

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Nihal DENLİ

**TÜRLER ARASI MELEZLEME İLE BİBERDE (*Capsicum
annuum*) GENETİK TABANIN GENİŞLETİLMESİ VE
ANDROGENESİSİN KALITIMININ BELİRLENMESİ**

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ADANA-2019

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRLER ARASI MELEZLEME İLE BİBERDE (*Capsicum annuum*)
GENETİK TABANIN GENİŞLETİLMESİ VE ANDROGENESİSİN
KALITIMININ BELİRLENMESİ**

Nihal DENLİ

DOKTORATEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 20/08/2019 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği ile Kabul Edilmiştir.

.....
Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Nedim MUTLU
ÜYE

.....
Prof. Dr. Salih KAFKAS
ÜYE

.....
Prof. Dr. Şeküre Şebnem ELLİALTIOĞLU
ÜYE

.....
Doç. Dr. Mehtap YILDIZ
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

Bu çalışma Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ve Tarım ve Orman Bakanlığı/TAGEM tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FDK-2016-2414 ve TAGEM/BBAD/12/A09/P01/03

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

ÖZ

DOKTORATEZİ

TÜRLER ARASI MELEZLEME İLE BİBERDE (*Capsicum annuum*) GENETİK TABANIN GENİŞLETİLMESİ VE ANDROGENESİSİN KALITIMININ BELİRLENMESİ

Nihal DENLİ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Danışman : Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN

II. Danışman: Doç. Dr. Davut KELEŞ

Yıl: 2019, Sayfa: 165

Jüri : Prof. Dr. Nedim MUTLU

: Prof. Dr. Salih KAFKAS

: Prof. Dr. Şebnem ELLİALTIOĞLU

: Doç. Dr. Mehtap YILDIZ

Sunulan bu çalışmada, *C. annuum* (253A ve İnan3363) ve *C. chinense* (PI 159236) arasında yapılan melezlemelerle mevcut genetik tabanın genişletilmesi ve androgenesis özelliğinin kalıtımının belirlenmesi hedeflenmiştir. Deneme süresince, toplam 54 morfolojik özellik değerlendirilmiş ve ilk üç eigen değerine göre, 253A x PI 159236 melezlerinden oluşturulan F2 popülasyonunda toplam varyans %56 ve ortalama benzerlik katsayısı $r=0.99$, İnan3363 x PI 159236 melezlerinden oluşturulan F2 popülasyonunda ise toplam varyans %87 ve ortalama benzerlik katsayısı $r=0.89$ olarak bulunmuştur.

Haploid bitki üretme yöntemlerinden androgenesis özelliğinin biber ıslahında daha etkin şekilde kullanılması amacıyla kalıtımının belirlenmesinde; androgenesis özelliği yüksek İnan3363 ve düşük PI 159236 ile oluşturulan popülasyonda, özelliği kontrol eden gen sayısı 2.46, geniş anlamda kalıtım derecesi (h^2_b) 0.97, dar anlamda kalıtım derecesi (h^2_n) 0.20, genetik varyans 113.83, eklemeli gen varyansı 23.92, dominans gen varyansı 89.91 ve çevre varyansı ise 3.59 olarak hesaplanmıştır. Eklemeli ve dominant gen etkisi, %21 ve %79 olarak kaydedilmiştir. 253A ve PI 159236 ile oluşturulan popülasyonda, özelliği kontrol eden gen sayısı 1.96, geniş anlamda kalıtım derecesi (h^2_b) 0.96, dar anlamda kalıtım derecesi (h^2_n) 0.65, genetik varyans 91.83, eklemeli gen varyansı 62.71, dominans gen varyansı 29.12 ve çevre varyansı ise 3.49 olarak hesaplanmıştır. Eklemeli ve dominant gen etkisi, %68 ve %32 olarak tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biber, türler arası melezleme, genetik taban, androgenesis, kalıtım

ABSTRACT

PhD THESIS

EXPANSION OF GENETIC BASIS VIA INTERSPECIES CROSSING OF PEPPER(*Capsicum annuum*) AND DETERMINATION THE INHERITANCE OF ANDROGENESIS

Nihal DENLİ

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF HORTICULTURAL PLANTS

Supervisor : Assoc. Prof. Hatıra TAŞKIN
Supervisor II : Assoc. Prof. Davut KELEŞ
Year:2019, Page: 165
Jury : Prof. Dr. Nedim MUTLU
: Prof. Dr. Salih KAFKAS
: Prof.Dr. Şebnem ELLİALTIOĞLU
: Assoc. Prof. Mehtap YILDIZ

Broadening genetic base and understanding the heritability of traits of interest are crucial for plant breeding. The objective of the study were to broaden the existing genetic base by crossing between *C. annuum* (253A and İnan3363) and *C. chinense* (PI 159236), and to determine the inheritance of response to androgenesis. The study involves evaluation of 54 morphological features. The first three eigen values explained 56% total variance in the F₂ population derived from 253A x PI 159236 cross with a mean similarity coefficient of $r=0.99$, whereas in the F₂ population obtained from İnan3363 x PI 159236 cross, the total variance and the average similarity coefficient were found to be 87% and $r=0.89$, respectively.

In order to determine the heritability of androgenesis, İnan3363 with very high androgenesis response was crossed with PI 159236 with very low androgenesis response. The F₂ individuals were phenotyped for androgenesis response to predict the number of genes controlling the trait, broad sense heritability (h^2_b), narrow sense heritability (h^2_n), the genetic variance, the additive gene variance, the dominance gene variance and the environmental variance where they were calculated as 2.46, 0.97, 0.20, 113.83, 23.92, 89.91 and 3.59, respectively. Additive and dominant gene effects were recorded as 21% and 79%. In the second population derived from crossing 253A with very high androgenesis response, and PI 159236 with very low androgenesis response, the number of genes controlling the trait, broad sense heritability (h^2_b), narrow sense heritability (h^2_n), the genetic variance, the additive gene variance, the dominance gene variance and the environmental variance were calculated as 1.96, 0.96, 0.65, 91.83, 62.71, 29.12, 3.49, respectively. Additive and dominant gene effects were determined as 68% and 32%. Elucidating the inheritance of androgenesis is expected to pave the way for tagging the gene(s) in pepper genome. The new genotypes derived from interspecific crosses may enhance heterosis, hence, they may be good parental candidate for new pepper hybrids with enhanced yield.

Keywords: Pepper, interspecies crossing, genetic base, androgenesis, inheritance

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Biber tüm dünyada ve ülkemizde yaygın olarak ve yüksek oranda tüketilmektedir. 16. yy'da biberle tanışan ülkemiz, anavatanı olmamasına rağmen biber genetik kaynakları yönünden büyük çeşitlilik içermektedir. Ancak son yıllarda standart ve özellikle hibrit çeşitlerin üretimde kullanılmaya başlanması, zaman içerisinde biberde var olan genetik çeşitliliğin azalmasına neden olmaktadır. Farklı amaçlara yönelik ıslah programları oluşturulurken, elde mevcut bulunan gen havuzunun çok iyi bilinmesi ve konulan hedefler doğrultusunda zenginleştirilmesi gerekmektedir. Yabani ve kültür formlarının birlikte ele alındığı geniş bir gen havuzu oluşturarak, ıslah programlarını yönlendirmek büyük önem arz etmektedir. Islah çalışmalarında kullanılacak olan popülasyonda varyasyon oluşturmak amacıyla arzu edilen özellikleri taşıyan ebeveynler arasında, tür içi veya türler arası melezlemeler yapılmaktadır. Yabani türlerden ticari çeşitlere hastalık ve zararlı dayanıklılık genlerinin dâhil edilmesi ve aynı zamanda kalite, verim, biyotik ve abiyotik streslere toleransın artırılması için de türler arası melezlemeler yapılmaktadır.

Bitki ıslahı, sürekli gelişen dünya nüfusunun ihtiyaçlarını karşılamak için sürekli olarak ürün verimini arttırmak, uzun ve sağlıklı bir yaşam sağlamak için gıda kalitesini yükseltmek, yeni biyoyakıt kaynakları geliştirmenin zorlukları ile birlikte küresel ısınma ve çevre kirliliği sorunlarına değinmeye odaklanmaktadır. Biyoteknoloji, bitki ıslahı için güçlü araçlar sağlamaktadır. Bunlar arasında doku kültürü, özellikle haploid ve dihaploid teknolojisi, üstün bitkileri seçmede etkili bir şekilde yardımcı olabilmektedir. Günümüzde, heterozigot ebeveynlerden tamamen homozigot hatların tek adımda gelişimini gametik embriyogenesis yoluyla mümkün kılan haploidi teknolojisi, tarımsal olarak önemli ürünlerin birçoğunda uygulanarak ıslah programlarının ayrılmaz bir parçası olmuştur.

Haploid bitkilerin doğada ortaya çıkış sıklığı az ve düzensiz olduğu için, ıslah programlarında kullanılabilecek sayıda ve düzenli olarak haploidlerin elde

edilmesi bitki ıslahçıların özlemi olmuştur. Yapılan birçok çalışmada farklı türler, tür içindeki farklı çeşitler ve hatta aynı çeşitteki bireylerin androgenik yetenekleri arasında büyük farklılık olduğu görülmüştür. Bu da bu yeteneğin genetik temelli olduğunu ve sonraki kuşağa kalıtsal olarak geçebileceğini gösterir. Anter kültürüne cevap vermede kalıtım biçimini anlaşılmasıyla, dihaploid üretiminde optimizasyon sağlanabilir.

Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü biber gen havuzunda bulunan *Capsicum annuum* türüne ait bir çeşit ve bir genotiple (İnan3363, 253A) *Capsicum chinense* türüne ait bir genotip (PI 159236) arasında türler arası melezlemeler yapılarak, biber genetik tabanını genişletmek, elde edilen bireylerde androgenesisi kontrol eden gen sayısını ve androgenesise yanıt oranını kontrol eden gen/genlerin geniş ve dar anlamda kalıtım derecelerini belirlemenin hedeflendiği bu çalışmada; *Capsicum annuum* türüne ait 253A saf hattı ve İnan3363 çeşidi ile *Capsicum chinense* türüne ait PI 159236 nolu genotip arasında melezlemeler yapılmış, türler arası melezlemeden kaynaklanacak embriyo aborsiyonunun önüne geçmek için embriyo kurtarma protokolü kullanılmıştır. *C. chinense*'nin tozlayıcı olarak kullanıldığı durumlarda, İnan3363 melezlerinde %82 ve 253A melezlerinde %66 oranında canlılık oranı elde edilmiştir. Tozlayıcı olarak *C. annuum* kullanıldığında, tohumlardaki canlılık oranları daha düşük bulunmuştur (PI159236 x İnan3363 melezlerinde %13, PI 159236 x 253A melezlerinde %34). *C. chinense* x *C. annuum* kombinasyonlarının melezlerinde, döllenme sonrası engellerden melez zayıflığı (nekrozu) simptomlarına rastlanmıştır (fide aşamasında ölümler, yaşayan bitkilerde ise bodur gelişme, çiçek ve meyve oluşturmama, oluşan yaprak, çiçek ve meyvelerde deformasyon). Bu bitkilerde oluşan meyvelerin hiçbirinin tohum oluşturmadağı saptanmıştır.

F2 popölasyonlarında transgressive açılımı temsil edecek şekilde bitkilerin seçilebilmesi için ebeveyn bitkilerde; UPOV ve IPGRI özellik belgeleri esas alınarak hazırlanan kriterler incelenmiş ve ebeveynlerin akrabalık ilişkilerine

bakıldığında, *C. annuum* türüne ait İnan3363 ve 253A'nın aynı grupta, *C. chinense* türüne ait PI 159236 genotipinin ise ayrı bir grupta yer aldığı görülmüştür.

Morfolojik verilerde yapılan TBA (Temel Bileşenler Analizi) sonucunda, ilk üç temel bileşene göre genotipleri en çok ayıran özellikler tespit edilmiştir.

Her iki *C. annuum* ile *C. chinense* genotipinin melezlenmesi ile elde edilen F1 hibritleri kendilenerek F2 generasyonu, ana ve baba ebeveynlere doğru melezlenerek GM1F1 popülasyonları oluşturulmuştur. 253A genotipi ile oluşturulan popülasyonlarda (F2, GM1P1 ve GM1P2) bitkilerden elde edilen meyve sayısı, İnan3363 çeşidi ile oluşturulan popülasyonlardan daha fazla olmasına rağmen, meyvelerden elde edilen tohum sayısı daha az olmuştur. *C. annuum* ana ebeveyn olarak kullanıldığında GM1 meyvelerinden elde edilen tohum sayıları, *C. chinense* ana ebeveyn olarak kullanıldığında elde edilen tohum sayılarından daha fazla olmuştur.

Ebeveyn bitkilerde yapılan TBA sonuçlarına göre, tespit edilen morfolojik özellikler referansı ile her bir F2 popülasyonundan transgressif açılımı temsil edecek şekilde 253A x PI 159236 F2 popülasyonunda 110 bitkide ve İnan3363 x PI 159236 F2 popülasyonunda ise 150 bitkide 54 morfolojik karakter için ölçüm ve gözlemler alınarak elde edilen verilerin "Kümeleme (Cluster) Analizi" ve morfolojik özelliklere ait akrabalık derecelerini gösteren ağaçlar NTSYS-PC 2,1 bilgisayar paket programı kullanılarak yapılmıştır. 253A (*C. annuum*) x PI 159236 (*C. chinense*) F2 popülasyonunda korelasyon matrisine göre dendogramın katsayı ortalaması 0.48, benzerlik indeksinin dendogramı temsil ettiği değer $r=0.99$ olmuştur. İlk üç eigen değerine göre kümülatif varyans 87.7 olarak hesaplanmıştır. İnan3363 (*C. annuum*) x PI 159236 (*C. chinense*) F2 popülasyonundaki bitkilere ait dendogramın katsayı ortalaması (benzerlik ortalaması) 0.48, benzerlik indeksinin dendogramı temsil ettiği değer $r=0.89$ olarak kaydedilmiştir. İlk üç eigen değerine göre, kümülatif varyans 56.46 olmuştur.

253A x PI 159236 ve İnan3363 x PI 159236 arasındaki melezlemelerden elde edilen F1, F2, GM1F1 popülasyonlarındaki bitkilerde ve ebeveyn bitkilerde,

anter kültürü tekniği uygulanmıştır. 253A, İnan3363 ve PI 159236'dan ebeveyn olarak 150 adet anter kültüre alınmıştır. Embriyo oranı ortalamaları sırasıyla %38.66, %48 ve %0.66 olarak hesaplanmıştır. 253A ile oluşturulan F1 popülasyonunda %0.26, F2 popülasyonunda %5.27, GM1P1 popülasyonunda %9.34, GM1P2'de ise %2.97 olarak bulunmuştur. İnan3363 ile oluşturulan F1 popülasyonunda %0.24, F2 popülasyonunda %6.3, GM1P1'de %8.52 ve GM1P2 popülasyonunda ise %4.21 olmuştur.

Çalışmada kullanılan ebeveynler arasında yapılan melezlemlerde, resiprokal F1 melezlerinin bitkilerinde döllenme sonrası bariyerlerinden hibrit nekrozunun etkisi sonucu anter kültürü tekniği uygulanamamıştır.

Androgenesis cevabının kalıtımının hesaplanması amacıyla, her iki türe ait ebeveynler, F1, F2 ve GM1F1 popülasyonları kullanılarak, geniş (h^2_b) ve dar (h^2_n) anlamda kalıtım dereceleri hesaplanmıştır. İnan3363 ve PI159236 ile oluşturulan popülasyonda geniş anlamda kalıtım derecesi (h^2_b) 0.97; dar anlamda kalıtım derecesi (h^2_n) 0.20; genetik varyans 113.83; eklemeli gen varyansı 23.92; dominans gen varyansı 89.91 ve çevre varyansı ise 3.59 olarak hesaplanmıştır. Özellik üzerindeki çevre varyansı, toplam varyansın yaklaşık olarak %4'ü olarak bulunmuştur. Eklemeli gen etkisi, toplam genetik varyans içerisinde %21 ve dominans gen etkisi ise %79 olarak hesaplanmıştır. 253A ve PI 159236 ile oluşturulan popülasyonda, geniş anlamda kalıtım derecesi (h^2_b) 0.96; dar anlamda kalıtım derecesi (h^2_n) 0.65; genetik varyans 91.83; eklemeli gen varyansı 62.71; dominans gen varyansı 29.12 ve çevre varyansı ise 3.49 olarak hesaplanmıştır. Her iki popülasyonda da androgenesis özelliğinin kalıtımı üzerindeki çevre varyansı düşük bulunmuştur. Bu durum, özelliğin güçlü bir genetik kontrol altında olduğuna işaret etmektedir.

X^2 analizinde 9:3:4 genetik oranının biberde androgenesis yanıtı özelliği için en uygun model olduğu belirlenmiştir (İnan3363 x PI 159236 popülasyonu için $X^2=2.13$, $P=0.343$, $N=155$ ve 253A x PI 159236 popülasyonu için $X^2=2.82$, $P=0.243$, $N=138$). Bu durum, homozigot resesif gen ve bazı modifiye edici

genlerin varlığı ile resesif epistasiye işaret etmektedir.

Androgenise cevap verme özelliğini kontrol eden gen sayısı Wright (1968)'a göre; İnan3363 x PI 159236 melezlerinden elde edilen F2 popülasyonunda 2.46 gen olarak hesaplanırken, 253A x PI 159236 melezlerinden elde edilen F2 popülasyonunda 1.96 gen olarak belirlenmiştir.

Bu çalışma sonucunda, *C. annuum*'da genetik varyasyon %56-88 oranında artırılmış, ayrıca androgenise özelliğini kontrol eden gen sayısı ve kalıtım dereceleri belirlenmiştir.





TEŞEKKÜR

Tezimin belirlenmesi ve yürütülmesi aşamalarında yönlendirici desteğini esirgemeyen, özgür-araştırmacı ruhu, merakı, özgüveni, bilgisi ve paylaşımcılığı ile tam bir rehber olan, bir mum gibi erirken etrafındaki herkese ışık saçan, aydınlatan, yol gösteren, mutlu eden, saran, kollayan, güler yüzü hiç solmasın istediğim, maalesef çok erken kaybettiğimiz değerli hocam Sayın Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA'ya teşekkürlerimi ve dualarımı sunuyorum, sevgi, rahmet ve minnetle anıyorum.

Danışmanım Sayın Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN'a tez yazım aşamasındaki çalışmaları, eşsiz yönlendirici katkıları ve mükemmel işbirliği için çok teşekkür ederim. İkinci danışmanım Sayın Doç. Dr. Davut KELEŞ'e teşekkürlerimi sunarım.

Sayın hocalarım Prof. Dr. Sina ETİ'ye ve Prof. Dr. Sevgi PAYDAŞ KARGI'ya verdiği katkılar ve desteklerinden dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora Tez İzleme Komitesi üyesi Sayın Prof. Dr. Nedim MUTLU'ya değerli bilgilerini ve zamanını benden esirgemeyerek sunduğu katkıları ve yol göstericiliği için, yine Sayın Prof. Dr. Salih KAFKAS'a bilgi ve destekleri için teşekkür ederim. Tez savunma jüri üyeleri Sayın hocalarım Prof. Dr. Şebnem ELLİALTIOĞLU'na ve bilgi, tecrübe ve yönlendirmeleriyle çalışmama sunduğu destekleri için Doç. Dr. Mehtap YILDIZ'a teşekkür ederim.

Tezimin yürütülmesi için maddi katkı sağlayan TAGEM'e, Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne, Islah ve Genetik Bölümü Başkanlığına ve personeline, Doku Kùltürü Laboratuvarı personeline teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım süresince yardımlarını ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Atilla ATA, Dr. Ceren ÖZCAN, Aykut ATEŞ, Fadime KAYA, Binnaz GÜVENÇ, Dr. Kader ERÇİK, Deniz SANAL, Mustafa BÜTÜN, ve Dr. Osman UYSAL'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Sevgili arkadaşlarım Gökhan BAKTEMUR'a yazım çalışmalarım süresince sunduğu eşsiz

desteği için, Dr. Songül MLEKİOğLU’na desteği, güler yüzü ve dostluğu için ayrıca teŗekkr ederim.

Sevgi, saygı, umut ve emek dolu bir aile ortamında bizi büyüten çok sevgili anneme ve rahmetli babama, varlıklarına ŗkrettiđim abim Ercan ve kız kardeŗim Hatice’ye her zaman yanımda oldukları için sonsuz teŗekkr ederim.

Ve bu süreçteki tüm fedakarlığı için hayat arkadaŗım, can yoldaŗım, en büyük destekçim, sevgili eŗim Candemir’e, hayatımın mucizesi kızlarım Ceylin ve Bigem’e teŗekkrlerimi ve sevgilerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	IX
İÇİNDEKİLER	XI
ÇİZELGELER DİZİNİ	XIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XV
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIX
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	17
2.1. Biberde Türler Arası Melezemeler ve Dihaploid Hatların Kullanımı	
Konusunda Yapılan Çalışmalar.....	17
2.2. Anter Kültürü ve Haplodiye Cevap Verme Konusunda Yapılan	
Çalışmalar.....	32
2.3. Biberde Yapılmış Bazı Kalıtım Çalışmaları	52
3. MATERYAL VE METOT	63
3.1. Materyal.....	63
3.2. Metot	65
3.2.1. Ebeveyn Bitkilerin Yetiştirilmesi, Melezlemelerin Yapılması ve F1	
Popülasyonlarının Oluşturulması.....	65
3.2.2. F2 ve BC1F1 Popülasyonlarının Oluşturulması, F2 Bitkilerinde	
Morfolojik Karakterizasyon.....	70
3.2.3. F2 ve BC1F1 Popülasyonlarında Anter Kültürü Tekniğinin	
Uygulanması ve Haplodi Oranının Belirlenmesi	70
3.2.4. Androgenesise Yanıt Verme Oranının Kalıtımının Belirlenmesi	72
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	75

4.1. Ebeveyn Bitkilerin Yetiştirilmesi, Melezlemelerin Yapılması ve F1	
Popülasyonlarının Oluşturulması	75
4.1.1. Embriyo Kurtarma	76
4.2. F2 ve GM1F1 Popülasyonlarının Oluşturulması, F2 Bitkilerinde	
Morfolojik Karakterizasyon	88
4.3. F2 ve GM1F1 Popülasyonlarında Anter Kültürü Tekniğinin Uygulanması,	
Androgenesis Özelliğinin Kalıtımının Belirlenmesi ve Özelliği Kontrol	
Eden Gen Sayısının Hesaplanması	99
4.3.1. Anter Kültürü Tekniğinin Uygulanması ve Androgenesise Yanıt	
Verme Oranlarının Belirlenmesi	99
4.3.2. Biberde Androgenesise Yanıt Verme Özelliğinin Kalıtımının	
Belirlenmesi	106
4.3.3. Biberde Androgenesis Özelliğini Kontrol Eden Gen Sayısının	
Belirlenmesi	121
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	125
KAYNAKLAR	137
ÖZGEÇMİŞ	165

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. İncelenen biber morfolojik özellikleri	67
Çizelge 3.2. Kendileme ve geri melezlemelerle oluşturulan F2 ve BC1F1 popülasyonları	70
Çizelge 4.1. Melezleme kombinasyonlarında açılan meyve sayısı, tohum sayısı, kurtarılan embriyo sayısı, % canlılık oranı ve yaşayan bitki sayıları	78
Çizelge 4.2. Genotiplerin morfolojik özelliklerine ait temel bileşen değerleri (Eigen vektör)	86
Çizelge 4.3. Temel bileşenler analizi sonucu belirlenen morfolojik özellikler ve ilk üç temel bileşenine ait değerler	88
Çizelge 4.4. F2 ve geri melez popülasyonlarının oluşturulması için yapılan melezlemeler, elde edilen meyve ve tohum sayıları ve yaşayan bitki sayıları	89
Çizelge 4.5. 253A × PI 159236 F2 popülasyonunda korelasyon matrisi ilk üç eigen değeri	94
Çizelge 4.6. İnan3363 × PI 159236 F2 popülasyonunda korelasyon matrisi ilk üç eigen değeri	94
Çizelge 4.7. 253A ve PI 159236 ile oluşturulan popülasyonlarda anter kültürü tekniki uygulamalarında kültüre alınan anter sayısı, embriyo oluşturan anter sayısı, embriyo sayısı ve embriyo oranları	103
Çizelge 4.8. İnan3363 ve PI 159236 ile oluşturulan popülasyonlarda anter kültürü tekniği uygulamalarında kültüre alınan anter sayısı, embriyo oluşturan anter sayısı, embriyo sayısı ve embriyo oranları	104
Çizelge 4.9. Popülasyonlarda anter kültürü tekniği uygulanan popülasyon içi bitki sayıları, androgenesise yanıt veren ve yanıt vermeyen bitki sayıları ve yanıt verme yüzdesi	106

Çizelge 4.10. İnan3363 × PI 159236 kombinasyonunda ebeveynler ve F1, F2, GM1P1, GM1P2 popülasyonlarından elde edilen embriyo oranı ortalamaları ile varyans değerleri	107
Çizelge 4.11. İnan3363 ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonundaki bitkilerde anter kültürü tekniği ile elde edilen embriyo oranlarına göre X^2 test sonuçları	109
Çizelge 4.12. 253A x PI 159236 kombinasyonunda ebeveynler ve F1, F2, GM1P1, GM1P2 popülasyonlarından elde edilen embriyo oranı ortalamaları ile varyans değerleri	114
Çizelge 4.13. 253A ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonundaki bitkilerde anter kültürü tekniği ile elde edilen embriyo oranlarına göre X^2 test sonuçları	116

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1.	253A nolu biber hattı meyvesinin görünümü.....	63
Şekil 3.2.	İnan3363 biber çeşidi meyvesinin görünümü	64
Şekil 3.3.	PI 159236 biber genotipi meyvesinin görünümü	64
Şekil 4.1.	Melezleme işlemleri (a: emaskülasyon öncesi tozlanacak çiçek, b: tozlayıcı olarak kullanılacak çiçek, c: emaskülasyon, d: emaskülasyon uygulanan çiçek, e: tozlayıcı çiçekten anterin alınması, f: anter içerisinden polenlerin alınması, g: tozlama, h: tozlama sonrası çiçeğin izolasyonu, ı: tozlama sonrası etiketlenen çiçek)	75
Şekil 4.2.	Embriyo kurtarma işlemleri ve gelişen bitkilerin dış koşullara alıştırılması (a-b: hasat edilen meyveler, c-d: açılan tohumlar, e-f: embriyolardan gelişen bitkiler, g: viyole şaşırtılan bitkiler, h-ı: saksılara şaşırtılan bitkiler, j: embriyolardan gelişen bitkilerin seradaki görünümü).....	77
Şekil 4.3.	<i>C. chinense</i> x <i>C. annuum</i> melez kombinasyonlarında post-zigotik bariyerlerden olan hibrit nekrozunun etkileri sonucu gelişen, ancak deformasyona uğramış bitkiler (a: kotiledon yapraklar, b: 4-5 gerçek yapraklı aşamadaki fide, c: bitki büyüme noktası, d: çiçek yada meyve vermeyen bitki, e-f: deforme çiçek ve meyveler)	81
Şekil 4.4.	253A nolu biber hattında incelenen morfolojik özelliklere ait bazı görüntüler (a: yaprak şekli, b: çiçek ve tomurcuk şekli, c: taç yapraklar ve anter şekli, d: meyve şekli, e: meyve boyuna kesit şekli, f: meyve enine kesit şekli, g-h: tohum şekli)	82
Şekil 4.5.	İnan3363 biber çeşidinde incelenen morfolojik özelliklere ait bazı görüntüler (a: yaprak şekli, b: çiçek ve tomurcuk şekli, c: taç yapraklar ve anter şekli, d: meyve şekli, e: meyve boyuna kesit şekli, f: meyve enine kesit şekli, g-h: tohum şekli)	83

Şekil 4.6. PI 159236 biber genotipinde incelenen morfolojik özelliklere ait bazı görüntüler (a: yaprak şekli, b: çiçek ve tomurcuk şekli, c: taç yapraklar ve anter şekli, d: meyve şekli, e: meyve boyuna kesit şekli, f: meyve boyuna ve enine kesit şekli, g-h: tohum şekli)	84
Şekil 4.7. Morfolojik verilere göre korelasyon matrisi kullanılarak elde edilen genotiplere ait dendrogram	85
Şekil 4. 8. 253A ve PI 159236 melezlerinden elde edilen F2 ve GM1F1 (a: 253A × <i>C. chinense</i> (F2), b: 253A × (253A × <i>C. chinense</i>), c: <i>C. chinense</i> × (253A × <i>C. chinense</i>)	91
Şekil 4.9. İnan3363 ve PI 159236Melezlerinden elde edilen F2 ve GM1F1 meyveleri (a: İnan3363 × <i>C. chinense</i> (F2), b: İnan3363 × (İnan3363 × <i>C. chinense</i>), c: <i>C. chinense</i> × (İnan3363 × <i>C. chinense</i>)	92
Şekil 4.10. Korelasyon matrisi kullanılarak UPGMA'ya göre elde edilmiş 253A × PI 159236 (<i>C. chinense</i>) F2 popülasyonundaki biber bitkilerine ait dendrogram	95
Şekil 4.11. Korelasyon matrisi kullanılarak UPGMA'ya göre elde edilmiş İnan3363 × PI 159236 (<i>C. chinense</i>) F2 popülasyonundaki biber bitkilerine ait dendrogram	96
Şekil 4.12. Tomurcukların kültüre alınmasında uygun aşama için referans alınan görünüm.....	100
Şekil 4.13. Anter kültürü tekniğinin uygulanması ve elde edilen embriyolar (a: anterler kültüründe kullanılacak sterilizasyonu yapılmış çiçek tomurcukları, b: anterlerin kültüre alınması, c: petriye dikilen anterler, d-1: anterlerden gelişen embriyolar).....	101
Şekil 4.14. Embriyolardan gelişen bitkilerin aklimatizasyonu (a-b: embriyolardan gelişen bitkiler, c-d: tüpteki bitkilerden görünüm, e-f: viyollere şaşırtılan bitkiler)	102
Şekil 4.15. GM1P1 popülasyonuna ait bitkilerin embriyo oluşturma oranları (%) açısından dağılımı	110

Şekil 4.16. GM1P2 popülasyonuna ait bitkilerin embriyo oluşturma oranları (%) açısından dağılımı	111
Şekil 4.17. Embriyo oluşturma oranları (%) açısından İnan3363 ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonundaki bitkilerin dağılımı	112
Şekil 4.18. İnan3363 ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonunun embriyo oluşturma oranı (%) dağılımı	113
Şekil 4.19. GM1P1 popülasyonuna ait bitkilerin embriyo oluşturma oranları (%) açısından dağılımı	117
Şekil 4.20. GM1P2 popülasyonuna ait bitkilerin embriyo oluşturma (%) oranları açısından dağılımı	118
Şekil 4.21. Embriyo oluşturma oranları (%) açısından 253A ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonundaki bitkilerin dağılımı	119
Şekil 4.22. 253A ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonunun embriyo oluşturma oranı (%) dağılımı	120



SİMGELER VE KISALTMALAR

AFLP	Amplified fragment length polymorphism
AVRDC	Asian Vegetable Research and Development Center
AgNO ₃	Gümüş nitrat
BAP	Benzilaminopürin
cM	centi Morgan
CMV	Cucumber mosaic virus
DH	Dihaploid
F1	Hibrit
F2	Açılmakta olan generasyon
GA ₃	Gibberellic asit
GM	Geriye melezleme
HCl	Hidroklorik asit
IPGRI	International Plant Genetic Resources Institute
KOH	Potasyum hidroksit
MS	Murashige and Skoog
NAA	Naftalinasetik asit
N	Normal
pH	Power of Hydrogen
QTL	Quantitative Trait Locus
RAPD	Random Amplification of Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SRAP	Sequence-related amplified polymorphism
UPOV	International Union for the Protection of New Varieties of Plants



1. GİRİŞ

Biber (*Capsicum annuum* L.), dünyanın ılıman ve tropikal bölgelerinde yetişen önemli bir sebze türüdür. Bu durum, meyvelerinin yüksek biyokimyasal değeri (yüksek kuru madde içeriği, C ve B kompleksi vitaminleri, mineraller, uçucu yağlar, karotenoidler vb.) ve farklı ülkelerin mutfak ve gıda endüstrisindeki çeşitli kullanımlarından kaynaklanmaktadır (Irikova ve ark, 2011). Biber 1.987.059 ha'lık alanda toplam 36.092.631 tonluk dünya üretimi ile, FAOSTAT (2017) veri tabanında yer alan 178 birincil ürün arasında üretim açısından 44. sırada ve yetiştiricilik alanı bakımından 69. sırada yer almıştır. Çin, taze tüketilen biber üretiminde 17.821.238 ton ile (toplam üretimin yaklaşık 49.3'ü) lider konumundadır (FAOSTAT, 2017). Türkiye sebze kültüründe çok eski yeri olan biber, bugün ülkemizin her bölgesinde geniş alanlarda yetiştirilmekte, taze-sofralık veya sanayi sebzeçiliğinde işlenerek değerlendirilen, ticari potansiyele sahip önemli türler arasında yer almaktadır (Bozokalfa ve Eşiyok, 2010). Dünya 2017 yılı biber üretimi 36.092.631 ton olup, Türkiye ise 2.608.172 tonluk biber üretimi ile dünya üretiminde %7.2'lik payla Çin ve Meksika'dan sonra 3. sırada yer almaktadır (FAOSTAT, 2017).

Biber, karotenoidler (provitamin A), vitaminler (C ve E), flavonoidler ve kapsaisinoidler (Maga, 1975) gibi insan sağlığı için faydalı olan zengin metabolitleri içermektedir. Bu bileşikler antioksidanlar ve besin maddeleri olarak işlev görmekten dışında, üstün tıbbi özelliklerinden dolayı geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Kapsaisinoidler, biber meyvesinde baharatlı tada (acılık) neden olurlar. Besin değeri yüksek olan biber, özellikle C vitamini (103 mg/100 g) açısından oldukça zengindir (IBPGR,

1983). 100 g taze yeşil tatlı biberde 4.2 g karbonhidrat, 1.1 g protein, 0.2 g yağ, 1.4 g selüloz, 92.6 g su bulunmakta olup, bunun yanı sıra sadece 29 kaloridir. Yeşil tatlı biberler aynı zamanda A, B1, B2, C vitaminlerince zengindirler ve ayrıca P, K vitaminleri ile alkoloitleri de içermektedirler. İçeriğinde bulunan “kapsaisin” isimli alkaloid maddesinin oranına göre meydana gelen acılık, iştahı arttırıcı özelliğinin yanında sindirim sisteminde, bir çeşit dezenfektan olarak da görev yapmaktadır (Keleş, 2007).

Solanaceae familyası *Capsicum* cinsine ait biberler, M.Ö. 7500'den beri insan diyetinin bir parçası olmuştur. Güneybatı Ekvator'da bulunan bölgelerdeki arkeolojik kanıtlar, biberlerin 6000 yıldan fazla bir süre önce yetiştirildiğini ve Orta ve Güney Amerika'daki ilk ekili ürünlerden biri olduğunu göstermiştir (Bosland, 1996; Perry ve ark, 2007). Hint kültüründe dini törenler ve efsanelerde önemli bir yere sahip olan biber, önem sırasında mısırdan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Günümüzde, acı ve tatlı biberler dünya çapında yetiştirilmekte ve insan diyetinin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (Gebhardt, 2016).

Capsicum cinsi yaklaşık 38 tür içermesine rağmen, sadece altı türün (*Capsicum annuum*, *C. baccatum*, *C. frutescence*, *C. chinense*, *C. pubescens* ve *C. assamicum*) kültürü yapılmaktadır. *C. assamicum* yakın zamanda Hindistan'ın kuzeydoğu bölgesinden farklı bir tür olarak tanımlanmıştır (Purkayastha ve ark, 2012). Bu türler, üç farklı merkezde bulunan farklı atalara ait stoklardan türetilmiştir: Meksika, en yaygın olarak yetiştirilen tür olan *C. annuum* için birincil merkez, Guatemala ise ikincil merkezdir. *C. chinense* ve *C. frutescens* için Amazonlar; *C. baccatum* ve *C. pubescens* için Peru ve Bolivya merkezdir (Ramchiary ve ark, 2014). *C. annuum* ve *C. frutescens* Meksika'dan Orta Amerika ve Karayipler bölgesi boyunca yaygın

olarak dağılmıştır (Greenleaf, 1986). Bu bitkinin yerli halk tarafından kullanıldığını gözlemleyen İspanyol ve Portekizli kaşifler, on altıncı yüzyıldan itibaren Avrupa ve Asya'ya *Capsicum* türlerinin tanıtılmasını ve benimsenmesini hızlandırmıştır. Biberlerin ilk Avrupa kayıtları Peter Martyr (1493)'nin mektubudur (Heiser, 1976). *C. annuum* bugün en yaygın olarak yetiştirilen ve ekonomik olarak önemli *Capsicum* türüdür. Türün kültürü yapılan formları *C. annuum* var. *annuum*, yabani formları ise var. *glabriusculum* olarak ifade edilmiştir. *C. chinense* tropikal Amerika'da yaygındır ve Amazon bölgesinde yaygın olarak yetiştirilmektedir. Bu tür, tüm biberlerin en acılarından bazılarını içerir ve *C. frutescens* ile yakından ilişkilidir (Stummel ve Bosland, 2007). *C. frutescens* tropik ve ılıman iklime sahip alanlarda esas olarak kültüre alınır ve genellikle çok acı tada sahiptir. *C. baccatum* çoğunlukla Orta ve Güney Amerika'nın yüksek kesimlerinde yetiştirilen bir türdür ve aji olarak isimlendirilmektedir. *C. pubescens*, kültüre alınmış biberler arasında en az bilinen türdür (Greenleaf, 1986).

16. yy içerisinde Osmanlı İmparatorluğu ile Orta Avrupa ülkeleri arasında kurulan sıkı ilişkiler sonucu biber İstanbul'a getirilmiş, daha sonra diğer bölgelerimize yayılmıştır (Vural ve ark, 2000). Ülkemizin gen kaynaklarında, biber genotipleri açısından büyük çeşitlilik bulunmaktadır (Bozokalfa ve ark, 2009) Ancak son yıllarda standart ve özellikle hibrit çeşitlerin üretimde kullanılmaya başlanması, zaman içerisinde genetik çeşitliliğin azalmasına neden olmaktadır.

Bitki ıslahı; bitkilerin ekonomik yararlarını göz önünde bulundurarak, genetik yapılarını değiştirmeyi ve iyileştirmeyi amaçlar (Genç ve Yağbasanlar, 1992). Genetik varyasyon oluşturmak ve varyasyon gösteren popülasyonlardan seçim yapmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır.

Genotipler arasındaki varyasyon; seleksiyon, ıslah başarısı ve mevcut koleksiyonun genişlemesi yönünden olumlu katkı sağlamaktadır. Genetik çeşitlilik değerlendirmeleri yapılırken, genetik kaynakların korunması amacıyla çekirdek koleksiyonların oluşturulması, çeşitlerin genetik tabanının geliştirilmesi için melezlemeler ve bu melezlemelerde kullanılacak ebeveynlerin seçimi gibi kriterler dikkate alınmaktadır (Lefebvre, 2004).

Değişik amaçlara yönelik ıslah programları oluşturulurken, elde mevcut bulunan gen havuzunun çok iyi bilinmesi ve konulan hedefler doğrultusunda zenginleştirilmesi gerekmektedir. Yabani ve kültür formlarının birlikte ele alındığı geniş bir gen havuzu oluşturarak ıslah programlarını yönlendirmek büyük önem arz etmektedir. Kültür bitkilerinin yabani akrabaları; ticari çeşitlerin biotik ve abiotik streslere karşı toleransını ya da dayanıklılığını geliştirmede, üretimde miktar ve kalite artışı sağlamada önemli gen kaynaklarıdır (Hawkes, 1983). Düşük ve yüksek sıcaklıklar, hastalık ve zararlılar gibi abiotik/biotik stres koşulları üretimde verim ve kalite kaybına neden olmaktadır. Dayanıklı/tolerant çeşitlerin ıslahı, birim alanda verimi artırmanın en temel yoludur.

Doğanın ve gen bankalarındaki stokların kritik değerlendirmeleri, etkili ıslah metodlarını geliştirmede önemli ön şartlardan birisidir (Krishna ve ark, 2007). Herhangi bir üründe gelişme, germplazmda bulunan genetik değişkenliğin büyüklüğü ile orantılıdır. Bir popülasyonda varyabilite büyük ise, istenen tipler için etkili seleksiyon şansı daha fazladır (Vavilov, 1951). Genotipler arasındaki genetik ilişki ve çeşitlilik, ıslah programlarında genetik olarak uzak ebeveynlerin seçimine yardımcı olmaktadır. Ancak ıslah amaçlı yapılan seleksiyonlar, popülasyonlardaki genetik çeşitliliği

azaltabilir. Bu nedenle, herhangi bir ıslah programında genetik çeşitliliği arttırmak için gerekli önlemler alınmalıdır. Genetik çeşitlilik farklı coğrafi kökenlerden, farklı yerel ve yabancı popülasyonlardan istenen özellikleri, ıslah hatlarında birleştirilerek genişletilmelidir (Aktaş ve ark, 2009).

Biber ıslahı çalışmaları 1960'lara kadar yalnızca *C. annuum* ile melezleme veya seleksiyon üzerine yoğunlaşmış, bu tarihten itibaren diğer *Capsicum* türleri artan oranda ıslahta kullanılmıştır. Bu türlerin, özellikle biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılık gibi, birçok kullanışlı karakterleri taşıdıkları bilinmektedir. Örneğin; *C. baccatum* ve *C. frutescens*'in *Verticillium* solgunluğuna, *C. chacoense*'nin bakteriyel yaprak lekesine, *C. baccatum*'un hıyar mozaik virüsü ve patates Y virüsüne, *C. frutescens*'in tütün mozaik virüsüne, *C. chinense*'nin domates lekeli solgunluk virüsüne, antraknoza, kök ur nematodlarına ve potyvirüslere dayanıklı oldukları bulunmuştur. Ek olarak, *C. cardenasii*'nin kurağa tolerant olduğu saptanmıştır (Grubben, 1977; Pickersgill, 1980; Anonymous, 1983).

Türler arası melezlemeler, yabancı türlerden ticari çeşitlere hastalık ve zararlı dayanıklılık genlerinin dahil edilmesi ve aynı zamanda beslenme kalitesinin, verimin ve abiyotik streslere adaptasyonun artırılması için uygulanmıştır. Solanaceae familyasında türler arası melezlemeler tek taraflı uyuşmazlık, döllenme sonrası embriyo aborsiyonu ve stoplazmik erkek kısırılık gibi bazı gen değişim bariyerlerinin varlığına rağmen, bir çok çeşit geliştirme programında kullanılmıştır. (Pickersgill, 1997). *Capsicum* cinsinde türler arası melezlemelerde değişen oranlarda başarı elde edilebilmekle beraber, türler arasındaki melezlenme başarısı her zaman karşılıklı değildir.

İslah çalışmalarında kullanılacak olan populasyonda varyasyon oluşturmak amacıyla, arzu edilen özellikleri taşıyan ebeveynler arasında tür içi veya türler arası melezlemeler yapılmaktadır. Türler arası melezlemelerin çeşitliliği ve heterosis gücünü artırdığı bilinmektedir (Sunil ve Rasheed, 1998). Melezlemelerdeki başarı oranı, türler arasındaki genetik ilişkilere veya akrabalık derecesine bağlı olarak değişmektedir (Kurt, 2001). Yabani türlerin ıslahta kullanımı, biyotik ve abiyotik faktörlere direnç, sitoplazmik erkek kısırlılığı veya üretkenliğin yeniden canlandırılması gibi bir dizi değerli özellikleri ile kültür çeşitlerini geliştirmek için daha geniş ve etkin bir şekilde kullanabilmeyi mümkün kılmaktadır. *C. annuum*'a *C. chinense*'den domates lekeli solgunluk virüsüne (TSWV) ve *C. baccatum*'dan antraknoza karşı direnç genlerinin aktarılmasında, türler arası melezleme yöntemi kullanılmıştır (Yoon ve ark, 2006).

Bitkilerde başarılı ıslah çalışmaları için gen kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu kaynaklar, yeni çeşit geliştirme veya kültür çeşitlerinde gelecekte karşılaşılabilecek problemlere karşı ıslahçıların veya genetikçilerin kullanacağı genetik rezervleri barındırmaktadır. Bir gen kaynakları koleksiyonunun genetik çeşitlilik düzeyine ilişkin veriler, tür geliştirmek için ıslah çalışmalarının etkinliğini arttırabilir. Bitki çeşitliliği çalışmalarında fenotipik tanımlayıcılar ve moleküler belirteçler gibi genetik mesafeleri ölçmek için çeşitli yöntemler yaygın olarak kullanılmıştır (Geleta ve ark, 2005). *Capsicum* türleri morfolojik, sitogenetik ve moleküler markırlar kullanılarak analiz edilmiştir (Conicella ve ark, 1990; Lefebvre ve ark, 1993, 2001; Zewdie ve Zeven, 1997; Geleta ve ark, 2004). Bununla birlikte, morfolojik karakterizasyon, germplazmanın tanımlanmasında ve sınıflandırılmasındaki ilk adımdır (Smith ve Smith, 1989). Biber çeşitli tıbbi

kullanım alanlarına sahip önemli bir sebze türü olduğu için acılık, meyve büyüklüğü ve şekli, hastalıklara ve zararlılara karşı direnç gibi önemli özelliklerden sorumlu genetik lokusları bulmakta çeşitli ilerlemeler kaydedilmiştir. *Capsicum* cinsi içerisinde bitkisel özelliklerle ilgili 290 üzerinde gen tanımlanmıştır. Bu genlerin ürün geliştirmedeki etkileri ve kalıtım kalıpları tam olarak tespit edilememiştir (Stommel ve Griesbach, 2008).

Bitki ıslahı, sürekli artan dünya nüfusunun ihtiyaçlarını karşılamak için verimi artırmak, uzun ve sağlıklı bir yaşam sağlamak için gıda kalitesini yükseltmek, yeni biyoyakıt kaynaklarını geliştirmek ve küresel ısınma ve çevre kirliliği sorunlarına odaklanmaktadır. Islahçıların, hem üreticileri hem de tüketicileri tatmin etmek için, gelişmiş özelliklere sahip bitkileri seçecekleri yeni genetik kombinasyonları araştırması gerekmektedir. Son yüzyılın ikinci yarısında elde edilen ürün verimindeki etkileyici artışın yaklaşık yarısı, genetik iyileşme sayesinde elde edilmiş, geriye kalan artış ise gelişmiş kültürel tekniklerden (zararlı ve hastalık kontrolü, gübreleme ve sulama) kaynaklanmıştır. Biyoteknoloji, bitki ıslahı için güçlü araçlar sağlamakta ve bunlar arasında doku kültürü, özellikle haploid ve dihaploid teknolojisi, üstün bitkileri seçmede etkili bir şekilde yardımcı olabilmektedir. Günümüzde, heterozigot ebeveynlerden tamamen homozigot hatların tek adımda gelişimini gametik embriyogenesis yoluyla mümkün kılan haploidi teknolojisi, tarımsal olarak önemli ürünlerin çoğunda, tarımsal sistemler üzerinde çok büyük bir etkiye sahip olmuş ve ıslah programlarında ayrılmaz bir parçayı temsil etmiştir (Germana, 2011a).

Homozigot (saf) hatların melezlenmesiyle elde edilen hibritlerin kullanımı yoluyla, ürün verimliliğinin arttırılabileceği iyi bilinmektedir.

Klasik bitki ıslahı ile bu hatların geliştirilmesi önemli miktarda zaman ve kaynak gerektirmektedir. Bu sürenin kısaltılmasında, son yıllarda bitki biyoteknolojisi yaygın olarak kullanılmaktadır. Doku kültürü teknikleri, bitkilere uygulanan biyoteknolojik yöntemlerdendir. Doku kültürü teknikleri içerisine giren haploid bitki üretimi ise bitki ıslahında önemli bir yere sahiptir (Heiser, 1976; Andrews, 1985).

In vitro teknikler kullanarak haploid bitkilerin elde edilmesi ve bunların kromozom sayılarının kimyasal maddeler yardımıyla iki katına çıkartılması olarak özetlenebilecek dihaploidizasyon tekniği, haploid bitkilerin ıslahçılara sunduğu kolaylıklardan yararlanabilmeyi sağlamaktadır (Ellialtıoğlu ve Tıprıdamaz, 2002). Dihaploidizasyon tekniği ıslah sürecini kısalttığı için sebze ıslahında geniş uygulama alanı bulmuştur. En önemli kullanım alanları, kendine uyumsuz türlerde bile tamamen homozigot katlanmış dihaploid hatların hızlı üretimidir. Geleneksel yöntemlerle saf hatların elde edilmesi yabancı tozlanan bitkilerde 10-12 yıl, kendine tozlanan bitkilerde ise 6-7 yıl sürmektedir. Dioik türlerde ise kendileme olanaksızdır. Haploidi yöntemleri ile bu süre 1-2 yıla inmekte ve ıslah çalışmaları 3-4 yıl gibi bir sürede tamamlanabilmektedir.

Doğada ortaya çıkış sıklığı az ve düzensiz olan haploid bitkiler, yeterli miktarda olmadığı ve istendiği zaman bulunmadığı için ıslah çalışmalarında kullanılabilmek özelliğine sahip değildirler. Islah programlarında kullanılabilecek sayıda ve düzenli olarak haploidlerin elde edilmesi, bitki ıslahçılarının özlemi olmuştur.

Haploid embriyolar veya kallus, mikrosporun orijinal gametofik yolundan yeni bir sporofitik yola doğru sapması ile üretilir. Haploid embriyolar, kendi kendilerine ya da genom katlamasına yönelik

uygulamalar yoluyla dihaploid hale gelebilir. Dihaploid bireyler, hibrid tohumlar üretmek için saf hatlar olarak kullanılabilirler. Bu durum da geleneksel ıslah yöntemleri ile karşılaştırıldığında, saf hatların elde edilmesi için gereken zaman ve kaynakları önemli ölçüde azaltır. Haploidizasyon ile elde edilen dihaploid (DH) bitkiler, sadece donör bitkiden gelen ve %100 homozigot olan bir genetik alt yapıya sahiptir. Bitki ıslahı bağlamında dihaploidler (tüm lokusları için homozigot) zaman ve maliyet avantajının yanında, agronomik olarak en ilginç ve diğer yaklaşımlarla ele alınması zor olan üretim veya kalite gibi karmaşık karakterlerin genetik haritalandırılması dahil olmak üzere, niceliksel özelliklerin genetik temelini incelemek için değerli materyallerdir. *In vitro* kültüre alınan anterlerin mikrosporlarından kaynaklanan tek bir kromozom setine sahip bitki rejenerantları, genetik yapının olası ifadelerinin çeşitliliği nedeniyle genetik analiz için idealdirler (Atanassov ve ark, 1995; Steinitz ve ark, 1999; Zagorska ve ark, 2002; Arnedo Andres ve ark, 2004; Pauk ve ark, 2010).

Dihaploidler bitki ıslahında; yüksek verim, erkencilik, abiyotik streslere tolerans ve hastalıklara karşı dayanıklılık gibi önemli tarımsal özelliklerin kazandırılması açısından bir çok türde başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Dihaploidler, homozigot hatlardaki hibrid performansını sabitlemek ve hibrid tohum üretiminin adımını atmak için eşsiz bir sistem sunar (Maluszynski ve ark, 2001). DH'ler istenen mutasyonların ayrıştırılmasında ve saflaştırılmasında maliyetli olan geri melezleme (BC) ve/veya tek tohum nesli (SSD) yöntemlerinin yerine kullanılabilir. DH sistemleri mutasyonları indüklemek, seçmek ve sabitlemek için birçok çekici faydaya sahiptirler (Szarejko ve Forster, 2006). Haploidi teknolojisi somatik hibridizasyon ile birleştirilerek, dayanıklı genotiplerin

geliştirilmesinde ıslahçılara kolaylıklar sağlamaktadır. Türler arası melezlemelerde, ploidi seviyeleri ve endosperm denge sayılarındaki farklılıkların neden olduğu uyumsuzluk engellerini aşmak için haploidler kullanılabilir (Germana, 2011a). DH'ler aynı zamanda hemizigotlardan kaçınmak ve homolog kromozomlarda transgen ile dönüştürülmüş bitkilerin üretiminde zaman ve kaynak tasarrufu sağlamak için transgenesisde güçlü bir araçtır. Bu hatlar, bağlantı ve rekombinasyon fraksiyonlarının tahmini ile ilgili temel çalışmalar için ve genetik seçim ve resesif mutantların taranması için de son derece faydalıdır. Ortaya çıkan bitkilerin fenotipi, dominansi etkisinden etkilenmez ve resesif fenotipler maskelenmez. Dihaploidler, temel ve uygulamalı genetik çalışmalarda önemlidirler (Forster ve Thomas, 2005). Yabancı tozlanan türlerde bir ayrılma popülasyonunda ilk melezleri elde etmek için, en az bir DH ebeveyn kullanılarak genetik analizler basitleştirilebilir. DH'ler ayrıca genomik çalışmalarda, genetik ve fiziksel haritaları bütünleştirmede ve böylece aday genleri hedeflemede hassasiyet sağlamada hayati bir rol oynamaktadırlar (Wang ve ark, 2001). Dihaploidlerin kullanımı, birçok türde kromozom haritaları oluşturulmasında ve haritalanmış genetik markırların büyük bir kısmını (bazı durumlarda %90'dan fazla) sağlamada çok avantajlı olmuştur. Çünkü haploidler ve dihaploidler ekonomik olarak önemli özellikler için başlıca genlerin ve QTL'lerin yeri hakkında güvenilir bilgi elde etmek için mükemmel araçlardır. Yu (2009), bitki ıslahında genomik devriminin işletilmesinin, etkili haploid indüksiyon protokolleri gerektirdiğini belirtmiştir.

Haploid ve dihaploidleri üretmek için *in vivo* modifiye tozlama yöntemleri (ikiz fidelerin seçilmesi, geniş hibridizasyonun ardından

kromozom eliminasyonu, "bulbosum" yöntemi, ışınlanmış polen ile *in situ* tozlama, triploid bir bitkiden polenle tozlama vb.) gibi çeşitli dihaploid teknikleri ve olgunlaşmamış gametofitlerin *in vitro* kültürü (*in vitro* anter veya izole mikrospor kültürü, ginogenesis ve polen embriyogenesi) kullanılabilir (Forster ve Thomas, 2005). Dihaploid üretiminin en uygun yöntemi, bitki türüne bağlı olarak değişmektedir.

Erkek gametten haploid uyartımında (androgenesis) anter kültürü ve mikrospor kültürü teknikleri, dişi gametten haploid uyartımında (ginogenesis ve partenogenesis) ise ovül ve ovaryum kültürleri, kromozom eliminasyonu ile eksik veya yetersiz polenle tozlama teknikleri kullanılmaktadır. *Solanaceae* ve *Cruciferae* familyalarına ait türlerin birçoğunda anter ve mikrospor kültürleri yoluyla androjenetik haploidler elde edilebilirken, *Cucurbitaceae* familyasına ait kabakgıl sebzelerinde eksik polenle uyartım yoluyla daha olumlu sonuçlar alınabilmektedir.

Solanaceae, küresel tarım için en önemli bitki ailelerinden birisidir. Farklı *Solanaceae* türleri arasında, tütün (*Nicotiana tabacum*), patates (*Solanum tuberosum*), domates (*Solanum lycopersicum*), patlıcan (*Solanum melongena*) ve biber (*Capsicum annuum*) dünya çapında önemli beş türdür. Bu türlerde maksimum verim, istenen özelliklere sahip saf hatların melezlenmesi ile elde edilen hibrit bitkiler tarafından üretilir. Saf hatların üretimini, dihaploidizasyon yöntemleriyle hızlandırmak mümkündür. Haplidi tekniklerine cevap verme açısından, *Solanaceae* familyasında mükemmel bir heterojenite bulunmaktadır. Hem haploidiye yüksek oranda cevap veren bir model olarak kabul edilmiş tütün, hem de güvenilir ve tekrarlanabilen metodların henüz bulunmadığı domates gibi türleri içermektedir. İlginç bir şekilde, androgenesisin özellikle de anter kültürünün

ilk bulguları, *Solanaceae* türlerinden olan *Datura innoxia*'da olmuştur (Seguí-Simarro, 2016).

Anter kültürü yöntemi ile ilk haploid bitki Guha ve Maheswary (1964) tarafından *Datura innoxia* bitkisinde elde edilmiş, kısa süre içerisinde Nitsch ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu teknik *Nicotiana* türlerinde başarıyla uygulanmıştır. Daha sonra, birçok bitki türünde erkek gametten haploid bitki elde etmek amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Günümüzde 300'e yakın türde *in vitro* androgenesis yöntemi başarıyla uygulanmaktadır (Ellialtıoğlu ve ark, 2002; Yılmaz, 2005).

Klasik biber ıslahı, yabancı tozlanma ve izolasyon gerekliliği nedeniyle, uzun vadeli ve emek-yoğun bir süreçtir. *In vitro* yöntemlerle haploid bitki üretimi ile bu durumun üstesinden gelinebilir (Irikova ve ark, 2011). Biberde haploidi teknolojisi, anter veya mikrospor kültüründen haploid embriyoların indüksiyonunu ve rejenerasyonunu içeren androgenesis yöntemi ile uygulanır. Androgenesis yöntemlerinden olan anter kültürü, haploid bitkilerin elde edilmesinde yaygın olarak kullanılan tekniklerden birisidir. Biberde bitki genetiği, hastalık ve farklı abiyotik streslere dayanıklı hatların geliştirilmesinde, anter kültürü tekniği ile oluşturulan haploid ve dihaploidler kullanılmaktadır (Rodeva ve ark, 2007)

Anter kültürü tekniğinin diğer *in vitro* haploid bitki elde etme tekniklerine göre avantajı; bir anter içerisinde binlerce mikrosporum bulunması ve bir anterden çok sayıda haploid bitki elde edilebilmesidir. Anter kültürünün temel prensibi; normal olarak erkek gameti oluşturacak olan polen hücresinin gelişimini durdurmak ve somatik hücrelerde olduğu gibi polen hücresini direkt olarak embriyo oluşturmaya zorlamaktır. Anter kültürü ıslah çalışmalarında kullanılmakta ve bu yolla yeni çeşitler

geliştirilmektedir. Mikrospor kültürüne göre nispeten hızlı ve ucuz olması nedeni ile DH'leri üretmek için en çok kullanılan yöntemdir.

Androgenesis indüksiyonuna yanıt olarak, biber recalcitrant (inatçı) olarak tanımlanabilen üçüncü Solanaceae türüdür. *C. annuum*'da anterlerden elde edilen ilk başarılı bitki rejenerasyonu, Wang ve ark (1973) tarafından Çin'de ve Hindistan'da George ve Narayanaswamy (1973) tarafından rapor edilirken, bir yıl sonra Polonya'da Novak (1974) tarafından *C. frutescens*'te bildirilmiştir. Daha sonra bir çok *C. annuum* çeşidi ve türler arası melezler, anter kültürüne cevap verme açısından test edilmiştir. Biber anter kültürü, temel çalışmalar için bir araç olarak kullanılmıştır. Ancak en önemli uygulamaları, ıslah programları için DH'lerin üretimi olmuş, maksimum heterosis ve yeni veya geliştirilmiş özellikler ile ticari melezler elde etmek amaçlanmıştır. Dumas de Vaulx ve ark (1981)'nin çalışması biberdeki anter kültürü için genel, güvenilir bir yöntemin temelini oluşturmuş ve bu yöntem potansiyel olarak farklı biber çeşitlerine ufak değişikliklerle uygulanabilmiştir (Seguí-Simarro ve ark, 2011). Kültür koşullarının daha da geliştirilmesi, toksik bileşiklerin adsorbe edilmesi için kültür ortamına aktif kömürün eklenmesi ile gerçekleşmiştir. Dolcet-Sanjuan ve ark (1997), tek adımda embriyo indüksiyonu için aktif kömür ile yarı katı, agar bazlı bir faz üzerine dökülen bir sıvı ortam fazından oluşan bifazik ortam ile bir yöntem yayınlamışlardır. Bu yöntem, daha önce yayınlanmış diğer yöntemlere dayanmaktadır (Morrison ve ark, 1986). Ancak temel farklılık olarak CO₂ atmosferi uygulanmıştır. Bu yöntem, Dumas de Vaulx tarafından geliştirilen yönteme zayıf veya sıfır tepki gösteren genotiplerde, embriyoların üretilmesine izin vermiştir. Ancak CO₂ sağlayan bir büyüme odasına sahip olmanın teknik zorluğu, birçok laboratuvarın bu yöntemi rutin olarak

benimsemesine engel olmuştur. Popülerlik ve sadeliğine rağmen, biber anter kültüründe de kontrolsüz tapetum salgıları, somatik rejenerantlar ve düşük verim gibi bazı problemler tanımlanmıştır. Mikrospor kültürü anter kültürünün basit bir modifikasyonu olup, anterler mikrosporlarını genellikle yüksek bir osmolaliteye sahip sıvı bir ortama serbest bırakmaları için uyarılır. Bu yöntem arpa (*H. vulgare*), buğday (*T. aestivum*), tütün (*N. tabacum*) ve biber (*Capsicum annuum*) gibi çeşitli türlerde başarılı olmuştur (Forster ve ark, 2007).

Anter kültürünün haploid bitki üretmek için başarıyla kullanıldığı çok sayıda tür, sunduğu faydaların yeterli kanıtıdır. Tekniğin en büyük avantajı, sadeliğidir. Büyük ölçekli anter kültürü uygulamaları, düşük anter verimi yüzdesi dezavantajının üstesinden gelebilir. Biberde (*Capsicum annuum* L.) anter kültürü, 1980'lerin ortasından bu yana ıslah programlarında, dihaploid bitki üretmek için kullanılmaktadır (Parra-Vega ve Seguí-Simarro, 2016). Ancak embriyo ve bitkiye dönüşümde; genotip, donör bitkilerin yetiştirme koşulları, bitki yaşı, tomurcuk ve mikrosporların gelişim safhası, ön uygulamalar, besin ortamlarının bileşimi ve inkübasyon koşulları gibi faktörler, biberdeki androgenesis cevabını etkilemekte ve anter kültürünün ıslahta yaygın olarak kullanımını sınırlandırmaktadır.

Anter veya mikrospor kültürleri kullanılarak; buğday, arpa, pirinç, kanola, tütün veya mısır gibi otsu bitkilerden, Clementine mandarin gibi ağaçlara kadar birçok tarımsal üründe DH üretimi için yöntemler oluşturulmuştur. Bununla birlikte; kolza tohumu, arpa veya tütün gibi model türler hariç, verimlilik hala çok düşüktür. Gelecek vaat eden veriler olsa da, kullanımını sınırlayan faktörler dolayısıyla bu teknik hala zordur (Irikova ve ark, 2011).

Biberde yapılan bir çok çalışmada, kültür çeşitlerinin her bir uygulamaya verdikleri embriyo cevaplarının çarpıcı bir şekilde farklı olması, biberdeki androgenesisini indüklemek için evrensel olarak geçerli bir yöntem olmadığını göstermektedir (Seguí-Simarro, 2016). Farklı türler, tür içindeki farklı çeşitler, hatta aynı çeşitteki bireylerin androgenik yetenekleri arasında büyük farklılık bulunmaktadır. Bu durumda, bu yeteneğin genetik temelli olduğunu ve sonraki kuşağa kalıtsal olarak geçebileceğini göstermektedir (Rudolf ve ark, 1999).

Herhangi bir genotipten yüksek oranda haploid embriyo elde etmek istendiğinde, başvurulacak iki yol bulunmaktadır. Bunlardan birincisi, her genotip için kültür koşullarını optimize etmek, ikincisi ise anter kültüründe embriyo oluşturma başarısı yüksek genotiplerle embriyo oluşturma kapasitesi düşük olan genotipleri melezleyerek, melez döllere az veya çok embriyo elde etmeyi sağlamaktır. Birçok bitkide bu ikinci yol kullanılarak, embriyo oluşturma kapasitesi çok düşük olan genotiplerin bu yetenekleri artırılmıştır (Ellialtıoğlu ve ark, 2002). Wenzel ve Foroughi-Wehr (1984) arpa ve patateste, anter kültüründe başarı oranı yüksek genotiplerle agronomik olarak önemli çeşitler arasında melezleme yapmışlar, F1 generasyonundaki bitkilerin, haploid embriyo oluşturma özelliği bakımından ebeveynlerin arasında bir durum sergilediğini bildirmişlerdir. Bu durum, anter kültürüne yanıt verme özelliğinin kalıtsal olduğunu göstermektedir.

İslahçılar, anter kültürüne cevap vermede kalıtım biçimini anlayarak, anter kültürüne yanıt düzeyini geniş ölçüde tahmin edebilirler. Böylece dihaploid üretiminde optimizasyon sağlanabilir. Haploidinin genetik kontrolünün belirlenmesi, hem haploidinin karakterizasyonu hem de

populasyonun yapısının tahmin edilmesinde esastır (Satarova ve Cherchel, 2010).

Sunulan bu çalışmada, Alata Bahçe Kùltùrleri Araştırma Enstitùsù Mùdùrlùğù biber gen havuzunda bulunan *Capsicum annuum* türüne ait bir çeşit ve bir genotiple, *Capsicum chinense* türüne ait bir genotip arasında türler arası melezlemeler yapılarak biber genetik tabanını genişletmek, elde edilen bireylerde androgenesisi kontrol eden gen sayısını ve androgenesise yanıt oranını kontrol eden gen/genlerin geniş ve dar anlamda kalıtım derecelerini belirlemek hedeflenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Biberde Türler Arası Melezemeler ve Dihaploid Hatların Kullanımı Konusunda Yapılan Çalışmalar

Capsicum türleri arasında türler arası melezlemelerde başarı derecesi değişkendir ve türler arasındaki melezlenebilirlik her zaman karşılıklı değildir. *Capsicum annuum* kompleksi içerisinde *Capsicum frutescens*'ten *C. annuum*'a TMV dayanıklılığını katmak (Holmes, 1937), *Capsicum chinense*'den *C. annuum*'a PVY ve TEV'ye karşı direnç (Greenleaf, 1956), *Capsicum baccatum*'dan *C. annuum*'a CMV'ye kısmi dayanıklılık (Caranta ve ark, 2002) veya *C. chinense*'den *C. annuum*'a çoklu çiçek karakteri (Tanksley ve Iglesias-Olivas, 1984) aktarmak amacıyla türler arası hibritler elde edilmiştir. Kompleksler arasındaki başarılı melezlemeler tek taraflı veya iki taraflı uyumsuzluğun ortaya çıkmasına bağlı olarak değişmektedir (Djian-Caporalino ve ark, 2006).

Casali (1970), *C. chinense* ana ebeveyn, *C. annuum* baba ebeveyn olarak kullanıldığında, tohumlarda çimlenme oranının %0-6.6 ve *C. annuum* ana, *C. chinense* baba ebeveyn olarak kullanıldığında ise %0-47 arasında değiştiğini bildirmiştir.

Saccardo ve Ramulu (1977), *C. chinense* ve *C. annuum* melezlerinin %70-76 oranında meyve verdiğini ve meyvelerde 7-14 arasında canlı tohum oluştuğunu bulmuşlardır. Tüm *Capsicum* türleri arasında melezleme sınırlı olmaktadır. *C. annuum* x *Capsicum pubescens* ile *C. chinense* x *C. pubescens* melezlemeleri hiç yapılamamakta veya yalnızca embriyo kültürü ile çimlenme sağlanabilmektedir (Greenleaf, 1986).

Greenleaf (1986), *C. annuum*, *C. frutescens* ve *C. chinense* arasındaki interspesifik hibritlerin fertilitésinin ve gen dengesizliğinden kaynaklanan hibrid sterilliliğin, bu türler arasında büyük bir üreme izolasyon mekanizması olduğunu

ortaya koyduğunu bildirmiştir. Araştırmacı, bazı türler arası *Capsicum* hibritlerinin kromozomal kısırılık göstermesine rağmen, genetik kısırılığın gamet aborsiyonunun ana sebebi olarak görüldüğünü belirtmiştir.

Aniel Kumar ve ark (1987), *C. annuum* var. '*cerasiformis*' ile *C. chinense* var. '*mishme*' (H1) ve *C. annuum* var. '*cerasiformis*' ile *C. baccatum* var. '*pendulum*' (H2) arasında kısmen steril türler arası melezler elde etmişlerdir. F1 hibritlerinin morfolojik olarak ebeveynlere benzerliğini, ikisi arasında ortalarda bulmuşlardır. İki F1 hibritinde mayozun düzensiz olduğunu ve iki F1 hibridinin sitolojik analizinde, *C. annuum* genomunun *C. chinense*'den iki translokasyon ve bazı küçük yapısal değişiklikler ve *C. baccatum*'dan iki translokasyon, tek bir inversiyon ve bazı küçük yapısal değişiklikler ile farklılaştığının görüldüğünü, hibrit cansızlığı, zayıflık ve H1 hibritte hibrit parçalanması ve ayrıca H2'de desinapsis gibi izolasyon engellerinin bu taksonlarda etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Souza (1987), *C. annuum* ve *C. chinense* melezlemesinde, tohum canlılığının hibrit bitkilerde %2-96, ebeveynlerde %73-97 arasında, hibritlerde çimlenme oranının ise %0-97 arasında değiştiğini bildirmiştir.

Lefebvre ve ark (1993), *C. annuum*'un diğer kendi kendine tozlanan ürün türlerine kıyasla oldukça değişken olduğunu belirtmiştir. *C. annuum*'daki orta dereceli varyasyonun kültüre alınan biberin üreme davranışları ve kültüre almanın gerçekleştiği yolla ilgili olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Falusi ve Morakinyo (1994), *C. annuum* ve *C. frutescens* arasında tür içi ve türler arası melezlemeler yapmışlar ve hibrit bireyler elde etmişlerdir. Özellikle, türler arası hibritlerde polen canlılığının şiddetli bir şekilde azaldığını bildirmişlerdir.

Bosland ve Votava (1999), *Capsicum* türleri arasındaki türler arası melezlemelerin çeşitli derecelerde başarı ile yapılabileceğini belirtmişlerdir. *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. frutescens* ve *C. chinense* için birçok kombinasyonda değişen fertilitede melezler elde edilebileceğini, hibrit kısırılığın başlıca sebebinin *Capsicum*'daki üreme izolasyon mekanizması olduğunu bildirmişlerdir. Yabani ve

kültürü yapılan *Capsicum* türleri arasında yapılan melezlemelerde “embriyo kurtarma” yönteminin faydalı olduğunu, türler arası melezlemelerden elde edilen embriyoların gelişiminin tohum gelişiminin tamamlanmasından önce durduğunu, bazı türler arası melezlemelerde embriyo gelişiminin erken safhasında (tozlamadan yaklaşık 28-33 gün sonra) embriyoların kurtarılması durumunda, canlı bitkiler üretebileceğinin çeşitli araştırmacılar (Fari, 1995; Hossain ve ark, 2003) tarafından bildirildiğini rapor etmişlerdir.

Pickersgill (1997), türler arası melezleme ile yabani ve ilgili türlerden ticari çeşitlere hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılık genlerinin aktarılması, aynı zamanda ürün kalitesinin, verimin ve strese adaptasyonun artırılması için de kullanıldığını bildirmiştir. Tek taraflı uyumsuzluk, döllenme sonrası embriyo aborsiyonu ve sitoplazmik erkek kısırlık gibi bazı türler arası gen değişim bariyerlerinin varlığına rağmen, birçok Solanaceae türünde kullanılmıştır.

Baral ve Bosland (2004), *C. frutescens* ve *C. chinense* arasındaki ortalama genetik benzerliğin 0.38, *C. frutescens* ve *C. chinense* içinde ortalama genetik benzerliğin ise sırasıyla 0.85 ve 0.80 olduğunu, *C. frutescens* ve *C. chinense* hibridizasyonunda, elde edilen döllerde verimli birey sayısının düştüğünü belirtmişlerdir.

Çeşitli araştırmacılar tarafından belirtildiği gibi genetik çeşitlilik, kökensel ilişkilerde (coğrafi ayrıştırma), atasal ilişkilerde, gen frekanslarında veya morfolojik özelliklerde ortaya çıkmıştır. Bu araştırmacılar, bu özelliklerden bir veya daha fazlasında farklılık gösteren bitkilerin önemli sayıda gen lokusunda farklı olabileceğini öne sürmüşlerdir (Falconer, 1989; Virmani, 1996).

Portis ve ark (2004), ıslah seçim kriterlerine dayanarak toplanan tohumun, kuzeybatı İtalya'da yetiştirilen biber (*C. annuum*) popülasyonunun genetik varyasyonunda giderek azalmaya neden olduğunu bildirmiştir.

Sreelathakumary ve Rajamony (2004), otuz beş kırmızı biber (*C. annuum* L.) genotipinde genetik çeşitlilik, kalıtım ve genetik ilerlemeyi değerlendirmişlerdir. Çalışmaları süresince; yaprak alanı, bitki başına meyve

sayısı, meyve ağırlığı, meyve boyu, meyve çapı ve bitki başına verim açısından fenotipik ve genotipik katsayıların daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu karakterler için gözlemlenen yüksek genetik ilerleme ile birleştirildiğinde yüksek kalıtılabilirliğin, seleksiyon yoluyla ürün geliştirme potansiyeli anlamına geldiği bildirilmiştir.

Campos ve ark (2006), dört *Capsicum* türü arasında genetik ilişkinin belirlenmesi amacıyla yapılan melezlemelerde, meyve ve tohum oluşturmada en verimli kombinasyonların *C. annuum* x *C. frutescens*, *C. annuum* x *C. baccatum*, *C. baccatum* x *C. chinense* ve *C. baccatum* x *C. frutescens* olduğunu, *C. annuum* x *C. chinense* kombinasyonunda resiprokal melezlemelerde dahil, meyve yada cansız tohumlu meyve elde edilemediğini rapor etmişlerdir.

Geleta ve ark (2005), biber (*C. annuum* L.) genotiplerini, morfolojik özellikler ve moleküler (AFLP) markırlarla tahmin edilen mesafelerine göre kümeler halinde gruplandırarak, ikisi arasındaki ilişkileri değerlendirmişlerdir. İkili genetik farklılığı hesaplamak için, toplam 20 farklı morfolojik özellik ölçülmüş ve 6 AFLP primeri kullanılmıştır. Her iki veri setinde de, farklı genotipler arasındaki yüksek genetik çeşitliliğin göstergesi olan yüksek genetik uzaklık görülmüştür.

Göçmen (2006), *C. annuum* ve *C. frutescens* arasında yaklaşık %30 genetik benzerlik olduğunu tespit etmiş, 16 biber genotipinde polimorfizm oluşturan 31 SRAP primer kombinasyonunda toplam 254 adet DNA bandı oluştuğunu ve bu bantların %39'unun monomorfik ve %61'inin polimorfik olduğunu bulmuştur.

Oyama ve ark (2006), *C. annuum*'un üç kültür popülasyonu ile 15 yabani popülasyonunun genetik varyasyon ve genetik yapısını, RAPD belirteçleri ile incelemişlerdir. Çalışmada, sırasıyla yabani ve kültür popülasyonlarında toplam 166 bant (hepsi polimorfik) ve 126 bant (125 polimorfik) elde edilmiştir. Polimorfizm ortalama yüzdesi, yabani popülasyonlarda %34.2, kültür popülasyonlarında ise %34.7 olmuştur. Ortalama ve toplam genetik çeşitlilik, yabani popülasyonlar için 0.069 ve 0.165, kültür popülasyonları için ise 0.081 ve

0.131 olarak bulunmuştur.

Bomblies ve Weigel (2007), ekolojik faktörlerin, melez sterilitésinin ve ploidi düzeylerindeki farklılıkların bitkilerde gen akışı engellerine katkıda bulunmasının iyi bilindiğini, buna karşın bir başka yaygın postzigotik uyumsuzluk olan melez nekrozunun ise evrimsel genetik literatüründe nispeten az ilgi gördüğünü bildirmiştir. Hibrit nekrozunun, patojen atağı da dahil olmak üzere çeşitli çevresel streslere cevap olarak ortaya çıkanlara benzeyen bir fenotipik özellikler paketi ile ilişkili olduğunu belirten araştırmacılar, bu uyumsuzluğun genetik mimarisinin genellikle basit olduğunu ve türler arası hibrit uyumsuzluğu için Bateson-Dobzhansky-Muller modeline uygun olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca hibrit nekrozunun, patojen yanıtında rol alan genlerin evriminin pleiotropik etkisi olarak otoimmüniteden kaynaklanabileceği hipotezini sunmuşlardır.

Bosland ve Baral (2007), Anderson (1949)'un, doğadaki türler arasında yapılan melezlemelerin, bir türe başka bir türden yeni genlerin aktarılmasına izin veren yaygın bir olgu olduğunu, geri melez hibridizasyon ile bir türün genlerinin birbirini izleyen melezleme süreci ve ardından ebeveynlerden birine ardışık geri melezler yoluyla bir diğerine geçtiğini rapor ettiğini bildirmişlerdir.

Tong ve Bosland (1999) ile Stummel ve Bosland (2007), türler arası melezlemelere dayanan üç tür kompleksinin *Capsicum* cinsi içerisinde tanındığını bildirmişlerdir. Annuum kompleksinin, kültürü yapılan *C. annuum*, *C. frutescens* ve *C. chinense* ve yabani türler *C. chacoense* ve *C. galapagoense*'den oluştuğunu; Baccatum kompleksinin kültürü yapılan *C. baccatum* ve yabani türler *C. praetermissum* ve *C. tovarii*'den oluştuğunu; Pubescens kompleksinin ise üç gruptan en çok izole edilen grup olduğunu ve kültürü yapılan *C. pubescens* ve yabani *C. eximium* ve *C. cardenasii*'den oluştuğunu bildirmişler ve melezlemelerin bazen zorlukla da olsa bir kompleks içindeki türler arasında mümkün olduğunu belirtmişlerdir.

Costa ve ark (2009), yaptıkları çalışmada, *C. chinense* ve *C. annuum*'un melezlenebilme durumu ile türler arası hibritlerin tohum canlılığı ve tohumların

çimlenme oranlarını değerlendirmişlerdir. Yirmi bir *C. chinense* katılımlı baba ebeveyn olarak, *C. annuum*'un kültür çeşidi Cascadura Ikeda ana ebeveyn olarak kullanılmıştır. Tüm melezlerde meyve elde edilmiş ve meyve tutma oranı %9 ile %40 arasında değişmiştir. İlk sayımda çimlenme %0 ile %45.3 arasında, ikincisinde ise %0 ile %87.5 arasında değişmiştir. Sonuç olarak, *C. annuum* ile *C. chinense*'nin türler arası melezlerinde, meyve ve canlı tohum elde etmenin mümkün olduğu belirlenmiştir.

İnce ve ark (2009), RAPD belirteçleri kullanarak, 11 *Capsicum* türüne ait 24 aksesyon arasındaki genetik ilişkileri belirlemişlerdir. Dört ana gruba ayrılan *Capsicum* komplekslerinde (*C. annuum* complex (CA), *C. baccatum* complex (CB), *C. pubescens* complex (CP), ve *C. chacoense* accessions (CA/B) genetik benzerliğin 0.88 ile 0.32 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Bozokalfa ve ark (2009), Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanarak oluşturulan bir biber koleksiyonunda, fenotipik çeşitliliği kalitatif ve kantitatif özellikler kullanarak değerlendirmişlerdir. Morfolojik veriler temel bileşenler analizine tabi tutulmuş ve morfolojik ve agronomik özelliklere bağlı yedi grup oluştuğu görülmüştür. İlk altı temel bileşen eksen aksiyonlar ve hatlar arasındaki varyasyonun %54.29'unu açıklamıştır. Varyansın büyük bir kısmının meyve çapı, meyve ağırlığı, meyve hacmi, meyve eti kalınlığı, meyve verimi, suda çözünabilir kuru madde ve kuru madde miktarı gibi meyve ile ilgili özelliklerden kaynaklandığı görülmüştür. Yüksek çeşitlilik bulunan koleksiyonda, meyve agronomik özelliklerinin geliştirilmesi için büyük bir potansiyel olduğu görülmüştür.

Bozokalfa ve Eşiyok (2010), Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış 30 biber aksesyonları ile yerli ve yabancı orijinli 18 ticari çeşiti içeren toplam 48 biber genotipini, 67 agronomik ve morfolojik özellik bakımından karakterize etmişlerdir. Çalışmalarında, yerel popülasyonlar arasında agronomik ve morfolojik özellikler bakımından yüksek varyabilite belirlemişler ve bu nedenle her genotipi kendi içerisinde ana bitkilerden ayırarak değerlendirmişlerdir. İkinci yıl ise 94 biber

genotipini, karakterizasyon çalışmasında değerlendirmişlerdir. “Gruplama” ve “Temel Bileşen” analizleri sonucunda, ilk yıl %77.50’lik varyabilite 11 grupta, ikinci yıl ise %71.52’lik varyabilite 10 grupta toplanmıştır. Morfolojik ve agronomik özellikler yönünden, genotipler dendogramda yıllara göre 3 ve 7 gruba ayrılmıştır. Varyasyonun büyük bir bölümünün meyve çapı, meyve ağırlığı, meyve hacim, meyve eti kalınlığı, meyve randımanı, suda çözünebilir kuru madde ve kuru madde içeriğinden kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Karaağaç ve Balkaya (2010), Samsun ekolojik koşullarında, 2004-2005 yıllarında, Bafra Ovası’ndan toplanan kırmızı biber genetik kaynaklarının morfolojik varyasyon yönünden benzerlik ve farklılıklarının tespit etmek amacıyla, 56 örnekten oluşan kırmızı biber popülasyonu oluşturmuşlardır. Popülasyonlar arasındaki ilişkinin saptanabilmesi için, Küme ve Temel Bileşen Analizi (TBA) uygulanmıştır. Yirmi değişken esas alınarak yapılan küme analizinde, 8 grup tanımlanmıştır. Temel Bileşen Analizi, ilk üç PC eksenine esas alındığında, toplam varyasyonun %74.3’ünü açıklamıştır. Kırmızı biber genotipleri arasındaki morfolojik varyabilitenin yüksek olduğu bulunmuştur. Bitki özelliklerindeki varyabilitenin değerlendirilmesinin, sebze ıslahçılarına gelecekte yürütülecek biber ıslah programlarında, popülasyonlara ait arzu edilen özelliklerin belirlenmesinde yardımcı olabileceği belirtilmiştir.

Kargbo ve Wang (2010), *Capsicum*’un yabani türlerinin, ticari çeşitlerin geliştirilmesinde kullanılabilecek gen rezervlerini temsil ettiğini ve bu rezervlerin zararlılar, hastalıklar ve verim ile ilgili tarımsal sorunların çözümünde yardımcı olacağını bildirmişlerdir.

Sudré ve ark (2010), *Capsicum* koleksiyonunun aksesyonlarını tanımlamak ve karakterize etmek ve farklı üretim sektörlerindeki belirli aksesyonların potansiyel kullanımı hakkında sonuçlar çıkarmak, Ward-MLM prosedürünü kullanarak katılımlar arasındaki genetik farklılığı tahmin etmek ve Ward-MLM prosedürünü kullanarak sürekli ve kategorik verilerin analizinin verimliliğini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, elli altı *Capsicum*

aksesiyonunu, 14 morfolojik ve 11 agronomik olan 25 özelliğe göre değerlendirmişlerdir. Kalitatif özelliklere dayanarak tüm türlerin tanımlanması mümkün olmuş ve agronomik özelliklerine göre çeşitli üretim sektörlerinde kullanım potansiyeli ile genotipler belirlenmiştir. Ward-MLM prosedürünün; *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. baccatum* ve *C. chinense* türlerinin farklı gruplarda ayrılmasına izin verdiği bildirilmiştir.

Rêgo ve ark (2011), 40 yerel çeşit arasında morfolojik meyve kalite özellikleri ve verim bileşenlerine ait fenotipik çeşitliliği karakterize etmek ve bu karakterler arasındaki korelasyonu ve bunların genetik değişkenlik katkısını belirlemek için 14 meyveyi bitki özelliği açısından analiz etmişlerdir. Katılımlar yedi farklı grupta kümelenmiş; meyve genişliği, meyve ağırlığı ve meyve kuru maddesi, verim ile pozitif korelasyona sahip meyve özellikleri olarak tespit edilmiştir. Ayrıca bitki genişliği, yüksekliği, ilk çatallanma yüksekliği ve meyve tutumu ile verim arasında pozitif korelasyon görülmüştür.

Uma Jyothi ve ark (2011), ürün geliştirmenin büyük ölçüde genetik çeşitliliğin varlığına bağlı olduğunu, herhangi bir üründe gelişmenin var olan genetik varyasyonun derecesine ve gelişme derecesinin, kullanılabilir faydalı genetik değişkenliğin büyüklüğüne bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

Datta ve Das (2013), Hindistan'ın farklı bölgelerinden toplanan *C. annuum*'a ait elli üç genotipi, 23 karakter yönünden karakterize etmişlerdir. Bu genotipler; vejetatif özellikler, çiçeklenme, meyve ve kalite karakterlerine göre varyasyonlar göstermişlerdir. Çeşitli morfolojik, meyve ve kalite karakterleri için, genotipler arasında geniş bir çeşitlilik gözlemlenmiştir.

Krishnamurthy ve ark (2013), farklı bölgelerden 24 Hint biber ıslah hattını ve Tayvan'dan 6 biber ıslah hattını baba ebeveyn olarak ve 5 CMS hattını ana ebeveyn olarak kullanarak toplam 185 genotipi (5 hat, 30 tester ebeveyn ve 150 melez); 2 farklı lokasyonda ve 9 özellik (%50 çiçeklenme günü, ilk meyve olgunlaşma günü, bitki boyu (cm), bitki başına meyve sayısı, meyve uzunluğu (cm), meyve genişliği (cm), 100 adet tohum ağırlığı (g), bitki başına yeşil meyve

verimi (g) ve bitki başına kırmızı meyve verimi (g)) açısından değerlendirmeye almışlardır. Çalışmada, 35 ebeveyn ve 130 melez biberde var olan varyabilitenin genişliği; fenotipik varyans, genotipik varyans, fenotipik varyasyon katsayısı, genotipik varyasyon katsayısı, kalıtım ve genetik ilerleme yönünden ölçülmüştür. İncelenen özelliklerin çoğunda, düşükten yükseğe kalıtsallık ve genetik ilerleme yönünden önemli farklılıklar görülmüştür. Bu sonuçların, en çok tercih edilen özelliklerin seçilmesini ve kullanılmasını kolaylaştırabileceğini ve ayrıca biberin daha fazla iyileştirme potansiyeline işaret edebileceğini belirtmişlerdir. Genotipik varyasyon katsayısı ile birlikte kalıtım tahminlerinin, heterosisden faydalanmak için önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Nsabiye ve ark (2013), otuz yedi lokal ve ıslah edilmiş acı biber (*Capsicum annuum*) genotipini, sera koşulları altında 20 kantitatif ve 28 kalitatif morfolojik karakter ile karakterize etmişlerdir. Primer dal sayıları ($P > 0.05$) dışında çoğu kantitatif karakterde, genotipler arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($P < 0.001$). Yerel genotipler; küçük meyveler, geç olgunluk, daha geniş kanopiye sahip daha uzun bitkilerle karşılaştırılmış, kantitatif özellikler için birinci ve ikinci temel bileşenler (PC'ler) sırasıyla toplam değişkenliğin %41.6'sını ve %13.8'ini oluşturmuştur. Araştırmacılar, bu çalışma ile kalitatif ve kantitatif özellikler yönünden germplazmada ortaya çıkan çeşitliliğin, ıslah çalışmalarında kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Sikora ve Nowaczyk (2014), RAPD tekniğinin *Capsicum* cinsinde türler arası hibritlerin belirlenmesinde uygulanabilirliğini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada, türler arası hibritleri (*C. frutescens* × *C. annuum*, *C. frutescens* × *C. chinense* ve *C. frutescens* × *C. baccatum*) ve bunların ilgili ebeveyn ıslah hatlarını kullanmışlardır. Analiz edilen 15 primerde, toplam 143 band elde edilmiş ve bunların 111'i polimorfik olmuştur. *C. frutescens* × *C. annuum* için iki RAPD belirteci, *C. frutescens* × *C. baccatum* için iki belirteç ve *C. frutescens* × *C. chinense* için beş belirteç elde edilmiştir. Elde edilen veriler, araştırılan genotipler ve oluşturulan dendrogramlar arasındaki genetik mesafeyi

hesaplamak için kullanılmıştır.

Shmykova (2014), *C. annuum* L. (kültür çeşidi Zdorov'e) × *C. chinense* Jacq. F2'leri ve GM2'lerinde *in vitro* mikrospor ve anter kültürü kullanarak elde ettikleri haploid/dihaploid formlarının, morfolojik çeşitliliğini araştırmıştır. Çalışmada, rejenere olan 30 F2 ve 10 GM2 bitkisi geliştirilmiş ve F2'lerden elde edilen DH ve H bitkilerin her iki ebeveyne ait morfolojik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, homozigot hatların hızlandırılmış üretimi için türler arası melezlere dayanan bir DH teknoloji kullanımının, biber ıslahı için uygulanabileceği belirtilmiştir.

Surya Kumari ve ark (2014) doksan dört kırmızı biber aksesyonunu, varyabilite, kalıtım, genetik ilerlemenin ortalaması ve genetik uzaklık yönünden on yedi farklı karakter için değerlendirmişlerdir. Bitki başına taze meyve ağırlığı ve bitki başına kuru meyve ağırlığı, bitki başına meyve sayısı, 100 tohum ağırlığı, bitki başına tohum sayısı, kapsantin, kapsaisin ve olearisin içeriği için yüksek fenotipik ve genotipik varyasyon katsayısı ve aynı zamanda genetik ilerleme ile ilişkili kalıtım gözlemlenmiştir. Bu durumun, bu özellikler için daha yüksek varyasyonun göstergesi olduğunu ve ıslah için daha fazla olanak sağlayacağını belirtmişlerdir.

Martins ve ark (2015) *Capsicum* türleri arasındaki uyumsuzluk bariyerlerinin oluşumunun belirlenmesi ve kombinasyonlarda melezlenebilirlik oranının tahmin edilmesi amacıyla; *C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* var. *pendulum* ve *C. baccatum* var. *baccatum* arasında melezlemeler yapmışlar, elle tozlama sayıları ile elde edilen meyve ve bitki sayıları kaydedilmiştir. Bazı melezlemelerle hibritler üretilirken, diğerleri meyve vermemiş ya da meyve oluşturmalarına rağmen, elde edilen tohumlardan bitkiler gelişmemiştir. *C.annuum* ve *C. baccatum* arasındaki melezlenebilirlik oranı %2.2 ile %3.7 arasında değişmiş ve *C. annuum* kompleksinin arasında da %14.6 olmuştur. Çimlenmeyen polenlerde bir döllenme ön bariyeri gözlemlenirken, aynı zamanda döllenme sonrasında da embriyo ölümü, canlılık kaybı ve hibrit kısırılığı

gibi bariyerler gözlemlenmiştir.

Türler arası (Tanksley ark, 1988; Prince ve ark, 1993) ya da tür içi (Lefebvre ve ark, 1997) melez populasyonlar kullanılarak moleküler bağlantı haritalarının yapılması, son yıllarda bitki moleküler genetik ve ıslah araştırmalarının vazgeçilmez bir unsuru olmuştur. Biberin ilk bağlantı haritası, domates RFLP işaretleyicileri kullanılarak *C. annuum* ve *C. chinense* arasındaki türler arası melezlemenin kuşaklarında oluşturulmuştur.

Tanksley ve Olivas (1984), *C. chinense*'de var olan çoklu-çiçeklenme özelliğini, *C. annuum*'a aktarmak için türler arası melezleme yaparak iki farklı populasyon oluşturmuştur. Çalışmasında, 80-153 türlerarası melez GM birey (*C. annuum* cv. NM6-4 × *C. chinense* CA4) × NM6-4] ve 85-295 F2 populasyonunda (*C. annuum* cv. NM6-4 × *C. chinense*) RFLP ve AFLP markörlerini kullanarak genetik bağlantı haritasını oluşturmuştur.

Biber ve domates haritaları arasında gözlemlenen sinteny, iki genomun evrimini modellemek için kullanılmıştır. Tanksley ve ark (1988), bitki kromozomlarının yapısının ve evriminin daha iyi anlaşılması için hibridizasyon temelli biber genetik bağlantı haritasını oluşturmaya çalışmış ve bunun için 46 adet türler arası GM bireyinden [(*C. annuum* Doux des Landes CA50 × *C. chinense* CA4) × CA50] oluşan haritalama populasyonunu kullanmıştır.

Prince ve ark (1993), toplamda 720 cM uzunluğunda biber gen haritasının yapımında 46 adet türler arası F2 bireyinden oluşan (*C. annuum* CA133 × *C. chinense* CA4) haritalama populasyonu oluşturmuşlardır.

Takip eden 20 yılda, farklı genetik altyapıya ve çeşitli DNA işaretleyicilerine sahip çeşitli moleküler haritalar oluşturulmuştur. Bu haritalar, meyve karakterleri (boyut, şekil, ağırlık, renk, karotenoid, antosiyan ve kapsaisinoid içeriği, sarkık/dik meyve alışkanlığı), hastalık direnci (virüsler, bakteriler, nematodlar ve oomycete, *Phytophthora capsici* dayanıklılığı) ve erkek sterilité gibi çok sayıda kalitatif ve kantitatif bahçecilik özelliklerinin bağlantı haritalandırılması için temel oluşturmuştur (Ramchiary ve ark, 2014).

Kim ve ark (1997), biberde moleküler bağlantı haritası oluşturulması ve moleküler ıslah tekniklerinin geliştirilmesi amacıyla, 86 adet türler arası F2 bireyinden (*C. annuum* 2002 × *C. chinense* 1679) oluşan populasyon kullanmışlardır.

Livingstone ve ark (1999), türler arası melezlemelerden elde edilen 75 F2 bitkisini (*C. annuum* NuMex Rnaky × *C. chinense* PI159234) kullanarak, 11 büyük ve 2 küçük bağlantı grubu içeren toplamda 1245.7 cM biber genetik haritası oluşturmuşlardır.

Kang ve ark (2001), 107 türler arası F2 bireyde (*C. annuum* TF68 × *C. chinense* Habanero) 150 RFLP ve 430 AFLP markırı ile moleküler bağlantı haritası geliştirmişlerdir.

Rao ve ark (2003), 248 türler arası GM2 birey [*C. annuum* cv. Maor × *C. frutescens* BG2816) × BG2816] × BG2816], 83 türler arası GM1 bireyi [(*C. annuum* 100/63 × *C. chinense* PI152225) × 100/63], 101 tür içi dihaploid birey (H3 × Vania), 114 tür içi dihaploid birey (Perennial × YoloWonder), 151 tür içi F2 birey (Yolo Wonder × CM334) ile oluşturdukları populasyonlarla, genetik haritalama çalışmalarını yürütmüşlerdir.

Paran ve ark (2004) tür içi ve türler arası F2 bireyler, GM bireyler ve DH bireylerden oluşturulan 6 farklı populasyondan oluşturulan haritaları birleştirerek, biber entegre genetik bağlantı haritası yapmışlardır.

DH hatlar genetik bağlantı haritaların oluşturulmasında kullanılmasının yanı sıra, kantitatif özelliklerin kalıtımının belirlenmesi, haritalanması ve biyotik streslere dayanıklılığın kalıtımının tespit edilmesi çalışmalarında da kullanılmaktadır.

Choo (1982), F1 bitkilerinden elde edilen bir dihaploid popülasyonu kullanarak, ayırım gösteren genlerin sayısının yanı sıra, eklemeli ve eklemeli x eklemeli genetik varyansların da tahmin edilebileceğini bildirmiştir. F2'den üretilen bir dihaploid popülasyonun F1'den üretilmiş popülasyona kıyasla, %50 daha fazla iyi rekombinantları içerebileceğini, bununla birlikte, en iyi rekombinant

genler arasında bir bağlantı olmadığı zaman iki popülasyonun da aynı frekansta meydana geleceğini belirtmiştir. Eklemeli epistasisinin olmadığı durumlarda, bir rekombinasyon değerinin ağırlıklı ortalamasının F2 popülasyonu ve ebeveyn hatlar kullanılarak tahmin edilebileceğini, eklemeli epistasis mevcut olduğunda ise iki geri melezden üretilen dihaploid popülasyonlarından tahmin edilebileceğini ve bir ıslah programında kantitatif karakterlerin bağlantı çalışmalarında, F1 veya F2'lerden dihaploid üretilip üretilmeyeceğinin belirlenmesi gerektiğini bildirmiştir.

Lefebvre ve Palloix (1996), hastalığa dayanıklılığı tetikleyen çoklu genlerin eklemeli ve epistatik ilişkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 94 DH (Perennial $\times$ Yolo Wonder) bitkide *Phytophthora capsici* Leonian ve biber ilişkisini incelemişlerdir.

Caranta ve ark (1997a), 114 DH (Perennial $\times$ Yolo Wonder) popülasyonunda kantitatif özellik lokuslarında, potivirüslere çoklu dayanıklılık oluşturmak için, özel izolat-geniş spektrum etkisini araştırmışlardır.

Caranta ve ark (1997b), CMV'ye kısmi dayanıklılığın bileşenlerinden hıyar mozaik virüsünün konukçu hücrede yerleşmesinin engellenmesi çalışmasında, 94 DH (Perennial $\times$ Yolo Wonder) kullanmışlardır.

Zewdie ve Bosland (2000), biber (*C. annuum* L.) genotiplerinin kapsaisinoid içeriği açısından farklı çevre koşullarında tepkilerini araştırdıkları çalışmalarında; DH hatlar, bir F1 hibrit ve açık tozlanan bir kültür çeşidi üzerinde, toplam kapsaisinoidler ve bireysel kapsaisinoidler içeriği üzerindeki genotip, çevre ve genotip-çevre etkileşimini hesaplamışlardır. Genotipler arasında ve genotip-çevre interaksyonu arasında, çevrenin önemli farklılıklar yarattığı gözlemlenmiştir. Bir ortamdaki genotipler arasında, genotip içi varyansların da önemli ölçüde farklı olduğu belirtilmiştir.

Caranta ve ark (2002), hıyar mozaik virüsünün hareketlerinin engellenmesinde, 101 DH (H3 $\times$ Vania) bireyden oluşan popülasyonda çalışmışlardır.

Ben Chaim ve ark (2003), meyve şeklinin moleküler genetik

haritalanmasında, *C. annuum* tür içi melezleri ve *C. frutescens* x *C. chinense* türler arası melezlerinden oluşturdukları popülasyonlarda çalışmışlardır.

Thabuis ve ark (2003), biber gen bankasında *Phytophthora capsici*'ye dayanıklı lokusların karşılaştırmalı haritalanması için, 101 DH (H3 × Vania) kullanmışlar, *Solanaceae* içerisinde dayanıklı lokusların ve büyük bir genetik çeşitliliğin korunduğunu bildirmişlerdir.

Lefebvre ve ark (2003), 101 DH bireyde (H3 × Vania) doğal ve suni bulaştırmada küllemeye dayanıklılığın kantitatif özellik lokuslarını belirlemişlerdir.

Sugita ve ark (2005), acılık ve biber hafif benek virüsü dayanıklılığın QTL haritalamasını, K9-DH ve tür içi melezlemelerle elde edilen K9/AC- DH popülasyonda yapmışlardır.

Tai (2005), DH'lerin; gen haritalaması, majör ve kantitatif özellik lokuslarının (QTL) belirlenmesi, genetik transformasyon, somatik füzzyon ve yeni çeşitlerin ıslahı için markör destekli seçim gibi bir dizi araştırma alanında kullanıldığını belirtmiştir. Caranta ve Palloix (1996) biber damar beneklenme virüsüne (PVMV) dirençli bir DH hattın iki duyarlı ebeveynin F1 melezinden elde edildiğini, dayanıklılığı kontrol eden iki genin her bir ebeveynden geldiğinin tespit edildiğini, Dogimont ve ark (1996) aynı iki ebeveynin F1 melezlerinden elde edilen DH hatlar, F1, F2 ve dirençli ebeveyne geri melez popülasyonların potivirüslere dirençle ilgili spesifik ve poligenik faktörleri incelemek için kullanıldığını bildirmişlerdir.

Ben Chaim ve ark (2006), *C. annuum* (NuMex RNaky) ve *C. frutescens* melez F2 popülasyonunda, bir genetik harita oluşturmak için 489 SSR, 195 AFLP, sekiz spesifik PCR-bazlı ve 36 RFLP markörünü içeren toplam 728 moleküler belirteç kullanmışlardır.

Borovsky ve Paran (2011), *C. annuum* (yuvarlak meyve) ve *C. chinense* (uzun meyve) arasında türler arası melezleme ile oluşturulan F2 popülasyonunda, meyve şeklini (uzunluğun genişliğe oranı) kontrol eden bir majör QTL olan fs10.1'i tanımlamışlardır. QTL'i daha açık bir şekilde haritalamak ve karakterize

etmek amacıyla, fs10.1 için izogenik hatlar oluşturulmuş ve bu bir GM4F2 popülasyonunda haritalanmıştır. Meyve gelişimi sırasında fs10.1 için izogenik hatların meyve şeklinin ölçülmesiyle, meyvenin şeklinin esas olarak anthesis sonrası ilk 2 haftada belirlendiği bulunmuştur.

Irikova ve ark (2011), bitki ıslahı açısından androgenesis süresince rejenerasyon etkinliğinin artırılmasının, mikrospor hücre bölünmesinin uyartımı ve bunların embriyojenik yola nihai bağlantısı olan anahtar iki ana gelişimsel değişime bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Mikrospor embriyogenesis uyartımı ve embriyo oluşumu ile ilgili hücresel ve moleküler yönler hakkında bilgi miktarında kayda değer bir artış olmasına rağmen, hala gametofitikten embriyoniğe dönüşümde yolların değişiminin ardındaki mekanizma hakkında çok az şey bilinmektedir. Gelecekteki çabalar, polen gelişimini ve embriyo indüksiyonunu kolaylaştıran koşulların geliştirilmesinin daha fazla araştırılmasına odaklanmalıdır.

Asif (2013), dihaploidlerin kullanımının özellikle sürdürülebilir kalkınmaya dayalı gıda güvenliğini sağlamak için dünyadaki bitki ıslah programları üzerinde büyük bir etkiye sahip olduğunu, bunun sadece gelişmekte olan ülkeler için değil, aynı zamanda gelişmiş ülkeler için de ciddi bir endişe kaynağı olduğunu belirtmiştir. DH üretimi ve protokolü geliştirmek için *in vitro* çalışmalarda büyük bir artış görülmektedir.

Germana (2011a), günümüzde Avrupa'da yetiştirilen arpa çeşitlerinin %50'sinin DH teknolojileri ile geliştirildiğini bildirmiştir. Araştırmacı Kanada'nın, ABD'den sonra dünyanın en büyük 2. buğday ihracatçısı konumunda olduğunu, Kanada'da, buğdayın dokuz farklı sınıfa ayrıldığını ve Kanada Batı Kırmızı Baharı (CWRS) en büyük sınıf olduğunu, 2007 yılında CWRS'nin en fazla yetiştirilen 5 çeşidi arasından 3'ünün dihaploid teknolojisi ile geliştirildiğini bildirmiştir. Ayrıca, Kanada Batı Yumuşak Beyaz Bahar sınıfı altında %99'luk bir alanda "AC Andrew" çeşidinin yetiştirildiğini ve bu çeşidin anter kültürüyle geliştirildiğini vurgulamıştır. Genetik çalışmalar, moleküler analizler ve DNA markırlarını haritalamak için büyük bir potansiyel sunan DH'ler aracılığıyla, haritalama popülasyonları da

geliştirilmektedir.

Shmykova ve ark (2014), *C. annuum* L. (kültür çeşidi Zdorov) × *C. chinense* Jacq F2'leri ve GM2'lerinde (*C. annuum* L. (Zdorov) × *C. chinense* Jacq × Zdorov × Zdorov) *in vitro* mikrospor ve anter kültürü kullanılarak elde edilen haploid/dihaploid formlarının, morfolojik çeşitliliğini ve bu yöntemin ıslah için uygulanabilme ihtimalini incelemişlerdir. Homozigot hatların hızlı üretimi için, türler arası melezlemelere dayanan DH teknolojisinin kullanılabileceğini belirlemişlerdir.

2.2. Anter Kültürü ve Haploidiye Cevap Verme Konusunda Yapılan Çalışmalar

Foroughi-Wehr ve ark (1982), Singsit ve Veilleux (1989) ve Murigneux ve ark (1994) tarafından yapılan çalışmalarda, anter kültürüne cevap vermenin ölçütü, farklı bileşenlere ayrılmıştır. Bunların en temel olanları; embriyo oluşturan anterlerin sayısı, anter başına embriyo sayısı, her anterden oluşan bitki sayısıdır.

C. annuum'da kültüre alınan her 100 anterden oluşan embriyo sayısının %0.5-75 arasında değiştiği, farklı araştırmacı grupları tarafından tespit edilmiştir (Qin ve ark, 1993; Ltifi ve ark, 1994; Mitykó ve ark, 1995; Rodeva ve ark, 2004).

Morrison ve ark (1986), genetik çalışmalar için yararlılığını değerlendirmek amacıyla, biberde (*C. annuum* L.) anter kültürü yapmışlardır. Araştırmacılar, Rich Giant çeşidinde %40 oranında embriyo üretim frekansı elde edilen yöntemleri, Emerald Giant ve *C. chinense* Jacq türler arası melezine uygulamış, ancak bitki elde edememişlerdir. Aynı anter kültürü ortamının %2 aktif kömür içeren katı ortamı ve üzerine ilave edilen sıvı ortamda kültüre alınan anterlerden bitki elde edilmiştir. Kültüre alınan anterler sıvı ortamda yüzerken, mikrospordan gelişen embriyolar sıvı ortamın altında, kömür içeren katı ortamın üzerinde yer almışlardır. Bu embriyolar, kömür içermeyen yeni kültür ortamına aktarıldığında, haploid ve diploid bitkilere dönüşmüşlerdir. Diploid bitkilerin, enzim lokuslarında homozigotluğun kanıtladığı gibi, mikrospor kökenli ve F1 melez anterlerin donör bitkilerinin heterozigot olduğu belirlenmiştir.

Kristiansen ve Andersen (1993), *C. annuum* anter kültüründe, donör bitkiye uygulanan sıcaklık ve fotoperiyodun bitki büyümesine ve embriyo oluşumu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Donör bitkiler, 16 ile 30°C arasındaki minimum sıcaklıklarda ve 11 ile 19 saat arasındaki fotoperiyot koşullarında, cam seralarda yetiştirilmiştir. Anterler, donör bitki yaşının önemini test etmek için beş ile dokuz haftalık periyotlarla, bireysel bitkilerden toplanmışlardır. Embriyolar, 26.4°C'lik optimum sıcaklık ile tüm sıcaklık rejimlerinde elde edilmiştir. Embriyo oluşumu, test edilen fotoperiyotlardan etkilenmemiştir. Embriyo oluşumu, ardışık örneklemede değişkenlik göstermiştir. Bununla birlikte üç deneyin her birinde, artan donör bitki yaşı ile anter kültürüne cevapta belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir.

Mitykó ve ark (1995) tarafından, genç donör bitkiler ve sık alt kültür yöntemi kullanılarak bir *in vitro* anter kültür yöntemi geliştirilmiş ve böylece farklı *C. annuum* L. genotiplerinde androjenik verim artırılmıştır. Çalışmada dört ıslah hattı, yedi çeşit ve dört F1 melezden oluşan 15 biber genotipi kullanılmıştır. Uygulanabilir ıslahat için kriter olarak, minimum %5 bitki rejenerasyonu önerilmiştir. Bu durum göz önünde bulundurularak, araştırılan genotipler arasında, bir mükemmel, bir iyi ve sekiz uygun tepki tespit edilmiştir. Standart çeşide kıyasla, Feherözön (%75.8) ve Szechuan 90716 (%21.0) genotipleri, daha iyi yanıt vermiştir. Karşılaştırmalı araştırmalarda, zayıf yanıt vermeyen ve yanıt veren genotipler arasındaki melezlemelerden elde edilen F1 genotipleri, donör ebeveynde zayıf bir cevap olması durumunda bile, uygun bir tepki seviyesi göstermiştir.

Mitykó ve Fári (1997), androjenik potansiyelin embriyo veren anter yüzdesine göre belirlenmesi için biber türlerini; zayıf androjenik potansiyel (%5'ten az embriyojenik anterler), orta androjenik potansiyel (%5.1-15 arası embriyojenik anterler), iyi androjenik potansiyel (%15.1-30 embriyojenik anterler) ve mükemmel androjenik potansiyel (%30'un üzerinde embriyojenik anterler) olarak sınıflandırmışlardır.

Comlekcioglu ve ark (2001), Urfa ve Kahramanmaraş biberlerinde yaptıkları anter kültürü çalışmasında, 4 mg/l NAA, 0.1 mg/l BAP, %0.25 aktif

kömür içeren MS temel besin ortamına AgNO_3 ilave edildiğinde, androgenik embriyolar elde edilebildiğini, tomurcukların embriyo oluşturma oranının genotiplere göre değiştiğini ve Urfa genotiplerinde tomurcukların %50'sinin, buna karşın Kahramanmaraş genotiplerinde tomurcukların ancak %7.5'inin embriyo oluşturduğunu belirtmişlerdir.

Ellialtıoğlu ve Tıprıdamaz (2002)'ın bildirdiğine göre, *in vitro* teknikler kullanarak haploid bitkilerin elde edilmesi ve bunların kromozom sayılarının katlanarak iki katına çıkartılması olarak özetlenebilen dihaploidizasyon tekniği, ıslahçıların haploid bitkilerin sunduğu kolaylıklardan yararlanabilmesini sağlar. Biber, anter kültürüyle haploidlerin elde edilebilmesi için olumlu yanıtlar veren bir türdür. Ülkemizde konu ile ilgili araştırmalar, ilk olarak Abak (1983) tarafından gerçekleştirilmiş, Türk biber genotiplerinden %10.38'e kadar ulaşan oranda haploid bitki oluşumu elde edilmiştir. Bu yöntemle oluşan haploid bitkiler, çeşit geliştirmeye yönelik ıslah programlarında kullanılmıştır. Anter kültürü yoluyla haploidlerin elde edilmesinde; bitkinin genotipik özellikleri, donör bitkiden kaynaklanan fizyolojik etmenler, mikrosporların gelişme evreleri ve buna bağlı olarak anterlerin alınma zamanı, kültür sırasındaki fiziksel etmenler ve kültürlerin inkübasyon koşulları, tomurcuklara yapılan ön uygulamalar ile besin ortamının yapısı ve bileşimi ile gibi faktörler son derece önemlidir.

Buyukalaca ve ark (2004), besin ortamına eklenen dört farklı gümüş nitrat konsantrasyonunun *in vitro* biber anter kültüründe haploid embriyo elde etme üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, açık alanda ve serada yetiştirilen bitkilerden kültüre aldıkları anterlerden, test edilen gümüş nitrat düzeylerinin hepsinden farklı oranlarda olmakla birlikte, haploid embriyo oluşumu gözlemlemişlerdir. Serada yetiştirilen bitkilerden alınan anterlerden, açık alanda yetiştirilenlere oranla daha fazla embriyo elde edildiğini belirten araştırmacılar, en yüksek embriyo veriminin 15 mg/l gümüş nitrat içeren ortamdan etmişlerdir.

Niklas-Nowak ve Nowaczyk (2005), türler arası *C. frutescens* L. $\times$ *C. annuum* L. melezlerinden seçilen beş biber hattında, anter kültürü yapmışlardır.

Anterler, genç çiçek tomurcuklarından izole edilerek Dumas de Vault ve ark (1981) tarafından geliştirilen ortamın modifiye edilmesiyle oluşturulan ortamda kültüre alınmışlardır. Çalışmalarında, genotip ve kültür koşullarının, anter kültürünün embriyojenik potansiyeli üzerinde en önemli etkiye sahip olan faktörler olduğunu tespit etmişlerdir. Genotipe bağlı olarak, %0 ile %1.3 arasında değişen bir frekansla embriyogenesis ve kallus indüksiyonu gözlemlenmiştir. *In vitro* bitkilerin flow sitometri analizinde rejenerantların haploid, bazen de diploid ve miksoploid oldukları görülmüştür. Androjenik bitkilerin üretiminin, optimizasyon koşullarına ilişkin gelecekteki araştırmalar için, 34/2/33 olan türler arası hibritin en değerli materyal kaynağı olarak görüldüğü tespit edilmiştir.

Nowaczyk ve ark (2005), *C. frutescens* L.'nin androgenesis etkinliğinin ön tespitini yapmak amacıyla, bu türün sarı ve kırmızı meyveli formlarında anter kültürü yapmışlardır. Kültüre alınan 610 anterden, toplam 25 anter kaynaklı olgun bitki elde edilmiştir. Rejenere bitkilerin flow sitometri ile belirlenen ploidi düzeylerinde, anrojenik rejenerantlar arasında 13'ü haploid, 10 tanesi diploid ve 2 tanesi de miksoploid olarak bulunmuştur. Her iki *C. frutescens* L. genotipi için de androgenesis etkinliğinin nispeten düşük olarak tespitine rağmen (%5'i geçmemesine rağmen), bu çalışmada elde edilen sonuçlarla *C. frutescens* L'deki ıslah çalışmalarında androgenesis kullanılmasının bir olasılık olduğunu, yöntem geliştirildikten ve daha fazla etkinlik sağlandıktan sonra bu türün ıslahında geniş bir androgenesis uygulamasının beklenebileceğini bildirmişlerdir.

Olszewska ve ark (2005), yumuşak etli meyveleri ile karakterize edilmiş *C. frutescens* L.'nin morfolojik özellikleri ve elde edilen kallus dokusunun ploidi düzeyinin analiz edilmesinin yanı sıra, anter kültüründe haploid embriyo oluşturma yeteneğinin saptanması amacıyla yaptıkları çalışmada, iki farklı dönemde (ilkbahar-sonbahar) anterleri kültüre almışlardır. Çalışma sonucunda, anter kültüründen embriyo oluşumu yeteneğinin, değerlendirilen genotip için %3 olduğunu tespit etmişlerdir.

Taşkın (2005), düşük sıcaklığa farklı derecelerde tolerans gösteren 5

genotiple yaptığı çalışmada (tolerant 3 genotip, orta derecede tolerant 1 genotip ve duyarlı 1 genotip) dört farklı kültür ortamı kullanmış ve anterleri farklı zamanlarda kültüre almıştır. Ayrıca kültüre alınan ortamlarda gelişmesini tamamlayan embriyoları 5 mg/l absisik asit içeren ortamlarda 10 gün bekletmiş ve embriyo olgunlaşmasını takip etmiştir. Sonuç olarak, embriyo oluşumu ve embriyoların bitkiye dönüşmesi üzerinde genotip, anter alma dönemleri ve farklı besin ortamlarının etkili olduğunu, soğuğa tolerant olarak belirlenen genotipin en yüksek embriyo verimine sahip olduğunu, anter alma dönmlerinde en başarılı sonuçların Nisan-Mayıs aylarında elde edildiğini, kullanılan besin ortamlarından MS+30 mg/l sakkaroz+ %0.25 aktif kömür+ 15 mg/l gümüş nitrat+ 4 mg/l NAA+ 1 mg/l BAP ve modifiye edilmiş MS+30 mg/l sakkaroz+ %0.25 aktif kömür+ 15 mg/l gümüş nitrat+ 4 mg/l NAA+ 0.1 mg/l BAP içeren besin ortamlarında daha fazla embriyo elde edildiğini, ayrıca absisik asit uygulamasının embriyo olgunlaşması üzerinde olumlu bir etkisinin bulunmadığı tespit etmiştir.

Chen ve ark (2007), arpadaki anter kültürü cevabının genetik kontrolünü analiz etmek için, orta duyarlı "Dobla" çeşidi ile model kültür çeşidi "İgri" arasında melezlemeden dihaploid (DH) popülasyonu üretmişler ve 91 markör ile bir bağlantı haritası oluşturmuşlardır. Anter kültür cevabının farklı bileşenleri için, 41 hattın bir alt popülasyonu karakterize edilmiş ve kantitatif özellik lokusu (QTL) analizi için kullanılmıştır. Arpa anter kültürü cevabının ana bileşenleri için yeni QTL'ler 2H, 5H ve 6H kromozomları üzerinde tanımlanmıştır. Bu sonuçların, arpadaki anter kültürü cevabının göreceli olarak az miktarda gen etkisiyle kontrol edilebileceğini gösterdiğini birdirmişlerdir.

Jedrzejczyk ve ark (2007), *Capsicum* cinsinin kültürü yapılan ve yabani genotiplerinde androgenesis ve poliembriyoni yoluyla haploid oluşumu frekansını hesaplamak amacıyla, *C. annuum*'un üç kültür formu ile *C. frutescens* ve *C. frutescens* x *C. annuum* hibritlerini kullanmışlardır. Elde edilen sonuçlar, hem androjenik embriyoların hem de ikiz biber bitkilerinin elde edilebildiğini göstermiştir. Bununla birlikte, test edilen tüm *Capsicum* genotiplerinde, haploid

bitki elde etmek için, *in vitro* anter kültürü yoluyla androgenesisin tek yol olduğunu bildirmişlerdir.

Koleva-Gudeva ve ark (2007), androgenik bitkiler elde etme frekansının yüksek oranda genotipe bağlı olması nedeniyle, haploid gelişme oranının düşük olmasının, biber ıslahında anter kültürünün kullanılabilirliğini sınırlandırdığını bildirmişlerdir. İnkübasyon uygulamaları ve özellikle oksinler gibi bitki büyüme düzenleyicilerle desteklenmiş uygun besin ortamlarının, biber anter kültüründe somatik haploid embriyo elde etmek için önemli faktörler olduğunu belirtmişler ve bu nedenle MS, N, LS, NN ve CP ortamları ile üç farklı inkübasyon uygulamasının biber anter kültüründe androgenik potansiyel üzerine etkilerini araştırmışlardır. Soğuk koşullarda (7°C) ve 7 gün karanlıkta inkübasyon uygulandıktan sonra, eksplantlar aydınlık koşullara (12 saat fotoperiyod ve 25°C) transfer edildiğinde, NS ve NN ortamında dört hafta sonra anterlerden kallus oluştuğunu, sıcak koşullarda (25°C) ve 7 gün karanlıkta inkübasyon uygulandıktan sonra eksplantlar aydınlık koşullara (12 saat fotoperiyod ve 25°C) transfer edildiğinde MS ve N ortamında dört hafta sonra anterlerin kallus oluşturduğunu, sıcak koşullarda (35°C) ve 8 gün karanlıkta inkübasyon uygulandıktan sonra eksplantlar aydınlık koşullara (12 saat fotoperiyod ve 25°C) 4 gün CP ortamına transfer edildikten sonra R1 ortamında dört hafta sonra anterlerden embriyo oluştuğunu bildirmişlerdir.

Rodeva ve ark (2007), farklı Bulgar ve Makedon biber genotiplerinin anter kültüründe androgenesis etkinliğini araştırmışlar, genotipe bağlı olarak anter embriyojenik kapasitelerinde ve elde edilen bitki rejenerantlarının gelişiminde farklılıklar tespit etmişlerdir. Çalışılan 22 biber genotipinin sadece 5 tanesinde indüksiyon sağlandığını, embriyojenik reaksiyonun %1.67-8.9 arasında değiştiğini ve her 100 anterden 1.82 rejenere bitki elde edildiği bildirmişlerdir.

Nowaczyk ve ark (2009a), *C. annuum* (ATZ1 x PO ve ATZ1 x CDT), *C. frutescens* x *C. annuum*, *C. frutescens* x *C. chinense* F2 hibritlerinde androgenesis etkinliği yönünden açık bir farklılık olduğunu, en yüksek androgenik embriyo etkinliğinin ATZ1 x PO F2 bireylerinde olduğunu (%5'ten daha fazla), ATZ1 x

CDT F2'lerinin bunun 1/3 oranında embriyo ve bitki oluşturduğunu, türler arası melez bitkilerin daha az sayıda embriyo oluşturduğunu rapor etmişlerdir.

Nowaczyk ve ark (2009b), *C. annuum* x *C. chinense* hibritlerinden seçtikleri üç farklı genotipte androhaploidiyi araştırmışlar, bir hatta yalnızca kallus dokusu oluştuğunu, bir hattın haploidiye cevap vermediğini, üçüncü hatta ise 9 embriyo gözlemlendiğini ve bu embriyoların bitkiye dönüştüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca, sekiz bitkinin androgenik olduğunu ve kültür koşullarına cevap vermede genotip çeşitliliğinin bilinen etkisini doğrulamışlardır.

Ata (2011), farklı iklim isteğine sahip biber genotiplerinin iklim istekleri ile embriyo ve bitkiye dönüşüm arasındaki ilişkiyi araştırdığı çalışmasında, düşük sıcaklığa hassas/tolerant genotipler ve yüksek sıcaklığa hassas/tolerant genotipler kullanmış, hem embriyo oluşumunun hem de embriyolardan bitkiye dönüşümün genotiplere, anter alma dönemlerine ve besin ortamlarına göre değiştiğini tespit etmiştir. Genotipler arasında en yüksek embriyo veriminin yüksek sıcaklıklara tolerant olarak belirlenen İnan3363 isimli kültür çeşidinden elde edildiğini, anter alma dönemlerinde en başarılı sonuçların Nisan ve Ağustos aylarında olduğunu, bitkiye dönüşümün Nisan ayında daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

Germana (2011b), bitki ıslahçılarının hem üreticileri hem de tüketicileri tatmin etmek için gelişmiş özelliklere sahip bitkileri seçecekleri yeni genetik kombinasyonları araştırmalarının daimi olduğunu, son yüzyılın ikinci yarısında elde edilen ürün verimindeki etkileyici artışın, genetik iyileşme ve gelişmiş yönetim tekniklerinden kaynaklandığını bildirmiştir. Ayrıca doku kültürü tekniklerinin özellikle de haploid ve dihaploid teknolojisinin, üstün bitkileri seçmede etkili bir şekilde yardımcı olabileceğini, DH bitki üretiminin ıslahı hızlandırmak için özellikle önemli bir biyoteknolojik yöntem olduğunu belirtmiştir. Günümüzde heterozigot ebeveynlerden tamamen homozigot hatların tek adımda gelişimini mümkün kılan haploid teknolojisinin, önemli tarımsal ürünlerin çoğunda çok büyük bir etkiye sahip olduğunu ve bunların ıslah programlarında ayrılmaz bir parçayı temsil ettiklerini bildirmiştir.

Shrestha ve ark (2011), Boogie tatlı biberinden anter kültürü yöntemi ile haploid ve diploid bitkiler üretmek ve bitki-meyve özelliklerini karakterize etmek için, anterleri Dumas de Vault (C-ortamı) ortamında kültüre almışlardır. Kùltürler ilk olarak bir hafta boyunca 35°C'de karanlıkta inkübe edilmiş, daha sonra 16 saat fotoperiyod ve 25°C koşullarında 40 gün tutulmuşlardır. Rejenere olan haploid ve diploid bitkiler, bitki ve meyve özellikleri bakımından değerlendirilmiştir. Sonuç olarak toplam anterlerin (6100) %39,6'sında kallus oluştuğu ve bu kallusların sadece %1.78'nin bitkiye dönüştüğü belirlenmiştir. Ploidi analizleri, bu bitkilerin %78.1'nin diploid olduğunu göstermiştir. Haploid bitkiler kısa boylu, dar yapraklı, kısa boğumlu, küçük çiçekli ve diploid bitkilere göre düşük hacimli küçük meyveler olarak karakterize edilmiştir. Diploidlerde ölçülen ortalama meyve hacmi, haploidlerden %62.7 daha yüksek bulunmuştur. Diploid populasyonda, bitki ve meyve karakterlerinde varyasyon gözlemlenmiş, biber ıslahçılarının ıslah programlarında bu varyasyondan yararlanabilecekleri belirtilmiştir.

Grozeva ve ark (2013), donör bitkilerin sıcaklık ve büyüme dönemlerinin anter kültürü üzerine etkisini dokuz biber melezi ve çeşitlerinde incelemişlerdir. Embriyo oluşumu ve bitki rejenerasyonu sıklığının genotip ve kültüre alma periyodu ile değiştiğini, en etkili androjenik cevabın embriyo oluşumu için en uygun sıcaklığın 17.5-22.2°C arasında olduğu Eylül ayında kaydedildiğini tespit etmişlerdir. Bu şartlarda kültüre alınan anterlerin %52.9'unun embriyo oluşturduğunu ve bu embriyoların %50.6'sının bitkiye dönüştüğünü bulmuşlardır. Sonuç olarak; kültür ortamı, donör bitki yaşı ve artan hava sıcaklığı gibi faktörlerin kombinasyonunun farklı biber genotiplerinde androjenik yanıtı artırabildiğini belirlemişlerdir.

Parra-Vega ve ark (2013a), anter kültürü için belirlenmiş iki protokol kullanarak (Dumas de Vault ve ark, 1981; Supena ve ark, 2006b) kallus ve embriyo gelişimini dört tatlı biber çeşidinde değerlendirmişlerdir. Test edilen tüm genotipler için Dumas de Vault ve ark (1981) protokolü hem embriyo gelişimi hem de kallus büyümesini desteklerken, Supena ve ark (2006a, 2006b) protokolü

hiçbir kallus üretmemiş, ancak sadece embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Bununla birlikte, bu genotipler arasında embriyo üretiminde farklılıklar gözlemlenmiştir. Paralel olarak, anterler 25°C'de kültürden önce 4, 8, 12 ve 16 gün boyunca 35°C'lik bir endüktif ısı şokuna maruz bırakılmıştır. Isı şokunun süresi, embriyo ve kallus üretiminde önemli etkilere sahip olmuştur. Kallus üretimi, 35°C'ye uzun süreli maruz kalma ile artmıştır. Embriyo ve kallus orijini; flow sitometri, ışık mikroskobu ve moleküler markırlarla analiz edilmiştir. Yapılan analizler, test edilen tüm embriyolar için bir gametofitik orijin ve tüm kalluslar için sporofitik bir orijin olduğunu göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, kültür koşullarının, anter duvarlarından üretilen kallusun varlığı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Parra-Vega ve ark (2013b), mikrosporogenesis ve mikrogameto-genesisin her bir aşaması ile tomurcuk ve anter gelişiminin görünür ve ölçülebilir özelliklerini ilişkilendirmek için, en kolay ve daha doğru kriteri belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmalarında, üç İspanyol F1 tatlı biberi (Herminio, Gacela ve Aguila) kullanmışlardır. Anter uzunluğunun, tomurcuk uzunluğunun, anter mor pigmentasyonunun ve kaliks uzunluğu ile tomurcuk uzunluğunun (kaliks/tomurcuk oranı) tek mikrospor/polen gelişim aşamalarının belirleyici olarak kullanımının doğruluğu ve pratik kullanışlılığı analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, kaliks/tomurcuk oranı ve anter pigmentasyonu, antosiyanin üreten biber çeşitlerinde potansiyel olarak uygulanabilir, kolay, hızlı ve doğru bir kriter olarak önerilmiştir.

Alremi ve ark (2014), bugüne kadar biberde anter kültürü ile ilgili yürütülen çalışmalarda genellikle genotip, donör bitkilerin yetiştirme koşulları ve farklı anter alma zamanları, besin ortamı, büyüme düzenleyicileri, farklı besin ortamı bileşenleri ve farklı ön uygulamalar üzerine yoğunlaştığını (Wang ve ark, 1973; George ve Narayanswamy, 1973; Saccardo ve Devreux, 1974; Novak, 1974; Harn ve ark, 1975; Dumas de Vault ve ark, 1981; Mitykó ve ark, 1995; Gemesne Juhasz ve ark, 2001), bu tekniğin biberde uygulanmasında ortaya çıkan sorunların

çözümüne yönelik olarak ülkemizde de oldukça başarılı sonuçlar ortaya konulduğunu (Abak, 1983; Çömlekçioğlu ve ark, 1999; Ellialtıoğlu ve ark, 2001; Comlekcioglu ve ark, 2001; Buyukalaca ve ark, 2004; Ata, 2011; Taşkin ve ark, 2011) bildirmişlerdir. Biber anter kültüründe genotip ve besin ortamının etkisi ve ıslah hattı genotiplerin anter kültürüne tepkilerini araştırdıkları çalışmalarında, biber anter kültüründe embriyo oluşum oranı üzerinde besin ortamı bileşiminin ve genotipin önemli derecede etkili olduğunu belirlemişler, bunun yanında embriyo oluşumunun yeterli olmadığı ve embriyodan bitkiye dönüşüm oranı bakımından da yeni araştırmalar yapılarak yöntemin optimize edilmesi gerektiğini ortaya koymuşlardır. Başarı oranı çok yüksek olmamakla birlikte, yine de tek bir ortamın seçilerek fazla sayıda anter kullanılması durumunda, istenen sayıda haploid bitki elde edilebileceğini tespit etmişlerdir.

Barroso ve ark (2015)'nın bildirdiğine göre, androgenesis hücre totipotensisinin en çarpıcı örneklerinden biri olarak kabul edilmektedir. Günümüzde basitliği ve uygulanabileceği genotip aralığı nedeniyle, haploidleri elde etmek için en çok kullanılan teknik androgenesis yoluyla anter kültürüdür. Bununla birlikte, agronomik açıdan önemli birçok ürün androgenesise karşı inatçıdır. Bu, ıslah programlarında androgenesise yanıt veren genotiplerin çalışılmasının önemini vurgulamaktadır.

Nowaczyk ve ark (2015), yumuşak etli, acı, kırmızı meyveli hatların, sert etli, tatlı, kırmızı ve sarı meyveli çeşitler ile melezlenmesinden elde edilen 4 F1 melez acı biberi (*Capsicum spp.*) *in vitro* anter kültürü çalışmasında, donör olarak kullanılmışlardır. Flow sitometri analizleri, anter kültüründen elde edilen bitkilerin üçte birinin 2C DNA içerdiğini göstermiştir. Genetik analiz için 35 tam gelişmiş diploid bitki kullanılmıştır. Olgun meyve rengi, perikarp yapısı ve tadı ile marker gen aktivitesinin etkisi değerlendirmeye dahil edilmiştir. İncelenen bitkilerin %74'ü, markır özelliklerinde, donör bitki fenotipinden farklı bulunmuştur. Meydana gelen farklılıklar bir (16 bitki), iki (dokuz bitki) veya üç (bir bitki) olarak dikkate alınmıştır. Dokuz diploid bitki; uzunluk, genişlik, taze ağırlık, perikarp

ağırlığı, meyve ağırlığı, duvar kalınlığı ve kuru madde gibi meyve özellikleri bakımından karşılık gelen donör bitkiden farklılıklar göstermiştir. Sonuçlar, tüm diploid bitkilerin androjenik kökenli olduğunu doğrulamıştır. Ayrıca, elde edilen androdiploidlerde yüksek oranda bulunan genetik varyasyonlar, verim ve pazar değeri açısından da önemli bulunmuştur. Bitki başına toplam meyve ağırlığı 44 g ile 1.24 kg arasında değişmiştir. Her bir diploid için, donör bitkilerinden önemli ölçüde farklı olan rekombinantları olduğu belirlenmiştir. Androdiploidlerin *Capsicum* spp'den yeni çeşitlerin ıslahı için değerli bir stok materyal sağlayabileceği belirtilmiştir.

Shen ve ark (2015), bitki genom dizileri hakkında artan bilgi ile beraber, genotip-fenotip sağlaması için daha güvenilir ve verimli genetik yaklaşımların geliştirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Bitki genlerinin işlevsel olarak tanımlanmasının, genellikle yaratılan genetik modifikasyon ve fenotipe göre gözlemlenmesinin kombinasyonu ile elde edildiğini, fenotipik doğrulamada kullanılabilecek homozigot genotipler üretmek için gerekli zaman ihtiyacının büyük bir darboğaz olduğunu, bitki genlerinin fonksiyonel doğruluğu için mevcut deneysel yaklaşımların kapsamlı bir şekilde karşılaştırıldığında gen fonksiyonunu oluşturmada ihtiyaç duyulan zamanı ve maliyeti azaltmak için haploid stratejilerin önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Sood ve Dwivedi (2015), dihaploidlerin bazı önemli türlerde homozigot genotip üretmek için ıslah programlarında kullanıldığını ve bu sayının giderek arttığını bildirmişlerdir. DH popülasyonlarının genetik haritalama için ideal olduğunu ve daha sonra kantitatif özellik lokuslarının tanımlamasında kullanılabilecek yüksek yoğunluklu markır haritalarının geliştirilmesine izin verdiğini, DH'leri kullanarak genetik haritalamanın verim, kalite, agronomi, abiyotik ve biyotik stres için gen kontrol özelliklerinin belirlenmesinde etkili olduğunu vurgulamışlardır. DH'lerin bir çok ürün çeşidinde üretildiğini ve ıslah süresini önemli ölçüde azalttıklarını; bu nedenle, dünya çapında DH teknolojisinin ürün geliştirmede hızlandırılmış bir yaklaşım olarak birçok ıslah şirketi ve

laboratuvar tarafından kullanılmasıyla neredeyse 300 yeni çeşidin gelişmesine yol açtığını belirtmişlerdir.

Olszewska ve ark (2015), türler arası hibritlerden (*C. frutescens* x *C. annuum*) androgenesis indüksiyonu için anter kültürünü uygulanmış ve elde edilen haploid bitkilere *Capsicum annuum* L. için geliştirilen protokole göre kolhisin uygulanmıştır. En büyük rejenere grup %29-55 oranında miksploid ve %20-50 arasında haploid olmuştur. Çalışılan genotipler için, %17-27 düzeyinde etkili bir diploidizasyon gözlemlenmiştir.

Akyol ve ark (2016) tarafından, beş farklı biber çeşidinin (dolmalık, kapyra, çarliston, ince-uzun biber ve uzun biber) farklı bitki büyüme düzenleyicilerini içeren MS kültür ortamında, anter kültürü ile embriyogenesis yoluyla haploid bitki oluşumuna verdikleri cevap incelenmiştir. Çeşitler arasında, tepki bakımından farklılıklar olmuştur. En iyi kallus rejenerasyonu (%100) çarliston biber çeşidinde, 0.1 mg/l 2.4-D ve 0.1 mg/l KIN içeren MS ortamı ile 0.1 mg/l NAA, 1 mg/l BAP içeren MS ortamlarında elde edilmiştir. Tüm anterlerde kararma meydana gelmiş, ancak kısa bir süre sonra kararan anterlerden kompakt yapıda, açık yeşil veya krem rengi kallus rejenera olmuştur. Embriyo rejenerasyon ortamında, en iyi embriyo rejenerasyonu (%48.39), 0.1 mg/l 2.4-D, 0.1 mg/l KIN içeren MS ortamında kapyra biber çeşidinden elde edilmiştir. Tüm embriyolar, embriyogenesisin globüler aşamasında kalmıştır.

Irikova ve ark (2016)'nın bildirdiğine göre, yüksek verimlilik ve daha iyi meyve kalitesine sahip biyotik ve abiyotik stres faktörlerine dirençli yeni çeşitler geliştirmek için, ıslahçılar modern ıslah yöntem ve tekniklerine ihtiyaç duyarlar. Dihaploidler tamamen homozigot yapıları nedeniyle, paha biçilemez bir ıslah aracıdır. Dihaploid hatlarının elde edilmesinde en hızlı yöntemlerden biri, anter kültürüdür. Biber anter kültürünün etkinliği hala düşüktür ve bu da ıslah programlarında dihaploid hatların kullanımını sınırlar. Anter kültür sürecinin ayrıntılı çalışmaları, embriyo gelişimi sırasında gametofitden sporofite geçişin altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Bu bağlamda,

mikrospor embriyogenesi sırasında ifade edilen genler ve strese hücrel yanıtı kontrol eden genler önemli bir role sahiptirler.

Keleş ve ark (2016), tarafından yapılan çalışmada, Türk ve diğer ülkelerden temin edilen biber genotiplerini, anter kültürüne verdikleri tepki açısından karşılaştırılmışlardır. Besin ortamı olarak, 4 mg/l NAA, 0.5 mg/l BAP, %0.25 aktif kömür, 30 g/l sakkaroz ve 15 mg/l AgNO₃ içeren MS kullanılmıştır. Çalışmanın sonunda, sırasıyla yerli ve yabancı biber genotiplerinden %2.44 ve %10.15 haploid bitkiler elde edilmiştir. Araştırmacılar, haploid bitki rejenerasyonundaki genotipik kapasitenin anlaşılmasının ıslah programları için önemli olduğunu, bu bulguların ıslah programlarının başarısının artırılmasında ve ıslah süresinin kısaltılmasında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Nowaczyk ve ark (2016), tarafından *Capsicum* F1 hibridlerine uygulanan 2,4-D'nin anter kültürüyle embriyogenese etkisi değerlendirilmiştir. Materyal olarak, 6 acı ve tatlı F1 *Capsicum* melezi kullanılmıştır. Altı melez bitkinin her biri, anterler kültüre alınmadan bir gün önce 2,4-D uygulamasına ya da 1 mg/l 2,4-D içeren su uygulamasına tabi tutulmuştur. Deneme sonucunda, melezlerin uygulamalara farklı yanıt verdiği, 2,4-D uygulamasının melezlerin yarısında embriyo ve bitki sayısının artmasına neden olduğu bulunmuştur. En yüksek sayıda embriyo (127) ve bitki rejenerasyonu (47), F1 hibritin (SF4 × Luba) uygulama yapılmış bitkilerinden elde edilen anterlerin kültüründe kaydedilmiştir. Embriyolardan elde edilen bitkilerin ploidi seviyeleri farklı olmuştur. Donör bitkilere 2,4-D ile ön uygulama yapılmasının, *in vitro* kültürde mikrosporların embriyojenik özelliklerini artıran ek bir faktör olabileceği bildirilmiştir.

Seguí-Simarro (2016), *Solanaceae* familyasındaki androjenik DH'ler hakkındaki araştırmaların güncel durumunu; datura, tütün, patates, domates, patlıcan ve biberlere özel önem vererek bildirmiştir. *Solanaceae*'nin küresel tarım için en önemli ailelerden biri olduğunu, *Solanaceae* ailesinde, tütün (*Nicotiana tabacum*), patates (*Solanum tuberosum*), domates (*Solanum lycopersicum*), patlıcan (*Solanum melongena*) ve biber (*Capsicum annuum*) olmak üzere dünya çapında

önemli beş türün yer aldığını ve bu türlerde maksimum verimin, istenen özelliklere sahip saf hatların melezlenmesi ile oluşturulan hibrit bitkiler tarafından elde edildiğini belirtmiştir. Saf hatların, zaman alıcı ve maliyetli olan geleneksel ıslah yöntemleri ile üretilebildiğini, alternatif olarak haploid erkek gametofitlerden veya öncülerinden androgenesis yoluyla dihaploid (DH) bitkileri oluşturarak saf hatların üretiminin hızlandırılabileceğini, bu şekilde saf hatların üretiminin sadece bir generasyona indirgenebileceğini, bunun da önemli zaman ve maliyet tasarrufu anlamına geldiğini vurgulayan araştırmacı, bu tekniklere cevap verme açısından *Solanaceae* familyasında mükemmmel bir heterojenite olduğunu, hem bir model olarak kabul edilmiş tütün gibi yüksek oranda cevap veren hem de domates gibi güvenilir ve tekrarlanabilen metodların henüz bulunmadığı en inatçı türleri içerdiğini ve ilginç bir şekilde, androgenesisin özellikle de anter kültürünün ilk bulgularının, *Solanaceae* türlerinden olan *Datura innoxia*'da elde edildiğini bildirmiştir.

Taşkin ve ark (2016), Türkiye'de bugüne kadar yapılan anter kültürü çalışmalarından elde edilen bulguları özetledikleri çalışmalarında; geç tek çekirdek veya erken iki çekirdek fazının (ilk mitoz bölünmenin başlangıcı) en uygun anter aşaması olarak bulunduğunu, bu aşamada çiçek tomurcuklarının taç yaprak uzunluğunun, kalikse eşit veya biraz daha uzun olması ve anterlerin neredeyse yarısına kadar antosiyanine sahip olmaları gerektiğini, Türkiye'de 1980'lerde embriyo oluşum sıklığının %0.05-0.1 olarak hesaplandığını, ancak son yıllarda farklı besin ortamları, farklı büyüme düzenleyicileri, farklı mevsim denemeleri kullanılarak bu oranın %66.36'ya çıkarıldığını belirtmişlerdir. En etkili besin ortamını belirlemek için yapılan çalışmalarda, farklı besin ortamı kombinasyonları ve büyüme düzenleyicileri test edildiğini ve çalışmaların çoğunda BAP ve NAA'nın olumlu etkileri olduğunun bildirildiğini, aynı şekilde 2000'li yıllarda yapılan çalışmalarda $AgNO_3$ ve aktif kömürün olumlu etkilerinin belirlendiğini bildirmişlerdir. Donör bitkinin yetiştirme koşullarının, anter kültürü üzerindeki etkilerinin değerlendirildiğini ve açık alan koşullarından ziyade sera ortamında

yetiştirilen bitkilerden daha fazla embriyo elde edildiğini, çiçek tomurcuğu veya anterlerin sıcak veya soğuk koşullarda inkübe edilmesi gibi ön uygulamalardan pozitif sonuçlar elde edildiğini, bu şartların belirlenmesi için yapılan çalışmalarda 2 gün boyunca karanlıkta 4°C'de soğuk ve 35°C'de sıcak inkübasyonun en uygun sıcaklık dereceleri olduğunun bulunduğunu, farklı mevsimlerin anter kültürü üzerindeki etkilerinin test edildiği çalışmalarda, Türkiye'nin Akdeniz bölgesinde Nisan, Mayıs ve Ağustos aylarında kültüre alınan anterlerin, diğer dönemlere kıyasla en iyi sonuçları verdiğinin belirlendiğini, spontan dihaploid oranının genotiplere ve farklı biber türlerine bağlı olarak %8.3-61.7 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Heidari ve ark (2017)'nın bildirildiğine göre biber, doğal çeşitliliği nedeniyle haploid ve DH üretimindeki inatçı türlerden birisidir. Birçok araştırmacı anter, shed-mikrospor ve izole mikrospor kültürlerini içeren farklı androgenesis yöntemleri hakkında raporlar sunmuşlardır (Dumas de Vault ve ark, 1981; Supena ve ark, 2006a; Kim ve ark, 2008). Androgenesis kısıtlayan faktörlerin başında genotip etkisi gelmektedir (Wang ve Zhang, 2001; Buyukalaca ve ark, 2004; Rodeva ve ark, 2004, Liu ve ark, 2007; Koleva-Gudeva ve ark, 2009). Bu nedenle, bitki ıslahında androjenik programlar için cevap veren genotiplerin bulunması hayati faktörlerden biridir.

Çömlekçioğlu ve Ellialtıoğlu (2018)'nin bildirdiğine göre, dünyada en çok tüketilen ve ekonomik olarak önemli bitkisel ürünlerden biri de biberdir. Türkiye, Çin ve Meksika'dan sonra dünyanın üçüncü büyük biber üreticisi ülkesidir. Bu nedenle, ıslah programlarıyla yeni pazarlanabilir çeşitler geliştirmek önemlidir. *In vitro* androgenesis yöntemleri, bitki ıslahında önemli bir yere sahiptir ve tamamen homozigot dihaploid hatların üretiminde etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Anter kültürü yöntemi, haploid biber bitkileri elde etmek için, Türkiye'de en çok tercih edilen ve yaygın olarak kullanılan yöntemdir.

Anter kültürüne cevap verme kalıtsal özellik olarak; mısır (Afele ve Kannenberg, 1990), buğday (Agache ve ark, 1989), arpa (Forughi-Wehr ve ark,

1982), petunya (Raquin, 1982), çeltik (Miah ve ark, 1985), çavdar (Rakoczy-Trovanowska ve Malepszy, 1995)'da araştırılmıştır.

Forughi-Wehr ve ark (1982), dört çeşit arpa (*Hordeum vulgare*) ve bunların melezi olan 55 farklı hibritten alınan anterler, *in vitro* kültüre almışlardır. Tüm hibritler içerisinde bir tanesi hariç, diğerlerinde önce kallus ardından da bitki oluşumu gerçekleşmiştir. Mikrospor cevabının ölçütü olarak, kallus oluşumu ve bitki rejenerasyon frekansları detaylı olarak incelenmiştir. Kallus oluşumu, 1.000 anter başına 3.3-73.2 arasında değişirken, yeşil bitki rejenerasyonu kültüre alınan her 1000 anter için 0-12.7 arasında değişmiştir. Melezlerin ve ebeveynlerinin mikrospor rejenerasyon frekanslarının karşılaştırılması, kültür cevabının kalıtımının en az iki farklı ve ayrı kalıtsal mekanizmayı içeren karmaşık bir karakter olduğunu göstermiştir. Kalıtsal olduğu için, anter kültürüne cevap verme başlangıçta cevap vermeyen materyallere aktarılabilir. Androjenik haploid üretiminde başarıyı arttırmanın bu genetik yolu, optimum kültür koşullarını aramaktan daha gerçekçi görünmektedir.

Raquin (1982), petunya hatlarını ve farklı heterozigotluk seviyelerindeki melezleri, benzer koşullar altında anter kültürüne almışlardır. Androjenik verim petunyada, iki önemli farklı faktör (embriyo verimi ve aynı embriyoların kalitesi) ile kondisyonlanmaktadır. Embriyo verimi, anterlerin alındığı ana bitkinin heterozigotluğuyla doğrudan bağlantılıdır. Embriyoların kalitesi, canlı bitki verme kapasitesi olarak ifade edilir. Bu karakter, belirli hatlar tarafından taşınır ve kuşaklara aktarılır. Kalıtım monogenik olarak görünmemektedir.

Miah ve ark (1985), çeltikte anter kültüründe kallus oluşturma yeteneğinin kalıtımını diallel tekniğini kullanarak çalışmışlardır. İki japonica çeşidi (Minehikari ve Taipei 309), iki indica çeşidi (Mingolo ve Suweon 290) ve bu dört ebeveyni içeren 12 F1'i, tek çekirdekli mikrospor aşamasında Chaleffs R2 ortamında kültüre almışlar ve kallus indüksiyonu için değerlendirmişlerdir. Ebeveynler, anterde kallus oluşumunda %0 (Suweon 290) ile %41.9 (Taipei 309) arasında önemli farklılıklar göstermişlerdir. Kallus indüksiyon kabiliyetinin kalıtımı, tek bir gen

bloğu ile şartlandırılmış resesif bir karakter olarak tespit edilmiştir. Eklemeli gen etkilerinin, baskın olduğu saptanmıştır.

Agache ve ark (1989), genotipin buğday anter kültürü tepkisinde en önemli faktörlerden biri olduğunu vurgulamışlardır. Buğday anter kültüründe; embriyo indüksiyonu, bitki rejenerasyonu ve albino/yeşil oranının kalıtsal özellikler olduğu belirlenmiştir. Buğdayda anter kültürüne tepki çalışılmış ve CS1D kromozomu ve 5BL kromozom kolundaki genlerin embriyo frekansını arttırdığı, rejenerasyon kabiliyetinde rol oynayan gen(ler)in IRS kromozom kolunda bulunduğu ve Chinese Spring çeşidinin 5B kromozomunda albino frekansını yükselten bir gen bulunduğu bildirilmiştir. Sonuçların, gametik bir seleksiyon olmadan daha yüksek rejenerasyon yeteneği için, bu genleri taşıyan belirli mikrospor sınıflarının farklı bir gelişme meydana getirdiği bulgularını desteklediği; ayrıca bu çeşitle yapılan bazı melezlemelerde, anter kültür yanıtının belirlenmesinde ana etkenlere sahip birkaç genin yer aldığı belirtilmiştir.

Afele ve Kannenberg (1990), mısırdaki anter kültürüne cevap vermenin kalıtımı üzerine yaptıkları çalışmada, iki ıslah hattı ve bunların melezlenmesi ile F1, F2, GM1 ve GM2 populasyonlarını oluşturmuşlar ve anterlerini kültüre almışlardır. Anter kültürüne cevap vermede; anter cevabı (%), embriyoların frekansı (%) ve anter verimliliği dikkate alınmıştır. Anter cevabı ve embriyo frekansı açısından generasyonlar arasındaki varyasyonda P1, F1, F2 ve GM1 ortalamaları arasında anlamlı bir fark bulunmadığı, fakat P2 ve GM2'nin ortalamalarının anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlenmiştir. Anter verimliliği için, F2 generasyonunun çoklu embriyo oluşturma açısından, daha yüksek bir eğilime sahip olduğu görülmüştür. Anter cevabının ve embriyo frekansının kalıtımının eklemeli dominans modelle, anter verimliliğinin kalıtımının ise digenik epistasi (eklemeli x dominans) ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bütün özellikler için eklemeli genetik varyans yüksek bulunurken, çevresel varyansın da oldukça önemli olduğu görülmüştür. Dar anlamda kalıtım dereceleri, anter cevabı ve embriyo frekansı için sırasıyla %65 ve %75 olarak hesaplanmıştır.

Rakoczy-Trojanowska ve Malepszy (1995), yedi çavdar hattının olgunlaşmamış embriolarını 3 mg/l 2,4-D içeren modifiye MS ortamında kültüre almışlardır. *In vitro* cevap, hatlara göre dört gruba ayrılmıştır: (1) %30'dan fazla embriyojenik olmayan kallus üreten ve yüksek oranda cevap vermeyen embriyolara sahip olanlar, (2) embriyoların çoğunluğundan embriyojenik olmayan kallusun üretilmesi, (3) yüksek oranda kök rejenerasyonu olan kallus üretenler, (4) embriyojenik kalluslar ve embriyoların %50'sinden fazlasının bitkiye dönüşmesi. Bu cevap tiplerinin kalıtımı, bazı hatların melezlerinin F1, F2 ve F3 kuşaklarında analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda, embriyojenik kallus üretiminin, hem bitki hem de kök rejenerasyonunun resesif genler tarafından kontrol edildiği belirlenmiş, embriyojenik olmayan kallus üretiminin büyük olasılıkla dominant genler tarafından kontrol edildiği ve bu genlerin cevap verme kabiliyetini azalttığını tespit edilmiştir. Cevap vermemenin, karşılıklı etkileşimli en az iki gen tarafından kontrol edildiği de belirlenmiştir.

Powell (1988), anter kültürüne cevap vermede genotip etkisinin, arpa ıslahında anter kültürünün daha geniş kullanım alanı bulmasının önündeki en büyük sınırlama olduğunu bildirmiştir. Sera koşullarında 49 genotiple 7 x 7'lik bir diallel analizinde, kültüre alınan her 100 anter için cevap veren anterlerin sayısı, yeşil bitkilerin sayısı ve albino bitkilerin sayısı üzerinde, hem eklemeli hem de baskınlık etkilerinin bulunduğunu tespit etmiştir.

Sonnino ve ark (1989) patatesteki yapılan çalışmalarda, anter kültürüne cevap vermenin birden fazla resesif allel tarafından, diploid patates türlerinde bir dominant allel tarafından (Singsit ve Veilleux, 1989), embriyo oluşumunu başlatmanın iki genle ve embriyo rejenerasyonunun ise fazladan iki genle kontrol edildiğini (Veronneau ve ark, 1992) bildirmişlerdir.

Hou ve ark (1994), tarla ve açık alan koşullarında üç farklı ebeveyen ve bunların 12 F1 melezini, anter kültürü performansı için karşılaştırmışlardır. Değerlendirilen özellikler; embriyo sayısı, rejenere olan toplam bitki sayısı ve kültüre alınmış 100 anter başına RYB (Rejenere olmuş yeşil bitki) sayısı olmuştur.

Çalışmada, çevre koşulları önemli bulunmazken, genetik etkiler önemli bulunmuştur. Değerlendirilen her üç özellik için, eklemeli ve dominans etkiler ve RYB için resiprokal etkiler olduğu tespit edilmiştir. Anter kültürü için spesifik, ancak karmaşık genetik etkiler görülmüş ve bu bilgi, arpa ıslahı stratejisine uygulanmıştır.

He ve ark (1997)'nin bildirdiğine göre, bazı araştırmalar pirinçte kültüre alınabilirliğin birkaç genetik faktör tarafından kontrol edildiğini ortaya çıkarmıştır. Xue (1984), eklemeli gen etkisiyle kalıtsal bir özellik olduğunu öne sürmüştür; Wu ve Chen (1987), diallel çapraz testi kullanarak yedi japonika çeşidi ile anter kültürü yeteneğindeki genotipik farklılığı araştırmışlar, eklemeli ve eklemeli olmayan genlerin hem anter kültüründe hemde kallus oluşturmada önemli olduğunu belirtmişler; Quimio ve Zapata (1990) ise anter kültürü yeteneğinde birkaç resesif genin belirleyici olabileceğini bildirmişlerdir. Bu zıt sonuçlar, pirinç anter kültüründe kallus indüksiyonunun, kompleks kalıtıma sahip olduğunu göstermektedir.

Smykal (2000), farklı türlerde anter kültürüne cevap vermenin resesif bir özellik olduğunu ve genellikle birden fazla gen tarafından kontrol edildiğini bildirmiştir.

Hecht ve ark (2001) ve Nolan ve ark (2003), *Arabidopsis*'de hücrelerin embriyogenesis yeteneğini reseptör kinaz-1 geni AtSERKI'nin kontrol ettiğini rapor etmişlerdir. Bu gen ifadesinin artması, somatik embriyogenesisin de artmasını sağlamaktadır.

Dunwell (2010)'un bildirdiğine göre, mısırdaki ek bir haploid indükleyici gen olan ve kromozom 3 üzerinde bulunan (ig) geni olduğu (Kermicle, 1969, 1971; Pollacsek, 1992; Kindiger ve Hamann, 1993) ve bir LOB alan proteinini kodladığı (Evans, 2007) farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Yine ig ile ilişkili bir genin, arpadaki haploid başlatıcı gen (hap) olduğu tanımlanmıştır (Hagberg ve Hagberg, 1980, 1981; Mogensen, 1982; Dunwell, 2010'dan). Bu genin işlevi, kutup çekirdeğinin döllenmesini ve endospermin gelişmesini etkilemeden, yumurta

hücresinin döllemesini engellemektir.

Capsicum cinsi içerisinde, bitkisel özelliklerle ilgili 290 üzerinde gen tanımlanmıştır (Daskalov ve Poulos, 1994; Lippert ve ark, 1965, 1966; Wang ve Bosland, 2006). Bu genlerin ürün geliştirmedeki etkileri ve kalıtım kalıpları, tam olarak tespit edilememiştir (Stummel ve Bosland, 2007).

Biberde anter gelişimi süresince, genel gen ifadesi kalıpları ile ilgili çalışmalar yok denecek kadar azdır.

Kim ve ark (2004), anterlerin mikrospor-2 aşamasında başlatma sinyallerine cevap verdiğini tespit etmiştir.

Irikova ve Denev (2008), *C. annuum* genomunda BBM ve LEC benzeri dizileri araştırmış, kendi sekansları ile daha önce bildirilen BBM ve LEC sekansları arasında yüksek benzerlik olduğunu, bu araştırmanın *C. annuum*'da BBM ve LEC benzeri genlerin varlığını ortaya koyan ilk çalışma olduğunu rapor etmiştir.

Lee ve ark (2009), biber (*C. annuum* L.) anter gelişimi sırasında gen ekspresyon kalıplarını incelemek ve mikrospor embriyogenesiyle ilişkili genleri bulmak için; mRNA ekspresyon kalıpları, çiçek tomurcuğunun büyüklüğü, anter rengi ve mikrosporların sitolojik özelliklerine göre ayırt edilen dört gelişim aşamasını incelemiştir. Embriyo oluşumuna neden olan bilinmeyen gen(ler)in mikrospor-2 aşamasında, daha fazla yada daha az transkribe olduğunu, sıcaklık uygulamasına cevap vermede stres-ilişkili gen DEG-13'ün mikrospor embriyonesisi ile ilgili olabileceğini bildirmişlerdir.

Hao ve ark (2012) tarafından yapılan çalışmada, fertil bir hattın çiçek tomurcuklarında transkript türevli fragmentlerden (TDFs) birinin CaMF3 (erkek fertil 3) birikimini incelemişler, CaMF3'ün tahmin edilen proteini izoamil asetat-hidroliz esterazın (IAH1) protein familyasının üyeleri ile paylaşılan sekans benzerliğini paylaştığını bulmuşlardır. Ekspresyon analizi sonuçlarında CaMF3'ün spesifik olarak verimli hattın anterlerinde ifade edildiğinin ortaya çıkmasıyla, CaMF3'ün *C. annuum*'da anter veya polen gelişimi için gerekli olabilecek anter spesifik bir gen olduğunu düşünmüşlerdir.

Yan ve ark (2012) biberde embriyogenesi; donör bitki, mikrospor gelişim evresi, kültür ortamı, bitki büyüme düzenleyicileri, kültür ortamına ilave edilen maddeler ve sıcaklık stresi dahil olmak üzere çeşitli faktörlerin etkilediğini, mikrospor embriyogenesinde sitolojik çalışmaların rejenerantların ploidi seviyesi ve genom diploidizasyonu özetlediğini bildirmişlerdir. Mikrospor embriyogenesis başlangıcı ve embriyo oluşumu ile ilgili hücresel ve moleküler bilgi miktarında kayda değer bir artış olmasına rağmen, hala gametofitikten embriyojenliğe kadar olan değişimin ardındaki mekanizma hakkında çok az şey bilindiğine dikkat çekmişler, mikrospor embriyogenesinin gizemi tamamen ortaya çıktığı zaman biberdeki anter kültürü tekniğinin daha fazla alanda uygulanacağını vurgulamışlardır.

2.3. Biberde Yapılmış Bazı Kalıtım Çalışmaları

Stoplazmik kalıtımın keşfedilmesinden sonra, *C. annum* sitoplazmik kalıtımın görüldüğü ilk *Solanaceae* türü olmuştur (Erwin Baur ve Carl Correns, 1909; Hagemann, 2010'dan). Klasik genetik analiz, biberde oldukça sınırlı kalmıştır. Çoğunlukla meyve şekli ve meyve rengi gibi karakterlerin kalıtımı ile ilgilenilmiştir (Peterson, 1959; Hurtado-Hernandez ve Smith, 1985).

Hem *C. frutescens* hem de *C. annuum*'da meyve şeklinin, tek bir gen tarafından kontrol edildiği farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiş (Kaiser, 1935; Khambanonda, 1950; Peterson, 1959). Bununla birlikte, McArdle ve Bouwkamp (1983) ise bu özelliğin kantitatif bir poligenik kalıtım gösterdiğini tespit etmiştir.

Khambanonda (1950) tarafından yapılan çalışma ile bu analizlerde ihtiyaç duyulan ek bilgiyi sağlamak için F3 ve F4 nesilleri kullanılmıştır. Sonuç olarak, meyve uzunluğunun ve genişliğinin büyük ölçüde şekil ve ağırlık faktörlerinin ifadesi olduğu varsayımını kabul etmiştir. Meyve şekli için belirli genlerin var olduğunu, meyve uzunluk ve genişliği ile ilgili genlerin ise sadece küçük sapmalara neden olduklarını bildirmiştir. Çalışmasında, biber melezlerindeki gen sayısının yirmi ile otuz üç arasında olarak tahmin edildiğini ve F3 kuşaklarının kalıtım

derecesinin ise ortalama %64 olduğunu bulmuştur.

Kalıtım, ebeveynden döllere aktarılan fenotipik varyasyonun bir parçasıdır. Kalıtsal varyasyon ne kadar yüksekse, karakterleri seçim yaparak sabitleme olasılığı da artar. Bu nedenle, kalıtım çalışmaları belirli bir karakter için gözlemlenen varyasyonun genotip veya çevreye bağlı olup olmadığına karar vermede başlıca öneme sahiptir. Genetik ilerlemenin eşlik ettiği kalıtım tahmini, genellikle en iyi bireyleri seçmek için ortaya çıkan etkinin tahmininde tek başına kalıttan daha yararlıdır (Johnson ve ark, 1955).

Biberde verimle ilgili gen etkileri ve kalıtım çalışmalarında, Khalf-Allah ve ark (1975) tarafından eklemeli olmayan gen etkilerinin baskınlığı ile meyve verimini etkileyen eklemeli ve eklemeli olmayan gen etkileri bildirilmiştir. Daha sonra Sharma ve Saini (1977), on ebeveyn hat kullanarak bir diallel analizi gerçekleştirmişler ve SCA varyanslarının meyve veriminde yüksek olduğunu ve böylece bu karakter için eklemeli olmayan gen etkilerinin önemini gösterdiklerini ortaya çıkarmışlardır. Milkova (1977), Thakur (1987), Joshi (1990), Szwadrak ve Kardus (1991), Pandian ve Shanmugavelu (1992) ve Khereba ve ark (2008)'da benzer sonuçları elde etmişlerdir.

Hurtado-Hernandez ve Smith (1985), olgun meyve renginin *C. annuum* L.'da kalıtımını, üç bağımsız çift genin etkileşimi ile belirlemişlerdir. Kırmızı ve beyaz meyve melezinden F2 segregasyonunda, sekiz fenotip tespit edilmiştir. Melezlerde iki genin beyaz turuncu-sarıyla ve kırmızı limon-sarı ile etkileştiği ve limon-sarı ile turuncu-sarı melezin sadece bir tane olduğu görülmüştür. Kırmızı ve sarı meyveli biberler arasındaki tek gen kalıtımının daha önceki tüm raporlarının, limon-sarı ebeveyn materyalden ziyade turuncu-sarı kullanımının sonucu olduğu bildirilmiştir.

Gómez-Guillamón ve Cuartero (1987), bitki boyu, ana gövde uzunluğu ve ilk üç internod uzunluğu karakterlerinin kalıtımını, 8 adet ebeveyn hat ve 56 adet hibritin tam bir diallelini kullanarak, biber bitkilerinde incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, en önemli parametrenin eklemeli etki olduğu, ana gövde uzunluğu için

orta dereceli kalıtım ve ayrıca daha büyük bitki boyu ve daha uzun internodlara doğru zayıf bir kısmi dominans etkisi olduğu bulunmuştur.

Riberio ve Costa (1990), *C.chinense* Jacq.'de kapsaisin içeriğinin kalıtımını 157 (acı) x 261 (tatlı) ve 220 (orta acı) x 261 (tatlı) aksesyonları arasındaki iki melez ve bunların 6 temel generasyonunda (P1, P2, F1, F2, BC1, BC2) çalışmışlardır. Araştırmaları sonucunda, karakter üzerinde eklemeli gen etkisinin üstünlük gösterdiğini ve dar anlamda kalıtımın, özelliğin tanımında önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Ben-Chaim ve Paran (2000), bitki ve meyve gelişimi ile ilgili 10 kantitatif özelliğin kalıtımını, çan tipi "Maor" [*C. annuum* L. var. *annuum* (Grossum Group) 'Maor'] ile küçük meyveli çok yıllık acı hat [*C. annuum* var. *annuum* (Longum Group)] arasında yapılan tür içi melezlerde çalışmışlardır. Geniş ve dar anlamli kalıtım tahminleri, genetik varyans katsayıları ve genotipik korelasyonlar 120 F3 ailesinin segregasyonundan, 2 yıllık verilerle elde edilmiştir. Analiz edilen özelliklerin üçü; ilk meyve olgunlaşma günü, bitki boyu ve pedisel uzunluğu heterosis ve transgressif segregasyon sergilemiştir. İlk meyve olgunlaşma ve toplam çözünebilir kuru madde miktarı, düşük dar anlamda kalıtım derecelerine sahip olmuştur. Çalışılan diğer özelliklerin orta ile yüksek dar anlamli, kalıtım tahminleri bulunmuştur.

Blat ve ark (2006), *C. chinense* türünün *Capsicum* spp.'da külleme için en önemli dayanıklılık kaynaklarından biri olarak kabul edildiğini, bununla birlikte, bu türdeki kalıtımın bilinmediğini bildirmişler ve çalışmalarında kalıtımın belirlenmesi amacıyla iki dayanıklı ve iki orta hassas ebeveynin melezlenmesinden elde edilen üç farklı F1 ve bunların F2 kuşaklarını kullanmışlardır. Külleme reaksiyon değerlendirmeleri, 1 (dirençli) ile 5 (oldukça hassas) arasında değişen derecelendirme sistemi kullanılarak, meyve verme aşamasında gerçekleştirilmiştir. Sonrasında gen etkisi, kalıtım derecesi ve F3 kuşağında beklenen seleksiyon ilerlemesi genetik parametreleri tahmin edilmiştir. F2'deki transgresif segregasyon oligogenik kalıtım gösterirken; sonuçlar eklemeli, dominant ve epistatik gen

etkisinin varlığını göstermiştir. Kalıtım ve seçim ilerlemesi tahminleri sırasıyla 'Pimenta Doce' IH 1761 × 'Pimenta Cheiro' 1 için %35.5 ve %1.7, 'Pimenta Índio' × PI 152225 için %50.4 ile %3.5 ve 'Pimenta Doce' IH 1761 × PI 152225 melezi için %49 ve %2.7 olarak bulunmuştur.

Geleta ve Labuschagne (2006), biberdeki (*C. annuum* L.) C vitamini ve toplam çözünebilir kuru madde karakterlerinin kombinasyon yeteneği ve kalıtım derecesini değerlendirmek için, 21 tane F1 melezi ve yedi adet ebeveyn genotipi kullanmışlardır. Ebeveyn genotipler arasında, 'Mareko Shote' ve 'PBC 142A' ve 'PBC 142A, C vitamini ve toplam çözünebilir kuru madde için iyi genel birleştiriciler olarak öne çıkmış ve bu özelliklerin geliştirilmesi amacıyla biber ıslah programlarında olumlu genleri bir araya getirmek için kullanılabileceği bildirilmiştir. C vitamini için dar anlamda kalıtım tahmini nispeten yüksek (%54.8) olmuş, bu özellikler üzerinde çevrenin daha az belirgin bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Çözünebilir toplam kuru madde özelliğinin kalıtımı ise düşük (%15) bulunmuştur.

As-Claver ve ark (2007), kapsaisin ve dihidrokapsaisin içeriğinin meyvelerdeki kantitatif kalıtımını, ilkbahar ve yaz aylarında geliştirilen meyvelerde olmak üzere iki farklı koşulda, *C. annuum* L.'un tür içi melezlerinde incelemiştir. Kapsaisin ve dihidrokapsaisin içerikleri genotipler arasında değişmiş, bazı genotiplerde hiçbir artış görülmezken, diğerlerinde artış 2 kattan fazla olmuştur. Kapsaisin ve dihidrokapsaisin içeriğinin meyvelerde acılık özelliği için epistasis, üstün dominans veya dominans bütünlüğünün varlığına işaret ettiği bulunmuştur. Transgresif açılım meydana geldiği için, acı olmayan ebeveyn allelleri kapsaisin ve dihidrokapsaisin içeriğine katkıda bulunmuştur. Gen ifadesinin kapsaisin ve dihidrokapsaisin arasında değiştiği ve meyve gelişimi sırasında mevsimsel etkinin gen ifadesini etkileyebildiği bildirilmiştir.

Elgharhy ve Refaat (2008), kök-ur nematodu (*Meloidogyne incognita*) ırk 2'nin, 1) ISSR-PCR tekniğini kullanarak F1, F2 ve BC1 (dirençli çeşitler P1, P4, P5 ve P3'ün duyarlı yerel çeşit P7 ile melezlenmesinden elde edilen) bitkilerinde

dayanıklılığın kalıtımını ve taranmasını değerlendirmek 2) N genine bağlı moleküler markerleri tanımlamak (marker destekli seleksiyonu kolaylaştırmak ve N direnç genini izole etmek için) ve 3) üreme ve DNA manipülasyonu yoluyla, konukçu bitki genetik dayanıklılığının geliştirilmesi amacıyla yaptıkları çalışmada; kantitatif bir modelden daha çok tek gen modelinin uygun olduğunu, kök-ur nematoduna bitki reaksiyonu bakımından P1 x P7, P3 x P7, P4 x P7 ve P5 x P7 melezlerinin F1 kuşaklarında ve F2 kuşaklarında 3 dayanıklı:1 duyarlı oranında segregasyon gösterdiğini; F1 (P1 x P7), F1 (P3 x P7), F1 (P4 x P7) ve F1 (P5 X P7) ile Aswany arasındaki geri melezlerde 1 dayanıklı:1 duyarlı oranında segregasyon gösterdiğini bildirmişlerdir.

Stommel ve Griesbach (2008), farklı ebeveynlerden geliştirilen F, F2 ve geri melez nesiller kullanarak yaprak karakterleri, farklı meyve ve bitki habitusu özellikleri arasındaki kalıtım modelleri ve ilişkilerini açıklamıştır. Çalışma sonucunda, meyve rengi ve şekli ve bitki başına meyve için geniş anlamda kalıtım derecesi yüksek bulunurken, bu karakterler için dar anlamdaki kalıtım derecesi orta düzeyde tespit edilmiştir. Yaprak uzunluğu, yaprak genişliği ve yaprak rengi de dahil olmak üzere yaprak karakterleri için geniş anlamda kalıtım derecesi yüksek olmuş, düşük dar anlamda kalıtım sergileyen yaprak genişliği hariç yaprak karakterleri için dar anlamda kalıtım eklemeli gen hareketini göstermiştir. Bitki boyu yüksek geniş anlamda kalıtım göstermiş, segregasyon popülasyonların analizi kırmızı ve turuncu meyve renginin yeşilden siyaha kadar tüm olası yaprak renkleri ile birleştirilebileceğini göstermiştir.

Bnejdi ve ark (2009), ayrılan kuşaklar ortalaması analizi kullanarak iki biber melezinde *Phytophthora nicotianae*'nin iki izolatına dayanıklılık üzerine gen etkisini incelenmiştir. Eklemeli x eklemeli, dominans x dominans ve dominans x eklemeli etki çoğu durumda anlamlı bulunmuştur. Eklemeli ve dominans etkiler (negatif işaretin), hassaslara göre dayanıklılara daha fazla katkıda bulunmuştur. Eklemeli varyans, çevresel ve dominans varyanstan daha büyük olarak 0.038 ile 0.224 arasında hesaplanmıştır. Dar anlamdaki kalıtım, mezlere bağlı olarak, %86

ile 92 arasında değişmiştir. Araştırmacılar, patojenin daha agresif izolatları ile seleksiyonun, biberdeki direncin artırılmasında yararlı olacağını bildirmişlerdir.

Marame ve ark (2009), 12 ebeveynin kendilemeleri ile birlikte yetiştirilen 66 F1 melezinde on dört özellik için heterosis araştırması yapmışlardır. Meyve özellikleri için bitki başına meyve sayısı ($h^2b=88.3$ ve $h^2n=46.0$), olgunlaşma günleri ($h^2b=87.2$ ve $h^2n=23.1$) ve bitki başına kuru meyve verimi ($h^2b=72.6$ ve $h^2n=14.6$) gibi önemli meyve özelliklerinin geniş anlamda kalıtım derecesi (h^2b) ile dar anlamda kalıtım derecesi (h^2n) arasında %60'dan fazla aralık olmuştur. Olgunlaşma ve bitki başına kuru meyve verimi için, yüksek geniş anlamda kalıtıma karşı düşük dar anlamda kalıtımın, acı biberde heterosis kullanılarak erkenciliğin ve yüksek meyve veriminin elde edilebilmesi için bir işaret olabileceğini, genetik olarak çeşitlenen ebeveyn genotiplerin heterosisi maksimize edebileceğini bildirmişlerdir.

Rêgo ve ark (2011), 40 yerel katılım arasında morfolojik meyve kalite özellikleri ve verim bileşenlerine ait fenotipik çeşitliliği karakterize etmiş ve bu karakterler arasındaki korelasyonu ve bunların genetik değişkenliğe katkısını araştırmışlardır. Çalışmada, 14 morfolojik özellik açısından analiz edilen katılımlarda, geniş anlamda kalıtım ve fenotipik korelasyon hesaplanmıştır. Çoklu değişkenlik analizi ile fenotipik uzaklık ve nispi önemi hesaplanmıştır. Çalışma sonucunda, tüm özellikler için önemli farklılıklar gözlemlenmiştir ($P \geq 0.01$). Kalıtım derecesi aralığı, 83.2 ile 99.1 arasında değişmiştir.

Rêgo ve ark (2012) tarafından, altı tane biber türü diallel olarak melezlenmiş, çiçeklenme ve meyve tutumu için gün sayısı belirlenmiştir. Veriler, varyans analizi ve diallel analizine tabi tutulmuş, erkencilikten dominant genlerin sorumlu olduğu bulunmuştur. Çiçeklenmeye kadar geçen gün sayısının üstün dominans etkisi gösterdiği bildirilmiştir.

Lee ve ark (2012), *Phytophthora* kök çürüklüğünün kalıtımını CM334 (dayanıklı), üç Kore yerel çeşiti; 'Subicho', 'Daehwacho' ve 'Chilsungcho' (duyarlı ana ebeveynler) arasındaki melezlerden oluşturulan üç farklı F2 popülasyonu

kullanarak belirlemişlerdir. Inokulasyonda, üç farklı patojen yoğunluğu kullanılmıştır (1 x 10⁴, 1 x 10⁵ ve 1 x 10⁶ zoospor/ml). Tüm kalıtım analizleri sonucunda, *Phytophthora* kök çürüklüğüne dayanıklılıkta bilinen bir dominant dayanıklılık geninin pay aldığını, ek olarak yüksek inokulum yoğunluğunda (1 x 10⁶) majör genle birlikte, 9:7 (D:H) segregasyon oranına dayanan tamamlayıcı bir gen bulduklarını bildirmişlerdir.

Xue-Jun ve ark (2012) tarafından biberde yapılan başka bir QTL analizinde; meyve kütlesinin, uzunluğunun, çapının, şekil oranının ve et kalınlığının, kalıtımı %38-88 aralığında olan iki dominant gen tarafından kontrol edildiği saptanmıştır.

Bento ve ark (2013), *Capsicum baccatum*'daki biber sarı mozaik virüsüne (PepYMV) karşı dayanıklılığın kalıtımını, UENF 1616 (duyarlı) ve UENF 1732 (dayanıklı) biberlerin melezlenmesi ile araştırmışlardır. Hastalık; P1, P2, F1, F2, BC1P1 ve BC1P2 nesillerinin bitkilerine aşılanmış ve belirtiler 25 gün boyunca değerlendirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda epistatik etkilerin önemli olduğu, geniş ve dar anlamda kalıtım tahminlerinin ise sırasıyla %35.52 ve %21.79 olduğu bulunmuştur. Dayanıklılığı kontrol eden minimum gen sayısı 7 olarak tahmin edilmiş, bu da dayanıklılığın poligenik ve karmaşık olduğunu göstermiştir.

Pınar (2013), *C. annuum* L. (Alata 21A) x *C. frutescens* L. (PI 281420) melezine ait F2, BC1P1 ve BC1P2 populasyonlarını kullanarak biberde Zn noksanlığı simptomunu kontrol eden genlerin kalıtımını, F2:F3 popülasyonları ile de Zn etkinliğini belirleyen QTL'leri tespit etmiştir. Çalışma sonucunda, Zn noksanlığı simptomunun kalıtımında genetik varyansın 0.818, additive (eklemeli) varyansın 0.226, dominant varyansın 0.592, çevre varyansının 0.090 olduğunu, geniş anlamda kalıtım derecesinin (h^2b) 0.906 ve dar anlamda kalıtım derecesinin ise (h^2n) 0.249 olduğunu bildirmiştir. Dominant ve eklemeli gen etkisinin %72 ve %28 olduğunu, Zn noksanlığı simptomunu kontrol eden gen sayısının ise 1.514 gen olarak hesaplandığını bildirmiştir.

Manu ve ark (2014), *Fusarium solani*'nin neden olduğu *Fusarium*

solgunluğuna dayanıklılığın kalıtımını üç melez (SNK x P3, JAJPUT x P3 ve KA2 x P3) popülasyonda incelemişlerdir. *Fusarium* solgunluğuna karşı direncin kalıtımında, tek bir dominant gen koşullandırılmaktadır. Anter, polen, meyve rengi ve meyve yönünün kalıtımının, tamamlayıcı genler tarafından kontrol edilen stil rengi hariç, tek baskın gen tarafından kontrol edildiği tespit edilmiştir. Melezleme için altı parametre modeline dayanan gen etkileri ile birlikte ölçeklendirme testlerinin tahminleri, meyve boyu için ekelemeli ve dominans gen etkisinin varlığını, meyve ağırlığı için eklemeli gen etkisi olduğunu saptamış, ancak meyve çapı için gen etkisi bulunmamıştır.

Naegele ve ark (2014), CM334 ile 'Early Jalapeno'dan geliştirilen bir F6 popülasyonunu, meyve çürüklüğüne duyarlılık açısından değerlendirmişlerdir. Hatlar arasında, sürekli varyasyon ve kısmi ve izolat spesifik direnç tespit edilmiştir. İzolat spesifik dayanıklılık, değerlendirilen hatların 63'ünde ve iki ebeveynde bağımsız olarak haritalanmıştır. İnokülasyondan 3 ve 5 gün sonra (dpi), her izolat için dayanıklılığın kalıtımı yüksek bulunmuştur (sırasıyla $h^2=0.63$ ile 0.68 ve 0.74 ile 0.83). OP97, 13709 ve 12889 izolatlarına dayanıklılık için önemli eklemeli ve epistatik kantitatif özellik lokusları (QTL) tanımlanmıştır. Araştırmacılar, CM334'ten gelen kısmi meyve çürümesi dayanıklılığının, biberde meyve çürümesi dayanıklılığı için ideal bir kaynak olamayacağını öne sürmüşlerdir.

Santos ve ark (2014) tarafından, *C. annuum* L.'nin iki aksesyonu melezlenerek F1, F2, BC1 ve BC2 geri-melez kuşakları elde edilmiştir. Morfo-agronomik karakterizasyon *Capsicum*'un 19 kantitatif tanımlayıcısına dayanılarak yapılmıştır. Elde edilen veriler, generasyon analizine tabi tutularak ortalamalar ve eklemeli varyans, dominans sapmaya bağlı varyans, fenotipik varyans, genetik varyans ve çevresel varyans hesaplanmıştır. Meyve kuru madde miktarı karakteri, geniş anlamda kalıtım için en düşük değere sahip olmuş (0.42) ve en yüksek değerler sırasıyla yaş meyve ve meyve ağırlığında 0.91 ve 0.92 olarak bulunmuştur. Dar anlamda kalıtım için en düşük değer minör meyve çapı karakteri (0.33) olurken, en yüksek değerler sırasıyla 0.87 ile meyve başına tohum verimi ve

0.84 ile yaş meyve olarak tespit edilmiştir. Eklemeli-dominans model; sadece bitki boyu, kanopi genişliği, gövde uzunluğu, korolla çapı, yaprak genişliği ve pedikül uzunluğunda bulunan varyasyonu açıklamış, diğer karakterlerde epistatik etkiler anlamlı değerler göstermiştir.

Vilarinho ve ark (2015); perikarp şekli, renk, kalınlık ve toplam çözünebilir kuru madde ile ilgili meyve özelliklerinin kalıtımını değerlendirmişlerdir. Kalıtım hesaplamaları sonucunda, oluklu perikarp fenotipinin iki gen tarafından kontrol edilen resesif bir özellik olduğu, yuvarlak meyve şeklinin ise tek bir gen tarafından kontrol edildiği belirlenmiştir.

Bento ve ark (2016), *C. baccatum* var. *pendulum*'daki yedi agronomik özellik için genetik parametreleri tahmin ederek, agronomik özelliklerin kalıtımını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, değerlendirilen tüm özellikler için, kuşaklar arasında (P1, P2, F1, F2, BC1 ve BC2) anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Dar anlamda kalıtım tahminleri; NFP için %45'ten, FRD için %75'e kadar değişmiştir. Eklemeli-dominant model, tüm değerlendirilen özellikler açısından, elde edilen sonuçları açıklamak için yeterli bulunmuştur. Maksimum olasılık metodu; SSC, FPT ve FDM'de eklemeli ve baskın etkilere sahip olan poligenlerin varlığını tanımlamıştır. FRL ve NFP özellikleri için majör gen etkisi tespit edilmiştir. Sonuçlar, ilgili majör genin varlığı ile bu özelliklerin kalıtımının karmaşıklığını göstermiştir.

Gebhardt (2016)'ın bildirdiğine göre, Mendel kalıtımının keşfi üzerine, *C. annuum*'un meyve rengi, şekli ve aroması ile ilgili en erken çalışma, Herbert J. Webber tarafından Cornell Üniversitesi'nde yapılmıştır. Bulgularından biri, acı ve tatlı lezzetin, tatlı üzerinde baskın olan acılığın tek bir faktör olarak kalıtılmış olmasıdır. Yaklaşık 100 yıl sonra, biberdeki acılığı kontrol eden Pun1 geni, varsayılan açıltransferaz olarak tanımlamıştır ki, bu acı lezzete neden olan alkaloid kapsaisin biyosentezindeki son adımı katalize etmektedir.

Naegle ve ark (2016), olgun meyve fenotipik özellikleri, meyve özellikleri arasındaki korelasyon ve *Phytophthora* dayanıklılığı, genetik çeşitlilik, populasyon

yapısı ve geniş anlamda kalıtım özellikleri açısından bir dizi biber değerlendirilmiştir. Biber hatları arasında, tüm meyve fenotipi kategorilerinde önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Popülasyonda beş genetik küme tespit edilmiş ve meyve kalınlığı, uç şekli ve meyve şekli indeksi ile anlamlı düzeyde ilişkili bulunmuştur. Meyve özellikleri için geniş anlamda kalıtım 0.56 (omuz yüksekliği) ile 0.98 (perikarp kalınlığı) arasında değişmiştir.

Silva ve ark (2017) tarafından yapılan çalışmada, UENF 2285 (duyarlı) ve UENF 1381 (dayanıklı) arasındaki melezlerden, *C. annuum* var. *annuum*'daki bakteriyel leke dayanıklılığının genetik temeli araştırılmıştır. Değerlendirmeler, semptom tezahürüne bağlı olarak, 1.0 (dirençli) ile 5.0 (duyarlı) arasında değişen bir skorlama ölçeği kullanılarak yapılmıştır. Çalışma sonucunda, bakteriyel lekenin genetik kontrolünün kantitatif yönü üzerinde eklemeli gen etkisinin (6.06), dominant gen etkisinden (3.31) daha yüksek etkiye sahip olduğu, bakteriyel leke dayanıklılığını kontrol eden minimum gen sayısının beş olduğu bildirilmiştir.

Joshi ve Nabi (2018), DKC-12A ve DKC12 erkek kısır acı biber genotiplerini, fertil dolmalık biberlerle (California Wonder ve HC-201) melezleyerek, bazı büyüme ve verim karakterleri ile erkek kısırlığın kalıtımını incelemişlerdir. İncelenen karakterler; bitki boyu, dal sayısı, yaprak uzunluğu (cm), yaprak genişliği (cm), %50 çiçeklenme günü, meyve verme günü ve bitki başına meyve verimi (g) olarak belirlenmiştir. Varyans analizinde; yaprak uzunluğu, yaprak genişliği ve verim/bitki için çeşitli melezler arasında önemli farklılıklar görülmüştür. Çalışma sonucunda F1'ler, verim/bitki hariç ebeveyn hatlar arasında yer almış, F2'lerde genellikle kendileme depresyonu görülmüş, BC1 ve BC2 kuşaklarının beklentilere göre davrandığı bildirilmiştir. Ayrıca, erkek fertilitésinin sterilite üzerinde baskınlığı olduğu ve monogenik kalıtım gösterdiği bulunmuştur. Bitki boyunun kalıtımında, eklemeli gen etkisinin üstün olduğu daha önce yapılan çalışmalarda da (Sharma ve Saini, 1972; Singh ve Singh, 1976; Ahmed ve ark, 1982; Milkova, 1984; Khadi, 1986; Saritha ve ark, 2005) bildirildiğini, ayrıca bu karakter için hem eklemeli hem de eklemeli olmayan gen etkilerinin önemini

vurgulamışlardır. İlk boğumdaki dal sayısı özelliği açısından, epistatik etkilerin bir çok durumda önemli olduğu görülmüştür. Sonuçların, eklemeli ve eklemeli olmayan gen etkilerinin, eklemeli olmayan gen etkisinin üstünlüğü ile birlikte; Sahoo ve ark (1989) tarafindanda bildirildiği gibi, bu özelliği kontrol ettiğini ortaya koymuşlardır. Yaprak uzunluğu ve yaprak genişliği özelliklerinin kalıtımında eklemeli varyansın önemli bir rol oynadığı, Prasath ve Ponnuswami (2008)'nin de benzer şekilde yaptıkları çalışmada altı farklı genotip kullanarak melezleri değerlendirirken bu özellikler için eklemeli gen etkisinin baskın olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca, %50 çiçeklenme günü ve meyve verme günü özelliklerinde, dominans gen etkisinin önemli olmakla birlikte, eklemeli x eklemeli gen etkisinin de önemli olduğunu, Singh ve Singh (1976) ve Joshi ve Singh (1987) tarafından yapılan çalışmalarda bu özellik için hem eklemeli hem de eklemeli olmayan gen etkilerinin önemli olduğunu bulundğunu, Kamble ve ark (2009) tarafından ise, bu karakterin kalıtımı için eklemeli olmayan gen etkisinin baskın olduğunu raporlandığı vurgulanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu tez çalışmasında, Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü'nde yürütölmüş olan biber ıslah programlarında verim ve bazı özellikler bakımından ön plana çıkan *Capsicum annuum* türüne ait 253A nolu hat ve İnan3363 çeşidi ile *Capsicum chinense* türüne ait PI 159236 kodlu genotip ebeveynler olarak kullanılmıştır. Kullanılan bitkisel materyalin özellikleri aşağıda sunulmuştur:

253A (*Capsicum annuum*): Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü biber gen havuzundan seçilmiş bir saf hattır. Çarliston tipindedir (Şekil 3.1). Heterosis gücü yüksektir. Yapılan ön çalışmalarda haploidiye yüksek cevap verdiği belirlenmiştir.



Şekil 3.1. 253A nolu biber hattı meyvesinin görünümü

İnan3363 (*Capsicum annuum*): Yüksek sıcaklığa toleranslı olarak Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde seleksiyon yolu ile ıslah edilmiştir. Dolmalık biber tipindedir (Şekil 3.2.). Kurutularak toz biber yapımında kullanılmaktadır. Olgunluk öncesi meyve yeşil renklidir. Anter kültürü ile haploid bitki elde edilmesi çalışmalarında, androgenesise tepkisi bazı aylarda %60'ın üzerinde bulunmuştur (Ata, 2011).



Şekil 3.2. İnan3363 biber çeşidi meyvesinin görünümü

PI 159236 (*Capsicum chinense*): Asian Vegetable Research and Development Center (Asya Sebze Araştırma ve Geliştirme Merkezi) (AVRDC-Tayvan)'dan temin edilmiştir. Bitki yüksekliği, 45-120 cm arasında değişmektedir. Yaprakları yeşil, taç yaprak rengi beyazdır. Olgun meyve rengi kırmızı-kahverengidir. Meyve uzunluğu 6-8.5 cm arasındadır. Meyveleri dar üçgen şekilli ve kısa sivri-chili tiptedir (Şekil 3.3). *C. chinense*'nin domates lekeli solgunluk virüsüne (TSWV=Tomato Spotted Wilt Virus), antraknoza, kök ur nematodlarına ve potyviruslere dayanıklı oldukları bulunmuştur.



Şekil 3.3. PI 159236 biber genotipi meyvesinin görünümü

3.2. Metot

3.2.1. Ebeveyn Bitkilerin Yetiştirilmesi, Melezlemelerin Yapılması ve F1 Popülasyonlarının Oluşturulması

Materyal olarak kullanılan genotip, hat ve çeşide ait biberlerin tohumları 01.09.2014 tarihinde fide yetiştirmek amacıyla, fide yetiştirme serasında torf:perlit (2 h/1 h) karışımı harç içeren viyollere ekilmiş ve 07.10.2014 tarihinde fideler 6-7 gerçek yapraklı dönemde iken 40 x 100 cm aralıklarla plastik seraya her bir genotip ve çeşitten 5 bitki olacak şekilde dikilerek gerekli sulama, gübreleme ve bakım işlemleri yapılmıştır. Tam çiçeklenme aşamasında, sabah saat 8-10 arasında yani dişiçik tepesinin reseptif olduğu saatlerde, ana ebeveyn olarak kullanılan bitkinin çiçeklerindeki anterler izole edilmiştir. Tozlayıcı, yani baba ebeveyn olarak kullanılan bitkinin o gün açmış ancak henüz anterleri patlamamış çiçeklerinden alınan anterlerin içinden pens yardımıyla polenler çıkarılarak, ana ebeveyn olarak kullanılan bitkinin dişiçik tepesine zarar vermeden bulaştırılmıştır. Daha sonra, yabancı toz almayacak şekilde taç yapraklar kapatılmış ve etiketler üzerine melezleme bilgileri yazılarak çiçek sapına takılmıştır. Melezleme programı, aşağıda yer alan kombinasyonlar şeklinde yürütülmüştür.

253A (*C. annuum*) x PI 159236 (*C. chinense*)

İnan3363(*C. annuum*) x PI 159236 (*C. chinense*)

PI 159236 (*C. chinense*) x 253A (*C. annuum*)

PI 159236 (*C. chinense*) x İnan3363(*C. annuum*)

Türler arası melezlemeden kaynaklanacak embriyo aborsiyonunun önüne geçmek için tozlamadan sonraki 28-40. günlerde meyveler hasat edilerek *in vitro* koşullarda embriyo kurtarma yöntemi uygulanmıştır (Hossain ve ark, 2003; Yoon ve ark, 2006). Hasat edilen meyveler çeşme suyunda yıkandıktan sonra, birkaç dakika %70'lik etil alkolde (ETOH) bekletilmiştir. Daha sonra steril kabin içerisinde birkaç damla Tween-20 eklenmiş %15'lik ticari sodyum hipoklorit

(NaOCl) çözeltisi içerisinde 15 dakika süreyle dezenfekte edilmiştir. Dezenfeksiyon süresi bitiminde, en az üç kez steril saf su ile durulanmıştır. Otoklavda steril edilmiş pens ve bistüri yardımıyla meyveler içerisindeki tohumlar zedelemekten çıkarılarak tek tek açılmış, tohum içerisinde bulunan embriyolar besin ortamı üzerine ortama batırılmaksızın yerleştirilmiştir. Petrilerin ağzı streç film ile sarılarak kapatılmış, $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve 16/8 (aydınlık/karanlık) fotoperiyod koşullarına sahip büyüme odasında tutulmuşlardır. Embriyo gelişiminin sağlanması amacıyla kullanılan besin ortamı; 0.5 mg/l Gibberellic acid (GA_3), 0.05 mg/l Naphthaleneacetic acid (NAA), 15 mg/l silver nitrate (AgNO_3) ve 2.5 g aktif kömür eklenmiş MS (Murashige ve Skoog, 1962) besin ortamı olmuştur.

Embriyolardan gelişen bitkiler dış ortam koşullarına alıştırıldıktan sonra, her melez kombinasyonunda 20 bitki olacak şekilde 80 x 100 cm aralıklarla seraya dikilmiş ve gerekli sulama, gübreleme ve bakım işlemleri yapılmıştır.

Oluşturulan F2 popülasyonlarında transgressive açılımı temsil edecek şekilde bitkilerin seçilebilmesi için ebeveyn bitkilerde; UPOV kurallarınca belirlenmiş olan ve T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'na Türkçeye çevrilerek 12 Ekim 1998 tarih ve 23491 sayılı Resmi Gazete ile yürürlüğe giren "Bitki Özellik Belgeleri Hakkında Tebliği" (Anonymous, 1999) ve IPGRI (Anonymous, 1995) özellik belgeleri esas alınarak hazırlanan kriterler incelenmiştir. İncelenen kriterler Çizelge 3.1'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. İncelenen biber morfolojik özellikleri

1. Fide: Hipokotil rengi		28. Gövde rengi	
Beyaz	1	Yeşil	1
Yeşil	2	Yeşil üzeri mor çizgili	2
Mor	3	Mor	3
2. Fide: Kotiledon yaprak şekli		Diğeri	4
Üçgen	1	29. Bitki boğum seviyesinde antosiyanin oluşumu	
Yumurta şekli	2	Yok	1
Mızrak şekli	3	Var	9
Uzun üçgen	4	30. Bitki boğum seviyesinde antosiyanin oluşumu yoğunluğu	
3. Fide: Kotiledon yaprak genişliği (mm)		Çok az	1
4. Fide: Kotiledon yaprak uzunluğu (mm)		Az	3
5. Yaprak: Rengi		Orta	5
Sarı	1	Kuvvetli	7
Açık yeşil	2	Çok kuvvetli	9
Yeşil	3	31. Gövde şekli	
Koyu yeşil	4	Silindirik	1
Açık mor	5	Köşeli	2
Mor	6	Yassı	3
Renk renk	7	32. Gövde tüylülüğü	
Diğeri	8	Az	3
6. Yaprak: Şekli		Orta	5
Üçgen	1	Sık	7
Yumurta şekli	2	33. Gövde uzunluğu (cm)	
Mızrak şekli	3	34. Gövde çapı (mm)	
7. Yaprak: Kenarda damarlanma		35. Yaprak sıklığı	
Yok veya çok hafif	1	Az	3
Orta	2	Orta	5
Kuvvetli	3	Sık	7
8. Yaprak: Tüylülük		36. Çiçek pozisyonu	
Seyrek	3	Sarkık	3
Orta	5	Yatay	5
Sık	7	Dik	7
9. Yaprak indeksi: Yaprak uzunluğu (cm) /genişliği (cm)		37. Tohum rengi	
10. Çanak yaprak kenarı		Koyu sarı	1
Tam	1	Kahverengi	2
Orta	2	Siyah	3
Dişli	3	Diğeri	4
Diğeri	4	38. Tohum yüzeyi	

11. Çanak yaprak halkası boğazı	Pürüzsüz	1	
Yok	0	Pürüzlü	2
Var	1	Buruşuk	3
12. Meyve: şekli	39. Tohum hacmi		
Sivri	1	Küçük	3
Yuvarlak	2	Orta	5
Hafif basık	3	Büyük	7
Basık	4	40. Tohum uzunluğu (mm)	
Çok basık	5	41. Tohum çapı (mm)	
13. Çiçek sapına bağlanmada meyve şekli	42. 1000 tohum ağırlığı (g)		
Sap dar	1	43. Meyve uzunluğu (cm) (sap hariç)	
Tam	2	44. Meyve çapı (mm)	
Meyve geniş	3	45. Meyve ağırlığı (g)	
Meyve geniş ve hafif çukur	4	46. Meyve et kalınlığı (mm)	
Meyve geniş ve çukur	5	47. Meyve tutumu	
14. Meyve sap dibinde boyun	Az	3	
Yok	0	Orta	5
Var	1	Yüksek	7
15. Çiçek burnu sonunda meyve şekli	48. Bitki gelişim özelliği		
Sivri	1	Yatık	3
Küt	2	Orta	5
Hafif içeriye	3	Dik	7
İçeriye doğru ve tekrar çıkıntı	4	Diğeri	9
16. Çiçek burnu sonu ve uzantı	49. Kökten filizlenme		
Yok	0	Az	3
Var	1	Orta	5
17. Meyve: Enine şeklin kesiti (plasentanın seviyesinden)	Sık	7	
Oval	3	50. Çiçeklenme zamanı (gün)	
Az girintili	5	51. Koltuk başına çiçeklerin sayısı (adet)	
Girintili	7	52. Meyve tutum zamanı (gün)	
18. Taç yaprak rengi	53. Yeşil olumda meyve rengi		
Beyaz	1	Beyaz	1
Açık sarı	2	Sarı	2
Sarı	3	Yeşil	3
Sarı-yeşil	4	Portakal	4
Beyaz üzerine mor	5	Mor	5
Mor üzerine beyaz	6	Koyu mor	6
Beyaz kenarı mor	7	Diğeri	7
Mor	8	Koyu Yeşil	8
Diğeri	9	54. Meyve lokus sayısı (adet)	

19. Taç benek rengi		55. Meyve yüzeyi	
Beyaz	1	Pürüzsüz	1
Sarı	2	Yarı buruşuk	2
Yeşil-sarı	3	Buruşuk	3
Yeşil	4	56. Tohum evi uzunluğu (cm)	
Mor	5	57. Bitki yüksekliği (cm)	
Diğeri	6	58. Meyve sapı uzunluğu (cm)	
20. Taç yaprak şekli		59. Bitki boğum arası uzunluğu	
Tekerlek	1	Çok kısa	1
Çan	2	Kısa	3
Diğeri	3	Orta	5
21. Taç yaprak uzunluğu (mm)		Uzun	7
22. Anter rengi		Çok uzun	9
Beyaz	1	60. Yaprak sapı uzunluğu	
Sarı	2	Kısa	3
Açık mavi	3	Orta	5
Mavi	4	Uzun	7
Mor	5	61. Meyve olumunda renk yoğunluğu	
Diğeri	6	Az	3
23. Anter uzunluğu (mm)		Orta	5
24. Filament uzunluğu (mm)		Kuvvetli	7
25. Dişiçik tepesinin durumu		62. Meyve şekli (boyuna kesit)	
Dişiçik tepesi antere göre aşağıda 3		Basık	1
Dişiçik tepesi anterle aynı seviyede 5		Yuvarlak	2
Dişiçik tepesi antere göre yukarıda 7		Kalp şeklinde	3
26. Çanak yaprak renklenmesi		Kare	4
Yok	0	Dikdörtgen	5
Var	1	İkiz kenar yamuk	6
27. Filament rengi		Üçgen	7
Beyaz	1	Dar üçgen	8
Sarı	2	Boynuz şeklinde	9
Yeşil	3		
Mavi	4		
Açık mor	5		
Mor	6		
Diğeri	7		

Genotiplerin morfolojik özelliklere ait verilerin Temel Bileşenler Analizi (TBA=PCA), SAS (SAS version (8.02, SAS Institute, Cary, NC) bilgisayar paket programı ile yapılmış ve en çok farklılık gösteren 5-7 morfolojik özellik

belirlenmiştir.

3.2.2. F2 ve BC1F1 Popülasyonlarının Oluşturulması, F2 Bitkilerinde Morfolojik Karakterizasyon

Tam çiçeklenme aşamasına gelen F1 bitkilerinde kendilemeler yapılarak, F2 popülasyonları elde edilmiştir. Aynı zamanda ana ve baba ebeveynleri ile geriye melezlenerek BC1F1 popülasyonları oluşturulmuştur. Yapılan kendileme ve geri melez kombinasyonları Çizelge 3.2’de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Kendileme ve geri melezlemelerle oluşturulan F2 ve BC1F1 popülasyonları

F2	BC1F1
(253A x PI 159236) x (253A x PI 159236)	253A x (253A x PI 159236) PI 159236 x (253A x PI 159236)
(İnan3363 x PI 159236) x (İnan3363 x PI 159236)	İnan3363 x (İnan3363 x PI 159236) PI 159236 x (İnan3363 x PI 159236)

F2 ve BC1F1 tohumları 20.01.2016 tarihinde viyollere ekilmiş ve fideler 3-4 gerçek yapraklı aşamaya geldiğinde 29.02.2016 tarihinde seraya dikilmişlerdir. Ebeveyn bitkilerde TBA analizi ile belirlenen 5 morfolojik özelliğe göre, her F2 popülasyonlarından en az 100 adet bitki olacak şekilde bitkiler seçilmiştir. F2 popülasyonlarındaki seçilen biber bitkilerinin, morfolojik özelliklerinin değerlendirilmesi yapılmıştır. Morfolojik değerlendirmeler için Çizelge 3.1’de verilen biber morfolojik özellikleri incelenmiştir. Elde edilen biber genotiplerine ait morfolojik özelliklere ait akrabalık derecelerini gösteren ağaçlar, NTSYSpc 2.1 bilgisayar paket programı kullanılarak yapılmıştır.

3.2.3. F2 ve BC1F1 Popülasyonlarında Anter Kültürü Tekniğinin Uygulanması ve Haploidi Oranının Belirlenmesi

Nisan ve Mayıs aylarında ebeveyn, F1, F2 ve BC1F1 bitkilerinden anter kültürü tekniği ile haploid bitkiler elde edilmesi için androgenesis protokolü

uygulanmıştır.

3.2.3.1. Uygun Anterlerin Seçimi

Kültüre alınan anterlerden haploid embriyo elde edilmesi için en uygun aşama, mikrosporların tek çekirdekli aşamanın sonunda ve/veya iki çekirdekli aşamanın başında olduğu (1. mitoz bölünmesinin başladığı) dönemdir. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yapılan çalışmalarda bu aşamanın anter kültürü için en uygun aşama olduğu belirlenmiştir (Büyükalaca ve ark, 2004; Taşkın, 2005; Taşkın ve ark, 2011; Ata ve ark, 2018). Bu çalışmada da tomurcuklar, anılan aşamada alınmıştır.

3.2.3.2. Besin Ortamı

Anter kültürü için, 2 farklı bitki büyüme düzenleyici içeriğine sahip, MS besin ortamı kullanılmıştır (Büyükalaca ve ark, 2004 ve Taşkın, 2005). Ortam bileşenleri; MS ortamına eklenen 4 mg/l NAA, 0.5 mg/l BAP, %0.25 aktif kömür, 30 g/l sakkaroz, 15 mg/l AgNO₃ (Büyükalaca ve ark, 2004 ve Taşkın ve ark, 2011) olmuştur. Anterlerde oluşan embriyoların bitkiye dönüşümelerini sağlamak için bitki büyümeyi düzenleyici içermeyen, 30 g/l sakkaroz içeren MS besin ortamı kullanılmıştır.

Embriyo indüksiyon ortamı ve bitkiye dönüşüm ortamlarına bütün kimyasallar eklendikten sonra, besin ortamlarının pH'sı 1N'lik Hidroklorik asit (HCl) ve 1N'lik Potasyum hidroksit (KOH) kullanılarak 5.8 olarak ayarlanmıştır. Ortama katılaştırıcı olarak 8 g/l agar eklenmiş ve sonrasında otoklavda 121°C sıcaklık ve 1.2 kg/cm² basınç altında 15 dakika süre ile sterilizasyona tabi tutulmuştur. Steril besi ortamı steril kabin içerisinde 6 cm çapındaki steril petrilere (10 ml/petri) ve 15 cm uzunluğundaki steril deney tüplerine (10 ml/tüp) dağıtılmıştır.

3.2.3.3. Anterlerin Çıkarılması ve Ekilmesi

Steril kabin içerisinde uygun gelişme döneminde anterlere sahip çiçek tomurcukları, içerisine birkaç damla Tween-20 eklenmiş %15'lik ticari sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisinde 15 dakika süreyle dezenfeksiyon için bekletilmiş ve daha sonra en az üç kez steril saf su ile durulanmıştır. Çiçek tomurcukları içerisinden anterler, zarar verilmeden otaklavda steril edilmiş pens ve bistüri yardımıyla çıkarılmış ve besin ortamı üzerine dorsal kısmı ortama temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. Her petriye bir tomurcuktan çıkan 5 adet anter yerleştirilmiştir. Her uygulama grubunda 5 tekerrür ve her tekerrürde de 20 anter olacak şekilde dikimler gerçekleştirilmiştir. Petri kutularının kenarları streç film ile kapatılarak, 48 saat süresince 35°C karanlık koşullarda inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübatörden çıkarılan petriler 25±1°C sıcaklık, 16/8 saat (aydınlık/karanlık) fotoperyot koşullarına sahip büyütme odasına alınmıştır. Anterlerde oluşan embriyolar bitkiye dönüşmeleri ve gelişmeleri için, torpedo aşamasında iken bitki büyümeyi düzenleyici içermeyen, 30 g/l sakkaroz içeren MS ortamına transfer edilmiştir. Haploidi oranının belirlenmesinde; kültüre alınan anter sayısı, anter başına embriyo sayısı ve embriyolardan oluşan bitki sayısı kullanılmıştır.

3.2.4. Androgenise Yanıt Verme Oranının Kalıtımının Belirlenmesi

Haploid oluşumunu kontrol eden minimum gen sayısı (k) Wright (1968)'a göre, aşağıda sunulan formül yardımı ile tahmin edilmiştir;

$$k=(P1-P2)^2 / 8(s^2F_2-V_E)$$

Bu formülde;

P1 ve P2: iki ebeveynin ortalama değerleri,

s²F₂: F₂ popülasyonuna ait varyasyon,

V_E: çevresel varyans

(V_E genetik olarak üniform olan P1, P2, ve F1 bitkilerinin varyansının ortalaması alınarak bulunmuştur)

Geniş (h^2b) ve dar (h^2n) anlamda kalıtım dereceleri ise Allard (1960) tarafından belirtildiği gibi aşağıda sunulan denklemler yardımıyla hesaplanmıştır;

$$h^2b = (V_A + V_D) / V_{F2}$$

$$h^2n = V_A / V_{F2}$$

$$V_A \text{ (eklemeli gen varyansı)} = 2 (V_{F2}) - V_{BC1P1} - V_{BC1P2}$$

$$V_D \text{ (dominans gen varyansı)} = V_{BC1P1} + V_{BC1P2} - V_{F2} - V_E$$

$$V_E \text{ (çevresel varyans)} = (P1 + P2 + F1) / 3$$

$$V_P \text{ (fenotipik varyans)} = V_{F2} \text{ (F}_2 \text{ popülasyonundaki toplam varyans)}$$

$$V_G \text{ (genetik varyans)} = V_{F2} - V_E$$



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Ebeveyn Bitkilerin Yetiştirilmesi, Melezlemelerin Yapılması ve F1 Popülasyonlarının Oluşturulması

Çalışmada Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü gen havuzunda yer alan *Capsicum annuum* türüne ait 253A saf hattı ve İnan3363 çeşidi ana ebeveyn olarak, *Capsicum chinense* türüne ait PI 159236 nolu genotip baba ebeveyn olarak kullanılarak, bitkilerin tam çiçeklenme döneminde planlanan melezleme kombinasyonlarına uygun olarak melezlemeler yapılmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Melezleme işlemleri (a: emaskülasyon öncesi tozlanacak çiçek, b: tozlayıcı olarak kullanılacak çiçek, c: emaskülasyon, d: emaskülasyon uygulanan çiçek, e: tozlayıcı çiçekten anterin alınması, f: anter içerisinden polenlerin alınması, g: tozlama, h: tozlama sonrası çiçeğin izolasyonu, ı: tozlama sonrası etiketlenen çiçek)

Biber, erselik çiçek yapısına sahiptir. Genelde çanak yaprakları yeşil, taç yaprakları krem-beyaz renktedir ve 5-7 antere sahiptir. Sabah saat 8-10 arası dışıcık tepesinin reseptif olduğu saatlerde ana olarak kullanılan bitkinin anterleri izole edilmiş ve baba olarak kullanılan bitkinin anterlerinden polenler bir pens yardımı ile alınarak, ana olarak kullanılan bitkinin dışıcık tepesi üzerine bulaştırılmıştır. Dışarıdan her hangi bir yabancı toz girişi olmaması için taç yapraklar kapatılmış ve melezlenen tomurcuklar etiketlenmiştir. Melezleme kombinasyonları;

253A (*C. annuum*) x PI 159236 (*C. chinense*)

İnan3363 (*C. annuum*) x PI 159236 (*C. chinense*)

PI 159236 (*C. chinense*) x 253A (*C. annuum*)

PI 159236 (*C. chinense*) x İnan3363 (*C. annuum*) şeklindedir.

4.1.1. Embriyo Kurtarma

Capsicum türleri arasındaki melezlemelerde yaygın olarak görülen embriyo aborsiyonu, döllenme öncesi ve döllenme sonrasında var olan bariyerlerin etkisi sonucunda gerçekleşmektedir (Pickersgill, 1992). Endosperm gelişimi döllenmeden sonra normalden çok daha yavaş gerçekleşir ve bu da embriyo gelişimini geciktirir ve embriyonik kese yaklaşık iki hafta kadar sonra çöker (Pickersgill, 1997). Çalışmada, bitkilerde çiçeklenme dönemi boyunca melezlemeler yapılmış ve melezlemeden itibaren 28-40. günler arasında oluşacak embriyo aborsiyonunun önüne geçmek için, embriyo kurtarma işlemi gerçekleştirilmiştir. Serada yetiştirilen her kombinasyonda 30 bitki olacak şekilde embriyo kurtarma tekniği uygulanmıştır (Hossain ve ark, 2003; Yoon ve ark, 2006). Embriyolardan gelişen bitkilerin aklimatizasyonu sağlanarak, sera koşullarına alınmıştır (Şekil 4.2.). Melez kombinasyonlarında; açılan meyve sayıları, tohum sayıları, kurtarılan embriyo sayıları ve bitkiye dönüşüm oranları Çizelge 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.2. Embriyo kurtarma işlemleri ve gelişen bitkilerin dış koşullara alıştırılması (a-b: hasat edilen meyveler, c-d: açılan tohumlar, e-f: embriyolardan gelişen bitkiler, g: viyole şaşırtılan bitkiler, h-ı: saksılara şaşırtılan bitkiler, j: embriyolardan gelişen bitkilerin seradaki görünümü)

Çizelge 4.1. Melezleme kombinasyonlarında açılan meyve sayısı, tohum sayısı, kurtarılan embriyo sayısı, % canlılık oranı ve yaşayan bitki sayıları

MK	AMS	TS	KES	% Canlılık	YBS
253A × PI 159236	10	915	607	66	35
İnan3363 × PI 159236	8	1095	895	82	55
PI 159236 × 253A	10	558	195	34	58
PI 159236 × İnan3363	10	714	94	13	42

MK: Melezleme kombinasyonları, AMS: Açılan meyve sayısı, TS: Tohum sayısı, KES: Kurtarılan embriyo sayısı, YBS: Yaşayan bitki sayısı

Yapılan melezlemeler sonucunda açılan meyvelerden kurtarılan embriyo sayıları, melezleme kombinasyonlarında farklılık göstermiştir. İnan3363'ün ana ebeveyn, PI 159236'nın ise baba ebeveyn olarak kullanıldığı melezlemelerden kurtarılan embriyo sayısının % canlılık oranı en yüksek olurken (%82), PI 159236'nın ana ebeveyn ve İnan3363'ün baba ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonda % canlılık oranı en düşük olarak gerçekleşmiştir (%13). Aynı durum, 253A ve PI 159236 melezlerinde de söz konusu olmuştur. 253A ana ebeveyn olarak kullanıldığında % canlılık oranı yüksek olurken (%66), PI 159236 ana ebeveyn olarak kullanıldığında daha düşük olmuştur (%34).

İki farklı *C. annuum*'un PI 159236 (*C. chinense*) ile melezlenmesiyle elde edilen kombinasyonlarda *C. annuum*'un ana ebeveyn olarak kullanıldığı melezlerde canlılık oranının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara paralel olarak, Casali (1970) *C. chinense* ana ebeveyn *C. annuum* baba ebeveyn olarak kullanıldığında tohumlarda çimlenme oranının %0-6.6 ve *C. annuum* ana *C. chinense* baba ebeveyn olarak kullanıldığında ise %0-47 arasında değiştiğini bildirmiştir.

Bu çalışmada türler arası yapılan melezlemelerde, her kombinasyonda meyve elde edilmiş ve bu meyvelerdeki tohumlardan kurtarılan embriyolarda farklı oranlarda canlılık gözlenmiştir. Benzer şekilde, Saccardo ve Ramulu (1977), *C. chinense* ve *C. annuum* melezlerinin %70-76 oranında meyve verdiğini ve

meyvelerde 7-14 arasında canlı tohum oluştuğunu, Souza (1987), *C. annuum* ve *C. chinense* melezlemesinde tohum canlılığının hibrit bitkilerde %2-96, ebeveynlerde %73-97 arasında, hibritlerde çimlenme oranının ise %0-97 arasında değiştiğini bildirmiştir. Costa ve ark (2009), yirmi bir farklı *C. chinense* genotipi ve bir *C. annuum* çeşidi arasında melezlemeler yaparak, türler arası hibritlerin tohum canlılığı ve çimlenmesini değerlendirmişlerdir. Tüm melez kombinasyonlarından meyve elde edildiğini, meyve oranlarının %8.9 ile %40.0 arasında ve tohum çimlenmesinin kombinasyonlara göre %0 ile %87.5 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. *C. chinense* ve *C. annuum*'un melezlenmesi sonrasında meyve ve canlı tohum oluşumunun gerçekleştiğini ve bu sonuçların Pickersgill (1993) ile Campos ve ark (2006) tarafından gözlemlenen sonuçlardan farklı olduğunu bildirmiştir. Sunulan çalışmada da Costa ve ark (2009) ile benzer sonuçlar elde edilmiş, *C. chinense* ve *C. annuum* arasında yapılan melezlemelerden, resiprokal melezlere göre daha az sayıda da olsa meyve ve tohum elde edilmiştir.

Kültür türlerinin yabani akrabaları faydalı karakterleri içermesine rağmen, türler arası hibritlerin elde edilmesi zordur ve fertilite sınırlıdır. Hibritlerin ve daha sonraki aşamalarda ticari olarak kabul edilebilir fertil rekombinantların geliştirilmesinde, çift yönlü zorluklar bulunabilmektedir. Pickersgill (1997)'e göre türler arası *Capsicum* melezlerinde embriyo aborsiyonu ortak bir özelliktir.

İki gen kompleksi arasındaki melezlemelerde en sık görülen fertilizasyon engellerinden biri meyvelerde anormal tohumların oluşumudur ve bu tohumların boyutları ebeveynlerden farklı ve koyu renklidir. Bu şekildeki tohumlar, dejenerasyon ve embriyo ölümüne işaret etmektedir. Çoğu melezlemede boş veya dejenerasyona uğramış tohumlar, muhtemelen endosperm dejenerasyonu ve sonrasındaki embriyo ölümünü kapsayan fertilizasyon sonrası bariyerler olduğunu düşündürmektedir (Rodrangboon ve ark, 2002; Jansky, 2006). Melez kombinasyonundan elde edilen meyvelerde kurtarılan embriyo sayısının ve % canlılık oranının düşük olması, bu iki tür arasındaki melezlemelerde döllenme sonrası bariyerlerin etkin olduğunu göstermektedir.

Tek yönlü uyuşmazlık *Solanaceae*'nin diğer türlerinde olduğu gibi *Capsicum*'da da vardır. Tek yönlü uyuşmaz melezlerde fertilizasyon, melezleme yapıldığında tek yönlü başarılı olur. Ancak resiprokal melezlerde, polen tüpü stil içerisinde inhibe olduğu için başarısız olur (Pickersgill, 1992). Çizelge 4.1. incelendiğinde, *C. annuum* türüne ait hat ve çeşidin ana olarak kullanıldığı kombinasyonlarda tohum içerisindeki embriyoların canlılık oranının resiprokal melezlerden elde edilenlere göre yüksek olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, resiprokal melezlerde de embriyolar oluşmuş ve bunlar kültüre alınarak belli oranda bitkiye dönüşümleri sağlanmıştır. Bu durum, bu ebeveynlerle yapılan resiprokal melezlerde tek yönlü uyuşmazlıktan daha çok, *C. chinense*'den kaynaklanan döllenme sonrası bariyerlerin daha etkin olduğunu göstermektedir.

Türler arası melezlerde meydana gelen döllenme sonrası engeller arasında, bir melez zayıflığı veya nekrozundan söz edilebilir. Bu anomali, patojenlerin ve viral hastalıkların saldırısı gibi çevresel strese tepki ile ilişkili olanlara benzeyen bir dizi fenotipik özellik ile tanımlanmaktadır (Bomblies ve Weigel, 2007). Martins ve ark (2015) bu ekspresyon türünü, *C. frutescens* x *C. baccatum* kombinasyonunun hibritlerinde fide ve yetişkin aşamalarında gözlemlemişler, gelişmeyen bazı fidelerin genç yaşta öldüğünü ve gelişenlerin bodur kaldıklarını ve deforme kotiledonlara sahip olduklarını, bitkilerin çiçek üretmediğini ve dolayısıyla meyve elde edilemediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada benzer durum, *C. chinense* x *C. annuum* kombinasyonlarının hibritlerinde fide aşamasında ölümler ve yaşayanlarda ise bodur gelişme ile birlikte yaprak, çiçek ve meyvelerinin deforme olması şeklinde gözlemlenmiştir. (Şekil 4.3). Bu bitkiler açık tozlamaya bırakıldığı halde, meyvelerinin hiç birinde tohum oluşmamıştır.



Şekil 4.3. *C. chinense* x *C. annuum* melez kombinasyonlarında post-zigotik bariyerlerden olan hibrit nekrozunun etkileri sonucu gelişen, ancak deformasyona uğramış bitkiler (a: kotiledon yapraklar, b: 4-5 gerçek yapraklı aşamadaki fide, c: bitki büyüme noktası, d: çiçek yada meyve vermeyen bitki, e-f: deforme çiçek ve meyveler)

Aklimatizasyonu sağlanan bitkiler, her melez kombinasyonunda 20 bitki olacak şekilde seraya dikilmiştir. Gerekli bakım işlemleri (sulama, budama, çapalama, gübreleme, ilaçlama) yetiştiricilik sezonu boyunca düzenli olarak yapılmıştır.

F2 generasyonunda transgressif açılımı temsil edecek şekilde bitkilerin seçilebilmesi için her ebeveynden 20 bitkide; UPOV kurallarınca belirlenmiş olan ve T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'nca Türkçeye çevrilerek 12 Ekim 1998 tarih ve 23491 sayılı Resmi Gazete ile yürürlüğe giren "Bitki Özellik Belgeleri Hakkında Tebliği" (Anonymous, 1999) ve IPGRI (Anonymous, 1995) özellik belgeleri esas alınarak hazırlanan kriterler (Çizelge 3.1) incelenmiştir. Genotiplerde incelenen morfolojik özelliklere ait bazı görüntüler Şekil 4.4, Şekil 4.5. ve Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.4. 253A nolu biber hattında incelenen morfolojik özelliklere ait bazı görüntüler (a: yaprak şekli, b: çiçek ve tomurcuk şekli, c: taç yapraklar ve anter şekli, d: meyve şekli, e: meyve boyuna kesit şekli, f: meyve enine kesit şekli, g-h: tohum şekli)

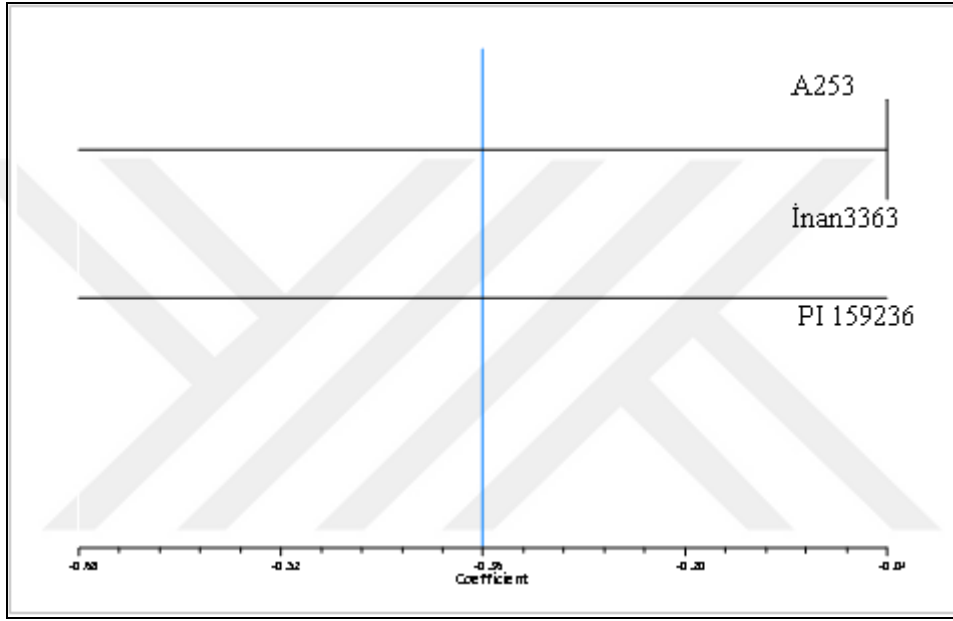


Şekil 4.5. İnan3363 biber çeşidinde incelenen morfolojik özelliklere ait bazı görüntüler (a: yaprak şekli, b: çiçek ve tomurcuk şekli, c: taç yapraklar ve anter şekli, d: meyve şekli, e: meyve boyuna kesit şekli, f: meyve enine kesit şekli, g-h: tohum şekli)



Şekil 4.6. PI 159236 biber genotipinde incelenen morfolojik özelliklere ait bazı görüntüler (a: yaprak şekli, b: çiçek ve tomurcuk şekli, c: taç yapraklar ve anter şekli, d: meyve şekli, e: meyve boyuna kesit şekli, f: meyve boyuna ve enine kesit şekli, g-h: tohum şekli)

Genotiplere ait morfolojik karakterizasyon verilerinin istatistiksel analizleri, NTSYS-pc programı ile yapılmıştır. Çalışmada kullanılan genotiplere ait morfolojik veriler, 62 özellik yönünden istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve genotiplerin oluşturduğu dendogram Şekil 4.7’de sunulmuştur.



Şekil 4.7. Morfolojik verilere göre korelasyon matrisi kullanılarak elde edilen genotiplere ait dendogram

Dendogram incelendiğinde, beklenildiği üzere genotiplerden *C. annuum* türü içerisinde yer alan İnan3363 ve 253A’nın aynı grupta, *C. chinense* türüne ait PI 159236 genotipinin ise bunlardan ayrı bir grupta yer aldığı görülmektedir.

Genotiplerin morfolojik özelliklerine ait verilerinin Temel Bileşenler Analizi (TBA=PCA) SAS (SAS version (8.02, SAS Institute, Cary, NC) bilgisayar paket programı ile yapılmıştır. Morfolojik özelliklere ait Temel Bileşen Değerleri Çizelge 4. 2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Genotiplerin morfolojik özelliklerine ait temel bileşen değerleri (Eigen vektör)

Değişkenler	TB1	TB2	TB3
Hipokotil rengi	0.19	-0.04	-0.04
Kotiledon yaprak şekli	0,19	-0.04	-0.04
Kotiledon yaprak genişliği (mm)	-0.04	0.08	-0.27
Kotiledon yaprak uzunluğu (mm)	0.04	0.08	0.47
Yaprak rengi	-0.19	0.04	0.04
Yaprak şekli	0.12	0,20	0.00
Yaprak kenarında damarlanma	0.12	0.20	0.00
Yaprakta tüylülük	0.19	-0.04	-0.04
Yaprak indeksi	0.13	-0,09	0.30
Çanak yaprak kenarı	0.07	-0.24	-0.04
Çanak yaprak halkası boğazı	0.00	0.00	0.00
Meyve şekli	-0.12	-0.20	0.00
Çiçek sapına bağlanmada meyve şekli	-0.12	-0.20	0.00
Meyve sap dibinde boyun	0.12	0.20	0.00
Çiçek burnu sonunda meyve şekli	-0.12	-0.20	0.00
Çiçek burnu sonu ve uzantı	0.00	0.00	0.00
Meyve enine kesit şekli	-0.12	-0.20	0.00
Taç yaprak rengi	0.19	-0.04	-0.04
Taç benek rengi	0.19	-0.04	-0.04
Taç yaprak şekli	0.00	0.00	0.00
Taç yaprak uzunluğu (mm)	-0.18	0.03	-0.01
Anter rengi	-0.19	0.04	0.04
Anter uzunluğu (mm)	0.02	-0.03	0.61
Filament uzunluğu (mm)	0.09	-0.18	0.12
Dişiçik tepesinin durumu	0.07	-0.24	-0.04
Çanak yaprak renklenmesi	0.00	0.00	0.00
Filament rengi	0.19	-0.04	-0.04
Gövde rengi	0.00	0.00	0.00
Bitki boğum seviyesinde antosiyanin oluşumu	-0.19	0.04	0.04
Bitki boğum seviyesinde antosiyanin oluşum yoğunluğu	-0.19	0.04	0.04
Gövde şekli	0.00	0.00	0.00
Gövde tüylülüğü	0.19	-0.04	-0.04
Gövde uzunluğu (cm)	-0.13	0.12	-0.15
Gövde çapı (mm)	-0.09	0.17	-0.17
Yaprak sıklığı	0.19	-0.04	-0,04
Çiçek pozisyonu	0.19	-0.04	-0,04

Tohum rengi	0.00	0.00	0.00
Tohum yüzeyi	0.19	-0.04	-0.04
Tohum hacmi	-0.19	0.04	0.04
Tohum uzunluğu (mm)	-0.12	-0.03	0.02
Tohum çapı (mm)	-0.09	-0.06	-0.02
1000 tohum ağırlığı (g)	-0.10	0.22	0.04
Meyve uzunluğu (cm) (sap hariç)	-0.03	0.23	0.11
Meyve çapı (mm)	-0.15	-0.12	-0.02
Meyve ağırlığı (g)	-0.17	-0.01	0.11
Meyve et kalınlığı (mm)	-0.16	0.07	-0.04
Meyve tutumu	0.12	0.20	0.00
Bitki gelişim özelliği	0.00	0.00	0.00
Kökten filizlenme	0.00	0.00	0.00
Çiçeklenme zamanı (gün)	0.12	0.20	0.00
Koltuk başına çiçeklerin sayısı (adet)	0.07	-0.24	-0.04
Meyve tutum zamanı (gün)	0.12	0.20	0.00
Yeşilolunda meyve rengi	0.00	0.00	0.00
Lokus sayısı (adet)	0.11	-0.21	-0.04
Meyve yüzeyi	0.19	-0.04	-0.04
Tohum evi uzunluğu (cm)	0.05	0.19	0.27
Bitki yüksekliği (cm)	-0.13	0.13	-0.18
Meyve sapı uzunluğu (cm)	-0.14	0.11	-0.07
Bitki boğum arası uzunluğu	0.00	0.00	0.00
Yaprak sapı uzunluğu	0.00	0.00	0.00
Meyve olumunda renk yoğunluğu	-0.12	-0.20	0.00
Meyve şekli (boyuna kesit)	0.15	0.16	-0.02
Eigen değeri	27.68	15.04	1.81
Proportion	0.55	0.30	0.04

Çizelge 4.2’de ilk üç temel bileşen değerleri görülmektedir. TB1 bakımından özelliklerin genotipleri ayırmada etkili olmadığı, TB2 ve TB3’de ise kotiledon yaprak genişliği, kotiledon yaprak uzunluğu, yaprak indeksi, anter uzunluğu, dışiçik tepesinin durumu, 1000 tohum ağırlığı, meyve uzunluğu (sap hariç), koltuk başına çiçeklerin sayısı, lokus sayısı, tohum evi uzunluğu özelliklerinin etkisinin, diğer özelliklerden daha yüksek olduğu görülmektedir. Temel Bileşen Analizi sonucunda F2 generasyonunda, transgressif açılımı temsil edecek şekilde bitki seçiminde kullanılacak 7 özellik bunlar arasından seçilerek

Çizelge 4.3’de sunulmuştur.

Çizelge 4.3. Temel bileşenler analizi sonucu belirlenen morfolojik özellikler ve ilk üç temel bileşenine ait değerler

Özellikler	TB1	TB2	TB3
Anter uzunluğu (mm)	0.02	-0.03	0.61
Kotiledon yaprak uzunluğu (mm)	0.04	0,08	0.47
Yaprak indeksi	0.13	-0.09	0.30
Kotiledon yaprak genişliği (mm)	-0.04	0.08	-0.27
Tohum evi uzunluğu (cm)	0.05	0.19	0.27
Koltuk başına çiçeklerin sayısı (adet)	0.07	-0.24	-0.04
Meyve uzunluğu (cm) (sap hariç)	-0.03	0.23	0.11

4.2. F2 ve GM1F1 Popülasyonlarının Oluşturulması, F2 Bitkilerinde Morfolojik Karakterizasyon

253A × *C. chinense* ve İnan3363 × *C. chinense* melezlemelerinden elde edilen F1 bitkileri, tam çiçeklenme aşamasına geldiğinde kendilemeler yapılarak F2 popülasyonları elde edilmiş, aynı zamanda ana ve baba ebeveynleri ile geri melezlenerek GM1F1 popülasyonları oluşturulmuştur. F2 popülasyonlarını elde etmek üzere bitkiler tüllerle izole edilmiş ve kendi tozlarıyla tozlanmaları sağlanmıştır. Geri melez popülasyonlarının oluşturulması için ise el ile tozlama yapılmıştır. Kendileme ve melezlemeler sonucunda elde edilen F2 ve GM1F1 tohumları, viyollere ekilerek fideler 3-4 gerçek yapraklı aşamaya geldiklerinde seraya dikilmişlerdir. Çizelge 4.4’de yapılan melezleme, elde edilen meyve, elde edilen tohum sayıları ve bitki sayıları verilmiştir.

Çizelge 4.4. F2 ve geri melez popülasyonlarının oluşturulması için yapılan melezlemeler, elde edilen meyve ve tohum sayıları ve yaşayan bitki sayıları

Melezleme ve kendileme kombinasyonları	M.S.	E.E.M.S	E.E.T.S.	Y.B.S.
(253A × PI 159236) F2	Serbest kendileme	480	295	270
253A × (253A × PI 159236) GM1P1	108	40	137	81
PI 159236 × (253A × PI 159236) GM1P2	136	60	90	80
(İnan3363 × PI 159236) F2	Serbest kendileme	241	357	245
İnan3363 × (İnan3363 × PI 159236) GM1P1	30	21	275	209
PI 159236 × (İnan3363 × PI 159236) GM1P2	41	35	108	100

MS: Yapılan melezleme sayısı, E.E.M.S: Elde edilen meyve sayısı, E.E.T.S: Elde edilen tohum sayısı, Y.B.S: Yaşayan bitki sayısı

Çizelge 4.4 incelendiğinde, 253A × PI 159236 F1 bitkilerinden serbest kendileme yoluyla elde edilen meyve sayısının (480), İnan3363 × PI 159236 F1 bitkilerinden elde edilen meyve sayısından (241) daha fazla olmasına rağmen, bu meyvelerden elde edilen tohum sayıları 253A × PI 159236 hibritlerinde (295), İnan3363 × PI 159236 hibritlerinden daha az olmuştur. Yine aynı şekilde 253A × PI 159236 hibritinin her iki ebeveynle oluşturulan GM1F1 meyvelerinden elde edilen tohum sayıları (GM1P1: 137 ve GM1P2: 90), İnan3363 × PI 159236 hibritinin GM1F1 meyvelerinden elde edilen tohum sayılarından (GM1P1: 275 ve GM1P2: 108) daha az olmuştur. Bu durumda melezlemeler ve kendilemelerde döllenme öncesi ya da döllenme sonrası bariyerlerin 253A genotipinde, İnan3363 çeşidinden daha güçlü çalıştığı söylenebilir. Costa ve ark (2009), *C. annuum* ve *C. chinense* arasında türler arası melezlemenin mümkün olduğunu ve sonuçta kullanılan genotipe göre değişen oranlarda canlı tohumlar ve meyveler elde edebileceğini bildirmişlerdir. Elde edilen bulgular, bu literatürü desteklemektedir.

Her iki *C. annuum* ana ebeveyn olarak kullanıldığında, GM1

meyvelerinden elde edilen tohum sayıları (253A ve İnan3363 GM1'lerinde sırasıyla 137 ve 275), *C. chinense* ana ebeveyn olarak kullanıldığında elde edilen tohum sayılarından (253A ve İnan3363 GM2'lerinde sırasıyla 90 ve 108) daha fazla olmuştur. Buradan yine *C. chinense*'de bulunan yabancı genlerin etkisiyle, ana olarak kullanıldığında izolasyon bariyerlerinin daha etkin olmasına neden olabileceği sonucu çıkarılabilir. Aniel Kumar ve ark (1987) *C. annuum* ve *C. chinense* arasında yaptıkları türler arası melezlerden elde edilen F1 hibritinin sitolojik analizinde, *C. annuum* genomunun *C. chinense*'den iki translokasyon ve bazı küçük yapısal değişiklikler ile ayrıldığını tespit etmişlerdir. Hibrit cansızlığı, zayıflık ve hibrit parçalanması gibi izolasyon engellerinin, bu türlerde etkili olduğunu bildirilmiştir. Greenleaf (1986), *C. annuum*, *C. frutescens* ve *C. chinense*'nin katılımları arasındaki türler arası hibritlerin fertilitésinin ve gen dengesizliğinden kaynaklanan hibrid sterilliliğin bu türler arasında büyük bir üreme izolasyon mekanizması olduğunu ortaya koyduğunu bildirmiştir. Bazı türler arası *Capsicum* hibritlerinin kromozomal kısırılık göstermesine rağmen, genetik kısırılığın gamet aborsiyonunun ana sebebi olarak görüldüğünü belirtmiştir.

Ebeveynlere göre melezlerde gözlemlenen tohum sayısının daha az olması, muhtemelen daha düşük bir tohum verimine katkıda bulunan, türler arası melezlerin cansız polenlerinden kaynaklanmaktadır. Bu özellik ile ilgili sağlıklı türler arası melezlerin elde edilmesinin çok zor olduğunun bilinmesinin önemi, çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Rêgo ve ark, 2009; Costa ve ark, 2016). *C. chinense* ana ebeveyn olarak kullanıldığında, genomik farklılıkla birlikte sitoplazmik etkiler de düşünüldüğünde, bu sonuçların elde edilmiş olması kaçınılmazdır ve literatürleri desteklemektedir. Her iki popülasyonda oluşturulan F2 ve GM1F1 kuşakları meyvelerine ait görüntüler, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da sunulmuştur.



Şekil 4.8. 253A ve PI 159236 melezlerinden elde edilen F2 ve GM1F1 (a: 253A × *C. chinense* (F2), b: 253A × (253A × *C. chinense*), c: *C. chinense* × (253A × *C. chinense*))



Şekil 4.9. İnan3363 ve PI 159236 Melezlerinden elde edilen F2 ve GM1F1 meyveleri (a: İnan3363 $\times$ *C. chinense* (F2), b: İnan3363 $\times$ (İnan3363 $\times$ *C. chinense*), c: *C. chinense* $\times$ (İnan3363 $\times$ *C. chinense*))

Ebeveyn bitkilerde yapılan TBA sonuçlarına göre tespit edilmiş morfolojik özellikler referansı ile her bir F2 popülasyonundan transgressif açılımı temsil edecek şekilde 253A × PI 159236 F2 popülasyonunda 110 bitki ve İnan3363 × PI 159236 F2 popülasyonunda ise 150 bitki seçilmiştir. F2 popülasyonlarındaki biber bitkilerinin morfolojik özelliklerinin değerlendirilmesi amacıyla, tanımlama listesinde yer alan 62 morfolojik karakter için ölçüm ve gözlemler yapılarak, elde edilen verilerin Kümeleme Analizi ve morfolojik özelliklere ait akrabalık derecelerini gösteren ağaçlar NTSYS-PC 2,1 bilgisayar paket programı kullanılarak yapılmıştır. Karakterizasyon çalışmalarında Çizelge 3.1’de yer alan 37, 38, 39, 40, 41 ve 42 nolu tohumla ilgili özellikler, ebeveyn bitkilerde yapılan Temel Bileşen Analizinde (TBA) ilk üç bileşene göre ayırt edici olmadığından ve F2 bitkilerinin sağlıklı ölçüm ya da gözlem alacak tohum sayısına ulaşamaması nedeniyle, bu veriler istatistiksel analizlerde kullanılmamıştır. Bu doğrultuda 54 morfolojik kritere göre ölçüm ve gözlemler alınarak, analizler yapılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda Şekil 4.10’da 253A × PI 159236 (*C. chinense*) F2 popülasyonundaki biber bitkilerine ait dendogram incelendiğinde, 2 ana gruptan oluştuğu görülmektedir. Genel olarak birinci ana grubun 4 yan gruba, ikinci ana grubun 4 yan gruba ayrıldığı tespit edilmiştir. Bu F2 popülasyonunda, toplam bitki sayısı 110 adettir. Korelasyon matrisine göre kümelemede SAHN’da UPGMA katsayısı kullanılarak çizilen bu dendogramın katsayı ortalaması 0.48 olmuş, bu ortalama göre dört gruptan oluşmuştur. Benzerlik indeksinin dendogramı temsil ettiği değer $r=0.99$ ’dur. İlk üç eigen değerine göre kümülatif varyans 87.7 olmuştur (Çizelge 4.5).

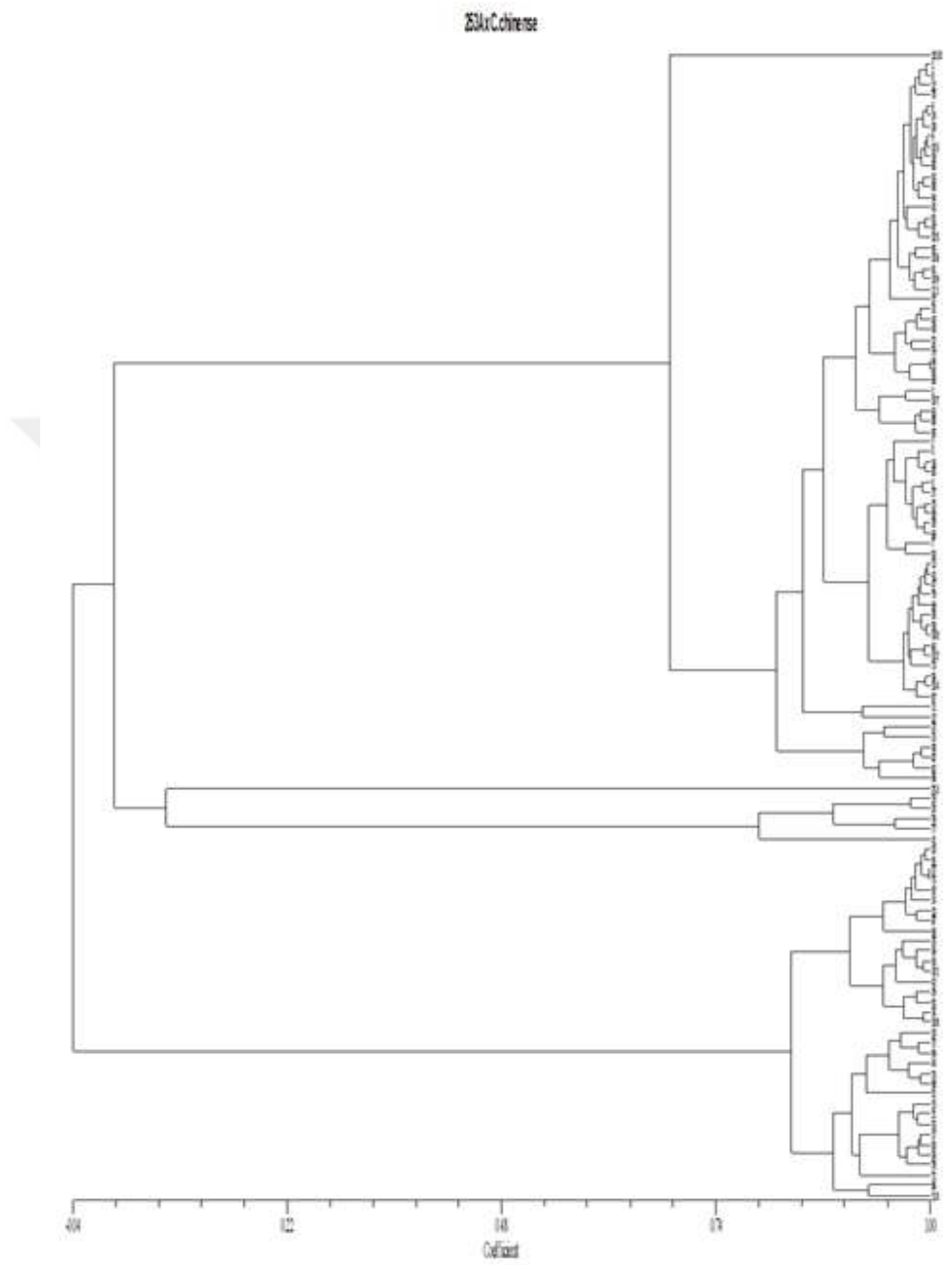
Çizelge 4.5. 253A × PI 159236 F2 popülasyonunda korelasyon matrisi ilk üç eigen değeri

	Eigen değeri	Varyans (%)	Kümülatif varyans (%)
1	63.90	56.55	56.55
2	30.62	27.10	83.66
3	4.56	4.04	87.70

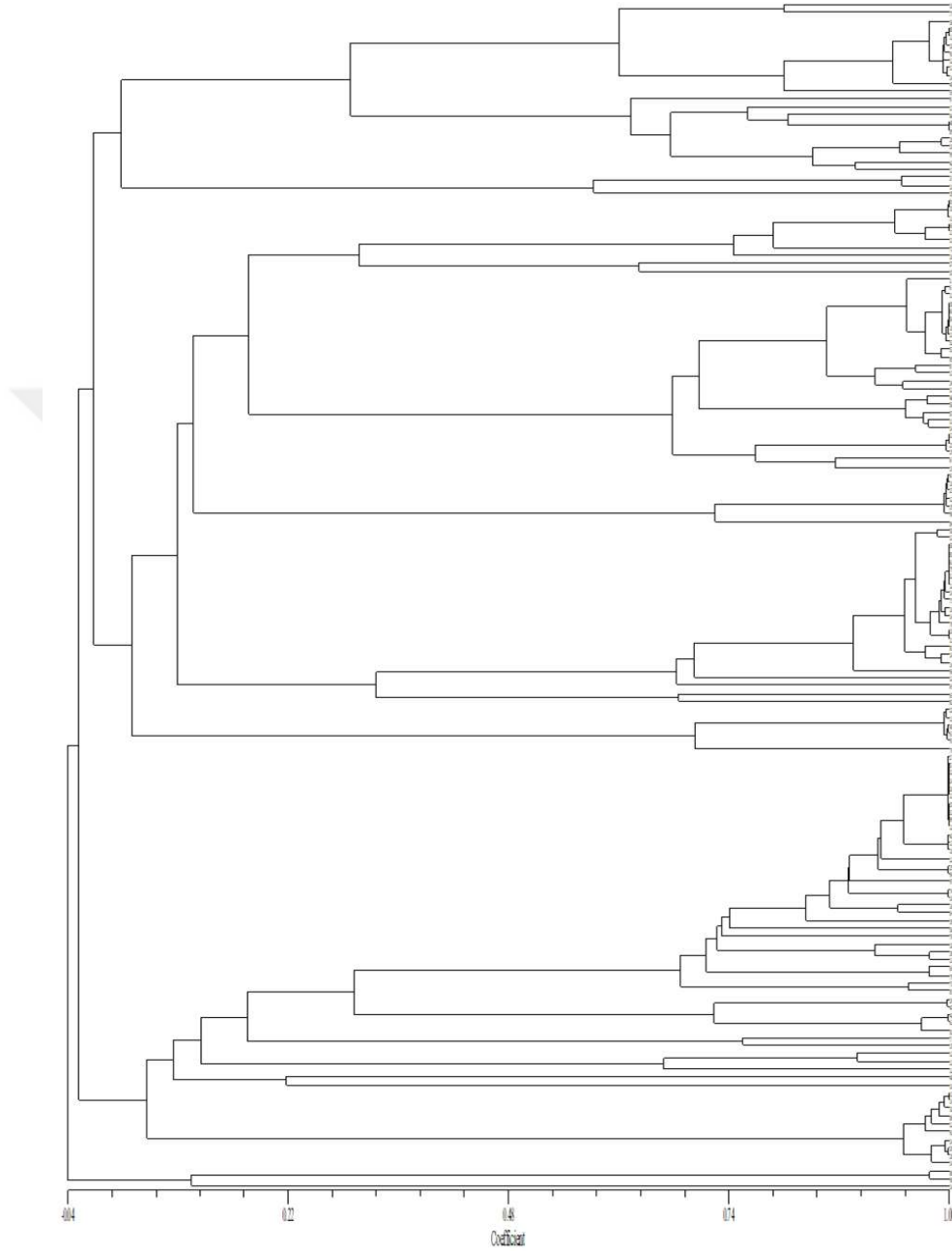
Şekil 4.11'deki İnan3363 × PI 159236 (*C. chinense*) F2 popülasyonundaki biber bitkilerine ait dendogram incelendiğinde, toplam 150 biber bitkisinden oluştuğu görülmektedir. Benzerliği korelasyon matrisine göre kümeleme de SAHN'da UPGMA katsayısı kullanılarak çizilen bu dendogramın katsayı ortalaması (benzerlik ortalaması) 0.48 olup, dendogram genel olarak incelendiği zaman 2 ana gruptan oluştuğu görülmektedir. Birinci ana grubun 2 yan gruba, ikinci ana grubun ise 6 yan gruba ayrıldığı saptanmıştır. Benzerlik indeksinin dendogramı temsil ettiği değer $r=0.89$ 'dur. İlk üç eigen değerine göre kümülatif varyans 56.46 olmuştur (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. İnan3363 × PI 159236 F2 popülasyonunda korelasyon matrisi ilk üç eigen değeri

	Eigen değeri	Varyans (%)	Kümülatif varyans (%)
1	29.79	19.60	19.60
2	23.71	15.60	35.20
3	18.46	12.14	56.46



Şekil 4.10. Korelasyon matrisi kullanılarak UPGMA'ya göre elde edilmiş 253A × PI 159236 (*C. chinense*) F2 popülasyonundaki biber bitkilerine ait dendrogram



Şekil 4.11. Korelasyon matrisi kullanılarak UPGMA'ya göre elde edilmiş İnan3363 × PI 159236 (*C. chinense*) F2 popülasyonundaki biber bitkilerine ait dendrogram

Çalışmada F2 popülasyonlarında yapılan morfolojik karakterizasyon sonuçlarına göre elde edilen dendogramlarda ebevyenler farklı gruplarda yer alırken, her iki ebeveynin yer aldığı gruplar dışında ayrı bir grup olduğu görülmektedir. Bu bulgulara göre, popülasyonların transgressif açılımı temsil edecek şekilde segrege olduğu görülmektedir.

Bitki ıslahının başarısında önemli yeri olan genetik varyasyonlar, kültüre almayı takiben yine modern bitki ıslahıyla azaltılmaya devam edilmiştir (Tanksley ve McCouch, 1997). Türler arası melezlemelerin genetik çeşitliliği ve heterosisi arttırdığı bilinmektedir. Bu amaçla yürütülen çalışmada, türler arası melezlemelerden kaynaklanacak genetik varyasyon hesaplanmıştır. Genotipler arasında genetik çeşitliliğin ortaya konmasında günümüzde modern moleküler yöntemler tercih edilirken, agro-morfolojik karakterizasyon, tanımlanmanın temelini ve ilk basamağını oluşturmaktadır (Smith ve Smith, 1989). *Capsicum* türlerinin genetik çeşitliliği, agronomik, morfolojik ve moleküler özellikler dahil olmak üzere bir bütün halinde değerlendirilebilir (Costa ve ark, 2016). Moleküler belirleyiciler tarafından katılımlar arasındaki genetik sapmayı tahmin etmedeki doğruluğa rağmen, morfolojik ve agronomik tanımlayıcılar tarafından verilen fenotip bilgisi hala önemlidir. Morfolojik verilerin toplanması, kantitatif ve moleküler verilerin toplanmasına kıyasla pratik ve ekonomiktir (Sudré ve ark, 2010).

Çeşitlerin bitki ve meyve özelliklerinin birbirleri ile karşılaştırılmasında, kümeleme analizi yaygın olarak kullanılmakta ve bu veriler ile oluşturulan dendogramlar ile incelenen özellik açısından çeşitlerin hangi gruba girdikleri belirlenebilmektedir (Panayotov ve ark, 2000). Çalışmada toplam 54 morfolojik özellik değerlendirilmiş ve bu özellikler yönünden oluşturulan F2 popülasyonlarındaki genetik varyasyon 253A × PI 159236 melezlerinden oluşturulan F2 popülasyonunda %58, İnan3363 × PI 159236 melezlerinden oluşturulan F2 popülasyonunda ise %87 olarak bulunmuştur. Keleş (2007), *C. annuum* türünde 562 biber genotipinin morfolojik olarak karakterizasyonunu

yapmış, analizler sonucunda oluşturulan dendogramları değerlendirerek 96 adet genotip içeren bir koleksiyon oluşturmuştur. Temel Bileşenler Analizinde (TBA) 53 morfolojik özellik açısından ilk 3 Eigen değeri sonucu toplam varyans %30 olarak bulunmuştur. Çalışma sonuçları bu çalışma ile karşılaştırıldığında, türler arası melezlemenin *C. annuum* içerisinde var olan genetik varyasyonu artırdığı görülmektedir. Olszewska ve ark (2011), türler arası melezler sonucunda elde edilen F1 melezlerini (*C. annuum* × *C. frutescens*, *C. frutescens* × *C. annuum*, *C. frutescens* × *C. chinense* ve *C. chinense* × *C. frutescens*) biyometrik olarak analiz etmişlerdir. Test edilen hibritlerde değerlendirilen karakterlerin, büyük farklılaşmalar oluşturduğu tespit edilmiştir. Melezlerden elde edilen hibritleri gelecekte yapılacak biber ıslah çalışmaları için, en değerli materyal olarak nitelendirmişlerdir. Ayrıca, bu materyallerin biberin genetik iyileşmesinde, değerli özellikleri barındıran homozigot hatların ebeveyn formları olarak kullanılacağını bildirmişlerdir.

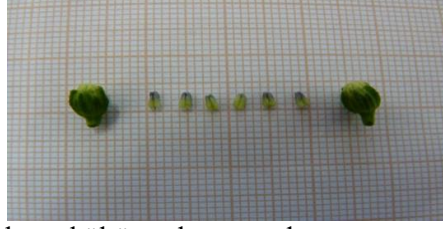
Ürün geliştirme büyük ölçüde genetik çeşitliliğin varlığına, var olan genetik varyasyonun derecesine ve gelişme derecesi de kullanılabilir faydalı genetik değişkenliğin büyüklüğüne bağlıdır (Uma Jyothi ve ark, 2011). Türler arası melezlemeler, farklı türler arasında genlerin transferini mümkün kılar ve genetik açıdan üstün genotipler geliştirmesine olanak sağlar (Bosland ve Votava, 1999). Kültürü yapılan *Capsicum* türlerinin karakterizasyonu ve değerlendirilmesi, gen bankaları için özellikle ilgi çekicidir. Çünkü henüz tam olarak bilinmeyen ve kullanılmayan geniş bir varyasyon, bu türler içinde mevcuttur (İnce ve ark, 2009). Moleküler belirleyiciler tarafından katılımlar arasındaki genetik sapmayı tahmin etmedeki doğruluğa rağmen, morfolojik ve moleküler tanımlayıcılar tarafından verilen fenotip bilgisi hala önemlidir. Bazı araştırmalar; *Capsicum* katılımları arasında morfolojik, agronomik ve moleküler veriler arasındaki ilişkinin *Capsicum* genetik segregasyonun tahmininde en uygun yaklaşım olduğu (Costa ve ark, 2009; Moura ve ark, 2010) veya kalitatif ve kantitatif verilerin ortak analizinin daha fazla verimlilik ile sonuçlandığı sonucuna varmıştır. Sudré ve ark (2010), sadece

morfolojik tanımlayıcıların *Capsicum* türleri ile botanik çeşitleri arasında etkin bir şekilde ayırım yapabildiğini gözlemlemişlerdir. Çalışmada morfolojik verilerle yapılan tanımlamalar ile popülasyonlardaki ayırımın gerçekleşmiş olması bu literatürleri desteklemektedir.

4.3. F2 ve GM1F1 Popülasyonlarında Anter Kültürü Tekniğinin Uygulanması, Androgenesis Özelliğinin Kalıtımının Belirlenmesi ve Özelliği Kontrol Eden Gen Sayısının Hesaplanması

4.3.1. Anter Kültürü Tekniğinin Uygulanması ve Adrogenesise Yanıt Verme Oranlarının Belirlenmesi

Ebeveynler, F1, F2 ve GM1F1 popülasyonunda bulunan bitkilere 25.04.2016 tarihinden itibaren, anter kültürü tekniği uygulanmaya başlanmış ve 10.06.2016 tarihinde sonlandırılmıştır. Kültür öncesi ve süresi boyunca tüm bitkiler, aynı sera koşullarında yetiştirilmiş ve aynı kültürel işlemler uygulanmıştır. Anter kültürü tekniğinin uygulanmasında, uygun gelişme aşamasındaki anterlerin alınması kritik faktörlerdendir. Daha önce yapılan çalışmalarda, morfolojik olarak biber çiçek tomurcuklarının çanak ve taç yaprak boylarının eşit olduğu veya taç yaprakların çanak yapraklardan biraz daha uzun olduğu, anterlerin yaklaşık yarı boyuna kadar antosiyanin oluşumunun görüldüğü gelişme aşamasında mikrosporların I. mitoz aşamasında olduğu bildirilmiştir (Chambonnet, 1988). Bu çalışmada da söz konusu çalışma referans alınarak tomurcuklar Şekil 4.12’de görülen aşamada kültüre alınmışlardır.



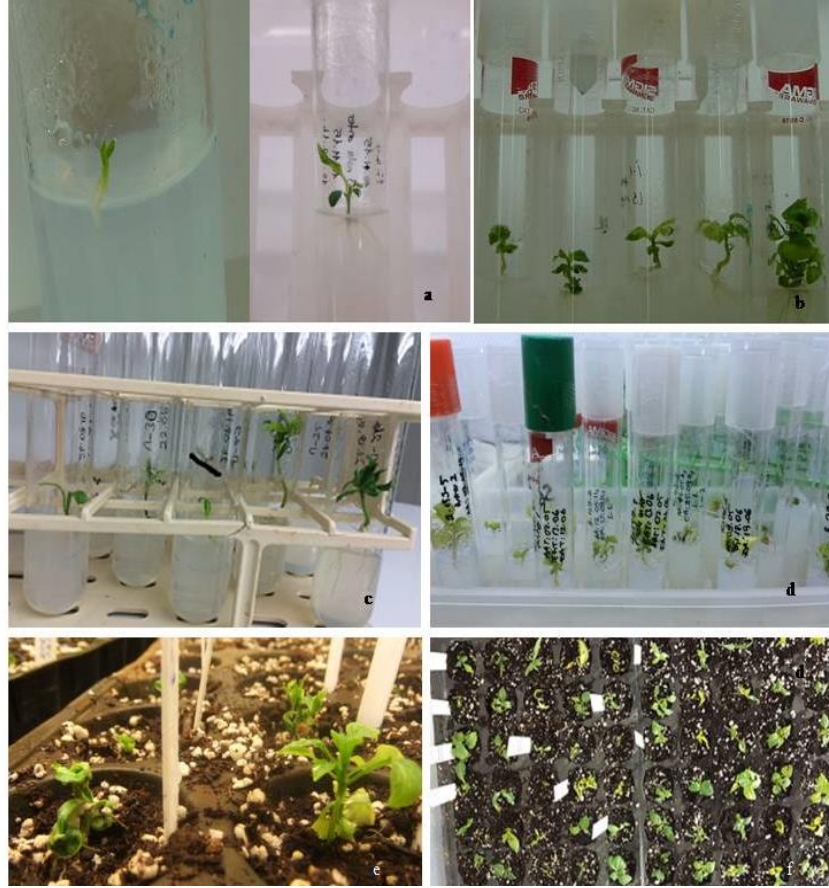
Şekil 4.12. Tomurcukların kültüre alınmasında uygun aşama için referans alınan görünüm

Her petriye, bir tomurcuktan çıkan 5 adet anter yerleştirilmiştir. Her uygulama grubunda 5 tekerrür ve her tekerrürde de 20 anter olacak şekilde dikimler gerçekleştirilmiştir. Petri kutularının kenarları streç film ile kapatılarak 48 saat süresince 35°C karanlık koşullarda inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübatörden çıkarılan petriler 25±1°C sıcaklık, 16/8 saat (aydınlık/karanlık) fotoperyot koşullarına sahip büyütme odasına alınmıştır. Anterlerde oluşan embriyolar bitkiye dönüşmeleri ve gelişmeleri için, torpedo aşamasında iken bitki büyümeyi düzenleyici içermeyen, 30 g/l sakkaroz içeren MS ortamına transfer edilmişlerdir. Anter kültürü tekniği uygulama çalışmaları ile ilgili görüntüler Şekil 4.13’de sunulmuştur.

Kültüre alındıktan yaklaşık 8 hafta sonra, ilk embriyolar görülmeye başlanmıştır. Petrilerde gelişen embriyolar, büyümeyi düzenleyeci içermeyen MS ortamı eklenmiş tüplere aktarılmıştır. Tüplerde gelişen bitkilerin aklimatizasyonu sağlanarak, dış koşullara aktarılmıştır (Şekil 4.14). Embriyoların oluşumu yaklaşık altı ay süre ile devam etmiş ve bu süre içerisinde oluşan embriyolar bitki büyümeyi düzenleyici içermeyen ortama alınmıştır. Ortamlar periyodik aralıklarla yenilenerek, embriyo indüksiyonunun devamı sağlanmıştır.



Şekil 4.13. Anter kültürü tekniğinin uygulanması ve elde edilen embriyolar (a: anterler kültüründe kullanılacak sterilizasyonu yapılmış çiçek tomurcukları, b: anterlerin kültüre alınması, c: petriye dikilen anterler, d-i: anterlerden gelişen embriyolar)



Şekil 4.14. Embriyolardan gelişen bitkilerin aklimatizasyonu (a-b: embriyolardan gelişen bitkiler, c-d: tüpteki bitkilerden görünüm, e-f: viyollere şaşırtılan bitkiler)

253A ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan popülasyonlarda ebeveynler, F1 hibritler, F2, GM1P1 ve GM1P2 popülasyonlarından elde edilen embriyo sayısı ve embriyo oranları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. 253Ave PI 159236 ile oluşturulan popülasyonlarda anter kültürü tekniği uygulamalarında kültüre alınan anter sayısı, embriyo oluşturan anter sayısı, embriyo sayısı ve embriyo oranları

	Kültüre alınan anter sayısı (adet)	Embriyo oluşturan anter sayısı (adet)	Embriyo sayısı (adet)	Embriyo oranı (%)
253A	150	57	58	38.66
PI 159236	150	1	1	0.66
F1	6000	13	16	0.26
F2	12045	292	607	5.03
GM1P1	5660	309	515	9.09
GM1P2	3130	52	91	2.90

253A ve PI 159236'dan ebeveyn olarak 150 adet anter, kültüre alınmıştır. 253A'da kültüre alınan anterlerden 57 tanesinde embriyo indüksiyonu gerçekleşmiş ve toplam 58 adet embriyo oluşmuştur. Anterlerden oluşan embriyo oranı %38.66 olmuştur. PI 159236'da yine 150 anter kültüre alınmış, sadece 1 anterden 1 adet embriyo elde edilmiş ve anterden embriyo elde etme oranı %0.66 olarak gerçekleşmiştir. 253A ve PI 159236'nın melezlenmesi ile elde edilen F1 popülasyonundan toplam 6000 adet anter kültüre alınmış, sadece 13 anterden 16 adet embriyo elde edilmiş ve anterlerden oluşan embriyo oranı %0.26 olmuştur. Yine bu ebeveynlerden oluşturulan F2 popülasyonunda, toplamda 12045 adet anter kültüre alınmış, 292 anterden 607 adet embriyo elde edilmiş ve embriyo oluşturma oranı 5.03 olmuştur. 253A ana ebeveyn olarak kullanıldığında, GM1 popülasyonunda kültüre alınan 5660 adet anterden 309 adet anter embriyo oluşturmuş, elde edilen embriyo sayısı 515 adet ve embriyo oranı ise %9.09 olmuştur. PI 159236 ana ebeveyn olarak kullanıldığında oluşturulan GM1 popülasyonunda ise 3130 adet anter kültüre alınmış ve bunlardan yalnızca 52 tanesi embriyo oluşturmuştur. Bu popülasyonda elde edilen embriyo sayısı 91 adet ve embriyo oluşturma oranı ise %2.9 olmuştur.

İnan3363 ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan popülasyonlarda ebeveynler, F1 hibritler, F2, GM1P1 ve GM1P2 bitkilerden elde edilen embriyo

sayısı ve embriyo oranları Çizelge 4.8’de sunulmuştur.

Çizelge 4.8. İnan3363 ve PI 159236 ile oluşturulan popülasyonlarda anter kültürü tekniği uygulamalarında kültüre alınan anter sayısı, embriyo oluşturan anter sayısı, embriyo sayısı ve embriyo oranları

	Kültüre alınan anter sayısı (adet)	Embriyo oluşturan anter sayısı (adet)	Embriyo sayısı (adet)	Embriyo oranı (%)
İnan3363	150	37	72	48
PI 159236	150	1	1	0.66
F1	5000	10	12	0.24
F2	13695	564	891	6.50
GM1P1	9735	457	789	8.10
GM1P2	3125	66	140	4.48

Çizelge 4.8’de görüldüğü gibi, İnan3363 ve PI159236’dan ebeveyn olarak 150 adet anter kültüre alınmış, İnan3363’ten kültüre alınan anterlerden 37 tanesinde embriyo indüksiyonu gerçekleşmiş ve toplamda 72 adet embriyo oluşmuştur. Anterlerden oluşan embriyo oranı, %48 olmuştur. PI 159236’da 150 anter kültüre alınmış, sadece 1 anterden 1 adet embriyo gözlemlenmiş ve anterden embriyo elde etme oranı %0.66 olmuştur. İnan3363 ve PI 159236’nın melezlenmesi ile elde edilen F1 popülasyonundan toplam 5000 adet anter kültüre alınmış, 13 anterden 16 adet embriyo elde edilmiş ve anterlerden oluşan embriyo oranı %0.24 olmuştur. Yine bu ebeveynlerden oluşturulan F2 popülasyonunda, toplamda 13695 adet anter kültüre alınmış, 564 anterden 891 adet embriyo elde edilmiş ve embriyo oluşturma oranı %6.5 olmuştur. İnan3363 ana ebeveyn olarak kullanıldığında, GM1 popülasyonunda kültüre alınan 9735 adet anterden 457 adet anter embriyo oluşturmuş, elde edilen embriyo sayısı 789 adet ve embriyo oranı ise %8.1 olmuştur. PI159236 ana ebeveyn olarak kullanıldığında, oluşturulan GM1 popülasyonunda ise 3125 adet anter kültüre alınmış ve bunlardan 66 tanesi embriyo oluşturmuştur. Bu popülasyonda elde edilen embriyo sayısı 140 adet ve embriyo oluşturma oranı ise %4.48 olmuştur.

Doku kültürü teknikleri içerisine giren haploid bitki üretimi, bitki ıslahında önemli bir yere sahiptir (Heiser, 1976; Andrews, 1985). DH hatlar genetik bağlantı haritaların oluşturulmasında kullanılmasının yanı sıra, kantitatif özelliklerin kalıtımının belirlenmesi, haritalanması ve biyotik streslere dayanıklılığın kalıtımının tespit edilmesi çalışmalarında da kullanılmaktadır. Türler arası melezlemelerle genetik varyasyonu artırılmış melezlerden oluşturulacak DH popülasyonlar ıslah ve genetik çalışmaları için değerli materyallerdir. Anter kültürü tekniği uygulamalarıyla dihaploid hatlar elde edilirken, embriyo ve bitkiye dönüşümde genotipler, yetiştirme koşulları, donör bitkilerin yaşı, tomurcuk ve mikrosporların gelişim safhası, ön uygulamalar ve besin ortamlarının bileşimi gibi faktörler etkili olmaktadır. Farklı türler, tür içindeki farklı çeşitler ve hatta aynı çeşitteki bireylerin androgenik yetenekleri arasında büyük farklılıklar gözlemlenmektedir. Donör bitki genotipinin androgenesis kapasitesi üzerindeki etkisine ilişkin literatür çalışmalarına göre, belirli *Capsicum* türlerinin anter kültürlerinde embriyo oluşturma frekansının farklı olduğu bilinmektedir. Kültürü yapılan *C. annuum*'da, *in vitro* androgenesisin etkinliği yüksektir. Ancak diğer *Capsicum* türlerinde androgenesis indüksiyonuna atıfta bulunulan araştırmalar, türler arası melezlerin *C. annuum* kadar pozitif sonuçlar vermediğini belirtmektedir (Nowaczyk ve ark, 2006). Çalışmada kullanılan *C. annuum*'a ait her iki ebeveynin embriyo verme oranları (sırasıyla 253A %38.6 ve İnan3363 %48) yüksek olmasına rağmen, *C. chinense*'ye ait ebeveynin embriyo verme oranının çok düşük olması, bu literatürleri desteklemektedir. Ayrıca çizelgeler incelendiğinde, GM1F1 popülasyonlarında *C. annuum*'un ana ebeveyn olarak kullanıldığında embriyo verme oranlarının (%9.34 ve % 8.52), *C. chinense* ana ebeveyn olarak kullanıldığında alınan embriyo oranlarından (%2.97 ve %4.21) daha yüksek olduğu görülmektedir. Burada da *C. annuum*'un pozitif etkisinden kaynaklanan yüksek androgenesis indüksiyonun, popülasyonlara yansıdığı görülmektedir.

Androgenik tepkideki genotip farklılıkları yalnızca farklı tür, çeşit veya hibritlerde değil, aynı zamanda tek bir çeşitteki bireysel bitkilerde bile farklıdır

(Kristiansen ve Andersen, 1993). Çalışmada 253A ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonunda, 138 adet bitki anter kültürü için çalışılmış ve bunlardan 80 tanesi, GM1P1 popülasyonunda 61 bitkiden 52'si ve GM1P2 popülasyonunda ise 36 bitkiden 13 tanesi androgenesise yanıt vermiştir. İnan3363 ve PI 159236 ile oluşturulan popülasyonlarda da F2'de 155 bitkiden 107'si, GM1P1'de 116 bitkiden 85'i ve GM1P2 popülasyonunda ise 35 bitkiden 13'ü androgenesise yanıt vermiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Popülasyonlarda anter kültürü tekniği uygulanan popülasyon içi bitki sayıları, androgenesise yanıt veren ve yanıt vermeyen bitki sayıları ve yanıt verme yüzdesi

	253A × PI 159236			İnan3363 × PI 159236		
	F2	GM1P1	GM1P2	F2	GM1P1	GM1P2
Çalışılan bitki sayısı	138	61	36	155	116	35
Yanıt veren bitki sayısı	80	52	13	107	85	13
Yanıt vermeyen bitki sayısı	58	9	23	48	31	22
Yanıt verme oranı (%)	57.9	85.2	36.1	69	73	37

4.3.2. Biberde Androgenesise Yanıt Verme Özelliğinin Kalıtımının Belirlenmesi

Bireyler arasında bir özelliğin ölçülen değerleri açısından gözlemlenen fenotipik değişkenlik içindeki genetik varyansın payına, kalıtım derecesi denilmektedir. Genellikle dar ve geniş anlamlı kalıtım derecesi terimleri ile ifade edilmektedir. Eğer genetik içerik tüm gen etkilerini kapsıyorsa geniş, sadece eklemeli genleri kapsıyorsa dar anlamlı kalıtım derecesidir. Çalışmada geniş (h^2_b) ve dar (h^2_n) anlamda kalıtım dereceleri Allard (1960) tarafından belirtildiği gibi, aşağıda sunulan şekilde hesaplanmıştır;

$$h^2_b = (V_A + V_D) / V_{F2}$$

$$h^2_n = V_A / V_{F2}$$

$$V_A \text{ (eklemeli gen varyansı)} = 2 (V_{F2}) - V_{GM1P1} - V_{GM1P2}$$

$$V_D (\text{dominans gen varyansı}) = V_{GM1P1} + V_{GM1P2} - V_{F2} - V_E$$

$$V_E (\text{çevre varyansı}) = (P1 + P2 + F1) / 3$$

$$V_P (\text{fenotipik varyans}) = V_{F2} \text{ (F2 popülasyonundaki toplam varyans)}$$

$$V_G (\text{genetik varyans}) = V_{F2} - V_E$$

4.3.2.1. İnan3363 ve PI 159236 Kullanılarak Elde Edilen Popülasyon Verilerine Göre Geniş ve Dar Anlamda Kalıtım Dereceleri

Popülasyon oluşturmada kullanılan ebeveynler, F1 hibritler, F2 ve her iki ebeveyne doğru yapılan geri melezlemelerle oluşturulan popülasyonlarda (GM1P1 ve GM1P2) embriyo oranına göre hesaplanan ortalamalar ve varyans değerleri, Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. İnan3363 × PI 159236 kombinasyonunda ebeveynler ve F1, F2, GM1P1, GM1P2 popülasyonlarından elde edilen embriyo oranı ortalamaları ile varyans değerleri

	Ortalama	Varyans
P1 (İnan3363)	48	2.66
P2 (PI 159236)	0.66	1.77
F1	0.24	6.34
F2	6.30	117.42
GM1P1	8.52	138.31
GM1P2	4.21	72.61

Çevre varyansı; $V_E = (2.66 + 1.77 + 6.34) / 3 = 3.59$

Genetik varyans; $V_G = V_{F2} - V_E = 117.42 - 3.59 = 113.83$

Eklemlen gen (Additive) varyansı; $V_A = 2 (117.42) - 138.31 - 72.61 = 23.92$

Dominans gen varyansı; $V_D = 138.31 + 72.61 - 117.42 - 3.59 = 89.91$

Geniş anlamda kalıtım derecesi;

$h^2_b = V_A + V_D / V_{F2} = 23.92 + 89.91 / 117.42 = 0.97$

Dar anlamda kalıtım derecesi;

$h^2_n = V_A / V_{F2} = 23.92 / 117.42 = 0.20$

İnan3363 (*C. annuum*) × PI 159236 (*C. chinense*) melezlemesinden elde edilen 155 adet F2 bitkisinde anter kültürü tekniği uygulanmış ve elde edilen embriyo oranlarına göre geniş ve dar anlamda kalıtım dereceleri hesaplanmıştır. Özellik üzerindeki çevre varyansı, toplam varyansın yaklaşık olarak %4'ü olarak bulunmuştur. Bu durum androgenesise cevap verme özelliğinin kalıtımı üzerinde çevresel etkinin çok düşük olduğunu ve özelliğin güçlü bir genetik etki altında olduğunu göstermektedir. Eklemeli gen etkisi, toplam genetik varyans içerisinde %21, dominans gen etkisi ise %79 olarak hesaplanmıştır.

Eklemeli varyans, genlerin eklemeli bileşenlerinin ortalama etkisinin sonucudur. Dominans varyans ise heterezigotlardaki fenotipik ifadenin iki homozigot durum arasındaki özelliği yansıtmadığı durumlara bağlı olarak çıkan eklemeli bileşenlerden sapmadır. Powell (1998), arpada kültüre alınan her 100 anterde cevap veren anter sayısında, hem eklemeli hem de baskınlık etkilerinin bulunduğunu tespit etmiştir. He ve ark (1997), çeltikte anter kültürü yeteneğindeki genotipik farklılığın oluşmasında hem eklemeli hem de eklemeli olmayan genlerin önemli olduğunu belirtmişlerdir.

Hesaplanan kalıtım değeri (0.97) androgenesis özelliğinin kalıtılabilir bir özellik olduğunu ve ileri nesillere aktarılabilirliğini göstermektedir. Klug ve Cummings (2000)'in bildirdiğine göre h^2 değerinin 1.0 yakın olması, çalışılan popülasyonda fenotipik varyans üzerinde genetik etkinin yüksek, çevresel etkinin ise küçük olduğunun göstergesidir. Yüksek h^2 değeri, bu özellik yönünden yapılacak bir seleksiyon işleminin popülasyonu değiştirecek etkide olduğunun belirtisidir.

Muhtemel genetik yapı;

Anter kültürü tekniği uygulanarak F2 bitkilerinden elde edilen embriyo oranlarına göre X^2 test sonuçları Çizelge 4.11'de verilmiştir. X^2 analizi 9:3:4 genetik oranının ($X^2=2.13$, $P=0.343$, $N=155$) en uygun model olduğunu göstermektedir. Bu oran, resesif epistatiye işaret etmektedir. Embriyo oluşturma oranı F2

popülasyonunda, embriyo oluşturmama/az sayıda embriyo oluşturma yönünde eğim göstermiştir. Bu durumda biberde androgenesise yanıt vermenin, homozigot resesif genlerin etkisi altında olduğu görülmektedir.

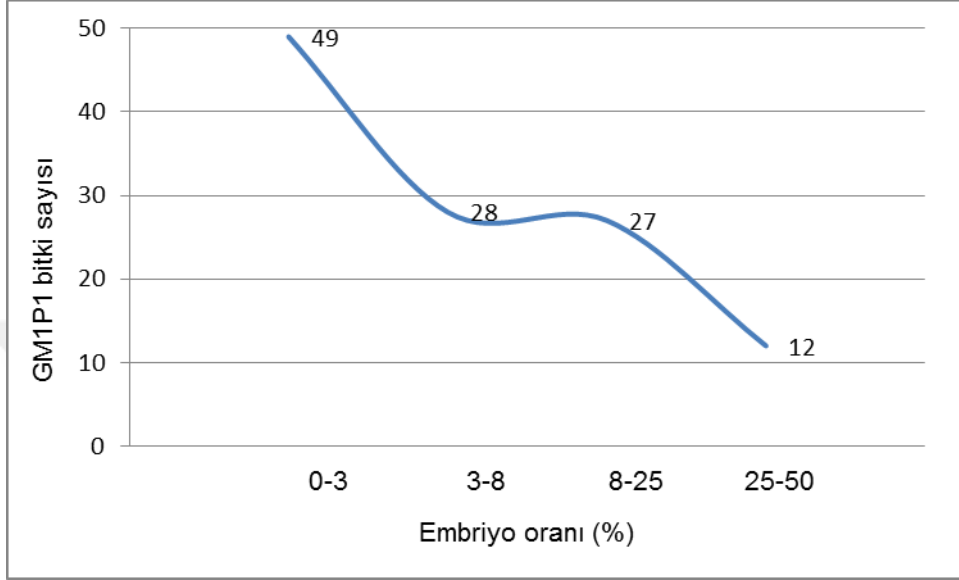
Çizelge 4.11. İnan3363 ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonundaki bitkilerde anter kültürü tekniği ile elde edilen embriyo oranlarına göre X2 test sonuçları

Model	Gözlenen (bitki sayısı)	Beklenen	Sapma	X ² değeri
9:3:4	84 (embriyo oranı %0-2.99 arası)	87.187	-3,187	0.116
	36 (embriyo oranı %3-7.99 arası)	29.062	6,938	1.656
	35 (embriyo oranı %8 ve üzeri)	38.75	-3.75	0.362
			Toplam	2.135
			p-değeri: 0.343	

Resesif epistasi (modifikatör gen etkisi); resesif gen homozigot olduğunda dominant gen etkili olmaz. Ancak resesif gen homozigot değilse, bir dominant gen diğer dominant genin etkisini değiştirir (modifikatör gen etkisi). Resesif homozigot aaB- genotipinde, B- geninin bir etkisi olmadığından aa allelleri, B-genine karşı epistatik kabul edilir. Böyle bir durumda, F2 popülasyonunda ‘A_B_ (9/16)’ yapıdaki bireyler androgenesise yanıt vermeyen fenotip gösterecek; ‘A_bb (3/16)’ genetik yapıdaki bireyler ikinci bir fenotip gösterecek (orta düzey yanıt verme) ve ‘aaB_ , aabb (4/16)’ genetik yapıdaki bireyler aa allellerinin resesif etkisinden dolayı androgenesise cevap vermede ortak fenotip göstererek (androgenesise cevap verme) üçüncü bir fenotip gösterecektir.

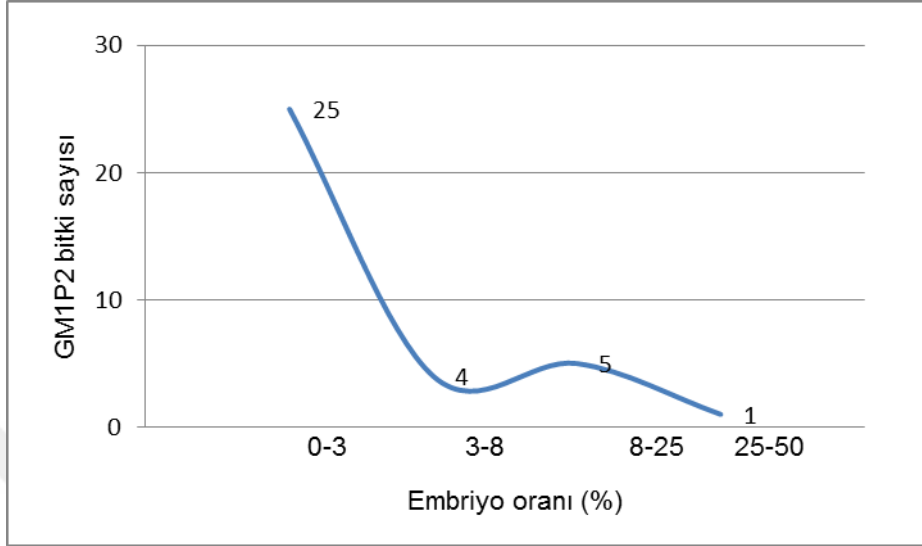
Şekil 4.15’de *C. annuum* (İnan3363) stoplazmasının kullanıldığı GM1P1 popülasyonunun embriyo oluşturma oranı bakımından dağılımı gösterilmiştir. Şekil 4.15 incelendiğinde cevap vermeme yönüne doğru bir eğilim olsada orta cevap veren ve iyi cevap veren grupta yer alan bitki sayılarının daha fazla olduğu görülmektedir. Bu durum söz konusu özellik üzerinde, İnan3363’ün sahip olduğu

resesif allellerin etkisinden kaynaklanabilir.



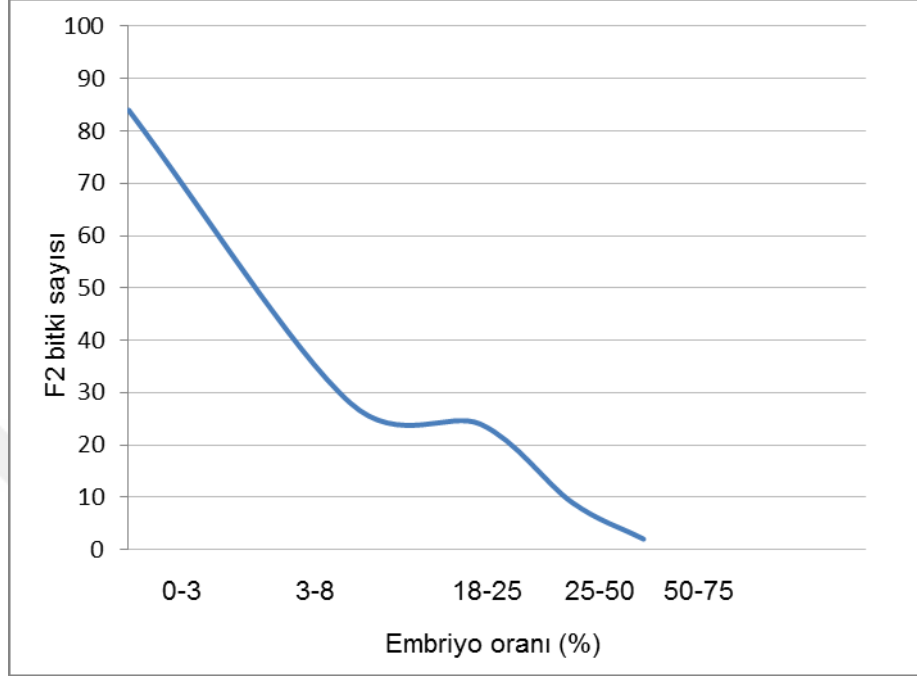
Şekil 4.15. GM1P1 popülasyonuna ait bitkilerin embriyo oluşturma oranları (%) açısından dağılımı

Şekil 4.15’de ise *C. chinense* (PI 159236) stoplazmasını taşıyan ebeveyne ait embriyo oranları ve bitki sayıları gösterilmiştir. Burada *C. chinense* stoplazmasından kaynaklı olarak cevap vermeme yönünde daha güçlü bir yığılma olduğu görülmektedir ve resesif epistasi modelini doğrulamaktadır.



Şekil 4.16. GM1P2 popülasyonuna ait bitkilerin embriyo oluşturma oranları (%) açısından dağılımı

Şekil 4.16’da F2 popülasyonunda embriyo oranları ile bitki sayıları arasındaki dağılım incelendiğinde, embriyo oluşturmama ya da az sayıda embriyo oluşturma yönüne doğru bir yığılma olduğu görülmektedir. Bu da androgenesise yanıt vermenin resesif etkiler altında olduğunu göstermektedir.

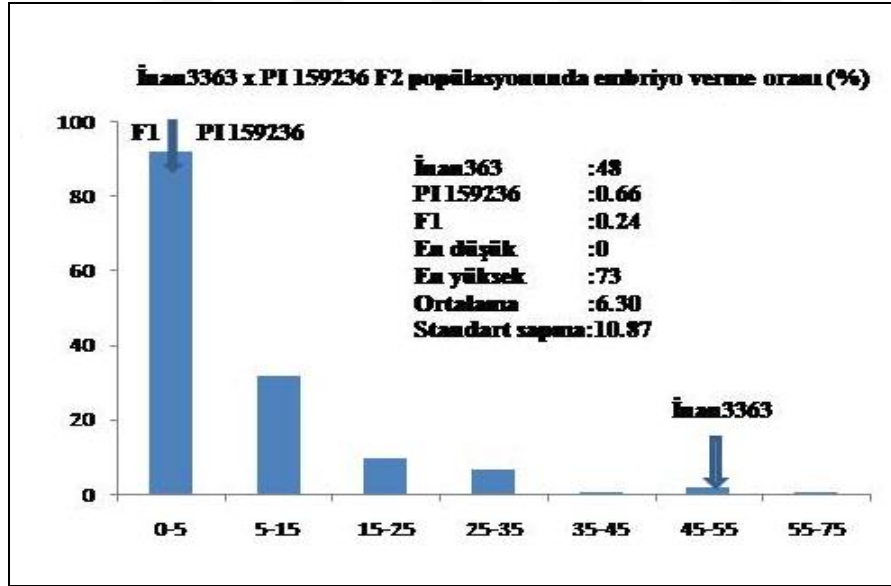


Şekil 4.17. Embriyo oluşturma oranları (%) açısından İnan3363 ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonundaki bitkilerin dağılımı

Farklı araştırmacılar tarafından yürütülen çalışmalarda, *C. annuum*'da kültüre alınan her 100 anterden oluşan embriyo sayısının %0.5-75 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Qin ve ark, 1993; Ltfi ve Wenzel, 1994; Mitykó ve ark, 1995; Rodeva ve ark, 2004). Yine Mitykó ve Fári (1997) tarafından yürütülen çalışmada, androgenik potansiyelin embriyo veren anter yüzdesine göre belirlenmesi için biber türleri; zayıf androgenik potansiyel (%5'ten az embriyogenik anterler), orta androgenik potansiyel (%5.1-15 arası embriyogenik anterler), iyi androgenik potansiyel (%15.1-30 embriyogenik anterler) ve mükemmel androgenik potansiyel (%30'un üzerinde embriyogenik anterler) olarak sınıflandırılmıştır. Popülasyonu oluşturmada kullanılan ebeveynlerin embriyo oranı ortalamaları, İnan3363 için %48 ve PI 159236 için %0.6'dır. İnan3363 ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonundaki bitkilerden elde edilen embriyo oranları, %0 ile %73 arasında değişmiştir. 84 bitki cevap vermeyen/az

cevap veren grupta (%0-2.99 arası) yer almış, 36 bitki orta derecede cevap (%3-7.99) veren grubu oluşturmuş ve 35 bitki %8 ve üzeri embriyo vererek yüksek cevap veren grupta yer almıştır. Yüksek cevap veren grup içerisinde yer alan 8 bitki, %30 üzerinde embriyo oluşturma oranına sahip olmuştur. Sonuçlar, bu literatürleri desteklemektedir.

İnan3363 ve PI 159236 F2 popülasyonunda embriyo oranına ait dağılım, Şekil 4.18’de verilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, çalışılan F2 popülasyonu embriyo oluşturma yönünden geniş bir varyasyon göstermiştir. İnan3363 çeşidi yüksek cevap veren grup içerisinde yer alırken, PI 159236 genotipi ve F1 bitkileri cevap vermeyen grup içerisinde yer almıştır. F2 popülasyonunda embriyo oluşturma oranı, cevap vermeyen ebeveyn PI 159236 tarafına doğru yoğunlaşmıştır. Bu dağılım, bu özelliğin resesif olduğuna işaret etmektedir.



Şekil 4.18. İnan3363 ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonunun embriyo oluşturma oranı (%) dağılımı

4.3.2.2. 253A ve PI 159236 Kullanılarak Elde Edilen Popülasyon Verilerine Göre Geniş ve Dar Anlamda Kalıtım Dereceleri

Çalışmadaki diğer popülasyon, 253A ve PI 159236 kullanılarak elde edilmiştir. Bu popülasyondaki ebeveynler, F1 hibritler, F2 ve her iki ebeveyne doğru yapılan geri melezlemelerde (GM1P1 ve GM1P2) embriyo oranına göre hesaplanan ortalamalar ve varyans değerleri Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. 253A x PI 159236 kombinasyonunda ebeveynler ve F1, F2, GM1P1, GM1P2 popülasyonlarından elde edilen embriyo oranı ortalamaları ile varyans değerleri

	Ortalama	Varyans
P1 (253A)	38.66	2.66
P2 (PI 159236)	0.66	1.77
F1	0.26	6.04
F2	5.27	95.32
GM1P1	9.34	89.67
GM1P2	2.97	38.26

Çevre varyansı; $V_E = (2.66 + 1.77 + 6.04) / 3 = 3.49$

Genetik varyans; $V_G = V_{F2} - V_E = 95.32 - 3.49 = 91.83$

Eklemeli gen (additive) varyansı; $V_A = 2 (95.32) - 89.67 - 38.26 = 62.71$

Dominans gen varyansı; $V_D = 89.67 + 38.26 - 95.32 - 3.49 = 29.12$

Geniş anlamda kalıtım derecesi;

$h^2_b = V_A + V_D / V_{F2} = 62.71 + 29.12 / 95.32 = 0.96$

Dar anlamda kalıtım derecesi;

$h^2_n = V_A / V_{F2} = 62.71 / 95.32 = 0.65$

253A (*C. annuum*) × PI 159236 (*C. chinense*) melezlemesinden elde edilen 138 adet F2 bitkisinde, anter kültürü tekniği uygulanarak elde edilen embriyo oranlarına göre, geniş ve dar anlamda kalıtım dereceleri hesaplanmıştır. Özellikle üzerindeki çevre varyansı, toplam varyansın yaklaşık olarak %3’ü olarak bulunmuştur. Bu popülasyonda da İnan3363 ve PI 159236 ile oluşturulan popülasyonla uyumlu olarak, kalıtım üzerindeki çevre varyansının düşük olduğu

görülmektedir. Androgenesise cevap verme özelliği, güçlü bir genetik etki altındadır ve bu özelliğin kalıtımı üzerinde çevresel etki değeri oldukça düşüktür. Bu F2 popülasyonunda, eklemeli gen etkisi toplam genetik varyans içerisinde %68, dominans gen etkisi ise %32 olarak hesaplanmıştır.

Kalıtım derecesi karakterden karaktere, popülasyondan popülasyona ve aynı popülasyonda generasyondan generasyona farklılık gösterebilir. Bu F2 popülasyonunda, dar anlamda kalıtım derecesi, diğer F2 (İnan3363 × PI 159236) popülasyonunda hesaplanandan daha yüksek bulunmuştur. Dar anlamda kalıtım derecesi, eklemeli genetik varyansın (VA) fenotipik varyans (VP) içindeki payıdır. Bu popülasyonda eklemeli gen varyansının yüksek çıkmış olması, dar anlamda kalıtım derecesinin de yüksek bulunmasına neden olmuştur. Eklemeli etkinin anlamlı olması durumunda, geri melez generasyon ortalamaları tekrarlayan ebeveyne karşı eğilimlidir. Bu da, tekrarlanan genotipine göre, tekrarlanan geri melez ve seçimin istenen karakteri arttırabileceğini ya da azaltabileceğini göstermektedir (Zewdie ve Bosland, 2000). Eklemeli gen etkilerinin hâkim olduğu özellikler için erken generasyonda yapılacak seleksiyon, bu gen etkilerinin döllere büyük oranda aktarılması nedeniyle başarılı olmaktadır (Yıldırım ve İkiz, 1972).

253A × PI 159236 F2 popülasyonunda, İnan3363 x PI 159236 F2 popülasyonunun aksine toplam genetik varyans içerisinde eklemeli gen etkisinin oranı, dominans gen etkisinin oranından daha yüksek bulunmuştur. Çalışmada ana ebeveyn olarak kullanılan farklı *C. annuum* genotipleri ile baba ebeveyn olarak kullanılan *C. chinense* genotipindeki özelliği kontrol eden farklı allellerin (genlerin) etki ve etkileşimi neticesinde, eklemeli yada dominans etki oranlarının farklı oluşu olası bir durumdur. Agache ve ark (1989) buğdayda yaptıkları çalışmada, Highbury CS5B x Sicco CS5B melezlerinin dominans etkileri gösterirken, Talent × Aurora melezinin ise ağırlıklı olarak eklemeli gen etkisi gösterdiğini bildirmiştir.

Muhtemel genetik yapı;

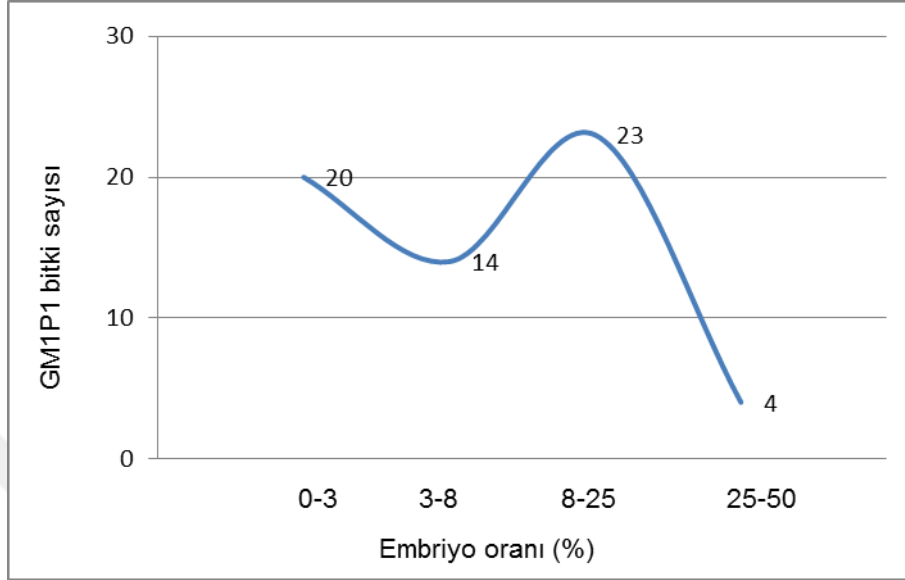
253A ve PI 159236 melezlemesinden elde edilen F2 bitkilerinde anter

kültürü tekniği uygulanmış ve elde edilen embriyo oranlarına göre X^2 test sonuçları Çizelge 4.13'te sunulmuştur. X^2 analizine göre en uygun model 9:3:4 genetik oranıdır ($X^2=2.82$, $P=0.243$, $N=138$) ve resesif epistatiseye işaret etmektedir. Çalışılan F2 popülasyonunda embriyo oluşturma oranı, embriyo oluşturmama/az sayıda embriyo oluşturma yönünde eğilim göstermiştir. Bu sonuçlar, İnan3363 × PI 159236 F2 popülasyonunda elde edilen sonuçlarla paraleldir.

Çizelge 4.13. 253A ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonundaki bitkilerde anter kültürü tekniği ile elde edilen embriyo oranlarına göre X^2 test sonuçları

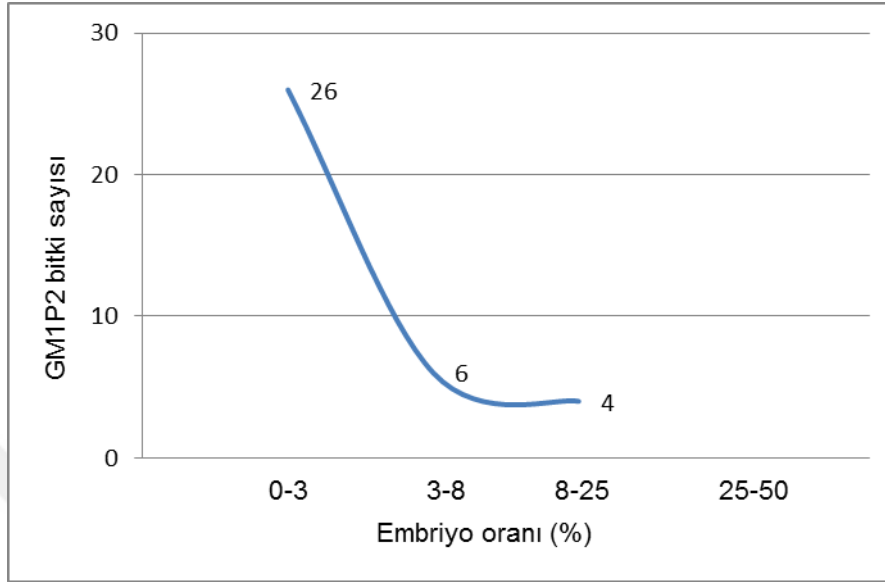
Model	Gözlenen	Beklenen	Sapma	X^2 değeri
9:3:4	87 (embriyo oranı %0-2.99 arası)	77.625	-0.625	1.132
	20 (orta) (embriyo oranı %3-7.99 arası)	25.875	4.125	1.333
	31 (cevap veren) (embriyo oranı %8 ve üzeri)	34.500	-3.500	0.355
			Toplam	2.821
			p-değeri: 0.243	

Şekil 4.19'da 253A GM1P1 popülasyonunda embriyo oluşturma oranları açısından, bitkilerin dağılımı gösterilmiştir. 253A stoplazmasının kullanıldığı bu popülasyonda *C. annuum*'dan gelen resesif allellerin etkisi ile cevap verme yönüne doğru bir eğilim olduğu ve orta/iyi cevap veren grupta daha fazla bitkinin yer aldığı görülmektedir.



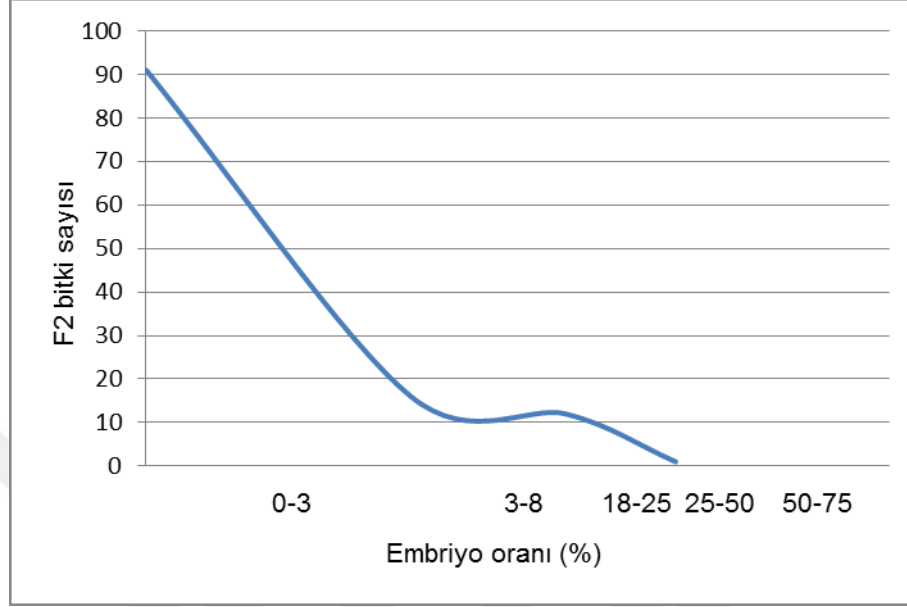
Şekil 4.19. GM1P1 popülasyonuna ait bitkilerin embriyo oluşturma oranları (%) açısından dağılımı

Embriyo oluşturma oranlarına göre GM1P2 popülasyonuna ait dağılım grafiği Şekil 4.20’de sunulmuştur. Bu popülasyonda, *C. chinense* stoplazmasını taşıyan bitkilerde dominant allellerin etkisi ile embriyo vermeme yönünde güçlü bir yığılma görülmektedir. En yüksek embriyo verme oranı, %23’tür.



Şekil 4.20. GM1P2 popülasyonuna ait bitkilerin embriyo oluşturma (%) oranları açısından dağılımı

Şekil 4.21’de F2 popülasyonunda embriyo oranları ile bitki sayıları arasındaki dağılım grafiği incelendiğinde, embriyo oluşturmama ya da az sayıda embriyo oluşturma yönünde bir yığılma olduğu ve androgenesise yanıt vermenin resesif etkiler altında olduğu görülmektedir. Benzer şekilde *Solanum tuberosum* üzerinde yapılan çalışmalar, mikrospor embriyogenesis yeteneğinin birden fazla gen tarafından kontrol edilen kalıtsal bir resesif özellik olduğunu göstermiştir (Rudolf ve ark, 1999; Smykal, 2000).

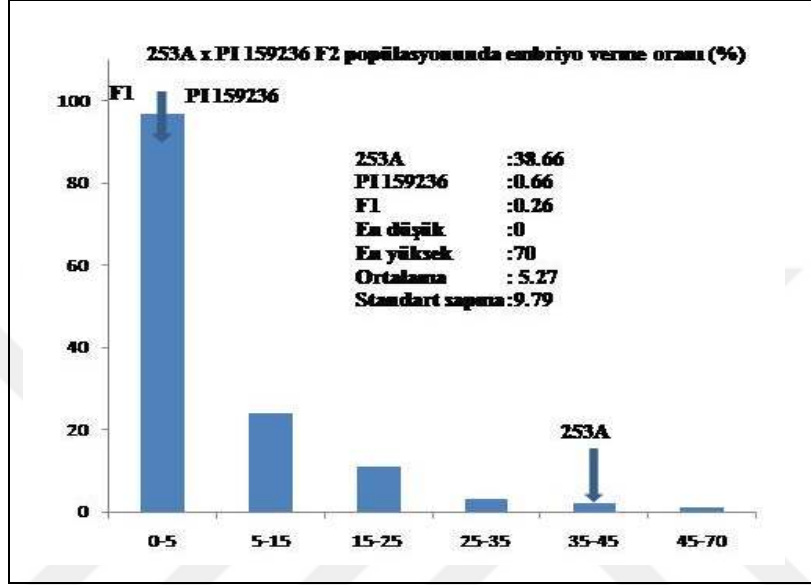


Şekil 4.21. Embriyo oluşturma oranları (%) açısından 253A ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonundaki bitkilerin dağılımı

Çalışılan bu popülasyonda, ebeveynlerin embriyo oranı ortalamaları 253A için yaklaşık %37 ve PI 159236 için %0.6'dır. 253A ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonundaki bitkilerden elde edilen embriyo oranları, %0 ile %70 arasında değişmiştir. Popülasyonda, 87 bitki cevap vermeyen/az cevap veren urupta (%0-2.99 arası) yer almış, 20 bitki orta derecede cevap veren (%3-7.99 arası) grubu oluşturmuş ve 31 bitki %8 ve üzeri embriyo vererek yüksek cevap veren grupta yer almıştır. Yüksek cevap veren grup içerisinde yer alan 4 bitki, %30 üzerinde embriyo oluşturma oranına sahip olmuştur. Bu oranlar, bu özelliğin birden fazla gen tarafından kontrol edildiğine işaret etmektedir.

Şekil 4.22'de ise 253A ve PI 159236 F2 popülasyonunda embriyo verme oranına ait dağılım verilmiştir. Elde edilen bulgular ışığında, embriyo oranı açısından çalışılan F2 popülasyonunun geniş bir varyasyon gösterdiği görülmektedir. 253A hattı yüksek cevap veren grup içerisinde yer alırken, PI 159236 genotipi ve F1 bitkileri cevap vermeyen grup içerisinde yer almıştır. Bu F2 popülasyonunda da embriyo oranının, cevap vermeyen ebeveyn PI 159236 tarafına

doğru yoğunlaştığı görülmektedir. Bu sonuçlar, bu özelliğin resesif olduğu sonucunu desteklemiştir.



Şekil 4.22. 253A ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonunun embriyo oluşturma oranı (%) dağılımı

Birçok araştırmacı tarafından tespit edildiği üzere, androgenesise cevap verme ile ilgili endojen faktörler arasında genotip, büyük bir rol oynamaktadır. Farklı türlerin, tür içindeki farklı çeşitlerin, hatta aynı çeşitteki bireylerin androgenik yetenekleri arasında büyük farklılıklar vardır (Rudolf ve ark, 1999; Koleva-Gudeva ve ark, 2007). Anter kültür yanıtı, kültür koşullarının ayarlanması ya da anter donör materyalinin genetik olarak iyileştirilmesi ile geliştirilebilir. Anter kültürüne yanıt verme özelliğinin yanıt vermeyen ıslah materyaline aktarılması, her bir mikrosporum kendi özel ortamını gerektirme olasılığı olduğunda, birçok kültür koşulunu test etmekten daha kolay görünmektedir (Foroughi-Wehr ve ark, 1982). Petolino ve Thompson (1987), mısırdaki daha yüksek yanıt verebilirlik için ıslahın mümkün olduğunu vurgulamıştır.

Androgenik bitkiler elde etme frekansının yüksek oranda genotipe bağlı

olması, biber ıslahında anter kültürünün kullanılabilirliğini sınırlamaktadır. Bu çalışma doğrultusunda oluşturulan her iki popülasyon ve elde edilen bilgiler, yüksek androgenesis etkinliğine sahip genotiplerin geliştirilmesinde kullanılabilir.

4.3.3. Biberde Androgenesis Özelliğini Kontrol Eden Gen Sayısının Belirlenmesi

Androgenesis kontrol eden minimum gen sayısı (k) Wright (1968)'e göre tahmin edilmiştir;

$$K = \frac{(P_1 - P_2)^2}{8(s^2_{F2} - V_E)}$$

Bu formülde P1 ve P2 iki ebeveynin ortalama değerleri,

s^2_{F2} ise F2 popülasyonuna ait varyasyon,

V_E çevresel varyans

(V_E genetik olarak üniform olan P1, P2, ve F1 bitkilerinin varyansının ortalaması alınarak bulunmuştur)

İnan 3363 ve PI 159236 kullanılarak elde edilen popülasyon verilerine göre;

$$K = \frac{(P_1 - P_2)^2}{8(s^2_{F2} - V_E)}$$

$$8(s^2_{F2} - V_E)$$

$$V_E = \frac{V_{P1} + V_{P2} + V_{F1}}{3}$$

$$3$$

K=2.46 gen olarak hesaplanmıştır.

253A ve PI 159236 kullanılarak elde edilen popülasyon verilerine göre;

$$K = \frac{(P_1 - P_2)^2}{8(s^2_{F2} - V_E)}$$

$$8(s^2_{F2} - V_E)$$

$$V_E = \frac{V_{P1} + V_{P2} + V_{F1}}{3}$$

$$3$$

K=1.96 gen olarak hesaplanmıştır.

Doku kültürü ile dihaploid üretimi yaygın bir prosedür olup, ıslah süresini kısaltmak, homozigot resesif genotiplerin elde edilmesini sağlamak ve arttırmak için bitki ıslahında yaygın olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda kalıtım çalışmalarına ve genetik haritaların oluşturulmasına yönelik popülasyonlar oluşturmak için kullanılmaktadır (Pochard ve ark 1983; Lefebvre ve ark 1995). Uyartılmış androgenesisle, *C. annuum*'da haploid bitkiler elde etmek için yöntemler geliştirilmiş ve bu tür içerisindeki çalışmalarda androgenesis yoluyla dihaploidlerin elde edilmesinde kullanılmaktadır. Ancak diğer *Capsicum* türlerindeki etkinliği pozitif olarak doğrulanmamıştır (Nowaczyk ve ark, 2009a). Anter kültürü cevabının genotip bağımlılığı, bu özelliğin bitki ıslahında daha geniş bir kullanımının önündeki en büyük sınırlama olarak görülmektedir (Powell, 1988).

Androgenesis özelliğinin kalıtımının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda, 253A (*C. annuum*) × PI 159236 (*C. chinense*) melezlemesinden gelen 138 adet F2 bitkisinden anter kültürü tekniği uygulanarak elde edilen embriyo oranları kullanılarak, androgenesis özelliğini kontrol eden minimum gen sayısı 1.96 olarak hesaplanmıştır. İnan3363 (*C. annuum*) × PI 159236 (*C. chinense*) melezlemesinden elde edilen F2 popülasyonunda (155 adet bitki) ise özelliği kontrol eden gen sayısı 2.46 olarak hesaplanmıştır. Buradan androgenesis özelliğinin muhtemel 2 genle kontrol edildiği sonucuna varılmaktadır.

Farklı türlerde androgenesis özelliğini kontrol eden gen sayısının; buğdayda major etkili birkaç gen tarafından kontrol edildiği (Agache ve ark, 1989), petunyada birden fazla gen tarafından kontrol edildiği (Raquin, 1982), çeltikte birkaç resesif allelin anter kültüründen DH bitki eldesi verimini kontrol ettiği (Miah ve ark, 1985), çavdarda kallus rejenerasyonunu kontrol eden en az iki resesif tamamlayıcı lokus olduğu bildirilmiştir (Rakoczy-Trovanowska ve Malepszy, 1995). Patateste yapılan çalışmalarda (Sonnino ve ark, 1989), anter kültürüne cevap vermenin birden fazla resesif allel tarafından kontrol edildiği, diploid patates türlerinde bir dominant allel tarafından kontrol edildiği (Singsit ve Veilleux, 1989),

embriyo oluşumunu başlatmanın iki genle kontrol edildiği ve embriyo rejenerasyonunun ise fazladan iki genle kontrol edildiği (Veronneau ve ark, 1992) tespit edilmiştir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar, androgenesise cevap verme özelliğinin, 2 farklı gen etkisinde olan kalıtılabilir resesif bir özellik olduğunu işaret etmektedir. Androgenesise cevap verme özelliğinin, geri melezleme ve kendileme ile cevap vermeyen genotiplere aktararak bu özelliğin biber ıslahında kullanım etkinliği artırılabilir. Aynı zamanda, bu özellik için moleküler markırlar geliştirilerek karakterin seleksiyon süreci hızlandırılabilir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Biberde türler arası melezlemelerle genetik tabanın genişletilmesi ve androgenesis özelliğinin kalıtımının belirlenmesi amacı ile yürütülen bu çalışma, üç aşamada yürütülmüştür. *C. annuum* ve *C. chinense* türlerine ait genotipler arasında yapılan melezlemeler ile popülasyonlar oluşturulmuş, bu popülasyonlarda morfolojik karakterizasyon yapılmış ve popülasyonlarda bulunan bitkilerde anter kültürü tekniği uygulanarak embriyo verme oranlarına göre, kalıtım oranları hesaplanmıştır. Elde edilen bulgular aşağıda özet olarak sunulmuştur.

- Morfolojik karakterizasyon ve kalıtım hesaplanmasında kullanılan popülasyonların geliştirilmesi için, *C. annuum* L. türüne ait bir çeşit (İnan3363) ve bir genotip (253A) ile *C. chinense* türüne ait bir genotip (PI 159236) arasında melezlemeler yapılmıştır. Türler arası melezlemeden kaynaklanacak embriyo aborsiyonunun önüne geçmek için, melezlemelerden sonra 28. günden itibaren embriyo kurtarma işlemi yapılmış ve her melez gurubundan 30 bitki sera koşullarına aktarılmıştır. *C. chinense*'nin tozlayıcı olarak kullanıldığı durumlarda, elde edilen melezlerde embriyo aborsiyonu olmasına rağmen, İnan3363 melezlerinde %82 ve 253A melezlerinde %66 oranında canlılık elde edilmiştir. Tozlayıcı olarak *C. annuum* kullanıldığında, tohumlardaki canlılık oranları daha düşük bulunmuştur (PI 159236 x İnan3363 melezlerinde %13, PI 159236 x 253A melezlerinden %34). Bu durum tek yönlü uyumsuzlıktan daha çok, döllenme sonrası bariyerlerin etkin olduğunu göstermektedir. Böyle durumlarda direkt embriyo kurtarma yapılarak bitki elde edilmesini sağlanabilir ya da daha fazla miktarda tohum kullanılabilir.

- *C. annuum*'un tozlayıcı olarak kullanıldığı melezlerde literatürlerde belirlenen, döllenme sonrası engellerden melez zayıflığı (nekrozu) belirtilmelerine rastlanmıştır. Bu ekspresyon türü *C. chinense* x *C. annuum* kombinasyonlarının bitkilerinde fide aşamasında ölümler, yaşayan bitkilerde ise bodur gelişme, çiçek ve meyve oluşturmama, oluşan yaprak, çiçek ve meyvelerde deformasyon şeklinde

gözlemlenmiştir. Bu bitkilerde oluşan meyvelerin hiçbirinin, tohum oluşturmadığı saptanmıştır. Bu konuda yapılacak olan detaylı histolojik çalışmalarla, mekanizma daha iyi açıklanabilir.

- F2 popülasyonlarında transgressive açılımı temsil edecek şekilde bitkilerin seçilebilmesi için ebeveyn bitkilerde; UPOV ve IPGRI özellik belgeleri esas alınarak hazırlanan kriterler incelenmiş ve ebeveynlerin akrabalık ilişkilerine bakılmıştır. Morfolojik verilerin değerlendirilmesi sonucu elde edilen dendogramda, *C. annuum* türüne ait İnan3363 ve 253A'nın aynı grupta, *C. chinense* türüne ait PI 159236 genotipinin ise bunlardan ayrı bir grupta yer aldığı görülmüştür. Morfolojik verilerde yapılan TBA (Temel Bileşenler Analizi) sonucunda, ilk üç temel bileşene göre genotipleri en çok ayıran özellikler anter uzunluğu, kotiledon yaprak uzunluğu, kotiledon yaprak genişliği, yaprak indeksi, tohum evi uzunluğu, meyve uzunluğu ve koltuk başına çiçeklerin sayısı olarak bulunmuştur.

- *C. annuum* ile *C. chinense* genotipinin melezlenmesi ile elde edilen F1 hibritleri kendilenerak F2 generasyonu, ana ve baba ebeveynlere doğru melezlenerek de GM1F1 popülasyonları oluşturulmuştur. 253A genotipi ile oluşturulan popülasyonlarda (F2, GM1P1 ve GM1P2) bitkilerden elde edilen meyve sayısı, İnan3363 çeşidi ile oluşturulan popülasyonlardan daha fazla olmasına rağmen, meyvelerden elde edilen tohum sayısı daha az olmuştur. Bu durumda döllenme öncesi ya da sonrası bariyerlerin 253A genotipinde, İnan3363 çeşidinden daha etkili olduğu söylenebilir. Genel olarak araştırmalar, *C. annuum* ve *C. chinense* türleri arasında hibridizasyonun uygulanabilirliğini doğrulamaktadır. Gözlemlenen farklar, büyük olasılıkla bitkiler arasındaki genetik farklılıklardan kaynaklanmaktadır.

- Her iki *C. annuum* ana ebeveyn olarak kullanıldığında GM₁F₁ meyvelerinden elde edilen tohum sayıları (253A ve İnan3363 GM1'lerinde sırasıyla 137 ve 275), *C. chinense* ana ebeveyn olarak kullanıldığında elde edilen tohum sayılarından (253A ve İnan3363 GM1'lerinde sırasıyla 90 ve 108) daha fazla olmuştur. Bu durum *C. chinense* ana ebeveyn olarak kullanıldığında, türler arası melezlemeden kaynaklı

döllenme problemlerinin daha etkin olduğunu göstermektedir. Bu türlerle yapılan türler arası melezlemelerde, sağlıklı türler arası melezlerin elde edilmesinin çok zor olduğunun bilinmesinin önemi, çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. *C. chinense* ana ebeveyn olarak kullanıldığında, genomik farklılıkla birlikte sitoplazmik etkiler de bu sonuçlara katkıda bulunmuş olabilir.

- Ebeveyn bitkilerde yapılan TBA sonuçlarına göre tespit edilmiş morfolojik özellikler, referansı ile her bir F2 popülasyonundan transgressif açılımı temsil edecek şekilde 253A x PI 159236 F2 popülasyonunda 110 bitkide ve İnan3363 x PI 159236 F2 popülasyonunda ise 150 bitkide deskriptör listesinde yer alan 54 morfolojik karakter için ölçüm ve gözlemler yapılarak elde edilen verilerin “Kümeleme (Cluster) Analizi” ve morfolojik özelliklere ait akrabalık derecelerini gösteren ağaçlar NTSYS-PC 2.1 bilgisayar paket programı kullanılarak yapılmıştır. Karakterizasyon çalışmalarında 37, 38, 39, 40, 41 ve 42 nolu tohumla ilgili özellikler, ebeveyn bitkilerde yapılan Temel Bileşen Analizinde (TBA) ilk üç bileşene göre ayırt edici olmadığından ve F2 bitkilerinde sağlıklı ölçüm ya da gözlem alacak tohum sayısına ulaşamadığından dolayı, bu veriler istatistiksel analizlerde kullanılamamıştır.

- Kümeleme (Cluster) analizi, bitki ve meyve özelliklerinin birbirleri ile karşılaştırılmasında yaygın olarak kullanılmakta ve bu veriler ile oluşturulan dendogramlardan, çeşitlerin incelenen özellik bakımından hangi gruba girdikleri belirlenebilmektedir. Elde edilen verilerin kümeleme analizi ve morfolojik özelliklere ait akrabalık derecelerini gösteren ağaçlar yapılmıştır. 253A (*C. annuum*) x PI 159236 (*C. chinense*) F2 popülasyonundaki biber genotiplerine ait dendogram, 2 ana gruptan oluşmuş, birinci ana grup 4, ikinci ana grupta yine 4 yan ana gruba ayrılmıştır. Korelasyon matrisine göre dendogramın katsayı ortalaması 0.48, benzerlik indeksinin dendogramı temsil ettiği değer $r=0.99$ olmuştur. İlk üç eigen değerine göre, kümülatif varyans 87.7 olarak hesaplanmıştır. İnan3363 (*C. annuum*) x PI 159236 (*C. chinense*) F2 popülasyonundaki biber genotiplerine ait dendogramın katsayı ortalaması (benzerlik ortalaması) 0.48, benzerlik indeksinin

dendogramı temsil ettiği değer $r=0.89$ olmuştur. İlk üç eigen değerine göre kümülatif varyans, 56.46 olarak kaydedilmiştir.

- Bitkilerde var olan genetik varyasyonlar, modern bitki ıslahı ile azaltılmıştır. Türler arası melezlemelerin, genetik çeşitliliği ve heterosisi artırdığı bilinmektedir. Türler arası melezlemelerle, farklı türler arasında gen transferi olabilir ve böylece genetik açıdan üstün genotipler geliştirilebilir. Modern moleküler yöntemler, günümüzde genetik çeşitlilik çalışmalarında tercih edilse de, agro-morfolojik karakterizasyon tanımlanmanın temelini ve ilk basamağını oluşturmaktadır. Moleküler belirleyicilerin genetik varyasyonu tahmin etmedeki doğruluğuna rağmen, morfolojik ve moleküler tanımlayıcılarından elde edilen fenotip bilgisi hala önemlidir. Ebeveyn bitkilerde yapılan TBA sonuçlarına göre, tespit edilmiş morfolojik özellikler referansı ile her bir F2 popülasyonundan transgressif açılımı temsil edecek şekilde 253A x PI 159236 F2 popülasyonunda 110 bitki ve İnan3363 x PI 159236 F2 popülasyonunda ise 150 bitki seçilmiştir. Çalışmada toplam 54 morfolojik özellik yönünden, 253A x PI 159236 melezlerinden oluşturulan F2 popülasyonunda genetik varyasyon %58, İnan3363 x PI 159236 melezlerinden oluşturulan F2 popülasyonunda ise %87 olarak bulunmuştur. Birçok araştırmada türler arası melezlerden elde edilen hibritler, gelecek ıslah çalışmaları için en değerli materyal olarak nitelendirilmiş, ayrıca genetik olarak değerli özellikleri barındıran homozigot hatların ebeveyn formları olarak kullanılabilecekleri belirtilmiştir. Bu yönüyle, çalışmada elde edilen popülasyonlar biber ıslahı için değerli materyallerdir ve biber ıslah çalışmalarına dâhil edileceklerdir.

- 253A x PI 159236 ve İnan3363 x PI 159236 arasındaki melezlemelerden elde edilen F1, F2, GM1F1 popülasyonlarındaki bitkiler ve ebeveyn bitkilerden alınan çiçek tomurcuklarından, *in vitro* koşullarda anterler izole edilerek kültüre alınmıştır. Anter kültürü tekniği uygulaması, Nisan ayının son haftasında başlamış ve Haziran ayının ilk haftasında sonlandırılmıştır. Kültür öncesi ve süresi boyunca tüm bitkiler, aynı sera koşullarında yetiştirilmiş ve aynı kültürel işlemler uygulanmıştır. Kültüre alındıktan yaklaşık 8 hafta sonra, embriyolar görülmeye

başlanmıştır. Petrilerde gelişen embriyolar büyümeyi düzenleyici içermeyen MS ortamına transfer edilmiş ve burada gelişen bitkilerin dış koşullara alıştırılması sağlanmıştır

- 253A ve PI 159236'dan ebeveyn olarak, 150 adet anter kültüre alınmıştır. 253A'da kültüre alınan anterlerden, 57 tanesinde embriyo indüksiyonu gerçekleşmiş ve toplam da 58 adet embriyo oluşmuştur. Anterlerden oluşan embriyo oranı % 38.66 olmuştur. PI 159236'da sadece 1 anterden 1 adet embriyo elde edilmiş ve anterden embriyo elde etme oranı %0.66 olarak hesaplanmıştır. F1 popülasyonundan, toplam 6000 adet anter kültüre alınmış, 13 anterden 16 adet embriyo elde edilmiş ve anterlerden oluşan embriyo oranı %0.26 olmuştur. F2 popülasyonunda, toplamda 12045 adet anter kültüre alınmış, 292 anterden 607 adet embriyo elde edilmiş ve embriyo oluşturma oranı %5.27 olarak kaydedilmiştir. 253A ana ebeveyn olarak kullanıldığında, GM1 popülasyonunda, kültüre alınan 5660 adet anterden 309 adet anter embriyo oluşturmuş, elde edilen embriyo sayısı 515 adet ve embriyo oranı ise %9.34 olmuştur. PI 159236'nın ana ebeveyn olarak kullanıldığında oluşturulan GM1 popülasyonunda ise, 3130 adet anter kültüre alınmış ve bunlardan yalnızca 52 tanesi embriyo oluşturmuştur. Bu popülasyonda elde edilen embriyo sayısı 91 adet ve embriyo oluşturma oranı ise %2.97'dir.

- İnan3363 ve PI 159236'dan ebeveyn olarak 150 adet anter kültüre alınmış, İnan3363'den kültüre alınan anterlerden 37 tanesinde embriyo indüksiyonu gerçekleşmiş ve toplamda 72 adet embriyo oluşmuştur. Anterlerden oluşan embriyo oranı %48 olmuştur. PI 159236'da anterden embriyo elde etme oranı %0.66'dır. F1 popülasyonundan toplam 5000 adet anter kültüre alınmış, 13 anterden 16 adet embriyo elde edilmiş ve anterlerden oluşan embriyo oranı %0.24 olarak hesaplanmıştır. F2 popülasyonunda toplamda 13695 adet anter kültüre alınmış, 564 anterden 891 adet embriyo elde edilmiş ve embriyo oluşturma oranı %6.3 olarak kaydedilmiştir. İnan3363 ana ebeveyn olarak kullanıldığında, GM1 popülasyonunda kültüre alınan 9735 adet anterden 457 adet anter embriyo oluşturmuş, elde edilen embriyo sayısı 789 adet ve embriyo oranı ise %8.52

olmuştur. PI 159236'nın ana ebeveyn olarak kullanıldığı GM1 popülasyonunda ise 3125 adet anter kültüre alınmış ve bunlardan 66 tanesi embriyo oluşturmuştur. Bu popülasyonda elde edilen embriyo sayısı 140 adet ve embriyo oluşturma oranı ise %4.21'dir.

- Farklı türler, tür içindeki farklı çeşitler, hatta aynı çeşitteki bireylerin androgenik yetenekleri arasında büyük farklılık bulunmaktadır. Literatüre göre, belirli *Capsicum* türlerinin anter kültürlerinde embriyo oluşturma frekanslarının farklı olduğu bilinmektedir. Kültürü yapılan *C. annuum*'da *in vitro* androgenesisin etkinliği yüksek olmasına rağmen, diğer *Capsicum* türlerinde androgenesis indüksiyonuna atıfta bulunan araştırmalar, türler arası melezlerin *C. annuum* kadar pozitif sonuçlar vermediğini bildirmektedir. Çalışmada kullanılan *C. annuum*'a ait her iki ebeveynin embriyo verme oranları (sırasıyla 253A %38.6 ve İnan3363 %48) yüksek olmasına rağmen, *C. chinense*'ye ait ebeveynin embriyo verme oranının çok düşük olması, bu literatürleri desteklemektedir. Ayrıca GM1F1 popülasyonlarında, *C. annuum*'un ana ebeveyn olarak kullanıldığında (GM1P1) embriyo verme oranlarının, *C. chinense* ana ebeveyn olarak kullanıldığında (GM1P2) alınan embriyo oranlarından daha yüksek olduğu görülmektedir. Yani, *C. annuum*'un pozitif etkisinden kaynaklanan yüksek androgenesis indüksiyonunun popülasyonlara yansıdığı görülmektedir.

- Çalışmada 253A ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonunda, 138 adet bitki anter kültürü için çalışılmış ve bunlardan 80 tanesi, GM1P1 popülasyonunda 61 bitkiden 52'si ve GM1P2 popülasyonunda ise 36 bitkiden 13 tanesi androgenesise yanıt vermiştir. İnan3363 ve PI 159236 ile oluşturulan popülasyonlarda da F2'de 155 bitkiden 107'si, GM1P1'de 116 bitkiden 85'i ve GM1P2 popülasyonunda ise 35 bitkiden 13'ü androgenesise yanıt vermiştir. Farklı tür, çeşit veya hibritlerde değil, aynı zamanda tek bir çeşitteki bireysel bitkilerde bile androgenik tepki farklı olabilmektedir.

- Çalışmada kullanılan ebeveynler arasında yapılan melezlemelerde, resiprokal F1 melezlerinin bitkilerinde döllenme sonrası bariyerlerinden, hibrit nekrozunun etkisi

sonucu bitkilerde çiçek tomurcukları hiç oluşmamış, çiçek tomurcuğu oluşturanlarda ise sağlıklı çiçek tomurcukları elde edilememiştir. Bu nedenle, resiprokal F1'lerde anter kültürü tekniği uygulanamamıştır.

- Bir popülasyonda ilgili özelliğin kalıtımı, o popülasyonda söz konusu özellikte iyileştirme yapmak için nasıl bir ıslah yöntemi izleneceği konusunda fikir verir. Androgenesis cevabının kalıtımının hesaplanması amacıyla, her iki türe ait ebeveynlerde, F1, F2 ve GM1F1 popülasyonları kullanılarak geniş (h^2_b) ve dar (h^2_n) anlamda kalıtım dereceleri hesaplanmıştır. İnan3363 ve PI 159236 ile oluşturulan popülasyonda geniş anlamda kalıtım derecesi (h^2_b) 0.97; dar anlamda kalıtım derecesi (h^2_n) 0.20; genetik varyans 113.83; eklemeli gen varyansı 23.92; dominans gen varyansı 89.91 ve çevre varyansı ise 3.59 olarak hesaplanmıştır. Özellik üzerindeki çevre varyansı, toplam varyansın yaklaşık olarak %4'ü olarak bulunmuştur. Eklemeli gen etkisi, toplam genetik varyans içerisinde %21 ve dominans gen etkisi ise %79 olarak hesaplanmıştır. 253A ve PI 159236 ile oluşturulan popülasyonda geniş anlamda kalıtım derecesi (h^2_b) 0.96; dar anlamda kalıtım derecesi (h^2_n) 0.65; genetik varyans 91.83; eklemeli gen varyansı 62.71; dominans gen varyansı 29.12 ve çevre varyansı ise 3.49 olarak kaydedilmiştir. Özellik üzerindeki çevre varyansı, toplam varyansın yaklaşık olarak %3'ü olarak bulunmuştur. Eklemeli gen etkisi, toplam genetik varyans içerisinde %68, dominans gen etkisi ise %32 olarak hesaplanmıştır.

- Her iki popülasyonda da, androgenesis özelliğinin kalıtımı üzerindeki çevre varyansı düşük bulunmuştur. Bu durum, özelliğin güçlü bir genetik kontrol altında olduğuna işaret etmektedir.

- İnan3363 x PI 159236 popülasyonunun toplam genetik varyans içerisinde dominans gen etkisinin oranı, eklemeli gen etkisinin oranından daha yüksek bulunurken, aksine 253A x PI 159236 popülasyonunda toplam genetik varyans içerisinde, eklemeli gen etkisinin oranı dominans gen etkisinin oranından daha yüksek olmuştur. Çalışmada ana ebeveyn olarak kullanılan farklı *C. annuum* genotipleri ile baba ebeveyn olarak kullanılan *C. chinense* genotipindeki özelliği

kontrol eden farklı allellerin (genlerin) etki ve etkileşimi neticesinde eklemeli ya da dominans etki oranlarının farklı oluşu olası bir durumdur. Eklemeli ya da dominans gen varyanslarının genetik varyans içerisindeki etkileri, androgenesise cevap veren ve cevap vermeyen genotiplerin aynı türden seçilerek, oluşturulacak popülasyonlardan allelizm testi yapılarak daha iyi anlaşılabilir. Sonuçlar ayrıca İnan3363 X 253A melezlemesinden androgenesis özelliği her iki ebeveynden daha yüksek kültür tipi biber hatlarının da geliştirilebileceğine işaret etmektedir.

- 253A x PI 159236 F2 popülasyonunda dar anlamda kalıtım derecesi, İnan3363 x PI 159236 F2 popülasyonunda hesaplanandan daha yüksek bulunmuştur. 253A x PI 159236 popülasyonda eklemeli gen varyansının yüksek çıkmış olması, dar anlamda kalıtım derecesinin de yüksek bulunmasına neden olmuştur. Eklemeli etkinin anlamlı olması durumunda, erken generasyonlarda yapılan seleksiyon işlemleri ile istenilen karakterlerin aktarılması mümkün olmaktadır. Biberde androgenesis özelliğine ilişkin kalıtım çalışmaları ve dolayısıyla eklemeli ve eklemeli olmayan gen etkilerinin göreceli önemi konusunda çalışmalar bulunmamaktadır. Bir ıslah popülasyonunda bu tür gen etkilerinin tahminleri, hangi ıslah prosedürünün, ilgili özelliklerin performansını etkili bir şekilde geliştireceğini belirlemek için önemlidir. Eklemeli gen etkisi baskın ise, kendilemenin ilk nesilleri boyunca seçim başarılı olacaktır. Öte yandan, eğer herhangi bir eklemeli gen etkisi mevcut değilse, bu etkiler homozigot hatlara sabitlendiğinde sonraki generasyonlarda seçim yapılmalıdır.

- Anter kültürüne cevap verme özelliğinin kalıtımının hesaplanmasında kullanılan her iki F2 popülasyonu bitkilerinden elde edilen embriyo oranlarının muhtemel genetik yapısı, X^2 analizinde “9:3:4 resesif epistasi” hipotezine göre analiz edilmiştir. Bu hipoteze göre; resesif gen homozigot olduğunda, dominant gen etkili olmamakta, ancak resesif gen homozigot değilse, bir dominant gen diğer dominant genin etkisini değiştirmektedir (modifikatör gen etkisi). Resesif homozigot aaB- genotipinde B- geninin bir etkisi olmadığından aa allelleri, B-genine karşı epistatiktir. X^2 analizi, 9:3:4 genetik oranının en uygun model olduğunu

göstermektedir (İnan3363 x PI 159236 popülasyonu için, $X^2=2.13$, $P=0.343$, $N=155$ ve 253A x PI159236 popülasyonu için $X^2=2.82$, $P=0.243$, $N=138$). Bu oran, resesif epistasiye işaret etmektedir. Embriyo oluşturma oranı, F2 popülasyonlarında embriyo oluşturmama/az sayıda embriyo oluşturma yönünde eğim göstermiştir. Ayrıca GM1F1 popülasyonlarında *C. annuum* ana ebeveyn olduğunda, embriyo veren bitki sayısı ve embriyo oluşturma oranı artarken, *C. chinense* ana ebeveyn olduğunda hem embriyo veren bitki sayısında hem de embriyo oluşturma oranında azalmalar olmuştur. Bu durum biberde androgenesise yanıt vermenin, homozigot resesif gen ve bazı modifiye edici genlerin etkisinde olduğunu göstermektedir.

- Çalışılan popülasyonlarda, ebeveynlerin embriyo oranı ortalamaları İnan3363 için %48, 253A için yaklaşık %37 ve PI 159236 için %0.6'dır. İnan3363 ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonundaki bitkilerden elde edilen embriyo oranları, %0 ile %73 arasında değişmiştir. 253A ve PI 159236 kullanılarak oluşturulan F2 popülasyonundaki bitkilerden elde edilen embriyo oranları ise %0 ile %70 arasında değişmiştir. Bu oranlar, her iki F2 popülasyonunda da transgresif açılımın oluştuğunu göstermektedir.

- Androgenesise cevap verme özelliğini kontrol eden gen sayısı Wright (1968)'a göre; İnan3363 x PI 159236 melezlerinden elde edilen F2 popülasyonundaki 155 bitki için 2.46 gen olarak hesaplanırken, 253A x PI159236 melezlerinden elde edilen F2 popülasyonundaki 138 bitki için 1.96 gen olarak belirlenmiştir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar ışığında;

- *Capsicum* cinsindeki genetik çeşitliliğin artırılması, daha fazla heterotik etki üreten ebeveynlerin oluşturulması ve tanımlanması için parametreler sağlar ve ayrılan kuşaklarda üstün genotiplerin elde edilme olasılığını arttırır. Bu çalışmada *C. annuum* ve *C. chinense* türleri arasında yapılan melezlemelerle, *C. annuum* içerisinde var olan, ancak ıslah sürecinde giderek azalan genetik varyasyon artırılmıştır. Türler arası melezlerden elde edilen bitkiler, gelecek ıslah çalışmaları için çok değerli materyallerdir. Bu çalışma sonucunda daralan biber genetik alt yapısına gen akışı sağlanmış ve varyasyon artırılmıştır. Farklı biber ıslah projeleri

için (heterosis, biyotik/abiyotik streslere dayanıklılık, QTL haritalama, farklı biyokimyasal içeriklere sahip çeşit ıslahı) ihtiyaç duyulan zengin materyal alt yapısı oluşturulduğundan, genetik olarak değerli özellikleri barındıran homozigot hatlar üretilebilir ve ıslah çalışmalarında ebeveyn olarak kullanılabilir.

- Islah programlarında mevcut çeşitliliğin kullanılabilmesi için, karakterizasyon ve değerlendirme ön koşuldur. Çalışmada oluşturulan popülasyonların morfolojik tanımlamaları yapılmıştır. Türler arası melezlemelerden kaynaklanan varyasyon ve heterosisin etkilerinden biber ıslah çalışmalarında faydalanılabilir ve F1 hibrit çeşit ıslahı programları oluşturulabilir. Ülkemiz, biber üretiminde ve taze/dondurulmuş biber ihracatında dünya pazarında söz sahibi ülkeler arasındadır. Mevcut konumunun sürdürülmesi ve lider konuma gelebilmesi, kalitenin ve verimliliğin artırılması ile paralel doğrultuda olacaktır. Ayrıca tüm pazara hâkim olabilmek adına, tüketici istekleri yönünde sürekli bir çeşitlilik gerekmektedir. Islah çalışmaları ile azaltılan çeşitlilik, türler arası melezlemelerden kazandırılan genlerle artırılabilir. Yine yüksek heterosis etkisi ile verim ve kalite artırılabilir. Bu çalışma bulguları, bu yönüyle biber çeşitliliğine ve üretimine katkı sağlarken, aynı zamanda kazanılan yeni özelliklerle biber tüketici talepleri yönlendirilebilir.

- Çalışmada *Capsicum* cinsi içerisinde yer alan, iki farklı türle melezlemeler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, bu iki türün karşılıklı melezlenebildiğini, ancak embriyo aborsiyonu, hibrit zayıflığı veya nekrozu belirtilerine benzeyen döllenme sonrası bariyerlerle karşılaşılabilceğini göstermiştir. Bu konuda detaylı histolojik çalışmalar yapılabilir ve döllenme mekanizmasındaki bu problemler aydınlatılabilir.

- Sürekli olarak yeni ve farklı çeşitlere ihtiyaç duyan bir pazarda, hız ve verimlilik bitki ıslahı için her geçen gün daha önemli özellikler haline gelmektedir. Haploidi teknolojisi genetik ve gelişimsel çalışmaların yanında, ıslah programlarında önemli biyoteknolojik araçlar olan homozigot hatların geliştirilmesi için hızlı bir sistemdir. Bu teknolojinin başarılı bir şekilde uygulandığı genotiplerde, ıslah programları önemli avantajlar elde etmekte ve hedefe ulaşmak için gereken süreyi

kısıltmaktadır. Haploid ve dihaploidlerin güçlü bir ıslah aracı olarak kullanılması, güvenilir ve maliyet etkin doku kültürü deneysel prosedürlerinin bulunmasını gerektirir. Bazı türlerde önemli ilerlemeler kaydedilmiş olmasına rağmen, henüz tüm ürünler için uygun evrensel bir protokol yoktur. Haploid ve dihaploid bitki elde etme yöntemlerinden biri olan androgenesis, biberde uygulanmakta ve belli oranlarda haploid bitkiler elde edilmektedir. Ancak androgenesise cevap verme özelliği, birçok faktör tarafından etkilenmekte ve genotip etkisi bunların başında gelmektedir. Androgenesis yanıtı, kültür koşulları ayarlanarak ya da anter donör materyali genetik olarak iyileştirilerek geliştirilebilir. Anter kültürüne yanıt verme özelliğinin yanıt vermeyen ıslah materyaline aktarılması, birçok kültür koşulunu test etmekten çok daha kolaydır. Androgenesis özelliği, kalıtılabilir bir özellik olarak farklı türlerde çalışılmıştır. Ancak biberde bugüne kadar, bu özelliğin kalıtım kalıpları ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışma sonunda biberde androgenesis özelliğinin iki genle kontrol edildiği ve kalıtım tahminleri sonucuna göre bu özelliğin kalıtımında çevre varyansının oldukça düşük olduğu, özelliğin güçlü bir genetik etki altında olduğu, eklemeli ve dominans etkilerin bulunduğu, androgenesis cevabının homozigot resesif gen ve bazı modifiye edici genlerin etkisinde olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, biberde androgenesis özelliğinin kalıtımı ile ilgili şu ana kadar sunulan ilk ve tek bilgiler olması yönüyle çok değerlidir ve bilimsel literatüre ışık tutacak niteliktedir. Bu özelliğin kalıtım kalıplarının anlaşılmasıyla, biber ıslah sürecine önemli bir katkı sağlanmıştır. Özelliğin etkin kullanımı ile düşük maliyetli ve sürdürülebilir yöntemlerle biber ıslahı hız kazanacak, aynı zamanda çevre dostu bir şekilde verimlilik ve kalite artırılmış olacaktır.

- Bu çalışma sonucunda elde edilen bilgiler temelinde, biberde androgenesise tepki özelliği genetik olarak haritalanabilir ve özelliği kontrol eden genlere bağlı moleküler markırlar geliştirilebilir. Bu da bu özelliğin cevap vermeyen diğer türlere aktarılmasının sağlanabilmesi anlamına gelmektedir.



KAYNAKLAR

- Abak, K., 1983. Biberde (*Capsicum annuum* L.) anter kültürü yoluyla haploid bitki elde etme üzerinde araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı. Cilt: 33, Fasikül 1-2-3-4'den ayrı basım, 155-163.
- Afele, J.C., and Kannenberg, L.W., 1990. Genetic studies of corn (*Zea miz* L.) anther culture response. Theor. Appl. Genet., 80:459-464.
- Agache, S., Bachelie, B., De Buyser, J., Henry, Y., and Snape., J., 1989. Genetic analysis of anther culture response in wheat using aneuploid chromosome substitution and translocation lines. Theor. Appl. Genet., 77:7-11.
- Aktaş, H., Abak, K., and Şensoy, S., 2009.Genetic diversity in some Turkish pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes revealed by AFLP analyses. African Journal of Biotechnology, 8(18): 4378-4386.
- Akyol, B., Işık, D., İlbi, H., and Gürel, A., 2016. Effect of plant growth regulators in anther cultures of different pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. Radovi Poljoprivrednog Fakulteta Univerziteta u Sarajevu (Works of the Faculty of Agriculture University of Sarajevo), 61, 66(1):189-192.
- Allard, R.W., 1960. Principles of plant breeding. John Wiley & Sons, New York.
- Alremi, F., Taşkın,H., Sönmez,K., Büyükalaca, S., ve Ellialtıoğlu Ş., 2014. Biber (*Capsicum annuum* L.)'de Genotip ve Besin Ortamının Anter Kültürüne Etkileri. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 1(2):108-116.
- Andrews, J., (1985). Peppers. The Domesticated Capsicum. University. of Texas Pres, Box 7819 Austin, Texas 78713.
- Aniel Kumar, O., Panda, R.C., and Raja Rao, K.G., 1987.Cytogenetic studies of the F1 hybrids of *Capsicum annuum* with *C. chinense* and *C. baccatum*. Theor. Appl. Genet., 74(2):242-246.
- Anonymous, 1983. Report on a single case of foot-and-mouth disease on the island of Funen, Denmark, January 1983. Copenhagen: Danish Veterinary

- Service and State Veterinary Institute for Virus Research.
- Anonymous, 1995. Descriptors for *Capsicum* (*Capsicum* spp.). IPGRI, Italy.
- Anonymous, 1999. Tohumluk Standartları ve Uygulama Esasları.T.C.Tarım ve Köyişleri B. Koruma ve Kontrol Genel Müd. Ankara
- Arnedo Andres, M.S., Garcel, C.A., Esteban, C.J., Peiro, A.J.L., Palazon, C., Luis Arteaga, M., and Gil Ortega, R., 2004.Application of anther culture and molecular markers to a pepper breeding program for diseases resistance. *Capsicum Eggplant Newsl.*, 23:105-108.
- As-Claver, A.G., Gil-Ortega, R., Alvarez-Fernandez, A.A., and Arnedo-Andreas, M.S., 2007. Inheritance of Capsaicin and Dihydrocapsaicin, Determined by HPLC-ESI/MS, in an Intraspecific Cross of *Capsicum annuum* L. *J. Agric. Food Chem.*, 55:6951-6957.
- Asif, M., 2013. Applications and Uses of Haploids. Progress and Opportunities of Doubled Haploid Production. Springer Briefs in Plant Science, vol 6, Springer, Heidelberg, pp. 55-70.
- Ata, A., 2011.Biberlerde (*Capsicum annuum* L.) anter kültüründe mevsim etkisi ve mikrospor gelişimi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, s. 89.
- Ata, A., Keleş, D., Taşkın, H., and Büyükalaca, S., 2018. Effects of season, genotype, and nutrient medium on pepper anther culture and microspore development. *Turk. J. Agric. For.*, 43:123-137.
- Atanassov, A., Zagorska, N., Boyadjiev, P., and Djilianov, D., 1995. In vitro production of haploid plants. *World J. Microbiol Biotechnol.*, 11:400-408.
- Baral, J.B., and Bosland, P.W., 2004. Unraveling the Species Dilemma in *Capsicum frutescens* and *C.chinense* (*Solanaceae*): A Multiple Evidence Approach Using Morphology, Molecular Analysis, and Sexual Compatibility. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 129(6):826-832.
- _____, and Bosland, P.W., 2007.‘Bhut Jolokia’-The World’s Hottest Known Chile Pepper is a Putative Naturally Occurring Interspecific Hybrid.

Hortscience, 42(2):222-224.

- Barroso, P.A., Rêgo, M.M., Rêgo, E.R., and Soares, W.S., 2015. Embryogenesis in the anthers of different ornamental pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes. *Genetics and Molecular Research*, 14(4):13349-13363.
- Ben-Chaim, A., Paran, I., 2000. Genetic analysis of quantitative traits in pepper (*Capsicum annuum*). *J. AMER. SOC. HORT. SCI.* 125(1):66–70.
- Ben Chaim, A., Borovsky, E., Rao, G.U., Tanyolac, B., and Paran, I., 2003. *fs3.1*: a major fruit shape QTL conserved in *Capsicum*. *Genome*, 46:1-9.
- _____, A., Brodsky, Y., Falise, M., Mazourek, M., Kang, B.C., Paran, I., and Jahn, M., 2006. QTL analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. *Theor. Appl. Genet.*, 113:1481-1490.
- Bento, C.S., Rodrigues, R., Gonçalves, L.S.A., Oliveira, H.S., Santos, M.H., Pontes, M.C. and Sudré, C.P., 2013. Inheritance of resistance to Pepper yellow mosaic virus in *Capsicum baccatum* var. Pendulum. *Genetics and Molecular Research* 12 (2): 1074-1082
- Bento, C.S., Rodrigues, R., Sudré, C.P., Medeiros, A.M., Mathias, V., and Gonçalves, L.S.A., 2016. Determining the inheritance of agronomic traits in chili pepper. *Horticultura Brasileira*, 34:367-373.
- Blat, S.F., Costa, C.P., Vencovsky, R., Sala, F.C., 2006. Hot pepper (*Capsicum chinense*, Jacq.) inheritance of reaction to powdery mildew. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, v.63, n.5, p.471-474.
- Bnejdi, F., Saadoun, M., Allagui, M.B., and El Gazzah, M., 2009. *Epistasis and heritability of resistance to Phytophthora nicotianae* in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Euphytica*, 167:39-44.
- Bomblies, K., and Weigel, D., 2007. Hybrid necrosis: autoimmunity as a potential gene-flow barrier in plant species. *Nat Rev Genet.*, 8(5):382-393.
- Borovsky, Y., and Paran, I., 2011. Characterization of *fs10.1*, a major QTL controlling fruit elongation in *Capsicum*. *Theor. Appl. Genet.*, 123:657-665.

- Bosland, P.W., 1996. Capsicums: Innovative uses of an ancient crop (J. Janick editor). Progress in new crops. Arlington, ASHS Press, pp. 479-487.
- _____, and Votava, E., 1999. Peppers: Vegetable and Spice Capsicums. United Kingdom, CAB International, p. 230.
- Bozokalfa, M.K., Eşiyok, D., and Turhan, K., 2009. Patterns of phenotypic variation in a germplasm collection of pepper (*Capsicum annuum* L.) from Turkey. Spanish Journal of Agricultural Science, 7(1):83-95.
- _____, and Eşiyok, D., 2010. Biber (*Capsicum annuum* L.) Aksesyonlarında Genetik Çeşitliliğin Agronomik Özellikler İle Belirlenmesi. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 47(2):123-134.
- Buyukalaca, S., Comlekcioglu, N., Abak, K., Ekbic, N., and Kilic, N., 2004. Effect of silver nitrate and donor plant growing conditions on production of pepper (*Capsicum annuum* L.) haploid embryos via antherculture. Europ. J. Hort. Sci., 69(5):206-209.
- Campos, K.P., Pereira, T.N.S., Costa, F.R., Sudré, C.P., Monteiro, C.E.S., and Rodrigues, R., 2006. Interspecific hybridization among cultivated germplasm in *Capsicum*. 17th International Pepper Conference, Naples, Florida, p. 20.
- Caranta, C., Palloix, A., 1996. Both common and specific genetic factors are involved in polygenic resistance of pepper to several potyviruses. Theor. Appl. Genet. 92:15-20.
- _____, Lefebvre, V., and Palloix, A., 1997a. Polygenic resistance of pepper to potyviruses consists of a combination of isolate specific and broad spectrum quantitative trait loci. Mol. Plant-Microbe Interactions, 10:872–878.
- _____, Palloix, A., and Lefebvre, V., 1997b. QTLs for a component of partial resistance to cucumber mosaic virus in pepper: restriction of virus installation in host-cell. Theor. Appl. Genet., 94:431-438.
- _____, Pflieger, S., Lefebvre, V., Daubeze, A.M., Thabuis, A., and Palloix, A.,

2002. QTLs involved in the restriction of cucumber mosaic virus (CMV) long-distance movement in pepper. *Theor. Appl. Genet.*, 104:586-591.
- Casali, V.W.D., 1970. Cruzamentos interespecíficos no gênero *Capsicum*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, p. 58.
- Chambonnet, D., 1988. Production of haploid pepper plants. Bulletin interne de la station d'Amelioration des Plantes Maraicheres d'Avignon-Montfavet, France, pp. 1-10.
- Chen, X.W., Cistué, L., Muñoz-Amatriaín, M., Sanz, M., Romagosa, I., Castillo, A.M., and Vallés, M.P., 2007. Genetic markers for doubled haploid response in barley. *Euphytica*, 158(3):287-294.
- Choo, T.M., 1982. Doubled Haploids for Studying the Inheritance of Quantitative Characters. *Genetics*, 99:525-540.
- Conicella, C., Errico, A., and Saccardo, F., 1990. Cytogenetic and isozyme studies of wild and cultivated *Capsicum annuum*. *Genome*, 33:279-282.
- Costa, F.R., Pereira, T.N.S., Sudré, C.P., and Rodrigues, R., 2009. RAPD markers and morpho-agronomic characters determination of genetic diversity between accessions of pimentes and pimentões. *Cienc. Rural*, 39:696-704.
- Costa, M.P.S.D., Rêgo, M.M., Da Silva, A.P.G., Rêgo, E.R., and Barroso, P.A., 2016. Characterization and genetic diversity of pepper (*Capsicum* spp) parents and interspecific hybrids. *Genetics and Molecular Research*, 15(2), doi: 10.4238/gmr.15027652.
- Çömlekçioglu, N., Büyükalaca, S., and Abak, K., 1999. Şanlıurfa ve Kahramanmaraş biber populasyonlarında anter kültürü yöntemiyle haploid bitki elde etme olanakları. Türkiye III, Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 14-17 Eylül 1999, Ankara, Türkiye, s. 97-901.
- Comlekcioglu, N., Buyukalaca, S., and Abak, K., 2001. Effect of silver nitrate on haploid embryo induction by anther culture in pepper (*Capsicum annuum*). Proc. of the XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant, 9-13 April 2001, Antalya, Turkey, pp. 133-135.

- Çömlekçioğlu, N., and Ellialtıoğlu, Ş., 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.
- Daskalov, S., and Poulos, J.M., 1994. Updated *Capsicum* gene list. Capsicum Eggplant Newslett., 13:15-26.
- Datta, S., and Das, L., 2013. Characterization and Genetic Variability Analysis in *Capsicum annuum* L. Germplasm. SAARC J. Agri., 11(1):91-103.
- Djian-Caporalino, C., Lefebvre, V., Sage-Daubeze, A.M., and Palloix, A., 2006. *Capsicum*. Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement: Vegetable crops, Vol. 3. Boca Raton, CRC Press, Taylor & Francis.
- Dogimont, C., Palloix, A., Daubze, A.M., Marchoux, G., Gebre-Selassie, k., Pochard, E., 1996. Genetic analysis of broad spectrum resistance to potyviruses using doubled haploid lines of pepper (*Capsicum annuum* L.). Euphytica 88:231-239
- Dolcet-Sanjuan, R., Claveria, E., and Huerta, A., 1997. Androgenesis in *Capsicum annuum* L.-effects of carbohydrate and carbon dioxide enrichment. J. Amer. Soc. Hortic. Sci., 122:468-475.
- 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.
- Dunwell, J.M., 2010. Haploids in flowering plants: origins and exploitation. Plant Biotechnology Journal, 8:377-424.
- Elgharhy, H.A.S., and Refaat, H., 2008. Nematode Resistance In Pepper (*Capsicum annuum* L.). Egypt. J. Genet. Cytol., 37:223-237.
- Ellialtıoğlu, Ş., Kaplan, F., and Abak, K., 2001. The effect of carrot extract and activated charcoal on the androgenesis of pepper. Proc. of the XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant,

- 9-13 April 2001, Antalya, Turkey, pp. 142-145.
- _____, ve Tıpırdamaz, R., 2002. Soğuk Uygulamaları ve Aktif Kömürün Biberde (*Capsicum annuum* L.) Anter Kültürü Süresince Absisik Asit Miktarındaki Değişim Üzerine Etkisi. Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 15(1):9-18.
- _____, Sarı, N., ve Abak, K., 2002. Bitki Biyoteknolojisi (M. Babaloğlu, E. Gürel ve S. Özcan editörleri). Bitki Biyoteknolojisi I. Doku Kültürü ve Uygulamaları. Konya, S.Ü. Vakfı Yayınları, s. 137-189.
- Falconer, D.S., 1989. Introduction to quantitative genetics. Longman Scientific and Technical, p. 438.
- Falusi, O.A., and Morakinyo, J.A., 1994. Intra and interspecific hybridization in the Genus '*Capsicum*'. African Crop Science Journal, 2(2):169-171.
- FAOSTAT, 2017. <http://www.fao.org/faostat/en/>.
- Forster, B.P., Thomas, W.T.B., 2005. Doubled haploids in genetics and plant breeding. Plant Breed. Rev., 25:57-88.
- _____, Heberle-Bors, E., Kasha, J.K., and Touraev, A., 2007. The resurgence of haploids in higher plants. Trends in Plant Science, 12(8): 368-375.
- Foroughi-Wehr, B., Friedt, W. and Wenzel, G. 1982. On the genetic improvement of androgenetic haploid formation in *Hordeum vulgate* L. Theor. Appl. Genet. 62, 233-239.
- Gebhardt, C. 2016. The historical role of species from the Solanaceae plant family in genetic research. Theor Appl Genet 129:2281–2294
- Genç, İ., ve Yağbasanlar, T., 1992. Bitki Islahı. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, Genel Yayın No: 59. Kitap Yayın No:A-13.
- Geleta, N., Daba, C., and Gebeyehu, S., 2004. Determination of plant proportion and planting time in maize-climbing bean intercropping system. Proc. 10th Annual Conference of the Crop Science Society of Ethiopia. pp. 176-182.
- Geleta, L.F., Labuschagne, M.T., Viljoen, and C.D., 2005. Genetic variability in pepper (*Capsicum annuum* L.) estimated by morphological data and

- amplified fragment length polymorphism markers. *Biodiversity and Conservation*, 14:2361-2375.
- _____, and Labuschagne, M.T., 2006. Combining ability and heritability for vitamin C and total soluble solids in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(9):1317-1320.
- Gemesne Juhasz, A., Petus, M., Venzcel, H., Sági, Z.S., and Zatykó, L., 2001. Colchicine, an efficient genome doubling agent for anther derived haploid paprika (*Capsicum annuum* L.) plants. Proc. of the XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant, 9-13 April 2001, Antalya, Turkey, pp. 146-151.
- George L., and Narayanaswamy, S., 1973. Haploid capsicum through experimental androgenesis. *Protoplasma*, 78:467-470.
- Germana, M.A., 2011a. Gametic embryogenesis and haploid technology as valuable support to plant breeding. *Plant Cell Rep.*, 30:839-857.
- Germana, M.A., 2011b. Anther culture for haploid and doubled haploid production. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.*, 104:283-300.
- Gómez-Guillamón, M.L., and Cuartero, J., 1987. Inheritance of vegetative characters in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Agronomie, EDP Sciences*, 17(4), 271-277.
- Göçmen, M., 2006. Biberlerde *Phytophthora capsici*'ye Karşı Dayanıklılıkta Genotip X İzolat İnteraksiyonu ve Farklı Dayanıklılık Kaynaklarının Karakterizasyonu. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Greenleaf W.H., 1956. Inheritance of resistance to tobacco-etch virus in *Capsicum frutescens* and in *Capsicum annuum*. *Phytopathology*, 46:371-375.
- _____, 1986. Pepper Breeding (M.J. Bassett editor), *Breeding Vegetable Crops*. Westport, CT, Avi Publishing Company, pp. 67-134.
- Grozeva, S., Todorova, V., Cholakov, T., and Rodeva, V., 2013. Effect of temperature and growth period of donor plants on pepper anther culture.

- Proceeding of the Fourth International Conference, Lozenec, Bulgaria, Volume 1, pp. 60-64.
- Grubben, G.J.H., 1977. Tropical Vegetables and their Resources. IBPGR, Rome, Italy, p. 197.
- Guha, S., and Maheswari, S.C., 1964. *In vitro* production of embryos from anthers of datura. Nature, 204:497.
- Hao, X., Chen, C., Chen, G., Cao, B., Chen, Q., and Lei, J., 2012. Isolation and characterization of CaMF3, an anther-specific gene in *Capsicum annuum* L. Genetics and Molecular Biology, 35(4):810-817.
- Hagemann, R., 2010. The foundation of extranuclear inheritance: plastid and mitochondrial genetics. Mol. Genet. Genomics., 283:199-209.
- Harn, C., Kim, M.Z., Choi, K.T., and Lee, Y.I., 1975. Production of haploid callus and embryoid from the cultured anther of *Capsicum annuum*. Sabrao J., 7:71-77.
- Hawkes, J.G., 1983. The diversity of crop plants. Harvard University Press, Cambridge, Mass. 184 p.
- He, P., Chen, Y., Shen, Y., Lu, C., and Zhu, L., 1997. Inheritance of callus induction ability in rice anther culture. Chinese Science Bulletin, 42(14):1209-1211.
- Hecht, V., Vielle-Calzada, J.P., Hartog, M.V., Schmidt, E.D., Boutilier, K., Grossniklaus, U., and De Vries, S.C., 2001. The *Arabidopsis* somatic embryogenesis receptor kinase 1 gene is expressed in developing ovules and embryos and enhances embryogenic competence in culture. Plant Physiol., 127:803-816.
- Heidari, A.Ak., Shariatpanahi, M.E., Mousavi, A., and Kalatejari, S., 2017. Efficient androgenic embryo induction and plant regeneration in different genotypes of sweet pepper via anther culture. Journal Of Pure And Applied Microbiology, Vol. 11(1), p. 23-29
- Heiser, C.B.Jr., 1976. Peppers (N. W. Simmonds editor). Evolution of Crop

- Plants. Logman Sci. & Tech. Report, pp. 265-268.
- Holmes, F.O., 1937. Inheritance of resistance to tobacco mosaic disease in the pepper. *Phytopathology*, 27:637-642.
- Hossain, M.A., Minami, M., and Nemoto, K., 2003. Immature Embryo Culture and Interspecific Hybridization between *Capsicum annuum* L. and *C. frutescens* L. via Embryo Rescue. *Japanese Journal of Tropical Agriculture*, 47(1):9-16.
- Hou, L., Ullrich, S. E., and Kleinhofs, A., 1994. Inheritance of Anther Culture Traits in Barley. *Crop Science*, 34:1243-1247.
- Hurtado-Hernandez, H., and Smith, P.G., 1985. Inheritance of mature fruit color in *Capsicum annuum* L. *J. Hered.*, 76:211-213.
- IBPGR, 1983. Genetic resources of *Capsicum*, IBPGR Secretariat, Rome, s. 49.
- Irikova, T., and Denev, I., 2008. Identification of Two Embryogenesis-Related Genes in Sweet Pepper (*Capsicum annuum* L.) Genome. *Comptes Rendus de l'Académie Bulgare des Sciences*, 61(6).
- _____, Grozeva, S., and Rodeva, V., 2011. Anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.) *in vitro*. *Acta Physiol. Plant*, 33:1559-1570.
- _____, Kintzios, S., Grozeva, S., and Rodeva, V., 2016. Pepper (*Capsicum annuum* L.) anther culture: fundamental research and practical applications. *Turk. J. Biol.*, 40:719-726.
- İnce, A.G., Karaca, M., and Onus, A.N., 2009. Genetic Relationships within and between *Capsicum* Species. *Biochem. Genet.*, 48:83-95.
- Jansky, S., 2006. Overcoming hybridization barriers in potato. *Plant Breeding* 125, 1-12.
- Jedrzejczyk, I., Kisiala, A., Olszewska, D., and Nowaczyk, P., 2007. Haploid formation through androgenesis and polyembryony in cultivated and wild genotypes of *Capsicum* genus. *Proceedings of the XIIIth EUCARPIA Meeting*. Chapter: Haploid formation through androgenesis and polyembryony in cultivated and wild genotypes of *Capsicum* genus,

pp.377-384.

- Johnson, H.W., Robinson, H.F., and Comstock, R.E., 1955. Estimates of genetic and environmental variability in soyabean. *Agronomy J.*, 47:314-318.
- Joshi, S., 1990. Genetics of six quantitative traits in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Capsicum Newsletter*, 8-9:26-27.
- Joshi, A.K., and Nabi, A., 2018. Genetics of Inheritance of growth, yield and male sterility in *Capsicum annuum* L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1):1682-1688.
- Kaiser, S., 1935. The factors governing shape and size in *Capsicum* fruits: A genetic and developmental analysis. *Torrey Bot. Club. Bul.*, 62:433-454.
- Kang, B.C., Nahm, S.H., Huh, J.H., Yoo, H.S., Yu, J.W., Lee, M.H., and Kim, B.D., 2001. An interspecific (*Capsicum annuum* × *C. chinense*) F2 linkage map in pepper using RFLP and AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.*, 102:531-539.
- Karaağaç, O., ve Balkaya, A., 2010. Bafra Kırmızı Biber Popülasyonlarının [*Capsicum annuum* L. var. *conoides* (Mill.) Irish] Tanımlanması ve Mevcut Varyasyonun Değerlendirilmesi. *Anadolu Tarım Bilim. Derg.*, 25(1):10-20.
- Kargbo, A., and Wang, C., 2010. Complex traits mapping using introgression lines in pepper (*Capsicum annuum*). *African Journal of Agricultural Research*, 5(8):725-731.
- Keleş, D., 2007. Farklı Biber Genotiplerinin Karakterizasyonu ve Düşük Sıcaklığa Tolerans. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- _____, Pinar, H., Taşkin, H., and Büyükalaca, S., 2016. Comparison of pepper genotypes originated from Turkey and the other countries for anther culture response. *Proceedings of XVIth EUCARPIA Capsicum and Eggplant Working Group Meeting, Kecskemet, Hungary*, pp. 275-281.
- Khalf-Allah, A.M., Abdel Al, Z.E., and Gad, A.A., 1975. Inheritance and gene action for yield in peppers (*Capsicum annuum* L.). *Egyptian Journal of*

- Genetics and Cytology, 4(2):287-296.
- Khambanonda, I., 1950. Quantitative inheritance of fruit size in red pepper (*Capsicum frutescens* L.) Genetics, 35:322-343.
- Khereba, A.H., Gharib, A.A., Mahmoud, S.M., Ahmed, Y.M., and El Sayed, A.A., 2008. A study on the combining ability in chilli pepper (*Capsicum annuum* L. and *Capsicum chinense* Jacq.) using line x tester analysis. Bulletin of Faculty of Agriculture Cairo University, 59(2):116-122.
- Kim, B.D., Kang, B.C., Nam, S.H., Kim, B.S., Kim, N.S., Lee, M. H., and Ha, K. S., 1997. Construction of a molecular linkage map and development of a molecular breeding technique. Journal of Plant Biology, 40(3):156-163.
- Kim, M., Kim, J., Yoon, M., Choi, D., and Lee, K.M., 2004. Origin of multicellular pollen and pollen embryos in cultured anthers of pepper (*Capsicum annuum*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 77:63-72.
- _____, Jang, I.C., Kim, J.A., Park, E.J., Yoon, M., and Lee, Y., 2008. Embryogenesis and plant regeneration of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) through isolated microspore culture. Plant Cell Rep., 27:425-434.
- Klug, W.S., and Cummings, M.R., 2000. Concepts of Genetics. 6th Edition, Prentice Hall.
- Koleva-Gudeva, L.R., Spasenovski, M., and Trajkova, F., 2007. Somatic embryogenesis in pepper anther culture: The effect of incubation treatments and different media. Sci. Horticulture, 111:114-119.
- _____, Trajkova, F., Dimeska, G., and Spasenovski, M., 2009. Androgenesis efficiency in anther culture of pepper (*Capsicum annuum* L.). Acta Horticulture, pp.183-190.
- Krishna, C.U., Madalageri, M.B., Patil, M.P., Mulage, R., Kotikal, Y.K., 2007. Variability studies in green chilli (*Capsicum annuum* L.). Karnataka Journal on Agricultural Sciences. 2007; 20(1):102-104.
- Krishnamurthy, S.L., Madhavi Reddy, K., and Mohan Rao, A., 2013. Genetic variation, path and correlation analysis in crosses among Indian and

- Taiwan parents in chilli. *Vegetable Science*, 40(2):210-213.
- Kristiansen, K., and Andersen, S.B., 1993. Effects of donor plant temperature, photoperiod, and age on anther culture response of *Capsicum annuum* L. *Euphytica*, 67(1-2):105-109.
- Kurt, O., 2001. Bitki Islahı. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ders Kitabı Yayın No: 43.
- Lee, Y., Chae, K., Ha, J., Lee, J.S, Jang, I.C., Jeong, S., Kim, M., and Yoon, M., 2009. A novel stress-related gene in developing pepper anthers. *Russian Journal of Plant Physiology*, 56(5):654-662.
- Lee, J., Lee, W.P., Kang, B-C., and Yoon, J.B., 2012. Inheritance of Resistance to Phytophthora Root Rot in Chili Pepper Depending on Inoculum Density and Parental Genotypes. *Kor. J. Breed. Sci.* 44(4):503-509
- Lefebvre, V., Palloix, A., and Rives, M., 1993. Nuclear RFLP between pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.). *Euphytica*, 71:189-199.
- _____, Palloix, A., Caranta, C., and Pochard, E., 1995. Construction of an intraspecific integrated linkage map of pepper using molecular markers and double haploid progenies. *Genome*, 38:112-121.
- _____, and Palloix, A., 1996. Both epistatic and additive effects of QTLs are involved in polygenic-induced resistance to disease: a case study, the interaction pepper-*Phytophthora capsici* Leon. *Theor. Appl. Genet.*, 94:503-511.
- _____, Kuntz, M., Camara, B., Palloix, A., 1997. The capsanthin-capsorubin synthase gene: A candidate gene for the y locus controlling the red fruit colour in pepper. *Plant Molecular Biology*. 36(5):785-789.
- _____, Goffinet, B., Chauvet, J.C., Caromel, B., Signoret, P., Brand, R., Palloix, A., 2001. Evaluation of genetic distances between pepper inbred lines for cultivar protection purposes: Comparison of AFLP, RAPD and phenotypic data. *Theoretical and Applied Genetics*. 102(5):741-750.

- _____, Daubeze, A.M., Rouppe, V.D., Voort, J., Peleman, J., Bardin, M., and Palloix, A., 2003. QTLs for resistance to powdery mildew in pepper under natural and artificial infections. *Theor. Appl. Genet.*, 107:661-666.
- _____, 2004. Molecular Markers for Genetics and Breeding: Development and Use in Pepper (*Capsicum* spp.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, 55:198-214.
- Lippert, L.F., Bergh, B.O., and Smith, P.G., 1965. Gene list for pepper. *J. Hered.*, 56:30-34.
- _____, Smith, P.G., and Bergh, B.O., 1966. Cytogenetics of the vegetable crops. Garden pepper, *Capsicum*. *Bot. Rev.*, 32:24-55.
- Liu, F., Zhao, H., Chen, B., and Zhang, Y.Y., 2007. Embryogenesis of microspore derived multicells in *Capsicum annuum* L. *Journal of Molecular Cell Biology*, 40(6):371-379.
- Livingstone, K.D., Lackney, V.K., Blauth, J.R., Wijk, R.V., and Jahn, M.K., 1999. Genome Mapping in *Capsicum* and the Evolution of Genome Structure in the Solanaceae. *Genetics*, 152:1183-1202.
- Ltifi, A., and Wenzel, G., 1994. Anther culture of hot and sweet pepper (*Capsicum annuum* L.): Influence of genotype and plant growth temperature. *Capsicum Eggplant Newsl.*, 13:74-77.
- Maga, J.A., 1975. *Capsicum*. *Crit Rev. Food. Sci. Nutr.*, 6:177-199.
- Maluszynski, M., Szarejko, I., Barriga, P., and Balcerzyk, A., 2001. Heterosis in crop mutant crosses and production of high yielding lines using doubled haploid systems. *Euphytica*, 120:387-398.
- Manu, D.G., Tembhurne, B.V., Kisan, B., Aswathnarayana, D.S., and Diwan, J.R., 2014. Inheritance of *Fusarium* wilt and Qualitative and Quantitative Characters in Chilli (*Capsicum annuum* L). *Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 3(2):433-444.
- Marame, F., Dessalegne, L., Fininsa, C., and Sigvald, R., 2009. Heterosis and heritability in crosses among Asian and Ethiopian parents of hot pepper

- genotypes. *Euphytica*, 168:235-247.
- Martins, K.C., Pereira, T.N.S., Souza, S.A.M., Rodrigues, R., and Junior, A.T.A., 2015. Crossability and evaluation of incompatibility barriers in crosses between *Capsicum* species. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 15:139-145.
- Moura, M.C.C.L., Gonçalves, L.S.A., Sudré, C.P., and Rodrigues, R., 2010. Gower Algorithm estimates the genetic divergence in pimenta germplasm. *Hort. Bras.*, 28:155-161.
- Mcardle, R.N., and Bouwkamp, J.C., 1983. Inheritance of several fruit characters in *Capsicum annuum* L. *J. Hered.*, 74:125-127.
- Miah, M.A.A., Earle, E.D., and Kush, G.S., 1985. Inheritance of callus formation ability in anther cultures of rice, *Oryza sativa* L. *Theor. Appl. Genet.*, 70:113-116.
- Milkova, L.I., 1977. General and specific combining ability for plant height in a diallel cross of *Capsicum annuum* L. *Genetic I Selektsiya*, 10(40):324-328.
- Mitykó, J., Andrásfalvy, A., Csilléry, G., and Fári, M., 1995. Anther-culture response in different genotypes and F1 hybrids of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Breed*, 114:78-80.
- _____, and Fári, M., 1997. Problems and results of doubled haploid plant production in pepper (*Capsicum annuum* L.) via anther and microscope culture. *Acta Hort.*, 447:281-287.
- Morrison, R.A., Koning, R.E., and Evans, D.A., 1986. Anther culture of an interspecific hybrid of *Capsicum*. *J. Plant. Physiol.*, 126:1-9.
- Murashige, T., and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15:473-497.
- Murigneux, A., Bentolila, S., and Hardy, T., 1994. Genotypic variation of quantitative trait loci controlling *in vitro* androgenesis in maize. *Genome*, 37:970.
- Naegele, R.P., Ashrafi, H., Hill, T.A., Chin-Wo, S.R., Van Deynze, A.E., and

- Hausbeck, M. K., 2014. QTL mapping of fruit rot resistance to the plant pathogen *Phytophthora capsici* in a recombinant inbred line *Capsicum annuum* population. *Phytopathology*, 104:479-483.
- _____, Mitchell, J., Hausbeck, and M.K., 2016. Genetic Diversity, Population Structure and Heritability of Fruit Traits in *Capsicum annuum*. *PLoS One*, 14, 11(7):e0156969. doi: 10.1371/journal.pone.0156969.
- Niklas-Nowak, A., and Nowaczyk, P., 2005. Hybrids of *Capsicum frutescens* L. × *Capsicum annuum* L. as a material for androgenic haploids production. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 47 suppl. 1. XII International Conference on Plant Embryology, September 5-7, Cracow, Poland.
- Nolan, K., Irwanta, R.R., and Rose, R.J., 2003. Auxin-up-regulates MtSERK1 expression in both *Medicago truncatula* root forming and embryogenic cultures. *Plant Physiol.*, 133:218-230.
- Novak, F., 1974. *Capsicum* haploids. *Z. Pflanzenzücht*, 72:46-54.
- Nowaczyk, P., Kisiała, A., and Olszewska, D., 2005. *In vitro* anther culture of *Capsicum frutescens* L. red- and yellow-fruited forms. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 47 suppl. 1. XII International Conference on Plant Embryology, September 5-7, 2005, Cracow, Poland.
- _____, KISIALA, A., OLSZEWSKA, D., (2006) Induced androgenesis of *Capsicum frutescens* L. *Acta Physiol Plant* 28(1):35–39. doi:10.1007/s11738-006-0066-2
- _____, Olszewska, D., and Kisiała, A., 2009a. Individual reaction of *Capsicum* F2 hybrid genotypes in anther cultures. *Euphytica*, 168:225-233.
- _____, Nowaczyk, L., Olszewska, D., and Krupska, A., 2009b. Androgenic response of genotypes selected from *Capsicum annuum* L. x *C. chinense* Jacq. Hybrids. *Acta Physiol. Plant.*, 31:877-879.
- Nowaczyk, L., Nowaczyk, P., and Olszewska, D., 2015. Genetic analysis of anther culture-derived diploids of *Capsicum* spp. 90(6):747-752.

- _____, Nowaczyk, P., and Olszewska, D., 2016. Treating donor plants with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid can increase the effectiveness of induced androgenesis in *Capsicum* spp. *Scientia Horticulturae*, 205: 1-6.
- Nsabiyaera, V., Logose, M., Ochwo-Ssemakula, M., Sseruwagi, P., Gibson, P., and Ojiewo, C., 2013. Morphological Characterization of Local and Exotic Hot Pepper (*Capsicum annuum* L.) Collections in Uganda. *Bioremediation, Biodiversity and Bioavailability*, 7 (1):22-32.
- Olszewska, D., Jedrzejczyk, I., and Nowaczyk, P., 2005. Androgenesis in soft-flesh *Capsicum frutescens* L. genotypes. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 47 suppl. 1. XII International Conference on Plant Embryology, September 5-7, Cracow, Poland.
- _____, Jedrzejczyk, I., and Nowaczyk, P., 2011. Biometrical Assessment of Interspecific Hybrids of *Capsicum* Genus. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 75:21-30.
- _____, Jedrzejczyk, I., Nowaczyk, P., Sendel, S., and Gaczkowska, B., 2015. *In Vitro* Colchicine Treatment Of Anther-Derived Pepper Haploids. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21(4):806-810.
- Oyama, K., Hernandez-Verdugo, S., Sanchez, C., Rodriguez, A.G., Sanchez-Pena, P., Garzon-Tiznado, J.A., and Casas, A., 2006. Genetic structure of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (*Solanaceae*) from northwestern Mexico analyzed by RAPDs. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53(3): 553-562.
- Panayotov, N., Gueorguiev, V., and Ivanova, I., 2000. Characteristics and grouping of F1 pepper (*Capsicum annuum* L.) hybrids on the basis of cluster analysis by morphological characteristics of fruits. *Capsicum Eggplant Newsletter*, 19:62-65.
- Pandian, T.R.S., and Shanmugavelu, K.G., 1992. Combining ability for yield and yield components in chillies (*Capsicum annuum* L.). *South Indian Horticulture*, 48:202-206.

- Paran, I., Van Der Voort, J.R., Lefebvre, V., Jahn, M., Landry, L., Schriek, M.V., Tanyolac, B., Caranta, C., Chaim, A.B., Livingstone, K., Palloix, A., and Peleman, J., 2004. An integrated genetic linkage map of pepper (*Capsicum* spp.). *Molecular Breeding*, 13:251-261.
- Parra-Vega, V., Renau-Morata, B., Sifres, A., and Seguí-Simarro, J.M., 2013a. 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*, 112(3):353-360.
- _____, Gonzalez-Garcia, B., and Seguí-Simarro, J.M., 2013b. Morphological markers to correlate bud and anther development with microsporogenesis and microgametogenesis in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(2):627-633.
- _____, and Seguí-Simarro, J.M., 2016. Anther Culture in Pepper (*Capsicum annuum* L.) (M. Germana, M. Lambardi editors). *In Vitro Embryogenesis in Higher Plants. Methods in Molecular Biology*, Vol 1359. New York, NY, Humana Press.
- Pauk, J., Lantos, C., Somogyi, G., Vagi, P., Abraham, T.Z., Gemes, J.A., Mihaly, R., Kristof, Z., Somogyi, N., and Timar, Z., 2010. Tradition, quality and biotechnology in Hungarian spice pepper (*Capsicum annuum* L.) breeding. *Acta Agron. Hung.* 58(3):259-266.
- Perry, L., Dickau, R., Zarrillo, S., Holst, I., Pearsal, D.M., Piperno, D.R., Berman, M.J., Cooke, R.G., Rademaker, K., Ranere, A.J., Raymond, J.S., Sandweiss, D.H., Scaramelli, F., Tarble, K., and Zeidler, J.A., 2007. Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. *Science*, 315:986-988.
- Peterson, P.A., 1959. Linkage of fruit shape and color genes in *Capsicum*. *Genetics*, 44:407-419.

- Petolino, J.F., Thompson, S.A., 1987. Genetic analysis of anther culture response in maize. *Theor. Appl. Genet.* 76:157-159.
- Pickersgill, B., 1980. Some aspects of interspecific hybridization in *Capsicum*. IVth Meeting of the EUCARPIA *Capsicum* Working Group, 14-16 October 1980, Wageningen, Netherlands.
- _____, 1992. Barriers to interspecific gene exchange in *Capsicum*. VIIIth Meeting "Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant" Rome, Italy, 7-10 September 1992, pp. 57-60
- _____, 1997. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica*, 96:129-133.
- Pınar, H., 2013. Biberde (*Capsicum annuum* L.) Çinko Etkinliğini Kontrol Eden Genlerin Kalıtımının Belirlenmesi ve İlişkili Moleküler Markırların Geliştirilmesi. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Pochard, E., Dumas De Vault, R., and Florent, A., 1983 Linkage between partial resistance to CMV and susceptibility to TMV in the line Perennial: analysis on androgenetic homozygous lines. *Capsicum Eggplant News.*, 2:34-35.
- Portis, E., Acquadro, A., Comino, C., and Lanteri, S., 2004. Effect of farmer's seed selection on genetic variation of landrace population of pepper (*Capsicum annuum* L.), grown in North-west Italy. *Genet. Res. Crop. Evol.*, 51:581-590.
- Powell, W., 1998. Diallel analysis of barley anther culture response. *Genome*, 30:152-157.
- Prince, J.P., Pochard, E., and Tanksley, S.D., 1993. Construction of a molecular linkage map of pepper and a comparison of synteny with tomato. *Genome*, 36:(3):404-417.

- Purkayastha, J., Alam, S.I., Gogoi, H.K., and Singh, L., 2012. *Capsicum assamicum* sp. nov. *Solanaceae*, from Assam, Northeastern India. *Ocean J. App. Sci.*, 5:1.
- Qin, X., and Rotino, G.L., 1993. Anther culture of several sweet and hot pepper genotypes. *Capsicum Eggplant Nwsl.*, 12:59-62.
- Rakoczy-Trovanowska, M., and Malepszy, S., 1995. Genetic factors influencing the regeneration ability of rye (*Secale cereale* L.) II. Immature embryos. *Euphytica*, 83:233-239.
- Ramchiary, N., Kehie, M., Brahma, V., Kumaria, S., and Tandon, P., 2014. Application of genetics and genomics towards *Capsicum* translational research. *Plant Biotechnol Rep.*, 8:101-123.
- Rao, G.U., Chaim, A.B., Borovsky, Y., and Paran, I., 2003. Mapping of yield-related QTLs in pepper in an interspecific cross of *Capsicum annuum* and *C. frutescens*. *Theor. Appl. Genet.*, 106:1457-1466.
- Raquin, C., 1982. Genetic control of embryo production and embryo quality in anther culture of petunia. *Theor. Appl. Genet.*, 63:151-154.
- Rêgo, E.R., Rêgo, M.M., Cruz, C.D., and Finger, F.L., 2009. Diallel study of yield components and fruit quality in chilli pepper (*Capsicum baccatum*). *Euphytica*, 168:275-287.
- _____, Rêgo, M.M., Cruz, C.D., Finger, F.L., Casali, and V.W.D., 2011. Phenotypic diversity, correlation and importance of variables for fruit quality and yield traits in Brazilian peppers (*Capsicum baccatum*). *Genet. Resour. Crop Evol.*, 58:909-918.
- _____, Do, Fortunato, F.L.G., Nascimento, M.F., Nascimento, N.F.F., Rêgo, M.M., and Finger, F.L., 2012. Inheritance for Earliness in Ornamental Peppers (*Capsicum annuum*). *Proc. 7th IS on In Vitro Culture and Horticultural Breeding. Acta Hort*, 961:405-410.
- Riberio, A., and Costa, C.P., 1990. Inheritance of pungency in *Capsicum chinense*

- JACQ. (Solanacea). Rev. Brasil. Genet., 13(4):815-823.
- Rodeva, V.N., Irikova, T.P., and Todorova, V.J., 2004. Anther Culture of Pepper (*Capsicum annuum* L.): Comparative Study on Effect of the Genotype. Biotechnol. & Biotechnol. Eq., 18(3):34-38.
- Rodeva, V., Koleva-Gudeva, L., Grozeva, S., and Trajkova, F., 2007. Obtaining Haploids in Anther Culture of Pepper *Capsicum annuum* L. and Their Inclusion in the Breeding Process. Goce Delcev University–Stip, Faculty of Agriculture. Yearbook 2007, pp:7-18.
- Rudolf, K., Bohanec, B., and Hansen, M., 1999. Microspore culture of white cabbage, *Brassica oleracea* var. *capitata* L.: genetic improvement of non-responsive cultivars and effect of genome doubling agents. Plant Breed., 118:237-241.
- Rodrangboon, P., Pongtongkan, P., Suputtitaba, S. and Adachi, T., 2002. Abnormal embryo development and efficient embryo rescue in interspecific hybrids. Breeding Science 52: 123-129.
- Saccardo, F., and Devreux, M., 1974. *In vitro* production of plantlets from anther culture of *Capsicum annuum* L. Proc. of the EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant, Budapest, Hungary, pp. 45-49.
- Saccardo, F., and Ramulu, K.S., 1977. Cytological investigations in the genus *Capsicum* (E. Pochard editor). *Capsicum 77: Comptes Rendus. Congrès Eucarpia sur la Genetique et la Selection du Piment*, 3, INRA, Avignon-Montfavet. pp. 51-66.
- Santos, R.M.C., Do Rêgo, E.R., Borem, A., Nascimento, M.F., Nascimento, N.F.F., Finger, F.L., and Rêgo, M.M., 2014. Epistasis and inheritance of plant habit and fruit quality traits in ornamental pepper (*Capsicum annuum* L.). Genetics and Molecular Research, 13(4):8876-8887.
- Satarova, T.N., and Cherchel, V.Yu., 2010. Inheritance of matroclinal haploidy in diallel crosses. Maize Genetics Cooperation Newsletter, Vol:84.

- Seguí-Simarro, J.M., Corral-Martínez, P., Parra-Vega, V., and González-García, B., 2011. Androgenesis in recalcitrant solanaceous crops. *Plant Cell Rep.*, 30:765-778.
- _____, 2016. Androgenesis in Solanaceae. *In Vitro Embryogenesis in Higher Plants, Methods in Molecular Biology*, doi: 10.1007/978-1-4939-3061-6_9.
- Sharma, P.P., and Saini, S.S., 1977. Heterosis and combining ability for yield and agronomic characters in pepper. *Vegetable Science*, 4:43-48.
- Shen, Y., Pan, G., and Lübberstedt, T., 2015. Haploid Strategies for Functional Validation of Plant Genes. *Trends Biotechnol.*, 33(10):611-620.
- Shmykova, N.A., Pyshnaya, O.N., Shumilina, D.V., and Dzhos, E.A., 2014. Morphological Characteristics of Doubled Haploid Plants of Pepper Produced Using Microspore/Anther *in vitro* Culture of the Interspecies Hybrids of *Capsicum annum* L. and *C. chinense* Jacq. *Russian Agricultural Sciences*, 40(6):417-421.
- Shrestha, S.L., Luitel, B.P., and Kang, W.H., 2011. Agro-morphological characterization of anther derived plants in sweet pepper (*Capsicum annuum* L. cv. Boogie). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 52(2):196-203.
- Silva, L.R.A., Rodrigues, R., Pimenta, S., Correa, J.W.S., Araujo, M.S.B., Bento, C.S., and Sudré, C.P., 2017. Inheritance of bacterial spot resistance in *Capsicum annuum* var. *annuum*. *Genetics and Molecular Research*, 16(2). doi: 10.4238/gmr16029631.
- Sikora, B., and Nowaczyk, P., 2014. Application of RAPD Technique for Identification of Interspecific Hybrids from Genus *Capsicum*. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus*, 13(1):155-166.
- Singsit, C., and Veilleux, R.E., 1989. Intra and interspecific transmission of androgenetic competence in diploid potato species. *Euphytica*, 43:105-112.
- Smith J.S.C., and Smith O.S., 1989. The description and assessment of distances between inbred lines of maize: the utility of morphological, biochemical

- and genetic descriptors and a scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. *Maydica*, 34:151-161.
- Smykal, P., 2000. Pollen embryogenesis—the stress mediated switch from gametophytic to sporophytic development. Current status and future prospects. *Biol. Plant.*, 43:481-489.
- Sonnino, A., Tanaka, S., Iwanaga, M., and Schilde-Rentschler, L., 1989. Genetic control of embryo formation in anther culture of diploid potatoes. *Plant Cell Rep.*, 8:105-107.
- Sood, S., and Dwivedi, S., 2015. Doubled Haploid Platform: An Accelerated Breeding Approach for Crop Improvement. *Plant Biology and Biotechnology*, 2: 89-111.
- Souza V.A.B., 1987. Viability at the crossing between *Capsicum annuum* and *Capsicum chinense* Jacq. Msc Thesis, Federal University of Viçosa, p. 100.
- Sreelathakumary, I., and Rajamony, L., 2004. Variability, heritability and genetic advance in chili (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Tropical Agriculture*, 42(1-2):35-37.
- Steinitz, B., Wolf, D., Matzevitch-Josef, T., and Zelcer, A., 1999. Regeneration *in vitro* and genetic transformation of pepper (*Capsicum* spp.): the current state of the art. *Capsicum Eggplant Newsl.*, 18:9-15.
- Stewart, C., Kang, B.C., Liu, K., Mazourek, M., Moore, S.L., Yoo, E.Y., Kim, B.D., Paran, I., and Jahn, M.M., 2005. The *Pun1* gene for pungency in pepper encodes a putative acyltransferase. *Plant J.*, 42:675-688.
- Stommel, J.R., and Bosland, P.W., 2007. Ornamental Pepper: *Capsicum annuum*. *Flower Breeding and Genetics*, 561599. doi: 10.1007/978-1-4020-4428-1-21.
- _____, and Griesbach, R.J., 2008. Inheritance of Fruit, Foliar, and Plant Habit Attributes in *Capsicum*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 133(3):396-407.
- Sudré, C.P., Gonçalves, L.S., Rodrigues, R., Amaral Júnior, A.T., Riva-Souza, E.M., and Bento Cdos S., 2010. Genetic variability in domesticated

- Capsicum* spp. as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. Genet. Mol. Res., 9(1):283-94.
- Sugita, T., Kinoshita, T., Kawano, T., Yuji, I.K., Yamaguchi, K., and Nagata, R., 2005. Rapid construction of a linkage map using high-efficiency genome scanning/AFLP and RAPD, based on an intea-specific, doubled-haploid population of *Capsicum annuum*. Breed. Sci., 55:287-295.
- Sunil, K.P., and Rasheed, A., 1998. Cross compatibility in five species of *Capsicum*. J. Spices Aromat. Crop, 7(1):35-38.
- Supena, E.D.J., Muswita, W., Suharsono, S., and Custers, J.B.M., 2006a. Evaluation of crucial factors for implementing shed-microspore culture of Indonesian hot pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars. Sci. Hort., 107:226-232.
- _____, Suharsono, S., Jacobsen, E., and Custers, J.B.M., 2006b. Successful development of a shed-microspore culture protocol for doubled haploid production in Indonesian hot pepper (*Capsicum annuum* L.). Plant Cell Rep., 25:1-10.
- Surya Kumari, S., Srihari, D., Ravi Shankar, C., Chenga Reddy, V., and Siva Sanker, A., 2014. Genetic Divergence and Combining Ability Studies for Exploitation of Heterosis in Paprika (*Capsicum annuum* L.). International Journal of Agricultural Science and Research, 4(2):59-66.
- Szarejko, I., and Forster, B.P., 2006. Doubled haploidy and induced mutation. Euphytica, 158:359-37.
- Szwadrak, J., and Kardus, R., 1991. Diallel analysis of yielding characters in peppers. Acta Agronomica Hungarica, 40(1-2):139-143.
- Tai, G.C.C., 2005. Haploids in the Improvement of Solanaceous Species (C.E. Palmer, W.A. Keller, K.J. Kasha editors). Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 56, Haploids in Crop Improvement II. pp. 173-190.
- Tanksley, S. D., and Olivas, J. I., 1984. Inheritance and transfer of multiple-flower character from *Capsicum chinense* into *Capsicum annuum*. Euphytica,

33(3):769-777.

- _____, Bernatzky, R., Lapitan, N.L., and Prince, J.P., 1988. Conservation of gene repertoire but not gene order in pepper and tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85:6419-6423.
- _____, Mccouch, S.R., 1997. Seed banks and molecular maps: Unlocking genetic potential from the wild. *Science*, 277:1063-106.
- Taşkın, H., 2005. Bazı biber genotiplerinde anter kültürü ile haploid embriyo uyartımında embriyo kalitesinin artırılmasına yönelik bazı uygulamalar. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, s. 79.
- Taşkın, H., Büyükalaca, S., Keleş, D., Ekbiç, E., 2011. Induction of microspore-derived embryos by anther culture in selected pepper genotypes. *African Journal of Biotechnology*, 10(75):17116-17121.
- _____, Keleş, D., Baktemur, G., Büyükalaca, S., 2016. Scientific contributions to anther culture of pepper from Turkey. *Proceedings of XVIth EUCARPIA Capsicum and Eggplant Working Group Meeting*, Kecskemet, Hungary, pp. 568-573.
- Thabuis, A., Palloix, A., Pflieger, S., Daubeze, A.M., Caranta, C., and Lefebvre, V., 2003. Comparative mapping of *Phytophthora* resistance loci in pepper germplasm: evidence for conserved resistance loci across Solanaceae and for a large genetic diversity. *Theor. Appl. Genet.*, 106:1473-1485.
- Thakur, P.C., 1987. An index for heterosis breeding in sweet pepper. *Capsicum Newsletter*, 6:41-42.
- Tong, N. and Bosland, P.W., 1999. *Capsicum towarii*, a new member of *Capsicum baccatum* complex. *Euphytica* 109:71-77
- Uma Jyothi, K., Surya Kumari, S., and Venkata Ramana, C., 2011. Variability studies in chilli (*Capsicum annuum* L.) with reference to yield attributes. *J. Hortl. Sci.*, 6(2):133-135.
- Xue-Jun, C., Rong, F., Kun-Hua, Z., Nan-Sheng, M., and Chang-Lin, H., 2012. Major gene plus polygene inheritance analysis of fruit traits in pepper.

- Xibei Zhiwu Xuebao, 32:246-251.
- Vavilov, N.I., 1951. Origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. Chronol. Bot., 13:4-364.
- Veronneau, H., Lavoie, G., and Cappadocia, M., 1992. Genetic analysis of anther and leaf disc culture in two clones of *Solanum chacoense* Bitt. and their reciprocal hybrids. Plant Cell Tiss. Org. Cult., 30:199-209.
- Vilarinho, L.B.O., Da Silva, D.J.H., Greene, A., Salazar, K.D., Alves, C., Eveleth, M., Nichols, B., Tehseen, S., Khoury, J.K., Johnson, J.V., Sargent, S.A., and Rathinasabapathi, B., 2015. Inheritance of fruit traits in *Capsicum annuum*: heirloom cultivars as sources of quality parameters relating to pericarp shape, color, thickness, and total soluble solids. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 140:597-604.
- Virmani, S.S., 1996. Hybrid in rice. Advance in Agronomy, 57:377-462.
- Vural, H., Eşiyok, D., and Duman, İ., 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Bornova, İzmir, 440 s.
- Wang, Y.Y., Sun, C.S., Wang, C.C., and Chien, N.J., 1973. The induction of pollen plantlets of Triticale and *Capsicum annuum* from anther culture. Sci. Sin., 16:147-151.
- Wang, Z., Taramino, G., Yong, D., Liu, G., Tingey, S.V., Miao, G.L., and Wang, G.L., 2001. Rice ESTs with disease-resistance gene- or defense response gene-like sequences mapped to regions containing major resistance genes or QTLs. Mol. Genet. Genomics, 265:302-310.
- Wang, L.H., and Zhang, B.X., 2001. Advancement in the anther culture of *Capsicum annuum* L. China Veg., 3:52-53.
- Wang, D., and Bosland, P.W., 2006. The genes of *Capsicum*. HortScience, 41:1169-1187.
- Wenzel, G., and Foroughi-Wehr, B., 1984. Anther culture in cereal and grasses (I.K. Vasil editor). Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants.

- Academic Pres Inc, pp. 311-327.
- Wright, S., 1968. Evolution and the Genetics of Populations, Vol. 1. Univ. of Chicago Press, Chicago.
- Yan, C., Rongli, M., Yansheng, J., and Haitao, W., 2012. Advances of Anther Culture in Pepper. Chinese Agricultural Science Bulletin, 113-118.
- Yıldırım, M.B., ve İkiz F., 1972. Uygulamalı Bitki Islahı. Ege Üniv. Ziraat Fak. Agronomi Genetik Kursu. Teksir No. 2, Bornova, İzmir.
- Yılmaz, Ö.E., 2005. Yazlık kabakta (*Cucurbita pepo* L.) ovaryum kültürü yoluyla haploid bitki elde edilmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 57 s.
- Yoon, B.J., Jang, C.D., Do, J.W., and Park, G.H., 2006. Over coming two postfertilisation genetic barriers in inter specific hybridization of anthracnose resistance. Breed. Sci., 56:31-38.
- Yu, J., 2009. The potential of ultrahigh throughput genomic technologies in crop improvement. Plant Genome, 2:2.
- Zagorska, N.A., Dimitrov, B.D., Ilieva, I., and Gadeva, P., 2002. *In vitro* induction of androgenesis and gynogenesis in *Rubus caesius* L. and *Rubus idaeus* L. Genet. Breed., 31:3-13.
- Zewdie, Y., and Zeven, A.C., 1997. Variation in Yugoslavian hot pepper (*Capsicum annuum* L.) accessions. Euphytica, 97:81-89.
- Zewdie, Y., and Bosland, P.W., 2000. Evaluation of genotype, environment, and genotype-by-environment interaction for capsaicinoids in *Capsicum annuum* L. Euphytica, 111:185-190.



ÖZGEÇMİŞ

03.04.1975 tarihinde Kahramanmaraş'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Kahramanmaraş'ta tamamladı. 1996 yılında girdiği Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden 2000 yılında mezun oldu ve aynı yıl Pamuk Ekserliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2001 yılında Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. 2003 yılında Yüksek Lisans öğrenimini tamamlayarak Bilim Uzmanı ünvanı ile mezun oldu. Aynı yıl Şanlıura İl Tarım Müdürlüğü'nde göreve başladı. 2003 ve 2006 yılları arasında Şanlıura İl Tarım Müdürlüğü'nde farklı birimlerde hizmet verdi. 2006 yılında Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü'nde çalışmaya başladı. Halen aynı kurumda Islah ve Genetik Bölümü'nde çalışmalarını sürdürmekte ve doktora eğitimine devam etmektedir. Evli ve iki kız çocuğu annesidir.