ortamının kontrole kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Poliaminler kendi arasında değerlendirildiğinde ise 40 mg/l spermidin ve 40 mg/l putresin uygulanan besin ortamlarının 20 mg/l poliamin uygulanan besin ortamlarına göre daha başarılı sonuçlar verdiği söylenebilir (Çizelge 4.3). Kontrol grubu ile kıyaslanırsa bitki oluşumunda düşüş görülmektedir.

Çizelge 4.3. SF549 F₁ çeşidine ait anter sayısı, toplam embriyo sayısı, bitki sayısı ve yüzdesi

Besin ortamları	Anter sayısı (adet)	Toplam embriyo sayısı (adet)	Bitki sayısı	
			Adet	Yüzde (%)
Kontrol	225	107	14	13.08
20 mg/l spermidin	225	68	4	5.88
40 mg/l spermidin	225	57	7	12.28
20 mg/l putresin	225	48	4	8.33
40 mg/l putresin	225	42	6	14.28

SF549 F₁ çeşidinde normal ve anormal embriyo oluşumları kıyaslandığında kontrol grubunun yaklaşık yarısı anormal embriyodur. Spermidin miktarı arttığında anormal embriyo oluşumu azalmıştır. Putresin içeren ortamlardan 20 mg/l içeren besin ortamının, embriyo sayısını arttırıp, anormalliği azalttığı görülmüştür (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. SF549 F₁ çeşidine ait normal ve anormal embriyo oluşum miktarları

Besin ortamı \ Embriyo	Kontrol	20 mg/l sp	40 mg/l sp	20 mg/l put	40 mg/l put
Normal	73	48	47	39	32
Anormal	34	20	10	9	10

4.3.3. Zaruri F₁ çeşidinin anter kültürü tekniğine ait verileri

Zaruri F₁ çeşidinde de diğer çeşitlerde olduğu gibi toplam 1.125 adet anter kültüre alınmıştır. Kültüre alındıktan sonra inkübasyona tabi tutulmuştur. Sonra iklim odasına alınıp embriyo gelişimi için beklenilmiştir. Gelişen embriyolar, MS0 temel besin ortamı içeren plastik petrilere ve cam tüplere aktarılmıştır. Normal gelişim gösteren embriyoların gerçek kök ve yapraklarını oluşturduğu ve bitkiciğe dönüştüğü gözlemlenmiştir. Besin ortamı kombinasyonları kıyaslandığında; putresin içeren kombinasyonlarda, kontrole ve spermidin içeren besin ortamlarına göre daha fazla

embriyo elde edildiği gözlemlenmiştir. Spermidin içeren besin ortamı kombinasyonları ise çok az sayıda embriyo vermiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Zaruri F₁ çeşidine ait anter sayısı, toplam embriyo sayısı, bitki sayısı ve yüzdesi

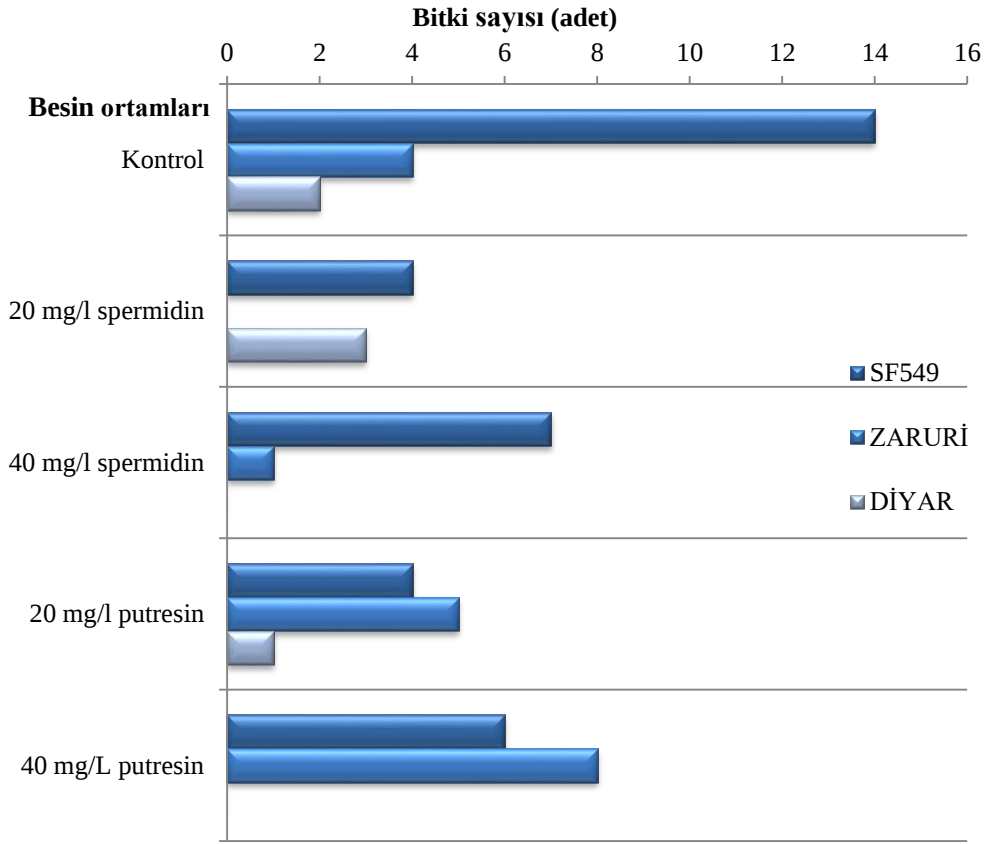
Besin ortamları	Anter sayısı (adet)	Toplam embriyo sayısı (adet)	Bitki sayısı	
			Adet	Yüzde (%)
Kontrol	225	55	4	7.27
20 mg/l spermidin	225	8	0	0
40 mg/l spermidin	225	8	1	12.5
20 mg/l putresin	225	48	5	10.41
40 mg/l putresin	225	76	8	10.52

Zaruri F₁ çeşidi için normal ve anormal embriyo oluşumunda poliaminler, kontrol ile kıyaslanmıştır (Çizelge 4.6). Spermidin içeren besin ortamlarında çok fazla embriyo oluşmamıştır ve yaklaşık yarısı anormal embriyodur. Putresin içeren besin ortamlarında ise putresin miktarı arttığında oluşan embriyo sayısının arttığı ve anormal embriyo oluşumunun azaldığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6. Zaruri F₁ çeşidine ait normal ve anormal embriyo oluşum miktarları

Besin ortamı \ Embriyo	Kontrol	20 mg/l sp	40 mg/l sp	20 mg/l put	40 mg/l put
Normal	47	6	5	31	60
Anormal	8	2	3	17	16

Çalışma sonucu en fazla 14 bitki ile SF549'un kontrol grubundan elde edilmiştir. Diyar çeşidi 6 bitki ile diğer iki çeşidin gerisinde kalmıştır. Diyar için düşük miktarlarda poliaminin bitki oluşturmada daha etkili olduğu söylenebilir. SF549 çeşidi için 20 mg/l poliamin içeren besin ortamlarında embriyo oluşumunun arttığı, 40 mg/l poliamin içeren besin ortamlarında ise bitki oluşumunun arttığı gözlenmiştir. Zaruri çeşidi spermidin içeren besin ortamında olumsuz etkilenmiş ve düşük embriyo bitki elde eldesi ile sonuçlanmıştır. Putresin uygulamalarında ise en iyi sonucu veren çeşit olmuştur (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Oluşan bitki sayılarının kıyaslaması

Anter ve shed-mikrospor kültürü teknikleri kullanılarak haploid bitki elde edilmesinde genotip, donör bitkinin yetiştirme koşulları (sıcaklık, ışık yoğunluğu vb.) ile fizyolojik durumu ve yaşı, anterlerin gelişme dönemi, besin ortamı kompozisyonu ve kültür koşulları ve ön uygulamalar gibi birçok faktör etkili olmaktadır (Ellialtıoğlu vd. 2002).

Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde, yukarıda verilen etmenlere göre çeşitlerin haploid bitki oluşturmada farklılıklar gösterdiği ortaya koyulmuştur. Kara ve Sarı (2013) 6 farklı kabak çeşidi kullanılarak poliaminlerin haploid bitki oluşturmada etkisi incelenmiştir. Embriyo uyarımı için 3 farklı miktarda putresin ve spermidin kullanılmıştır. Anter ve kallus gelişme oranları kontrole kıyasla yüksek bulunmuştur. 40 mg/l putresin uygulanan besin ortamı kallus oluşturmada en başarılı olurken, bitki elde edilememiştir. Araştırmacılar farklı dönemlerde yaptıkları çalışmanın sonuçlarının da farklı olduğunu, kullanılan çeşitlere göre sonuçların değiştiğini belirtmiştir. Bu durum, araştırmanın yapıldığı dönemin ve kullanılan materyalin etkili olduğunu göstermiştir. Haploid bitki oluşturmada daha yüksek miktarda poliamin uygulanması tavsiye edilmiştir. Benzer şekilde bu çalışmada da çeşitler ve uygulanan poliamin miktarlarına bakılarak biberde de aynı durumun etkili olduğunu söyleyebiliriz. Zaruri F₁ çeşidi için 20 mg/l ve 40 mg/l putresin içeren besin ortamlarında anormal embriyo oluşumunda artış görülürken, gelişen bitki sayısı kontrole göre daha fazla olmuştur.

Ebrahimzadeh vd. (2018) tarafından hıyarda (*Cucumis sativus* L.) yapılan bir çalışmada bitki üzerine farklı oranlarda 3 farklı poliamin püskürterek, döllenmemiş yumurtalıklardan haploid bitki oluşumuna etkisini gözlemlemiştir. Elde ettikleri tomurcuklardan çıkarılan anterler, gama ışınına maruz bırakılmış ve polenleri tozlaşma için kullanılmıştır. Yapılan araştırma sonucu, poliamin konsantrasyonları arttıkça embriyo oluşumunun azaldığı belirtilmiştir. Erim (2019) tarafından biberde shed-mikrospor kültürü tekniğinin etkisi incelenmiştir. Sıvı ortam sayesinde mikrosporların gelişimin kolaylaştığı, katı ortamda bulunan besin maddelerinden kolaylıkla faydalandığı, sıvı besin ortamı azaldığında üzerine ilave edilebilir olduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmada farklı besin ortam kombinasyonlarının ve donör bitki gelişimlerinin shed-mikrospor kültüründe başarıyı etkilediği belirtilmiştir. Benzer şekilde bu çalışmada da çeşit ve besin ortamı farklılıklarının etkisi gözlemlenmiştir. Daha önce Yurdakul (2022) tarafından yapılan çalışmada, hıyarda ginogenesis yoluyla haploid bitki elde etme üzerine poliaminlerin etkisi araştırılmıştır. poliaminlerin embriyo oluşturmada olumlu bir etkisi olduğu ve putresinin ön plana çıktığı belirtilmiştir. Bununla birlikte hem putresin hem de spermidinin bitki sayısını arttırdığı raporlanmıştır. Bu çalışmada da benzer şekilde farklı poliamin ve bunların farklı dozlarının etkilerinin çeşitlere göre değişebileceği belirlenmiştir. Dolayısıyla, biberde yapılacak olan ileriki çalışmalarda daha iyi sonuçlar alınacağı söylenebilir.

5. SONUÇ

Bu tez çalışmasında 3 farklı kapy biber (*Capsicum annuum* L.) çeşidi (Diyar F₁, SF549 F₁ ve Zaruri F₁) kullanılarak, anter ve shed-mikrospor kültürü teknikleri uygulanmış, farklı poliaminler ile dozlarının etkileri incelenerek haploid bitki elde edilmesi amaçlanmıştır. Poliamin uygulaması olarak besin ortamına 20 mg/l ve 40 mg/l konsantrasyonunda putresin ve spermidin ilavesi ile farklı besin ortamı oluşturulmuştur. Poliamin uygulamaları anter kültürü tekniğine yanıt vermiştir. Shed- mikrosporu kültürü tekniğinden kontaminasyon kaynaklı hiç bitki elde edilememiştir.

Çeşitlerin hazırlanan besin ortamı kombinasyonlarına nasıl yanıt verdikleri değerlendirilmiştir. Çeşitler kıyaslandığında her birinde farklı sonuçlar elde edilmiştir. En fazla embriyo ve bitki oluşturan çeşit SF549 F₁ çeşididir. Zaruri F₁ çeşidi ise, sadece putresin içeren besin ortamı kombinasyonlarına iyi yanıt vermiştir. Poliamin uygulamalarına en düşük tepkiyi veren Diyar F₁ çeşidi olduğu belirlenmiştir.

Diyar F₁, 20 mg/l içeren besin ortamı kombinasyonlarında bitki oluşturmıştır. 40 mg/l içeren besin ortamı kombinasyonlarında anormal embriyo oluşturduğu gözlemlenmiştir. Diyar F₁ çeşidi için daha az oranlarda poliamin içeren besin ortamları kullanılırsa daha iyi sonuçlar elde edilebilir. Elde edilen sonuçlar düşük oranlarda kullanılan poliamin konsantrasyonlarının Diyar F₁ çeşidinde daha iyi sonuçlar elde edilebileceğini göstermiştir.

SF549 F₁ çeşidinde, kontrolle kıyaslama yapıldığında bitki oluşumunda düşüş görülmüştür. Poliamin içeren besin ortamları kıyaslandığında ise 20 mg/l içeren ortamların daha fazla embriyo oluşturduğu gözlenmiştir. 40 mg/l poliamin içeren besin ortamlarında ise bitki oluşturma yüzdesi yüksektir.

Çalışmada kullanılan diğer çeşit olan Zaruri F₁ çeşidi, poliamin uygulamalarına daha farklı tepki vererek spermidin içeren besin ortamlarında düşük sayıda embriyo oluşturmıştır. Bu çeşitte poliamin uygulamasının anormal embriyo oluşumunu arttırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte putresin içeren besin ortamlarından haploid bitki eldesi gerçekleşmiştir.

Daha önce buna benzer bir çalışma yapılmadığı için özgün değeri yüksektir ve sonraki çalışmalara kaynak oluşturabilecek niteliktedir. Biber ıslahı çalışmalarında bu bulgular, daha hızlı ve etkin sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir. Bu çalışma, bitki ıslahı çalışmalarında önemli bir adım olup biber ıslah çalışmalarının kısaltılmasına katkıda bulunabilir. Tezin yazım aşamasına kadar biber haploid çalışmalarında poliamin uygulamalarına rastlanılmamıştır. Bu yönü itibarıyla çalışma bir ilki oluşturmaktadır. Çalışma sonucunda, poliaminlerin haploid bitki elde etme sürecinde önemli bir rol oynadığı ve genotipler arasındaki farklılıkların bu süreçte etkili olduğu gösterilmiştir. İlk kez böyle bir çalışma yürütüldüğü için özgün değeri yüksektir. Gelecekteki çalışmalarda, daha fazla çeşit/genotip, farklı biber tipleri ve farklı poliamin kombinasyonları ile araştırılmalar yapılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Aktaş, T. ve Çölgeçen, H. 2017. Farklı bitki türlerinden bitki doku kültürü teknikleriyle flavonoidlerin üretimi. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 7 (2), 665-673.
- Alremi, F., Taşkın, H., Sönmez, K., Büyükalaca, S. and 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: <https://www.antematarim.com.tr/diyar-f1.html> [Son erişim tarihi: 17.03.2024].
- Anonim 2: <https://www.semillasfito.com.tr/trtr/productos/hort%C3%ADcolas/pimiento/kapi-a-biber/kap-549/> [Son erişim tarihi: 17.03.2024].
- Anonim 3: <https://www.metgen.com.tr/portfolio/zaruri-f1/> [Son erişim tarihi: 17.03.2024].
- Atasoy, D. 2020. Bazı Biber (*Capsicum annuum* L.) ıslah genotiplerinin anter kültürü performanslarının belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 49-50s.
- Bajaj, Y.P.S. 1983. *In vitro* production of haploids. In: Evans DA, Sharp VR, Ammirato PV, Yamada Y (eds), Handbook of Plant Cell Culture, Mc Millan Publ. Co. Vol I Chapter 6, pp. 228-287.
- Benli, Y. 2019. Bazı biber (*Capsicum annuum* L.) genotiplerinin farklı androgenesis yöntemlerine tepkisi üzerine bir çalışma. Yüksek lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Bourgin, J.P. and Nitsch J.P. 1967. Obtention de Nicotiana haploides a partir d’etamines cultivees *in vitro*. *Ann. Pysiol. Veget*, 9: 377-382
- Cömlekcioglu, N. and Ellialtıoğlu S. 2018. Review on the research carried out on *in vitro* androgenesis of peppers (*Capsicum annuum* L.) in Turkey. *Research Journal of Biotechnology*, 13(6): 75-84.
- Cömlekcioglu, N., Büyükalaca, S. and Abak K. 2001. Effect of silver nitrate on haploid embryo induction by anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.) XI. th. *EUCARPIA Meeeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant*, 9-13 April 2001, Antalya, Turkey, pp. 133-136.
- Çardak, T. Z. 2023. Anter kültüründe bazı acı biber çeşitlerinin farklı besi ortamlarında haploid bitki oluşturma etkinlikleri. Yüksek lisans tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 43-45s.
- Çömlekçioglu, N., Büyükalaca, S., ve Abak, K. 1999. Şanlıurfa ve Kahramanmaraş biber popülasyonlarında anter kültürü yöntemiyle haploid bitki elde etme olanakları. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ankara, 897-900.
- De Candolle, A. 1908. Origin of Cultivated Plants. *The International Scientific Series Volume XLVIII*, 288-290.
- Demir, İ. 1980. Genel bitki ıslahı, Bornova-İzmir: Ege Üniv. Ziraat fakültesi Yayınları.

- Dinçer, D., Bekçi, B. ve Bekiryazıcı, F. 2016. Türkiye'deki doğal bitki türlerinin üretiminde doku kültürü tekniklerinin kullanımı. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi TARGİD Özel Sayı*, 295-302.
- Doğan, S. 2016. Süs biberi shed-mikrospor kültürlerinde çalkalayıcı kullanımının embriyo verimi üzerine etkisi. Yüksek lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Dumas De Vault, R., Chambonnet, D. and Sibi, M., 1981. Culture *in vitro* d'antheres de piment (*Capsicum annuum* L.): amelioration des taux d'obtention de plantes chez differents genotypes par de traitements A+35°C. *Agronomie*, 11:859.
- Ebrahimzadeh, H. Shariatpanahi, M. Ahmadi, B. Soltanloo, H. Lotfi, M. and Zarif, E. 2018. Efficient parthenogenesis induction and *in vitro* haploid plant regeneration in cucumber (*Cucumis sativus* L.) using putrescine, spermidine, and cycocel. *Journal of plant growth regulation*, 37.4: 1127-1134.
- Ellialtıoğlu, Ş. Sarı, N. ve Abak, K. 2002. Haploid bitki üretimi. Bitki Biyoteknolojisi (Doku Kültürü ve Uygulamaları) Ders Kitabı Bölüm 5, s.137-162.
- Ercan, N., Boyacı, F. ve Biner, B. 1997. Anter kültürü yoluyla haploid bitki eldesi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, Antalya.
- Erdoğan, N. 2013. <https://www.bilgicik.com/yazi/cicekli-bitkilerde-uremeyle-ilgili-adaptasyonlar/> [Son erişim tarihi : 17.03.2024]
- Erim, F.B. 2019. Farklı biber (*Capsicum annuum* L.) genotipleri üzerinde shed-mikrospor kültürü tekniğinin uygulanması ve mikrospor gelişim aşamalarının belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, 48-49s.
- Galston, A.W. 1983. Polyamines as modulators of plant development. *Bioscience*, 33(6): 382-388.
- Galston, A.W. and Kaur-Sawhney, R., 1987. Polyamines as endogenous growth regulators. In: P.J. Davies (Ed.), *Plant Hormones and their Role in Plant Growth and Development*. Martinus Nijhoff, Dordrecht, pp. 280- 295.
- Genç, İ.ve Yağbasanlar, T. 2010. Bitki ıslahı kitabı, Adana: Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi.
- George, E.F. and Sherrington, P.D. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Eastern Press, Reading, Berks, 314-324.
- Guha, S. and Maheshwari, S. 1964. *In vitro* production of embryos from anthers of *Datura*. *Nature*. 204:497.
- Heidari-Zefreh Akbar, A., Shariatpanahi, M. E., Mousavi, A. and Kalatejari, S. 2019. Enhancement of microspore embryogenesis induction and plantlet regeneration of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) using putrescine and ascorbic acid. *Protoplasma*, 256.1: 13-24.
- İçigen, H.Ö. 2019. Bitki doku kültürü yöntemi ile elde edilen bazı bitki türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, FBE, Kütahya.

- Kalloo, Dr. 1988. Vegetable breeding. Vol I. S: 171-173. CRC. Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- Kara, B. ve Sarı, N. 2013. Sakız ve siyah kabak (*Cucurbita pepo* L.)'larda ovül kültüründe spermidine ve putrescine uygulamalarının haploid bitki elde edilmesine etkileri. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 6.2: 206
- Kayın, N. ve Turan, F. 2023. Bitki doku kültürünün biyoteknolojik olarak kullanımı. *Journal of Agricultural Biotechnology (JOINABT)* 4(1), 1-10.
- Koleva Gudeva, L. and Trajkova, F. 2012. Anther culture of pepper: morphological characteristics of fruits of androgenetic pepper lines (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Research in Agriculture*, 1(2): 136-145.
- Krishna De, A. 2003. *Capsicum*, The genus *Capsicum*. Taylor & Francis 11 New Fetter Lane, London EC4P - 4EE, 296 pages.
- Kristiansen, K. and Andersen, S.B. 1993. Effect of donor plant temperature photoperiod and age on anther culture response of *Capsicum annuum* L. *Euphytica*.(67):1-2,105-109.
- Kumar, H. A. Murthy, H.N. and Paek, K. Y. 2003. Embryogenesis and plant regeneration from anther cultures of *Cucumis sativus* L. *Scientia horticulturae*, (3): 213-222.
- Kurt, M. 2019. Biberde anter kültürü çalışmalarında farklı besi ortamlarının etkilerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. İzmir.
- Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15:473-497.
- Nitsch, C. 1974. La culture de pollen isole sur milieu synthetique. *C.R. Acad. Sci.*, 278 D;1031-1034.
- Nitsch, J.P. 1969. Experimental androgenesis in *Nicotiana*. *Phytomorphology*, 19: 389-404.
- Oğlakçı, M. ve Tiryaki, İ. 2013. Bitki Islahı ve Genetik, Akademisyen kitabevi, Ankara, iv-vi s.
- Özalp, R. 2021. Yazlık Sebze Islahı. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Kitabı, Biber Islahı, Antalya. 105-148s.
- Palevitch, D. and Craker, L.E. 1996. Nutritional and medical importance of red pepper (*Capsicum* spp.). *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, 3(2), 55-83.
- Parra-Vega, V., Renau-Morata, B., Sifres, A., and Seguí-Simarro, J. M. 2013. Stress treatments and *in vitro* culture conditions influence microspore embryogenesis and growth of callus from anther walls of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 112, 353-360.
- Pesticelli, S.M., Mitchell, J.C., Jones, A.M., Pareddy, D.R. and Petolini, J.F. 1989. High frequency androgenesis from isolated microspore of maize. *Plant Cell Rep.*, 7:6773-6776.

- Pierik, R.L.M. 1989. *In vitro* Culture of Higher Plants. Marthinus Nijhoff Publ. Dordrecht, Boston, Lanchaster, 344pp.
- Reed, S.M. 2005. Haploid cultures. *Plant Development and Biotechnology*. pp 225-234.
- Singh, J. and Kumar, A. 2020. Plant tissue culture and its application in agriculture as biotechnological tool. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, Special Issue* (11), 274-284.
- Supena, E.D.J. and Custers, J.B.M. 2002. Establishment of haploid technology to improve hot pepper breeding efficiency in Indonesia. *Proceedings of the International 7th Indonesian Student's Scientific Meeting, ISSM 2002*. Berlin, October 4-6, 69-72.
- Supena, E.D.J. and Custers, J.B.M. 2011. Refinement of shed-microspore culture protocol to increase normal embryos production in hot pepper (*Capsicum annum* L.). *Scientia Horticulturae*, 130(4), 769-774.
- Şahin, G. ve Örgüç, M. 2022. Güncel bir bakış açısıyla poliaminlerin bitki büyüme ve gelişimi üzerine etkileri. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 9(2): 255-264.
- Şalk, A., Arın, L., Deveci, M. ve Polat, S. 2008. Özel Sebzecilik Ders Kitabı. Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Namık Kemal Üniversitesi Basımevi, Tekirdağ, 488 s.
- Tabor, C.W. and Tabor, H. 1984. Polyamines. *Annual Review of Biochemistry*, 53: 749-790.
- Tefera, A.A. 2019. Review on application of plant tissue culture in plant breeding. *Journal of Natural Sciences Research* 9 (3), pp.20-25.
- Topcu, Ş. ve Çölgeçen, H. 2015. Bitki sekonder metabolitlerinin biyoreaktörlerde üretilmesi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 8 (2), 09-29.
- Tulecke, W. 1953. A tissue derived from the pollen of *Ginkgo Biloba*. *Science*. 117:599-600.
- TÜİK. 2023. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2023-49535> [Son erişim tarihi: 17.03.2024].
- Urano, K., Yoshida, Y., Nanjo, T, Igarashi, Y., Seki, M., Sekiguchi, F., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 2003. Characterization of *Arabidopsis* genes involved in biosynthesis of polyamines in abiotic stress responses and developmental stages. *Plant Cell Environ* 26(11):1917–1926.
- Vagera, J. 1990. Pepper (*Capsicum* spp.): *In vitro* induction of haploids. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, vol.12 Haploids in Crop Improvement 1 (ed. by Y.P.S.Bajaj). pp.374-392.
- Vural, G.E. 2019. Patlıcan'da (*Solanum melongena* L.) haploid bitki elde etme amacıyla anter ve shed-mikrospor kültürlerinin karşılaştırılması. Yüksek lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Wan, Y. and Widholm, J.M. 1988. Anther culture of maize. *Methods of Plant Breeding*, (Vol III), (Ed.H.K. Hayes, F.R. Immes, D.C.Smith), C.R.C., McGraw-Hill Book Company, pp.199-220.

- Wien, H.C. 1997. The physiology of vegetable crops. Department of Fruit and Vegetable, *Science*, Cornell University, 259-293, USA.
- Yurdakul, H. 2022. Hıyarda (*Cucumis sativus* L.) gynogenesis yoluyla haploid embriyo eldesini artırmak üzere değişik uygulamaların etkisi. Yüksek lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.



ÖZGEÇMİŞ

Züleyha SÜMER

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2022-2024	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2018-2022	Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara