



**BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLER VE
SAKKAROZ DOZLARININ BAZI BİBER
GENOTİPLERİNDE ANDROGENİK
EMBRİYO OLUŞUMUNA ETKİSİ**

MÜZEYYEN HÜLÜL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI
Prof.Dr. Naif GEBOLOĞLU
Temmuz - 2019
Her hakkı saklıdır**

T.C.
TOKATGAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLER VE SAKKAROZ DOZLARININ
BAZI BİBER GENOTİPLERİNDE ANDROGENİK EMBRİYO
OLUŞUMUNA ETKİSİ**

MÜZEYYEN HÜLÜL

TOKAT
Temmuz - 2019

Her hakkı saklıdır

MÜZEYYEN HÜLÜL tarafından hazırlanan “**Bitki Büyüme Düzenleyiceleri Ve Sakaroz Dozlarının Bazı Biber Genotiplerinde Androgenik Embriyo Oluşumuna Etkisi**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 5 AĞUSTOS 2019 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği / Oy Çokluğu ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI**nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof.Dr.Naif GEBOLOĞLU



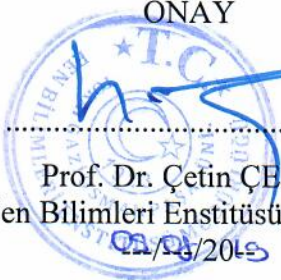
Üye
Doç.Dr. Şebnem KUŞVURAN
Çankırı KARATEKİN Üniversitesi



Üye
Dr. Öğretim Üyesi Emin YILMAZ
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi



ONAY



Prof. Dr. Çetin ÇEKİÇ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
05/08/2019

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

MÜZEYYEN HÜLÜL

5 Ağustos 2019

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLER VE SAKKAROZ DOZLARININ BAZI BİBER GENOTİPLERİNDE ANDROGENİK EMBRİYO OLUŞUMUNA ETKİSİ

MÜZEYYEN HÜLÜL

TOKATGAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI: PROF.DR. NAİF GEBOLOĞLU

Anter kültürü, biber ıslahında haploid hatların elde edilmesinde kullanılan önemli bir tekniktir. Biberde anter kültürünün kullanımı yaygın olmakla beraber embriyo ve haploid bitki oluşumu genotip, besin ortamı, stres uygulamaları ve bitki büyüme düzenleyiciler gibi birçok faktöre bağlıdır. Bu çalışmada genotip, şeker miktarı ve bitki büyüme düzenleyicilerinin embriyo oluşumuna etkisi araştırılmıştır. İnce sivri (B4), kapyra (B16), dolmalık (B90), üç burun (B85) ve çarliston (B54) biber genotipleri Murashige ve Skoog (1962) (MS) besin ortamında kültüre alınmıştır. Besin ortamlarına 4 farklı sakkaroz dozu (%3, %6, %9, %12) ile 3 farklı kinetin (0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L) ve 3 farklı 2,4-D dozu (0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L) ilave edilmiştir. En yüksek embriyo oluşumu 42 anterden 108 embriyo oluşumu ile Üç burun genotipinin %6 sakkaroz + 1,0 mg/L Kinetin + 1,0 mg/L 2,4-D içeren besin ortamından elde edilmiştir. Genotipler embriyo oluşturma başarısına göre Üç Burun, Kapyra, Çarliston, Dolma, İnce Sivri şeklinde gerçekleşmiştir. En yüksek embriyo formasyonu %6 şeker uygulamasından elde edilmiştir. Sonuç olarak, değişik biber tiplerinde yürütülen çalışmada başarılı sonuçlar elde edilirken başarı düzeyi genotip, şeker dozları ve bitki büyüme düzenleyicilere bağlı olarak farklılıklar göstermiştir.

2019, 37 Sayfa

ANAHTAR KELİMELELER: Anter kültürü, Genotip, Şeker, Embriyo, Kinetin, 2,4-D

ABSTRACT

MASTER THESIS

THE EFFECT OF GROWTH REGULATORS AND SACCAROSE DOSES ON ANDROGENIC EMBRYOFORMATION IN SOME PEPPER GENOTYPES

MÜZEYYEN HÜLÜL

TOKATGAZIOSMANPASA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

DEPARTMENT OF HORTICULTURE

SUPERVISOR: PROF.DR. NAİF GEBOLOĞLU

Anther culture is an important technique for obtaining haploid lines in pepper breeding. Although the use of anther culture in pepper is common, embryo and haploid plant formation depends on many factors such as genotype, nutrient medium, stress applications and plant growth regulators. In this study, the effect of genotype, sucrose doses and plant growth regulators on embryo formation was investigated. İnce sivri (B4), Kapya (B16), Dolma (B90), Üçburun (B85) and Çarliston (B54) pepper genotypes were cultured in Murashige and Skoog (1962) (MS) medium. Four different sucrose doses (3%, 6%, 9%, 12%), 3 different kinetin doses (0.1, 0.5 and 1.0 mg/L) and 3 different 2,4-D doses (0.1, 0.5 and 1.0 mg/L) were used. The highest embryo formation was obtained from nutrient medium containing 6% sucrose + 1.0 mg/L Kinetin + 1.0 mg/L 2,4-D with 42 anther and 108 embryos. Genotypes were ranked as Üç Burun, Kapya, Çarliston, Dolma, İnce Sivri according to embryo production. The highest embryo formation was obtained from 6% sucrose application. When the success rate was examined according to genotypes, the highest results were obtained with 991 embryos in the genotype of Üçburun, second with 488 embryos and Kapya, Çarliston 447, Dolma 391, and 350 embryos from İnce Sivri genotype. As a result, satisfactory results were obtained for embryo formation. However, androgenic success showed significant differences depending on genotypes, sucrose and plant growth regulator added to nutrient media. As a result, while the highest embryo formation obtained from different pepper genotypes, the embryo formation was changed according to sucrose doses and plant growth regulators.

2019, 37 Page

KEYWORDS: Anther culture, Genotype, Sugar, Embryo, Kinetin, 2,4-D

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Biberde anter kültürü konusunda yürüttüğüm tez çalışmasının ülkemiz ve dünya bilimine yararlı olmasını temenni ederim. Yüksek lisans tez konumun belirlenmesinde ve tez çalışmamın her aşamasında desteklerini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Naif GEBOLOĞLU' na ve çalışmalarımın yürütülmesinde desteğini esirgemeyen ve manevi olarak her zaman yanımda olan Arş. Gör. Sevtap DOKSÖZ BONCUKÇU'ya teşekkür ederim. Her zaman her konuda maddi ve manevi olarak yanımda olan ve beni destekleyen aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Müzeyyen HÜLÜL

5 Ağustos 2019

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÇİZELGE LİSTESİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ/KURAMSAL TEMELLER/GENEL BİLGİLER	5
2.1. Anter kültürü.....	6
2.1.1. Anter kültürünü etkileyen faktörler	7
2.1.1.1. Donör bitkilerden kaynaklanan faktörler.....	7
2.1.1.2. Anter kültüründen kaynaklanan faktörler.....	9
2.1.1.3. Besin ortamının bileşimi ve yapısı	11
2.1.1.4. İnkübasyon şartları	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal	14
3.1.1. Donör bitkiler ve özellikleri	14
3.1.2. Donör bitkilerin yetiştirme koşulları.....	14
3.1.3. Kültür aşamasında kullanılan ekipmanlar	15
3.2. Yöntem.....	16
3.2.1. Donör bitkilerin yetiştirilmesi	17
3.2.2. Çiçek tomurcuklarının gruplandırılması ve toplanması	17
3.2.3. Çiçek tomurcukların dezenfeksiyonu anterlerin çıkarılması ve besin ortamlarına dikilmesi.....	18
3.2.4. Besin ortamlarının bileşimi ve hazırlanması	19
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	23
4.1. Genotiplere göre başarı düzeyleri	25
4.2. Bitki büyüme düzenleyicilerine göre başarı düzeyi.....	26
4.3. Besin ortamına eklenen şeker miktarına göre başarı düzeyi.....	28
5. SONUÇ	30
6. KAYNAKLAR	31
7. ÖZGEÇMİŞ.....	38

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler Açıklama

g	gram
L	litre
m ²	metre kare
mg	miligram
ml	mililitr
°C	santigrat derece
cm	santimetre
cm ²	santimetrekare
%	yüzde

Kısaltmalar

Açıklama

KNO ₃	Potasyum nitrat
NH ₄ NO ₃	Amonyum nitrat
MgSO ₄ , 7H ₂ O	Magnezyum sülfat
CaCl ₂ , 2H ₂ O	Kalsiyum klorür
Ca(NO ₃) ₂ , 4H ₂ O	Kalsiyum nitrat
NaH ₂ PO ₄ , H ₂ O	Mono sodyum fosfat
(NH ₄) ₂ SO ₄	Amonyum sülfat
KCl	Potasyum klorür
KH ₂ PO ₄	Mono potasyum fosfat
MnSO ₄ , H ₂ O	Mangan sülfat
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	Çinko sülfat
H ₃ BO ₃	Borik asit
KI	Potasyum iyodür
Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O	Sodyum molibdat
CuSO ₄ , 5H ₂ O	Bakır sülfat
CoCl ₂ , 6H ₂ O	Kobalt klorür
Na ₂ EDTA	Sodyum EDTA
FeSO ₄ , 7H ₂ O	Demir sülfat
BAP / BA	Benzil aminopürin
2,4-D	Diklorofenoksiasetik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ACC	Aminocyclopropane carboxylic asit
AgNO ₃	Gümüş nitrat
MS	Murashige ve Skoog (1962) tarafından önerilen besin ortamı

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1. Donör bitkilere ait fidelerin görünümü.....	15
Şekil 3.2. Donör bitkilerin yetiştirildiği sera ve bitkilere ait görünüm.....	16
Şekil 3.3. Denemede kullanılan inkübatör ve otoklav ait görüntüler.....	16
Şekil 3.4. Flow kabine ait görüntüler.....	16
Şekil 3.5. Asetokarmin ile boyama yapılmış preparatların incelenmesi.....	17
Şekil 3.6. Anterlere uygulanan dezenfeksiyon işlemleri.....	18
Şekil 3.7. Besin ortamlarının petrilere aktarılması.....	19
Şekil 3.8. Çiçek tomurcuklarından anterlerin alımı ve besi ortamına dikimi	21
Şekil 4.1. Anterlerden embriyo çıkışı.....	22
Şekil 4.2. Genotiplere göre embriyo oluşum oranları	24
Şekil 4.3. Kinetin ve 2,4 Diklorofenoksiasetik asitin embriyo oluşumuna etkisi....	26
Şekil 4.4. Şeker oranına göre embriyo oluşum oranı.....	27

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge.3.1. Anter kültüründe MS ortamı için kullanılan kimyasallar ve dozları....	20
Çizelge 4.1. Genotip, şeker miktarı ve bitki büyüme düzenleyicilerine bağlı olarak embriyo oluşum oranları.....	23



1. GİRİŞ

Bitkiler insanlığın varoluşundan günümüze kadar insanların beslenmesinde çok önemli bir yere sahiptir. Bitkilerden besin olarak faydalanma ilk doğadan toplama şeklinde başlamış daha sonra üstün olan tipler korumaya alınmış, bu aşamadan sonra da tohumları toplanarak ilk kültüre alma eylemleri gerçekleştirilmiştir. Bu türlerden biriside biberdir. Biber hem dünyada hem de ülkemizde çok fazla tüketilen sebzeler içerisinde bulunmaktadır. Ülkemizin neredeyse her bölgesinde biber üretimi yapılmakta ve farklı şekillerde (taze olarak, salça şeklinde, toz ve pul biber şeklinde, turşu olarak, sos olarak, közleme şeklinde, yemeklerin içerisinde vb.) sofralarımızdaki yerini almaktadır. Anavatanı Orta ve Güney Amerika olarak bilinmektedir. Biber Solanaceae familyasında bulunmakta ve yaygın olarak kullanılan türü *Capsicum annuum* L.' dur. *Capsicum* cinsi, yaklaşık 30 türü kapsamaktadır (Greenleaf, 1986). Bunlardan 5 tür (*C. annuum*, *C. baccatum*, *C. pubescens*, *C. frutescens* ve *C. chinense*) ekonomik olarak kültüre alınarak günümüze kadar gelmiş ve yapılan ıslah çalışmalarında kullanılmaktadır.

Ülkemizde 2018 yılı itibari ile 2608172 ton biber üretimi yapılmıştır.(Anonim, 2019) Türkiye, Çin ve Meksika'dan sonra dünyada en çok biber yetiştiriciliği yapan ülkedir. Türkiye'de açıkta ve örtü altında yaygın bir şekilde biber yetiştiriciliği yapılmaktadır. Yüksek sıcaklıklar,düşük sıcaklıklar, hastalık ve zararlılar gibi sorunlar biber üretiminde verim ve kaliteyi etkileyen faktörlerdir. Birim alandan verimi artırmanın en önemli yolu bu gibi sorunlara dayanıklı çeşitleri geliştirmektir. Biber güneyde 55' enlem ile kuzeyde 52' enlemleri arasında geniş bir aralıkta yetiştiriciliği yapılmaktadır. Maksimum çimlenme sıcaklığı 25-30 °C arasında iken yetiştiricilik için en uygun sıcaklık 21-29 °C arasındadır. Ortam sıcaklıkları 35 °C'yi geçtiğinde veya 10 °C'nin altında kaldığında biberde büyüme ve gelişme yavaşlamaktadır. Biberin gereksinim duyduğu maksimum iklim şartları yeterli derecede sağlanamazsa verim ve kalite düşüşleri görülmektedir. Bu sebeple maksimum iklim şartlarının dışında yüksek verimli ve kaliteli çeşitlerin ıslahına gereksinim vardır.

İlk kültüre alınan biber çeşitleri ve yabani formları yüksek ihtimalle küçük meyveli,çoktohumlu ve ince etlidir. Bu bitkilerin tohumları büyük ihtimalle hayvanlar tarafından taşınıp yayılmıştır. Daha sonra insanlar, sevdikleri ve kendisine fayda

sağladıkları meyvelerin tohumlarını alıp bilmeden bir takım seleksiyonlar yapmışlar ve verimli ve üstün karakterleri çoğaltarak günümüze kadar taşımışlardır. İlk başlarda acemi olarak yapılan bu seçimler çoğalan dünya nüfusu ve tüketici talepleri doğrultusunda profesyonel anlamda ıslah çalışmaları başlamıştır. Biberde de 20. yüzyıl boyunca meyve kalitesi, erkencilik, hastalıklara karşı mukavemet, yüksek verim, biyotik ve abiyotik streslere dayanaklı genotipleri geliştirmek için ıslah çalışmaları başlamıştır.

Klasik ıslah yöntemleri ile yeni genotiplerin geliştirilmesi konusunda üniversitelerde, araştırma enstitülerinde ve özel firmalarda birçok çalışma yapılmış ve çalışmalar devam etmektedir. Ancak klasik ıslah çalışmaları ile yeni çeşit geliştirmek uzun yıllar gerektirmektedir ve çok fazla zamana ve emeğe ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde bu süreyi azaltmak ve yapılan çalışmalarda en az hata ve kesin sonuçlar elde etmek için çeşitli doku kültürü tekniklerinden yararlanılmaktadır. Islah çalışmalarında en çok kullanılan doku kültürü teknikleri erkek (mikrospor kültürü, anter kültürü) ve dişi organ kültürleri (ovaryum kültürü, ovul kültürü ve ışınlanmış polenle tozlama) ile haploid bitkilerin elde edilmesidir. Haploid bitki üretimi, bitki ıslahında önemli bir alana sahip olan doku kültürü tekniklerinden biridir (Heiser, 1976; Andrews, 1985). Islah sürecini azalttığı için haploidi tekniği sebze ıslahında yaygın uygulama alanı bulmuştur. Haploid bitkilerin en önemli kullanım alanı kendine uyumsuz türlerde bile tamamen homozigot katlanmış dihaploid hatların hızlı üretimidir. Klasik ıslah yöntemleriyle de saf hatlar elde edilebilmekte, ancak harcanan süre artmakta; yabancı tozlanan bitkilerde 10-12, kendine tozlanan bitkilerde 6-7 yıl sürmektedir. Dioik türlerde ise kendileme olanaksız olmaktadır. Haplodizasyon yöntemlerinin kullanımı ile bu süre 1-2 yıla indirgenmektedir.

Klasik ıslah çalışmalarında genotiplerin seçilmesi ve bu seçilen genotiplerin homozigotlaştırılması çok uzun sürmektedir. Doku kültürü çalışmaları ile bu süreler çok kısa sürelerle indirilerek zamandan tasarruf edilmiştir.

Haploid bitkilerin elde edilmesinde yaygın olarak kullanılan tekniklerden biri anter kültürü tekniğidir. Günümüzde bitki biyoteknolojisi, moleküler teknikler gibi modern bilimsel yöntemler sayesinde bitki ıslah çalışmaları büyük bir ivme yakalamıştır.

Bu tekniğin diğer haploid bitki oluşturma yöntemine göre avantajı; bir anter içerisinde binlerce mikrosporum var olması ve bir anterden çok sayıda haploid bitki meydana

gelmesidir. Anter kültürünün temel prensibi, normal olarak erkek gameti meydana getirecek olan polen hücresinin gelişimine engel olmak ve somatik hücrelerde olduğu gibi polen hücresini doğrudan olarak embriyo oluşturmaya zorlamaktır. Guha ve Maheswary tarafından 1964 yılında anter kültürü tekniği ile ilk haploid bitki, Wang ve ark. (1973) tarafından ilk haploid biber bitkisi elde edilmiştir. Ülkemizde biberde anter kültürü tekniği ilk çalışmalar Abak (1983) tarafından yapılmış, Türkiye orijinli biber çeşitlerinde uygun besi ortamında % 10,38 kadar ulaşan haploid bitki elde edilmiştir (Ellialtıoğlu ve Tıprıdamaz, 2002). Bu yöntemle oluşan haploid bitkilerin kromozom sayıları katlanarak elde edilen saf hatlar, genotip geliştirmeye yönelik ıslah çalışmalarında kullanılmıştır. Büyükalaca ve ark. (2004), Ata (2011), Taşkın ve ark. (2011) gibi bazı araştırmacılarla biberde anter kültürü çalışmalarına devam edilmiştir.

Doku kültürü çalışmalarının temel taşı olan haploid bitkiler, somatik hücrelerindeki kromozom sayıları ile eşey hücrelerindeki kromozom sayıları birbirine eşit olan bitkilerdir. Bu bitkileri elde etme tekniği ise haploidizasyon yöntemidir (Khush ve Virmani, 1996). Haploidizasyon yöntemi, yıllar süren ve bir okadar zor olan kendilemeler yerine kullanılacak en iyi seçeneklerden biridir. Haploid bitkilerin tamamen homozigot yapıda olmalarından dolayı, haploidizasyon yöntemi ise yıllar süren çalışmaları en aza indirgemesinden dolayı bitki ıslahındaki konumu oldukça önemlidir (Heiser, 1976; Andrews, 1985).

Anter kültürü uygulamalarında haploid bitkilerin elde edilmesine birçok faktör etki etmektedir. Donör bitkinin yaşı, yetiştirme koşulları, genotipin eğilimi, besi ortamının içeriği ve özelliği, stres ve inkübasyon koşulları ve anterlerin tomurcuklardan alındığı dönem bu faktörlerin en önemlileri arasında yer almaktadır.

Aynı kültür ortamlarında, aynı koşullar içerisinde, aynı muameleye tabi tutulan farklı çeşitler her uygulamaya değişik reaksiyonlar verebilmektedir. Donör bitkiler yetiştirilirken her aşamada maruz kaldıkları çevresel faktörler, iklim koşulları, yetiştiği ortamın şartları anterlerde ve mikrosporlarda çeşitli sonuçlara neden olur ve bu nedenle de anter kültüründe meydana gelen başarı oranını etkilemektedir. Başarıyı etkileyen en önemli etmenlerden birisi anterlerin içerisindeki mikrosporların bulunduğu evredir. Anterler; genotiplere göre farklılık gösterse de genellikle erken gelişme evresinde kültüre alındığında başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Mikrosporlar için en uygun dönem tek çekirdekli gelişim döneminin ilk aşamasıdır. Uygun dönemdeki anterleri

bulunduran tomurcuklara yapılan ön muamele de başarıyı artırmaktadır. Kültür öncesi yapılan tomurcukları düşük sıcaklıkta bekletme uygulamalarının anter kültüründe başarıyı etkilediği ifade edilmektedir. Anter kültüründe başarılı sonuçlar elde etmede etkileyen önemli etmenlerden biriside besi ortamı ve bileşenlerdir. Türlerin hepsinde olumlu sonuç elde edilebilecek tek bir besin ortamı ile sınırlandırmak pek mümkün değildir. Ancak anterlerin gelişme evreleri isteklerine göre ortamların içeriklerine büyümeyi düzenleyici maddeler, farklı kimyasallar ya da bazı ekstratların takviyesiyle başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan bütün kültür uygulamalarından sonra besi ortamına yerleştirilen anterlerin inkübe edildiği şartlarda embriyo çıkış oranını etkilemektedir.

Haploid bitkilerin en önemli özelliklerinden biri de kendine uyumsuz türlerde homozigot dihaploid hatların çok az zamanda üretilmesine olanak sağlamasıdır. Bu özellik ıslahçılar içinde oldukça önemli avantajlar sağlar. Dihaploid hatlar kullanılarak ıslah ve genetik çalışmaları kolaylaşır, sonuca daha kısa zamanda ulaşılabilmeyle olanak sağlar. Yabancı tozlanan türlerde heterozigotluk oranı çok fazla olduğu için, homozigot hatlara ulaşmak için onlarca generasyon kendileme yapmak gerekir. Dihaploidizasyon yöntemi yardımıyla F1 çeşit ıslahında ebeveyn olarak kullanılan homozigot saf hatlara, bir generasyonda ulaşılabilir. Yabancı tozlanan türlerde 12-13 yıl, kendine tozlanan türlerde 5-6 yıl süren ıslah çalışmaları, haploidizasyon teknikleri ile 1-2 yıla kadar indirgenmiştir.

Bu tarz zaman ve işgücü kazanımlarıyla toplam ıslah süresi 12-13 yıldan, 5-6 seneye düşürülebileceği kanıtlanmıştır(Abak,1986). Bu gibi yararlılardan dolayı haploidizasyon yöntemi modern ıslah uygulamalarında büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın nedeni, her sene artan biber üretimi ve üretimde meydana gelen bazı problemler göz önüne alınarak in vitro yöntemler ile dihaploid hatların elde edilmesidir. Araştırma da anter kültüründe başarıyı artırmaya yönelik bazı uygulamalar denenmiştir. Anter kültüründe başarıyı etkileyen önemli faktörlerden olan genotip, besi ortamı, inkübasyon koşulları ve ön tomurcuk uygulamalarının bazı teknik ve dozları uygulanarak başarı üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ/KURAMSAL TEMELLER/GENEL BİLGİLER

Solanaceae familyasında yer alan biberin en çok kullanılan türü *Capsicum annum* L. ($2n= 2x= 24$) isimlendirilmektedir. *Capsicum* cinsi içerisinde 50 adet tür içermektedir. Bu 50 adet tür içinden 5 tanesi (*C. annum*, *C. baccatum*, *C. pubescens*, *C. frutescens* ve *C. chinense*) ekonomik olarak kültüre alma çalışmalarında kullanılmıştır. Biber türleri içerisinde en fazla üretimi yapılan *C. annum*, Türkiye’de ve Dünya’da biber üretim miktarının en çok payını oluşturmaktadır. Biber üretimi Türkiye’de her sene % 4-10 arasında sürekli bir artış göstermektedir. 1980 yılında 220.000 ton olan biber üretimi bu doğrultuda 2015 yılında 2.3 milyon ton seviyelerine ulaşmıştır (Anonim, 2015). Hermafrodit şeklindeki biber çiçekleri; 5 çanak, 5 taç, 5 erkek organ taşır ve 3-5 karpelli bir adet dişi organa sahiptir. Dişi organların erkek organlardan önce reseptif hale geçmesiyle %3 ile %30 arasında değişen oranlarda yabancı dölleme oranı görülmektedir. Ancak, genelde biber kendine tozlanan bir tür olarak kabul edilir.

Türkiye’de önemli sebze türlerinden biri olan biber üretimi her geçen yıl artarak devam etmiştir. 1980 yılında biber dekara verim 1.41 ton iken 2000 yılında 2.12 ton/da ve 2017 yılında 2.76 ton/da olmuştur (Anonim, 2018). Üretim alanlarının genişlemesi ve modern tarım tekniklerinin devreye girmesinin yanında yüksek verimli, biyotik ve abiyotik stres faktörlerine dayanıklı veya tolerant ve adaptasyon yeteneği yüksek hibrit çeşitlerin geliştirilmesinin üretimde ve verimlilikte sağlanan artışta önemli katkıları olmuştur. Türkiye’de 1980’li yıllarda bitki ıslahında yaşanan gelişmeler etkisini biber ıslahında da göstermiş, bu gelişmeler biberde üstün özellikli hibrit çeşitlerin üretilmesinde rol oynamıştır. Bu dönemden itibaren biber ıslahında her geçen gün yeni tekniklerinde devreye girmesiyle gelişmiş ülkeler ile rekabet edecek düzeye gelinmiştir. Geçmişte hibrit biber çeşidinde %100 dışa bağımlı olan Türkiye bugün artık dünyanın birçok ülkesine hibrit biber tohumu satmaktadır.

Biber ıslahındaki başarıda biyoteknolojik yöntemlerin ıslah programlarında kullanılmasının önemli katkıları olmuştur. Anter kültürü tekniği biber ıslahına önemli katkılar sağlayan yöntemlerden biridir ve 12 ay gibi çok kısa sürede %100 homozigot hatların elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Böylece biber ıslahında en zor ve en uzun aşama olan yarı yol materyallerinin elde edilmesinde çok büyük avantajlar sağlamaktadır.

Kazım Abak, 1983 yılında anter kültürü çalışmalarına öncülük etmiştir. Türkiye orjinli biber genotiplerinde yürütülen ilk çalışmalarda uygun besi ortamı kullanılarak %10,38 başarıya ulaşılmıştır (Abak,1983).Sonraki yıllarda besin ortamı, genotipv.b. uygulamaların etkilerini araştıran çok sayıda çalışma yayınlanmıştır.

Biberde anter kültürü ile ilgili yürütülen çalışmalarda androgenik başarı üzerine birçok faktörün etkili olduğu belirtilmektedir. Androgenik başarıda en etkili faktörün genotip olduğu, donör bitkinin genetik yapısı ve anter kültürüne yatkınlığının başarı üzerine doğrudan etkili olduğu değişik çalışmalarda ortaya konmuştur (Qin ve Rotino, 1995; Mityko ve ark., 1995). Donör bitkilerin yetiştirme koşulları ve yaşı (Ouyang ve ark., 1987; Ercan ve ark., 2006; Niklas-Nowak ve ark., 2012; Grozeva ve ark., 2013; Al Remi ve ark., 2014), anter kültüründe kullanılan besin ortamları ve ortam bileşenleri (Dolcet-Sanjuan ve ark., 1997; Lihao ve ark., 2004; Liu ve ark., 2009), besin ortamlarına ilave edilen bitki büyüme düzenleyiciler ile organik ve inorganik katkı maddeleri (Thomas, 2008; Yang ve ark., 2009; Zhao ve ark., 2010; Cheng ve ark., 2013) ve çiçek tomurcuklarına uygulanan ön stres uygulamaları ile anterlere uygulanan inkübasyon koşullarının (Kim, 1999; Koleva-Gudeva ve ark., 2007a; Özkum ve Tıprıdamaz, 2007; Parra-Vega ve ark., 2013a; Nowaczyk ve ark., 2015) etkili faktörler arasında olduğu birçok çalışma ile ortaya konulmuştur. Bu faktörlerin dışında anter kültüründe başarı üzerine en çok etki eden faktörlerden biri de mikrosporların hangi gelişme evresinde olduğudur (Nowaczyk ve Kisiala, 2006; Parra-Vega ve ark., 2013b; Barroso ve ark., 2015).

2.1. Anter kültürü

Bu yöntemde ilk olarak 1964 yılında Guha ve Maheswari, *Datura innoxia* bitkisinin kültüre alınan anterlerinde mikrospordan haploid embriyo oluşumu sağlanmıştır (Guha ve Maheswari, 1964). Sonraki yıllarda Bourgin ve Nitsch (1967) tütün (*Nicotina tabaccum*) türünde anter kültürü tekniğiyle, tam bir haploid bitkiyi bulmayı başarmışlardır.

Anter kültürü, içerisinde olgunlaşmamış polenleri bulunduran anterlerin, tomurcuklardan ayrılarak in vitro şartlarda yapay besin ortamlarına yerleştirilmesi ve bu polenlerden haploid embriyoların meydana gelmesi olayına verilen isimdir. Anter kültürü yapılarak normal koşullarda iki çekirdekli yapıya dönüşecek olan polen

tanenin gametik gelişme yönü; daha tek çekirdekli aşamadayken somatik gelişme yönüne doğru çevrilmekte ve böylece ‘mikrospor androgenesis’ veya sadece ‘androgenesis’ olarak adlandırılan oluşum gerçekleşmektedir (Ellialtıoğlu ve ark., 2001). Belirlenen çeşitlerin çiçek tomurcuklarına birkaç damla Tween-20 damlatılıp %20’lik sodyum hipoklorit veya kalsiyum hipoklorit içerisinde 15 dakika boyunca yüzeysel sterilizasyona tabi tutulur ve bu işlemden sonra steril saf su ile tomurcuklar yıkanır. Steril pens ve bistüri yardımı ile anterler tomucuklardan ayrılır. Anterleri tomucuktan ayrılırırken anterlerin zarar görmemesine ve anter sapının antere birleştiği noktadan alınarak uzaklaştırılmasına dikkat edilmelidir. Steril şartlarda tomurcuklardan ayrılan anterler daha önceden hazırlanmış ve steril olan petri kapların içerisindeki besi ortamına ekimi yapılır. Agarla katılaştırılmış besin ortamlarına ekilen anterlerin ekim işlemi bittikten sonra petri kutularının kenarları dış ortamdan meydana gelecek kontaminasyon oluşumunu engellemek için parafilm ya da streçfilm ile kapatılır. Anterler normal koşullarda iki hafta içerisinde embriyo oluşumunu gösterir. Bu süreçte gelişme iki farklı şekilde olur.

- 1) İndirek androgenesis: anterin içerisindeki polenlerden ilk önce kallus dokusu oluştuğu zaman oluşan kallus dokusundan bitki rejenerasyonu oluşmaktadır.
- 2) Direk androgenesis: bu adımda anter içerisindeki polenlerden direkt embriyo oluşur.

2.1.1. Anter kültürünü etkileyen faktörler

2.1.1.1. Donör bitkilerden kaynaklanan faktörler

Genotip

Anter kültüründe olumlu sonuçların elde edilmesinin en önemli nedeni anterlerin alındığı bitkinin genotipleriyle ilgilidir. Bütün bitki gruplarında aynı kültür şartları altında, aynı muamalelere uygulanarak yürütülen bütün çalışmalarda çeşitlerden farklı reaksiyonlar alınmaktadır. Yapılan çalışmalarda 12 tütün türünden 5 tanesinin, 18 farklı Arabidopsis türünden 3 tanesinin ve 118 Solanum genotipi içerisinde sadece 19’unun uygulamalara yanıt verdiği belirtilmektedir (Ellialtıoğlu ve ark., 2000). Rodeva ve ark. (2004)’nın yürüttüğü çalışmada 20 adet Bulgaristan biber genotipi anter kültürüne alınmış ve sonuç olarak 2 genotip indirek organogenesis olurken diğer genotipler direk

embriyogenesis olarak geliştiğini bildirmektedirler. Taşkın (2005), 5 değişik biber çeşidinde bileşenleri farklı 4 ortam uygulamasıyla anterlerin gelişimlerini bakıldığı çalışmada, anter kültüründe genotipin başarı üzerindeki etkisinin çok önemli olduğunu aktarmaktadır. Anter kültüründe genotip, anterin içinden çıkan embriyo oluşumunu ve embriyonun bitkiye dönüşmesini etkilemektedir (Dolcet-Sanjuan ve ark., 1997; Mityko ve Fari 1997). Yapılan birçok araştırmada tüm bitki gruplarında aynı kültür şartları altında anter yapıları bakımından genotipler arasında büyük farklılıklar görülmüştür. Hatta benzer genotipin bile farklı androgenik tepki verdiği ifade edilmiştir (Niklas-Nowak ve ark.,2012). Nitsch 1969'da , 12 farklı tütün çeşidinin 5 tanesinde, Gresshof ve Doy 1972'de, Arabidopsis (Turpgiller) familyasının 18 farklı hattının 3 tanesinde ve Vitis vinifera (asma) türünün 3 çeşidinde, Irikova 1975'te yaptığı çalışmada ise 118 farklı Solanaceae familyasının sadece 19'unda polen embriyogenesisi elde edebilmiştir (Ellialtıoğlu ve ark., 2000).

Biber üzerinde yapılan anter kültürü çalışmalarında araştırmacıların birçok başarının çeşide bağlı olarak değişiklik gösterdiğini, bazı biber çeşitlerinde androgenik embriyo oluşumu ve embriyoların bitkiye dönüşme gücünün çok düşük olduğunu, başarı oranının çeşitlere bağlı olarak % 0.5 ile % 75 arasında farklılık gösterdiğini ve popülasyonlar içerisinde alınan anterlerde başarı oranının daha fazla olduğunu belirtmektedirler (Qin ve Rotino 1993; Ltifi ve Wenzel 1994; Mityko ve ark., 1995; Koleva-Gudeva ve ark., 2007).

Tokat biberi ile İstek F₁, Üçburun F₁ ve Köylüm F₁ biber çeşitlerinin donör bitki olarak kullanıldığı çalışmada uygulamalara ve ortamlara bağlı olarak başarı oranlarında farklılıklar olduğu embriyo oluşturma oranları bakımından en yüksek başarının 187 embriyo ile Tokat biberinden elde edildiği, bu genotipi 86 embriyo ile İstek F₁ çeşidinin izlediği, Üçburun F₁ genotipinden 17 embriyo, Köylüm F₁ genotipinden ise 15 embriyo elde edildiği rapor edilmiştir (Geboloğlu ve Çelik,2016).

Donör bitkilerin yetiştirme koşulları

Anter kültüründe başarının elde edilmesi için ışık şiddetinin fazla olması, donör bitkilerin iyi beslenmesi ve tomurcuk hasadından 3-4 hafta öncesinden itibaren düzenli ya da düzensiz olsun her tür pestisit kullanılmaması gerektiği belirtilmektedir (Nitsch,

1981). Hatipoğlu (1997), mikrospor gelişimi döneminde materyal olarak kullanılacak olan bitkilerin hiçbir strese uğramamaları gerektiğini ve anterlerin alınacağı zamandan 3-4 hafta öncesinden itibaren pestisit uygulamasına son verilmesi gerektiğini ve velev ki çalışmada kullanılan donör bitkilerin anterlerinin alındığı zamana kadar optimal şartlarda yetiştirilmesini tavsiye edilmektedir. Anter kültüründe bitkilerin yetiştirme şartları, dönemi ve donör bitkilerin yetiştirildiği ortamın sıcaklığı, ışık intensitesi, günlük ışıklanma süresi, CO₂konsantrasyonu, bitkinin beslenme şartları ve diğer çevre faktörleri materyal olarak kullanılan bitkiden alınan anterdeki embriyonun başarısını etkilemektedir. (Dunwell, 1991; Alpsoy, 1999). Yapılan uygulamalarda benzer bitki türü ve hatta aynı genotiplerde farklı sonuçlar elde edilmesi çeşit aynı olsa da donör bitkilerin yetiştirme şartlarının farklı olmasının anter kültüründe başarılı sonuçları etkilediğini göstermiştir. Aynı bitki türleriyle ve hatta aynı genotiplerle yapılan uygulamalarda birbirinden farklı sonuçların elde edilmesi, çeşitlerin aynı olmasına rağmen donör bitkilerin yetiştirme şartlarının farklı olmasından kaynaklı olduğu kanıtlanmıştır (Ellialtıoğlu 2005).

Ercan ve ark.,(2006) biberde yürüttükleri çalışmada donör bitkinin yetiştirme koşullarının ve yaşının anter kültüründe embriyoid oluşumuna etkisini araştırmışlar, donör bitkinin yaşının ve yetiştirme koşullarının androgenik başarı üzerine önemli etkileri olduğunu belirtmişlerdir.

2.1.1.2.Anter kültüründen kaynaklanan faktörler

Anterlerin gelişme dönemi

Abak (1983), anter kültüründe en iyi tomurcuk gelişme döneminin mayoz bölünmeyi takip eden birinci mitoz evresinin başlangıcı yani tomurcukların 3.5-4.0 mm boyutlarına geldiği zamana rastladığını belirtmektedir.

Anter kültürü için tomurcukların donör bitkiden alındığı zamanda polenlerin anter kültürü için en elverişli gelişim düzeyinde olması büyük önem taşır ve bu aşama da türlere göre değişiklik gösterir (Dunwell, 1981). Dunwell (1976), bir araştırmasında anter kültüründe çalıştığı tütün bitkisinde polenlerin mitoz bölünme evresinde optimal tepki verdiğini, polenlerin zamanı geçince daha düşük tepki verdiğini belirtmektedir. Biberde 4-6 mm büyüklüğündeki tomurcuklarla yapılan anter kültüründe en iyi anter, kallus ve embriyo gelişiminin sağlandığı rapor edilmiştir (Sayılır ve Özzambak, 2002).

Dolcet-Sanjuan ve ark. 1997 yılında yürüttükleri çalışmada, anter kültüründe başarıyı elde etmek için, biber tomurcuklarının sepal ve petal yapraklarının aynı boyda olması veya petal yaprağının biraz daha uzun ve kenarları menekşe renkli yeşil olması gerektiğini bildirmektedir.

Morfolojik belirteçlerin anter alım zamanını belirlemede kullanılabileceğini belirten araştırmacıların yanında, tomurcuk büyüklüğü, anter rengi gibi morfolojik belirteçlerin yanıltıcı olabileceğini, bu özelliklerin çeşitlere göre değişeceğini savunan araştırmalar da bulunmaktadır (Rodeva 2001; Rodeva ve ark.,2007; Irikova 2008). Bu nedenle anter kültürü çalışmalarında uygun mikrospor evresini belirlemek için çalışmada kullanılacak genotiplerin mikrospor gelişme aşamalarının sitolojik olarak belirlenmesi gerekmektedir. Böylece her genotip için sitolojik bulgulardan hareket edilerek morfolojik belirteçler kullanılabilir (Irikova ve ark., 2011b).

Tomurcuklara yapılan ön muamele

Çiçek tozunda nişasta birikimi anter kültürü için çok önemlidir. Polenlerde nişasta biriktiğinde haploid embriyo gelişimi olmamaktadır. Polenlerdeki nişasta birikimini düşük sıcaklıklar engellemektedir. Anterlerde bulunan ve engelleyici özelliği olan Absisik asit hormonu soğuk uygulamalar yapıldığı zaman asit miktarını azaltır ve olumsuz etkisini ortadan kaldırır (Johansson ve Eriksson, 1977; Ellialtıoğlu ve Tıprıdamaz, 1997; Özkum ve ark., 2000). Soğuk şokların dışında; tomurcuklara etilen uygulaması, santrifüj etme gibi ön muameleler yapıldığında embriyo gelişimine olumlu etki yapmaktadır (Nitsch, 1974). Sayılır ve Özzambak (2002), anter kültüründe tomurcuklar işleme almadan önce +4°C'de 25 saat bekletildiğinde işleminin başarılı sonuçlar elde edildiğini ifade etmektedir. Araştırmacılar 4 °C de 80 saat ve 9 °C de 9 gün uygulanan soğuk şoklarının embriyogenesise olumlu bir etkinin olmadığını ve embriyoların sadece kontrol ortamlarından elde edildiğini bildirmiştir.Morrison ve ark., (1986) ile Supena ve ark., (2006) anter alımından önce çiçektomurcuklarına düşük sıcaklık uygulamışlar ve 24 saatten 100 saate kadar bekletmenin embriyo oluşumunu uyarttığını belirlemişlerdir. Bunun yanında düşük sıcaklığın embriyo oluşumuna önemli bir etkisinin olmadığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır (Vagera ve Havranek 1985; Munyon ve ark.,1989; Özkum ve ark., 2001; Kim ve ark., 2005). Ayrıca düşük sıcaklık uygulamasının embriyo formasyonunu azalttığı ve kallus oluşumunu teşvik ettiği de belirtilmektedir (Özkum ve Tipırdamaz, 2002).

2.1.1.3. Besin ortamının bileşimi ve yapısı

Çömlekçioğlu ve ark. (1999), bazı yerli biber populasyonlarında yaptığı anter kültürü çalışmalarında, bitki büyüme düzenleyicilerden NAA ve BAP'ın besin ortamlarında birlikte kullanılmasında başarılı sonuçlar elde edildiğini; Yoon ve ark. (1991), biberde anter kültüründe farklı büyüme düzenleyici kombinasyonları içinden embriyo oluşumu için en uygun bileşimin 0.1 mg l-1 Kinetin ve 0.1 mg l-1 2,4-D olduğunu bildirmektedirler. Temel besin ortamları olarak anter kültüründe en fazla Murashige ve Skoog (MS), LS (Linsmaer ve Skoog, 1965), NN (Nitch ve Nitch, 1969) ve CP (Dumas de Valux ve ark., 1981), sıvı N ve N medyası (NLN), ortamları kullanılmaktadır.

Bütün bitki grupları için başarılı sonuçlar elde edilebilecek tek bir besi ortamı belirlemek oldukça zordur. Aynı ortamlarda aynı türlere ait farklı çeşitlerin başarı oranlarının farklılık gösterdiği bir durumda tek bir ortam önerisinde bulunmak olası görünmemektedir (Ellialtıoğlu ve ark., 2000). Abak (1983), tarafından yapılan Türkiye orijinli biberlerin kullanıldığı bir çalışmada en başarılı sonuçlar, 5 mg/l kinetin, 5 mg/l 2,4-D, 120 g/l sakkaroz, 37.3 mg/l Na₂EDTA+27.8 mg/l FeSO₄·7H₂O katılan besin ortamlarından elde edilmiştir. Lentini ve ark (1995), pirinç anter kültürü çalışmalarında; besin ortamına gümüş nitrat eklendiğinde ve sakkaroz yerine maltoz kullanıldığında anter başına kallus oluşumunun %14 civarında bir artış gösterdiğini rapor etmektedir. Anter kültürü çalışmalarında en çok sakkaroz karbon kaynağı olarak kullanılmaktadır. Besin ortamlarına eklenen serin, glutamin gibi 15 aminoasitler, AgNO₃ gibi etilen biyosentezini inhibe edici maddeler (Paksoy ve ark., 1995) veya aktif kömür gibi maddeler olumlu sonuçlar elde edebilecek ve başarıyı arttıracak çeşitli kimyasal maddelerdir. Besin ortamlarına en önemlisi de kültürün ilk aşamalarında eklenen yüksek şeker miktarları (%6-12) patates (Sopory ve ark., 1978), biber (Dumas de Valux ve ark., 1981) ve patlıcan (Dumas de Valux ve Chambonnet, 1982) türlerinde haploid embriyoların oluşmasını sağlamaktadır. Biber anter kültüründe oksin olarak en fazla 2,4-D ve NAA olumlu sonuçlar verirken, sitokinin olarak BA ve kinetin kullanılmaktadır. George (1996), embriyogenesis başlangıcı için oksinlere ek olarak sitokininlerin de kullanılması gerektiğini belirtmektedir. Biberde hibrit çeşitlerin geliştirilmesi için saf hatlar elde etmek için Dolcet-Sanjuan ve Claveria (2000)'nın yaptığı bir çalışmada; çift katlı ortamı, biber anter kültürü için en etkili ve en başarılı yöntem olarak saptamışlardır. Chunling (1992), MS temel besin ortamına 4 mg l-1 NAA

ve 0.1veya 1 mg l-1 BA eklenmesiyle biberde anter kültüründe çok olumlu sonuçlar elde edilmesini sağladığını ifade etmektedir. Bajaj, 1983'e göre aktif kömürün anter başına embriyo ve bitki sayısını arttırdığını ve haploid bitkilerin rejenerasyonunun hızlandığını bildirmektedir. Karakullukçu, 1991'e göre ise aktif kömürlü ortamdaki anterler kararip canlılığını yitirir ve embriyo oluşumu olumsuz etkilenir.

Şekerin in vitro koşullarda bitki hücrelerinde önemli embriyolojik farklılaşmalara neden olduğu çok sayıda çalışma ile ortaya konmuştur (Koch, 1996; Jain ve Babbar, 2003; Yadollahi ve ark., 2011; Yaseen ve ark., 2013). Buğdayda %3 şeker mikrospor kültürü için ideal kabul edilirken, anter kültürü için %9 gibi yüksek oranlar da uygun bulunmakta, % 9'dan daha yüksek şeker konsantrasyonları polen bölünmesini inhibe etmekte, 2,4-D ise polenin gametofitik fazdan sporofitik faza geçişinde rol oynamaktadır (Zhongheng, 2002). Anter kültüründe şeker türevleri arasında en yayginkullanılanı ve en etkili olanı sakkarozdur. Sakkarozdan sonra sırasıyla glikoz, fruktoz ve maltoz gelmektedir (Hema ve ark., 2007).

2.1.1.4. İnkübasyon şartları

Bazı bitki türlerine ait anterlere, kültüre alma işlemleri bittikten sonra uygulanan yüksek sıcaklıktaki inkübasyon şartları, embriyo oluşumlarını artırmaktadır (Dumas de Vaultx ve ark., 1981). Ellialtıoğlu ve ark. (2001) besin ortamının ve inkübasyon koşullarının optimize edilmesi, androjenetik başarıda genotipten kaynaklanan olumlu ya da olumsuz tepkiyi ortadan kaldıramayacağını vurgulamıştır.

Anter kültüründe donör bitkinin genotipi kültüre tepki vermede en önemli faktörlerden biridir. Çömlekçioğlu ve ark. (2001) ile Ellialtıoğlu ve ark. (2001)'da anter kültürüne tepkilerinin Kahramanmaraş çeşitlerinde elde edilen embriyoların bitkiye dönüşüm oranlarının çok düşük düzeyde olduğunu bildirmişlerdir. Terzioğlu ve ark. (2000), farklı inkübasyon koşullarının anter kültürü üzerinde olumlu ya da olumsuz etkilerini gözlemlediği çalışmasında, 2000 lux 29°C ve 35 °C de iki farklı inkübasyon koşulunu incelemiştir. Çalışmanın sonucunda 29 °C inkübasyon şartları daha etkili olduğu rapor edilmiştir. Patlıcan, biber, lahana gibi sebzelerde inkübe işleminin ilk zamanlarında yüksek sıcaklık şoklarına gereksinim duyulurken; tütün gibi anter kültürüne son derece olumlu cevap veren bitkilerde 24-28 °C sıcaklıkta ve belirli bir düzenle ışıklandırılan koşullarda gerçekleştirilen inkübasyon yeterli olabilmektedir (Ellialtıoğlu, 2000).

Chuong ve ark. (1985), *Brassica napus*'un 6 ve *Brassica carinata*'nın 1 çeşidiyle yaptıkları çalışmada araştırmacılar, 32°C'de 3 gün inkübasyon sonrasında 25°C'de devam eden inkübasyon koşullarının, hem yüksek embriyo verimi hem de yüksek normal embriyo yüzdesi sağladığını aktarmaktadır.

Bitki tomurcuklarından alınan anterlerin direk besin ortamına sırt kısmından temas etmesi inkübasyonun başarılı bir şekilde gerçekleşmesi için gereklidir. Yapılan bir çalışmada *Datura innoxia* bitkisinin, ortam üzerine farklı pozisyonlarda yerleştirilen anterlerden dorsal biçimde ortam yüzeyine yerleştirilenlerden en yüksek oranda embrioid elde edildiği ve anterlerin dik veya yatay pozisyonda agar ortamına batırılmasının oksijen yetersizliğine neden oldu için gelişmeyi engellediği bildirilmiştir (Sopory ve ark., 1978).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

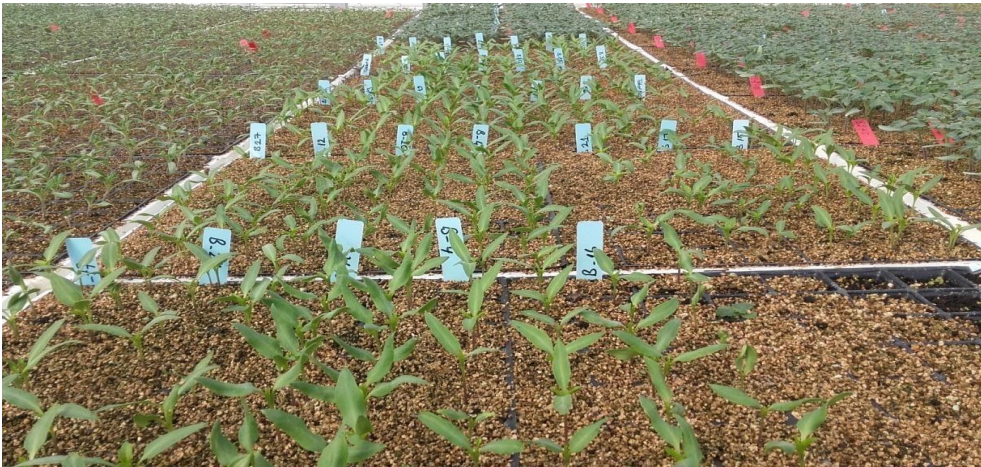
Çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Laboratuvar ve Araştırma Alanında yürütülmüştür.

3.1.1. Donör bitkiler ve özellikleri

Denemede beş genotip biber popülasyonu kullanılmıştır. Bu genotiplerin tohumları üreticilerden toplanmıştır. İnce sivri biber tipi (B4), kapyra (B16), dolmalık biber tipi (B90), üç burun meyveli biber tipi (B85) ve çarliston biber tipi (B54) genotip olarak seçilmiştir.

3.1.2. Donör bitkilerin yetiştirme koşulları

Donör bitkiler yarı otomasyona sahip bir serada yetiştirilmiştir. Sera oluk altı yüksekliği 5 metre, taban 2000 m², üstleri kelebek havalandırma, ısı ve gölge perdesi bulunan, sirkülasyon ve egzoz fanlarına sahip, yanları uzay havalandırma, havalandırma boşlukları insect net ile kapalı, sulama ve gübreleme sistemi otomasyona bağlı, içinde hem fide yetiştirme bölümü, hem de topraksız yetiştiriciliğe uygun altyapıya sahiptir (Şekil 3.2).



Şekil 3.1. Donör bitkilere ait fidelerin görünümü



Şekil 3.2. Donör bitkilerin yetiştirildiği sera ve bitkilere ait görünüm

3.1.3.Kültür aşamasında kullanılan ekipmanlar

Doku kültürü laboratuvarı:İnkübasyon uygulamaları, dezenfeksiyon, besin ortamı hazırlama ve anter atımı çalışmaları Bahçe Bitkileri Bölümü Doku Kültürü laboratuvarın da gerçekleştirilmiştir.

İklimlendirme odası: Anterlerin, embriyo oluşturma evresi ile dış koşullara alıştıırılma evresi arasındaki dönemi geçirmeleri için sıcaklık, ışık ve nem kontrollü iklimlendirme odası kullanılmıştır. İklimlendirme odasında raflar krom nikel malzemeden imal edilmiştir.Rafların aydınlatılmasındaLED lambalar kullanılmıştır.

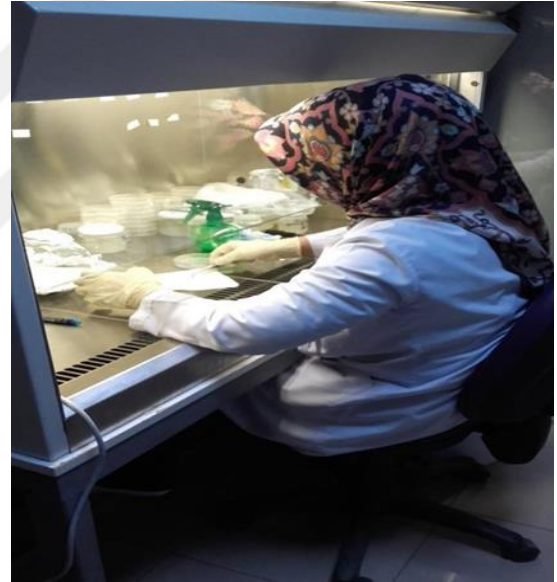
Floww kabin: Steril ortam çalışmalarının yürütülmesi için TelstarBio II A marka flow kabin kullanılmıştır.

İnkübatör: Anterlerin ekimi yapıldıktan sonra 8 gün boyunca 35 °C“de karanlık koşullarda bekletmede Memmert, IPP 400“ inkübatör kullanılmıştır.

Otoklav: Çalışma sırasında kullanılan malzemelerin (pens, büstüri, erlenmayer, tüp, besi ortamı, vs.) dezenfeksiyonunda nemli hava (basınçla) sterilizasyonu sağlayan ALP CL-3258 L marka 54 lt kapasiteli otoklav kullanılmıştır.



Şelil 3.3. Denemede kullanılan inkübatör ve otoklav ait görüntüler



Şekil 3.4. Flow kabine ait görüntüler

3.2. Yöntem

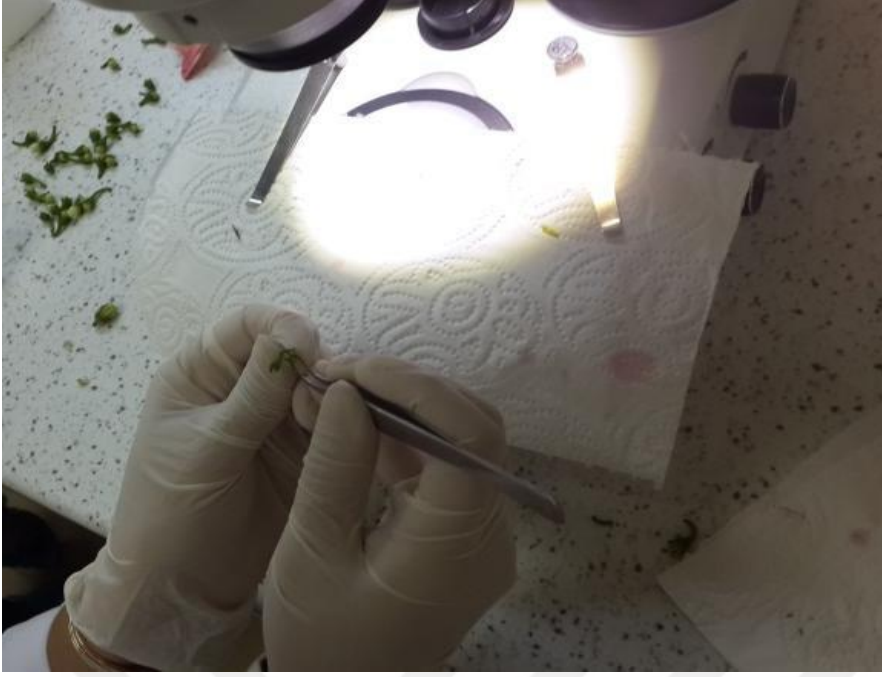
Çalışmada 5 genotip, 4 şeker dozu, 3 farklı kinetin ve 2,4-D dozu uygulaması 5 tekerrürlü olarak denenmiştir. Böylece $(5 \times 4 \times 3 \times 3 \times 5)$: 900 muamele kullanılmış olup her muamelede 10 anter kullanılmıştır. Toplamda ise 9000 anter atımı yapılmıştır.

3.2.1. Donör bitkilerin yetiştirilmesi

Denemde kullanılan genotiplerin tohumları 15 Nisan 2016 tarihinde viyoller içerisindeki torf ve perlit karışımından oluşan ortama ekilmiştir. Tohumlardan oluşan fideler cam sera içerisinde topraksız tarım alanındaki coco-peat bloklarına dikilmiştir. Bitkilerde vejetatif ve generatif dengeyi sağlamak için sürekli oluşan çiçek ve meyveler koparılmıştır. Bu şekilde daha fazla tomurcuk oluşumu sağlanmıştır. Araştırmada kullanılan bitkilerin hastalık ve zararlılardan korunması için bitkiler ilaçlanmıştır. Bitkilere damlama sistemi ile sulama ve gübreleme işlemi yapılmıştır.

3.2.2. Çiçek tomurcuklarının gruplandırılması ve toplanması

Tomurcukların en uygun evresi çeşitlere göre farklılık göstermektedir. Genelde tomurcuklar 3-4 mm boyunda olup sepal ve petal yapılarının aynı büyüklükte olması tomurcuklar için uygun evre olarak kabul edilmektedir. Bu evreye ulaşmış tomurcuklar toplanarak araştırmada kullanılmıştır. Androgenesis için uygun mikrosporların bulunduğu anterler; fizyolojik olarak krem-açık sarı renklerde, uç kısmında antosiyanin oluşumunun başladığı, morlaşmanın %20-30 olduğu evredeki anterlerdir. Genotipler arasında farklılıkların olmasına karşın anterlerin gelişme aşamalarını belirleyebilmek için, çiçek tomurcukları önce kendi aralarında morfolojik özelliklerine göre gruplandırılmış ve bu gruplardan alınan anterlerde mikrospor gelişim aşamalarının kontrol edilmesi için %2'lik asetokarmin ile boyama yapılmıştır. Boyanan anterler mikroskop altında incelenmiş ve uygun evre belirlenmiştir.



Şekil 3.5. Asetokarmin ile boyama yapılmış preparatların incelenmesi

3.2.3. Çiçek tomurcukların dezenfeksiyonu anterlerin çıkarılması ve besi ortamına dikilmesi

Anterler sabah erken saatlerde toplanmıştır. Araştırmada kullanılan tomurcuklara ön uygulama yapılmıştır. Tomurcuklar toplandıktan sonra 24 saat 4°C’de bekletilmiştir. Anter kültürü için seçilen en uygun mikrospor gelişimine ulaşmış olan tomurcuklar önce etiketlenen kapları içerisinde hazırlanan %96’lık etil alkolde 5 dakika bekletilip saf su ile yıkanmıştır. Bu aşamadan sonra sterilkabin içerisinde tomurcuklara; birkaç damla Tween-20 eklenmiş %20’lik ticari sodyum hipoklorit çözeltisinde 15 dakika süreyle dezenfekte edilmiştir. Ardından saf su ile 3 kez durulanmıştır.



Şekil 3.6. Anterlere uygulanan dezenfeksiyon işlemleri

Tomurcuklar dezenfeksiyon işleminden sonra kurutma kağıdı üzerinde pens ve bistüri yardımıyla anterlere zarar verilmeden sepal ve petal yapıları uzaklaştırılmıştır. Daha sonra anterler fazla bekletilmeden hazırlanmış olan petri kaplarındaki besi ortamına anterler ezilmeden dikilmiştir. Anterleri dikerken pens ve bistüri uçlarının ortamda değmemesine ve anterleri ortama batırmamaya dikkat edilmelidir. Her petri kabına 7-10 anter atılmıştır. Anterler besi ortamına konulduğunda hafif pens ucu ile bastırılmıştır.

Dikim uygulaması bitikten sonra petri kapların kenarları dışarıdaki atmosferin neden olacağı kontaminasyonu önlemek için streç film ile kapatılmıştır. Anter atımı sonrasında anterler karanlık ortamda 35 °C'de 8 gün bekletilmiştir.

3.2.4. Besin ortamlarının bileşimi ve hazırlanması

Çalışmada kültür ortamı olarak Murashige ve Skoog (1962) tarafından önerilen protokol kullanılmıştır. Besi ortamının katılaşması için % 0.8 Agar-agar (SiGMA) kullanılmıştır. Besi ortamları 4 farklı sakkaroz dozu (%3, %6, %9, %12) , 3 farklı kinetin ve 2,4-D

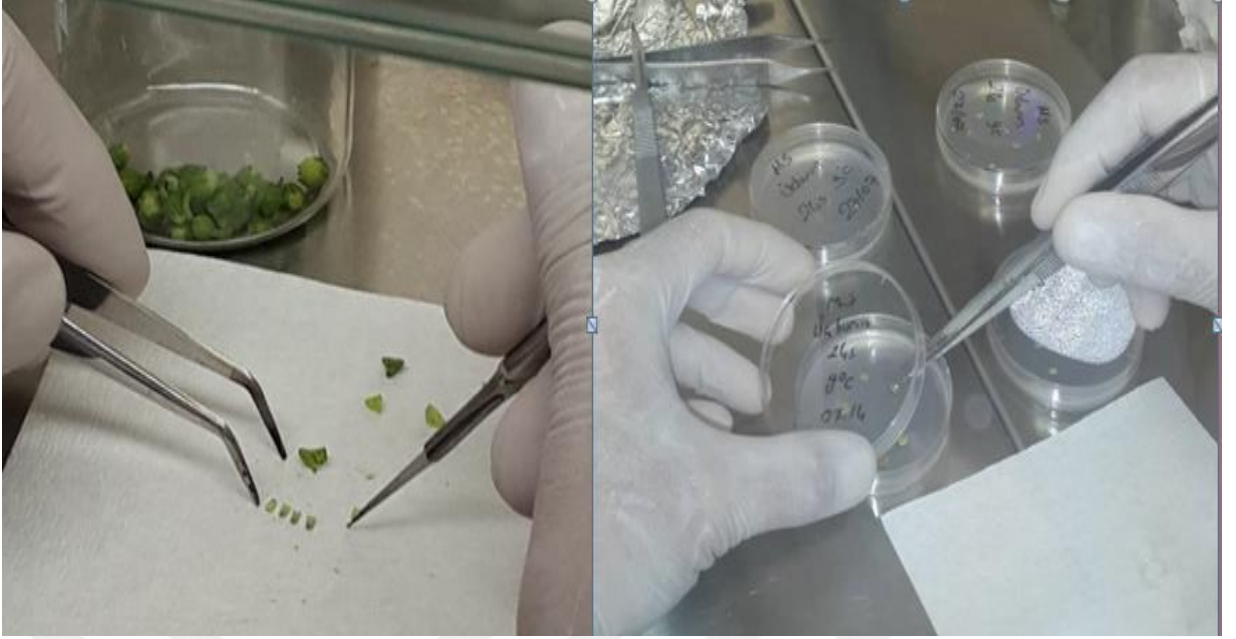
dozu (0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L) ile hazırlanmıştır. Toplamda 36 farklı besin ortamı hazırlanmıştır. Denemelerde kullanılan tüm anterler C (kallus) ortamına dikilmiş; gelişme gösteren anterler 0.1 mg/l kinetin içeren R(rejenerasyon) ortamına aktarılmıştır. Çalışmada kullanılan tüm besi ortamları otoklavda sterilize edilmeden önce pH seviyeleri 5.8 e ayarlanmış; ardından erlenmayer alüminyum folyo ile ağızları kapatılmıştır. Ağızlarıkapanan erlenmayer içerisindeki ortamlar 15 dakika süreyle 121 °C'de 1 atm basınç altında otoklavda sterilize edilmiştir. Sterilize edilen ortamlar flow kabin içerisinde her bir petri için 10ml besin ortamı düşecek kadar doldurulmuştur. İnkübasyon uygulama süreleri bittikten sonra petriler 25°C sıcaklık ve 16 saat fotoperiyoda sahip iklimlendirme odasındaki krom raflara yerleştirilmiştir. Petriler iklimlendirme odasına alındıktan 4 gün sonra anterler içinde rejenerasyon ortamı bulunan petrilere aktarılmıştır. Her 4 haftada bir anterler yeni bir R ortamına aktarılmıştır. R ortamında yaklaşık 5-6 hafta sonra en geç 9-10 hafta sonra anterlerin yüzeyinde embriyoidler görülmeye başlamıştır.



Şekil 3.7. Besin ortamlarının petrilere aktarılması

Çizelge 3.1. Anter kültüründe MS ortamı için kullanılan kimyasallar ve dozları

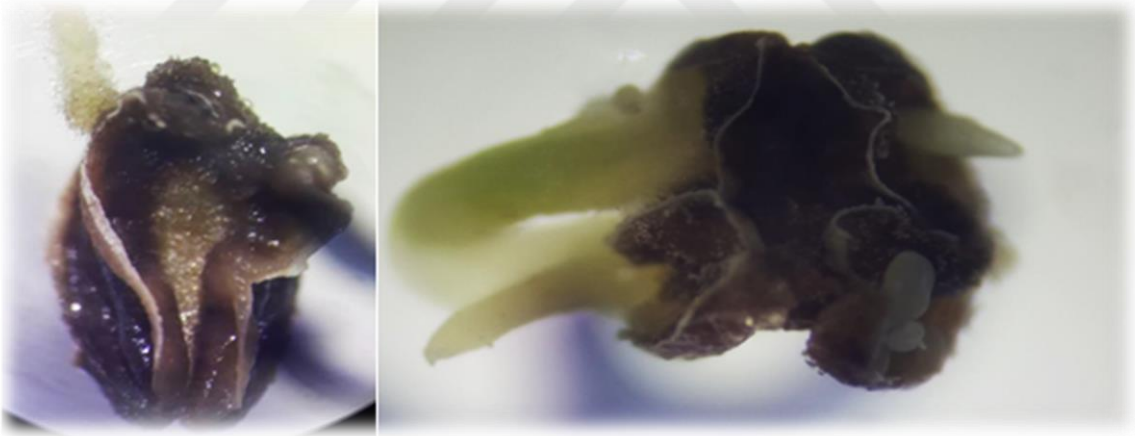
<u>Kimyasal Maddeler</u>	<u>MS</u>	<u>MS</u>	<u>MS</u>
<u>Makroelementler (mg/l)</u>	'C' Ortam	'R' Ortamı	'V' Ortamı
KNO ₃	1900	1900	1900
NH ₄ NO ₃	1650	1650	1650
MgSO ₄ , 7H ₂ O	370	370	370
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	-	-
NaH ₂ PO ₄ , 2H ₂ O	-	-	-
CaCl ₂ , 2H ₂ O	440	440	440
KCl	-	-	-
Ca(NO ₃) ₂ , 4H ₂ O	-	-	-
KH ₂ PO ₄	170	170	170
<u>Mikroelementler (mg/l)</u>			
MnSO ₄ , H ₂ O	22,300	22,300	22,300
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	8.600	8.600	8.600
H ₃ BO ₃	6.200	6.200	6.200
KI	0.830	0.830	0.830
Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O	0.250	0.250	0.250
CuSO ₄ , 5H ₂ O	0.025	0.025	0.025
CoCl ₂ , 6H ₂ O	0,025	0,025	0,025
<u>Fe-EDTA</u>			
Na ₂ EDTA. 2H ₂ O(mg/l)	37.3	37.3	37.3
FeSO ₄ , 7H ₂ O (mg/l)	27.8	27.8	27.8
<u>Vitaminler (mg/l)</u>			
Pyridoxin HCL	0.50	0.50	0.50
nicotinamic Acid	0.50	0.50	0.50
Thiamine HCL	0.10	0.10	0.10
Glycin	2.00	2.00	2.00
MioInositol	100.00	100.00	100.00
Vit B ₁₂	0.03	0.03	0.03
Calcium panthotenate	-	-	-
Biotine	-	-	-
<u>Karbonhidratlar</u>			
Sucrose (mg/l)		30.000	30.000
<u>Büyümeidüzenleviciler</u>			
Kinetin (mg/l)		0.1	-
2,4-D (mg/l)		-	-
<u>Agar</u>			
Agar-agar (mg/l)	8000	8000	8000
pH	5,8	5,8	5,8



Şekil 3.8. Çiçek tomurcuklarından anterlerin alımı ve besin ortamına dikimi

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Denemede kullanılan 5 biber (İnce Sivri, Kapyra, Dolma, Çarliston, Üçburun) genotipten toplamda 9000 adet anter ekimi yapılmıştır. Çiçek tomurcukları dezenfekte edildikten sonra her bir tomurcuk açılarak içerisindeki anterlerin C ortamına dikimi yapılmıştır. C ortamındaki anterler 35 °C sıcaklıkta 8 gün karanlıkta inkübatörde bekletildikten sonra 25 °C sıcaklık ve 16/8 saat gündüz gece özelliğine sahip iklim odasına alınmıştır. İklim odasında 4 gün bekletildikten sonra anterler Rejenerasyon ortamına alınmıştır. Burada ortalama 40 gün geçtikten sonra dikimi yapılan tüm genotiplerin anterlerinde gelişmeler takip edilmiştir. Anterlerin kültür ortamına alındıktan sonra şişerek farklılaşmaları veya bozulma, kuruma olmaksızın canlılıklarını sürdürmeleri gelişme olarak değerlendirilmiştir. Embriyo oluşturan anterlere ait görüntüler Şekil 4.1’de verilmiştir. Çalışmada İnce Sivri, Kapyra, Dolma, Çarliston, Üçburun genotiplerinden toplamda 9000 anter ekilmiş, sonuçta 1702 anterden embriyo oluşumu gözlemlenmiş ve toplamda 2667 embriyo elde edilmiştir (Çizelge 4.1).



Şekil 4.1. Anterlerden embriyo çıkışı

Çizelge 4.1. Genotip, şeker miktarı ve bitki büyüme düzenleyicilerine bağlı olarak embriyo oluşum oranları

			Genotipler														
			Çarliston			Kapyra			Dolma			İnce Sivri			Üçburun		
Şeker (g/L)	Kinetin (mg/L)	2,4 D (mg/L)	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
30	0,1	0,1															
30	0,1	0,5													3	4	6
30	0,1	1,0													1	2	2
30	0,5	0,1															
30	0,5	0,5							3	7	6						
30	0,5	1,0							4	4	8	6	6	12	2	3	4
30	1,0	0,1							1	2	2						
30	1,0	0,5				2	2	4							3	5	6
30	1,0	1,0				1	1	2	3	5	6	1	2	2			
60	0,1	0,1	22	26	44	2	5	4	24	30	48	5	8	10	34	42	68
60	0,1	0,5	19	25	38	4	12	8	14	19	28	3	4	6	25	36	50
60	0,1	1,0	23	29	46	33	58	66	38	54	76	6	7	12	29	43	58
60	0,5	0,1	25	38	50	8	15	16	18	32	36				21	30	42
60	0,5	0,5	11	23	22	41	60	82	22	26	44	11	14	22	20	45	40
60	0,5	1,0	20	27	40	26	43	52	7	11	14	18	23	36	32	53	64
60	1,0	0,1	16	19	32	14	23	28	5	8	10	10	10	20	36	64	72
60	1,0	0,5	25	27	50	10	18	20	1	4	2	17	36	34	38	49	76
60	1,0	1,0	29	32	58	1	3	2	38	73	76	31	48	62	42	108	84
90	0,1	0,1	2	5	4	18	20	36							10	19	20
90	0,1	0,5	24	35	48	15	13	30									
90	0,1	1,0	9	17	18	10	14	20	5	5	10				35	48	70
90	0,5	0,1				14	16	28	1	3	2	8	9	16	32	64	64
90	0,5	0,5	18	26	36	5	9	10	6	8	12	9	12	18	39	84	78
90	0,5	1,0	8	14	16	6	11	12	12	14	24				32	63	64
90	1,0	0,1	19	29	38	14	26	28	5	6	10	42	51	84	41	92	82
90	1,0	0,5	6	15	12	21	24	42				33	45	66	29	45	58
90	1,0	1,0	13	28	26	18	35	36	3	7	6	34	50	68			
120	0,1	0,1	3	9	6	4	6	8									
120	0,1	0,5	3	7	6	9	11	18				1	3	2			
120	0,1	1,0	4	11	8							5	7	10	10	15	20
120	0,5	0,1	2	5	4	6	8										
120	0,5	0,5				5	9	10	1	3	2				29	33	58
120	0,5	1,0				4	5	8				5	7	10	9	18	18
120	1,0	0,1				7	7	14	9	14	18				12	14	24
120	1,0	0,5				6	13	12	23	39	46	6	8	12			
120	1,0	1,0				16	21	32	11	17	22				12	12	24

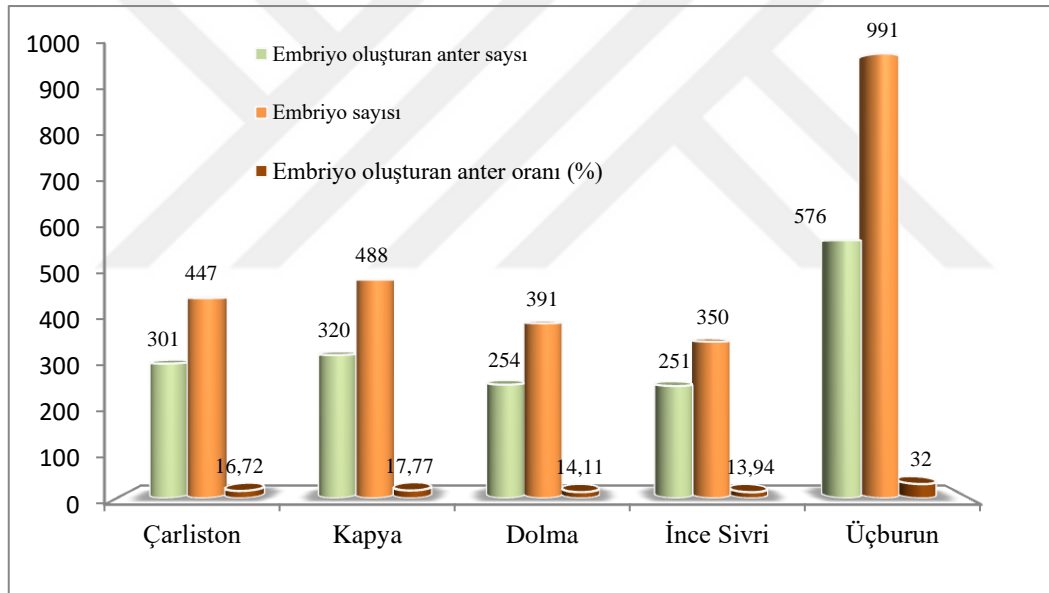
E1: Embriyo oluşturan anter sayısı

E2: Embriyo sayısı

E3: Anterden embriyo oluşum oranı (%)

4.1. Genotiplere göre başarı düzeyleri

Çalışmada besin ortamı bileşinlerine bağlı olarak başarı oranlarında değişiklikler görülse de kullanılan bütün genotiplerden embriyo oluşumu gözlemlenmiştir. Her genotip için 1800 anter dikimi yapılmış ve en yüksek embriyo sayısı 991 ile Üç Burun genotipinden elde edilmiştir. İkinci olarak ise 488 embriyo ile Kapyta takip ederken, Çarliston 447, Dolma 391, İnce Sivri genotipinden 350 embriyo elde edilmiştir. Embriyo oluşturan anter sayısına bakıldığında en yüksek başarı oranı % 32 ile Üçburun Genotipinden elde edilirken en düşük oran %13,94 ile İnce Sivri genotipinden elde edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Genotiplere göre embriyo oluşum oranları

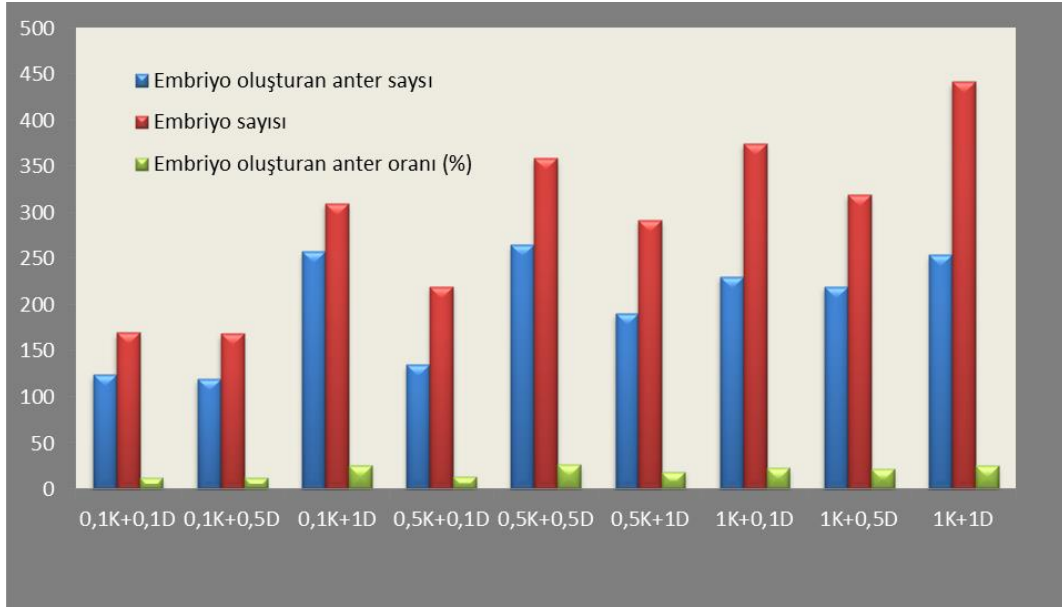
Biber anter kültüründe genotipin androgenik yatkınlığının embriyo ve haploid bitki elde etme başarısı üzerinde önemli etkisi bulunmaktadır. Biber genotiplerinin bir kısmı anter kültürüne yanıt vermezken, yanıt veren genotiplerin sayısının daha fazla olduğu, ancak başarı oranının değiştiği araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (Morison ve ark., 1986; Mityko ve ark, 1995; Rodeva ve ark, 2004; Ercan ark., 2006; Ercan ve Şensoy, 2011; Irikova ark., 2011; Taşkin ark., 2011; Niklas-Nowak ark., 2012; Olszewska ark., 2014; Arı ark., 2016). Mityko ve ark., (1995) 11 biber genotipinin DDVX ortamında androgenik başarısını inceledikleri çalışmada 2 genotip hiç sonuç vermezken, diğer

genotiplerin başarı düzeyinin değiştiğini, en başarılı genotipte 100 anterden 178.2 embriyo elde ettiklerini, Koleva–Gudeva ve Trajkova (2012), 19 genotipten 12 sinin embriyo oluşturduğunu ve embriyo oluşum oranının %3.33 ile 50.55 arasında değiştiğini belirtmektedirler. Biberde 17 genotipin DDVX ortamında androgenik başarısını inceleyen Qin ve Rotino (1995), androgenik başarının genotiplere göre farklılıklar gösterdiğini, ayrıca ortam bileşenlerine bağlı olarak genotiplerin tepkilerinin değiştiğini, Rodeva ve ark., (2004) 16 biber genotipinde yürüttüğü anter kültürü çalışmasında genotiplerin direkt ve indirekt embriyogenesisse verdikleri yanıtların değiştiğini, Nervo ve ark., (1995) 12 biber genotipinde yürüttüğü anter kültürü çalışmasında kültüre aldığı 8169 anterden 3310 embriyo (%40.5) elde ettiklerini belirtmektedirler.

Biberde anter kültüründe başarı donör bitkinin genetik yapısının yanında biber tipine bağlı olarak ta değişmektedir. Mitykó ve Fári (1997) 4 farklı biber tipine ait 500 genotip üzerinde yürüttükleri anter kültürü çalışmasında başarı oranının %0-76 arasında değiştiğini ve en başarılı tipin dolma biber tipi olduğunu belirtmektedirler. Bizim denememizde başarı oranı biber tipine göre değişiklik göstermiştir.

4.2. Bitki büyüme düzenleyicilerine göre başarı düzeyi

Çalışmada besin ortamı olarak MS kullanılmış ancak besin ortamına Kinetin ve 2,4 Diklorofenoksiasetik asitin 3 farklı dozu eklenerek (0.1, 0.5 ve 1.0 mgL⁻¹) kombinasyonlar halinde denenmiştir. Her kombinasyon için 1000 anter dikimi yapılmıştır. En yüksek embriyo sayısı 442 olarak ortama 1.0mgL⁻¹ Kinetin + 1.0mgL⁻¹ 2,4 D eklenmesiyle elde edilmiştir. En düşük embriyo sayısı ise 170 ile besin ortamına 0.1mgL⁻¹ Kinetin + 0.1mgL⁻¹ 2,4 D uygulamasından elde edilmiştir. Embriyo oluşturan anter oranına bakıldığında en yüksek % 26,5 ile 0,5mgL⁻¹ K+0,5mgL⁻¹ 2,4D, en düşük % 12 0,1 K mgL⁻¹+0,5mgL⁻¹ 2,4D eklenmesiyle olmuştur (Şekil 4.3).

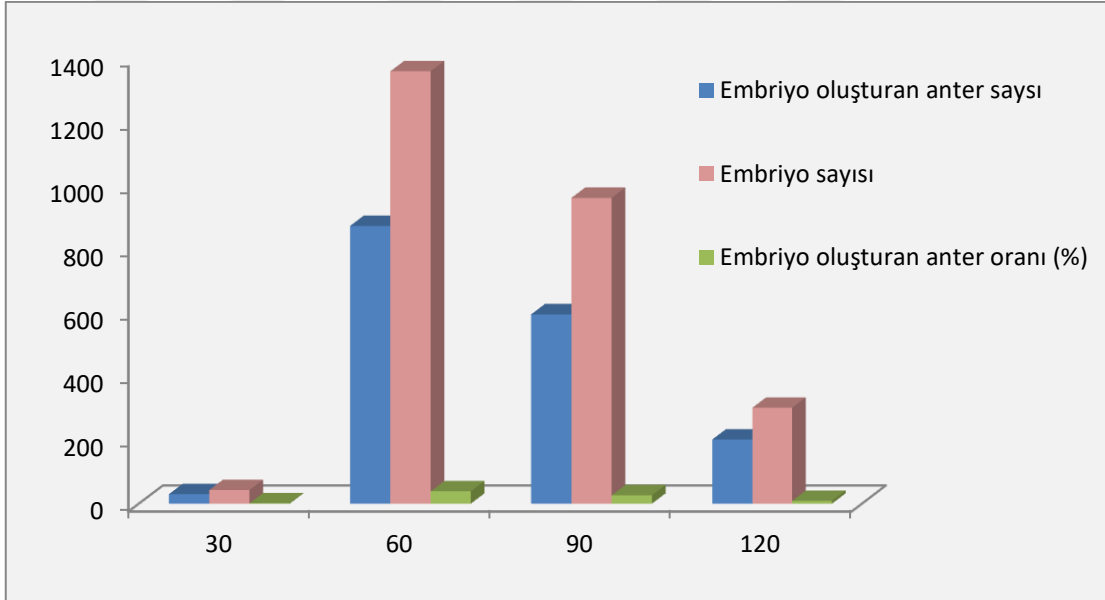


Şekil 4.3 Kinetin ve 2,4 Diklorofenoksiasetik asitin embriyo oluşumuna etkisi

Anter kültüründe başarıyı etkileyen faktörler arasında besin ortamları, ortam bileşenleri ve besin ortamına ilave edilen vitamin, hormon ve bitki büyüme düzenleyicileri önemli rol oynamaktadır. Abak (1983), tarafından yapılan Türkiye orijinli biberlerin kullanıldığı bir çalışmada En başarılı sonuçlar, 5 mg/l kinetin katılan besin ortamlarından elde edilmiştir. Sayılır ve Özzambak (2000), brokkolide yapmış oldukları araştırmada 0.1 mg L⁻¹NAA+0.5 mg L⁻¹2.4-D kombinasyonu içeren modifiye besin ortamında diğer kombinasyonlara göre daha fazla embriyo elde edildiği bildirmektedir. Ercan ve ark., (2001), 11 farklı besi ortamı (kinetin, BA, NAA, 2,4D, aktif kömürün farklı dozlarını içeren) ve 5 farklı biber çeşidi ile çalışmışlar ve en iyi sonuçları %1 aktif kömür, 5 mg L⁻¹2,4D, 5 mg L⁻¹ kinetin içeren %1 aktif kömür, 4 mg L⁻¹ NAA ve 0.1 mg L⁻¹ BA içeren MS ortamlarından almışlardır. Biberde anter kültüründe besin ortamı ve genotipin etkilerini araştırmak için yapılan bir çalışmada kinetin, 2,4 D, NAA ve BAP farklı dozları denenmiştir. En yüksek embriyo oluşum oranı %8.9 olarak Kinetin ve 2,4-D'nin 0.5'er mg L⁻¹ dozunda kullanıldığı ortamdan elde edilmiştir (Alremi ve ark., 2014). Literatür bulguları incelendiğinde kinetin ve 2,4-D dozunun arttıkça başarı oranının da arttığı gözlemlenmiştir. Benzer sonuçlar bizim denememizde de görülmüştür.

4.3. Besin ortamına eklenen şeker miktarına göre başarı düzeyi

Çalışmada karbonhidrat kaynağı olarak sakkarozun 4 farklı dozu (30,60,90,120 gL⁻¹) denenmiştir. Her doz için 2250 anter atımı yapılmıştır. En yüksek embriyo oluşumu 42 anterden 108 embriyo oluşumu ile ortama 60 gL⁻¹ sakkaroz ilave edilmesiyle elde edilmiştir. Embriyo oluşturan anter oranına bakıldığında en yüksek oran % 38.84 ile 60 gL⁻¹, ikinci olarak % 26.48 ile 90 gL⁻¹,daha sonra % 8.97 ile 120 gL⁻¹ve en düşük oran %1.33 ile 30 gL⁻¹ sakkaroz ilave edilen ortamlarda gözlemlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Şeker oranına göre embriyo oluşum oranı

Besin ortamına şeker ilave edilmesi anter kültüründe başarı üzerine bitki büyüme düzenleyici maddeler ve genotip kadar etkilidir (Dolcet-Sanjuan ve ark., 1997). Şekerin in vitro koşullarda bitki hücrelerinde önemli embriyolojik farklılaşmalara neden olduğu çok sayıda çalışma ile rapor edilmiştir (Koch, 1996;Jain ve Babbar, 2003; Yadollahi ve ark., 2011; Yaseen ve ark., 2013). Buğdayda 30 gL⁻¹ şeker mikrospor kültürü için ideal kabul edilirken, anter kültürü için 90 gL⁻¹ gibi yüksek oranlar da uygun bulunmakta, 90 gL⁻¹'den daha yüksek şeker konsantrasyonları polen bölünmesini engellemektedir (Zhongheng, 2002). Türkiye orijinli biberlerin kullanıldığı bir çalışmada en başarılı

sonuçlar, 5 mg/l kinetin, 5 mg/l 2.4-D, 120 g/l sakkaroz, 37.3 mg/l Na₂EDTA+27.8 mg/l FeSO₄.7H₂O katılan besin ortamlarından elde edilmiştir. Mısırdaki farklı şeker dozlarının denendiği bir denemede en yüksek sonuçlar % 6 sakkaroz denemesinden elde edilmiştir (İsmaili ve ark.,2016).Bizim denememizde de en iyi sonuçlar % 6 sakkaroz ilave edilen ortamlardan elde edilmiştir.



5.SONUÇ

5 farklı genotipte farklı şeker, kinetin ve 2,4-D dozlarının denendiği çalışmamızda cevap alınamayan uygulamalar sayılmadığında embriyo sayısı 1-108 arasında değişmiştir. Anterden embriyo oluşumu ise % 2-84 arasında gerçekleşmiştir.

Çalışmada androgenesis başarı oranı genotiplere göre farklılıklar göstermiştir. En iyi sonuç Üçburun genotipinden elde edilmiştir.

Anter kültüründe başarıyı etkilen en önemli faktörlerden biri besin ortamı ve bileşenleridir. Bu faktör bizim çalışmamızda da etkisini göstermiştir. Şeker ve bitki büyüme düzenleyicilerinin dozlarına göre başarı oranları önemli derecede değişiklik göstermiştir. En düşük başarı oranı % 2 ile 30gL^{-1} sakkaroz ve $0,1\text{mgL}^{-1}$ Kinetin + $0,1\text{mgL}^{-1}$ 2,4D ilave edilmiş ortamdan elde edilirken en yüksek oran % 84 ile 60gL^{-1} sakkaroz ve 1mgL^{-1} Kinetin + 1mgL^{-1} 2,4D ilave edilmiş ortamdan elde edilmiştir. Kinetin ve 2,4 D'nin dozları arttıkça başarı oranının arttığı gözlemlenmiştir. Sakkarozun dozlarına göre başarı oranı incelendiğinde en iyi başarı 874 anterden 1360 embriyo eldesiyle 60gL^{-1} sakkaroz ilave edilen ortamda belirlenmiştir. Şeker miktarı arttıkça başarının arttığı ancak 120gL^{-1} de başarı oranının azalmaya başladığı gözlemlenmiştir. Literatür incelendiğinde biberde anter kültüründe şekerin çoğunlukla %3 oranında kullanıldığı farklı dozların denendiği çalışmaların çok az olduğu gözlemlenmiştir. Bu konuda daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak biberde değişik genotipler üzerinde farklı besin ortamı bileşenlerinin anter kültüründe başarı üzerine etkisinin incelendiği çalışmada genotiplere, besin ortamlarına bağlı olarak androgenik yanıtlarda farklılıklar olmuştur.

6. KAYNAKLAR

- Abak, K. 1983. Biberde (*Capsicum annuum* L.) anter kültürü yoluyla haploid bitki elde etme üzerinde araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı. Cilt: 33, 155-163
- Abak, K. 1986. Biber ıslahında anter kültüründen yararlanma. Tubitak Bitki Islahı Sempozyumu Bildiri Özetleri, 15-17 Ekim, İzmir.
- Alpsoy, HC. 1999. Doktora Tezi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Bursa.
- 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. 2014.
- Andrews, J. 1985. Peppers. The Domesticated Capsicum. University. of Texas Pres, Box 7819 Austin, Texas 78713.
- Anonim, 2018. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> 23.08.2018
- Ananim,2019. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=104&locale=tr>
- Arı, E., Bedir, H., Yıldırım, S. ve Yıldırım, T., 2016. Androgenicresponses of 64 ornamentalpepper (*Capsicum annuum* L.) genotypeshed-microsporeculture in the autumn season. *Turkish Journal of Biology*, 40(3).
- Ata, A. 2011. Biberlerde (*Capsicum annuum* L.) Anter Kültüründe Mevsim Etkisi ve Mikrospor Gelişimi Ziraat Fakültesi Yüksek Lisans. Sayfa Sayısı: 1.
- Bajaj, Y.P.S. 1983. In vitro production of haploids. In: Handbook of Plant Cell Culture (eds: Evans, D.A., Sahrp, W.R., Ammirato, P.V., Yamada, Y.). Macmillan Publishing Company, Vol. 1., Chapter 6: 228-287.
- Barroso, P. A.,Rêgo, M. M., Rêgo, E. R. ve Soares, W. S. 2015. Embryogenesis in the anthers of different or namental pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes.
- Bourgin, J.P. ve Nitsch, J.P.1967. Obtention de Nicotiana haploides a partir de’ etamines cultivees in vitro. *Ann. Phyiol. Veget.*, 9:377-382
- Büyükalaca, S., Çömlekçioğlu, N., Abak, K., Ekbiç, E. ve Kılınç, N.2004. Effect of silver nitrate and donor plant growing conditions on production of pepper (*Capsicum annuum* L.) haploid embryos via anther culture. *Europ. J. Hort. Sci.*, 69 (5):206-209.
- Cheng, Y., Ma, R. L., Jiao, Y. S., Qiao, N. ve Li, T. T.2013. Impact of genotype, plant growth regulatorsand activated charcoal on embryogenesis induction in microspore culture of pepper (*Capsicum annuum* L.). *South African Journal of Botany*, 88, 306-309.
- Chunling, L. 1992. Successful development of new sweet (hot) pepper cultivars by anther culture, Asia- Pasific Conference on Agricultural Biotechnology (APAB), August 20-24 Beijing, China.
- Chuong, P. V., Beversdorf, W. D., Powell, A. D. ve Pauls, , K. P. 1985. The use of haploid protoplast fusion to combine cytoplasmic atrazine resistance and

- cytoplasmic male sterility in *Brassica napus*. In *Progress in Plant Protoplast Research* (pp. 191-194).
- Çömlekçioğlu, N., Buyukalaca, S. ve Abak, K. 2001. Effect of silver nitrate on haploid embryo induction by anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.). In: XIth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of capsicum and eggplant. Antalya. Turkey. pp 133–136.
- Çömlekçioğlu, N., Büyükalaca, S. ve Abak, K. 1999. Şanlıurfa ve Kahramanmaraş biber popülasyonlarında anter kültürü yöntemiyle haploid bitki elde etme olanakları. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ankara, 897-900.
- Dolcet-Sanjuan R. ve Claveria, E. 2000. Androgenesis in sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.) and eggplant (*Solanum melongena* L.) used for the production of commercial hybrid varieties. 4th Int. Symp. on Ğn Vitro Culture and Horticultural Breeding, 2-7 July 2000, Tampere, Finland, Abstracts: 58.
- Dolcet-Sanjuan, R., Claveira, E. ve Huerta, A. 1997. Androgenesis in *Capsicum annuum* L. effects of carbohydrate and carbon dioxide enrichment. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 122:468–475.
- Dumas de Vaulx, R., Chambonnet, D. 1982. Culture in vitro d'antheres d'aubergine (*S.Melongena* L.); Stimulation de la production de plantes qu moyen de traitements a 8 +35oC associes a de faibles teneurs en substances de croissance. *Agronomie* 2 (10): 983-988.
- Dumas De Vaulx, R., Chambonnet, D., Pochard, E. 1981. *In vitro* culture of pepper (*Capsicum annuum* L.) Anthers: high rate plant production from different genotypes by +35 0C treatments. *Agronomie*, 1(10): 859-864.
- Dunwell, J.M. 1976. A comparative study of environmental and developmental factors which influence embryo induction and growth in cultured anthers of *Nicotiana Tabacum*. p:109-118
- Dunwell, J.M. 1981. Influence of genotype and environment on growth of barley embryos in vitro. *Ann. Bot.*, 48:535-542.
- Dunwell, JW. 1991. Haploid Cell Cultures. In "Plant Cell Culture: a Practical Approach". (R.A.Dixon. ed.). IRC Pres. Oxford. Washington D.C. 21-36.
- Elliialtıoğlu, Ő. ve Tıyırdamaz, 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.
- Elliialtıoğlu, Ő. 2005. Domates ve Patlıcanda Anter Kültürü Yoluyla Haploid Bitki Oluşumunu Etkileyen Bazı Faktörler Üzerinde Araştırmalar. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu destekli Proje No: TOGTAG-2607 (Yayınlanmamış Proje).
- Elliialtıoğlu, Ő., Kaplan, F. ve Abak, K. 2001. The effect of carrot extract and activated charcoal on the androgenesis of pepper. XIth EUCARPIA Meeting on Genetic and Breeding of Capsicum and Eggplant, Antalya-Turkey, 142-145

- Elliialtıoğlu, Ő., Sarı, N. ve Abak, K.2000. Haploid Bitki Üretimi, Bitki Biyoteknolojisi – Doku Kültürü ve Uygulamaları, Cilt:I, (Ed: Babaoğlu, M., Özcan , S., Gürel, E.), Selçuk Üniversitesi Basımevi, s:137-189.
- Elliialtıoğlu, Ő., Tıpırdamaz, R.1997. Soğuk uygulamaları ve aktif kömürün patlıcan ve biberde *in vitro* androgenesis üzerine etkileri, TÜBİTAK-TOGTAĞ 87 No'lu proje Sonuç Raporu, 70 s. Ankara.
- Ercan, N. ve Ayar Şensoy, F. 2011. Androgenic Responses of Different Pepper (*Capsicum annuum* L.) Cultivars. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4(2): 59-61.
- Ercan, N., Boyacı, F. ve Ayar, F. 2001. Biberde (*Capsicum annuum* L.) anter kültürü yoluyla haploid bitki eldesi üzerine farklı besin ortamlarının etkisi. GAP II.Tarım Kongresi. 24-26 Ekim. Şanlıurfa. Cilt 1.121-128.
- Ercan, N., Sensoy, F. A. ve Sensoy, A. S. 2006. Influence of Growing Season and Donor Plant age on Anther Culture Response of Some Pepper Cultivars (*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae*, 110(1), 16-20.
- Geboloğlu, N. ve Çelik, M. E. 2016. Üç Burun Biber Genotiplerinde In vitro Androgenesis Yöntemi ile Dihaploid Hatların Elde Edilmesi. Yayınlanmamış yüksek lisans tezi, 60 sayfa. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>.
- George, E. 1996. Plant Propagation By Tissue Culture. Part 2: In Practice. 2. Edition. Exegetics Limited.
- Greenleaf, W.H. 1986. Pepper Breeding. Breeding Vegetable Crops. A.V.I., 67- 127.
- Grozeva, S., Todorova, V., Cholakov, T. ve Rodeva, V. 2013. Effect of temperature and growth period of donor plants on pepper anther culture. In: 3rd International Conference— Research People and Actual Tasks on Multidisciplinary Sciences. Lozenec, Bulgaria, pp. 60-64.
- Guha S ve Mahasvari S.C. 1964. In vitro production of embryos from anther of Datura. *Nature* 204 : 497.
- Hatipoğlu, R. 1997. Bitki Biyoteknolojisi. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Genel YayınNo: 190. Ders Kitapları Yayın No: A-58.
- Heiser, C. B. Jr. 1976. Peppers, In Evolution of Crop Plants. (Edited by N.W.Simmands, 1986). Longman Sci.& Tech. Report, 265-268.
- Hema, B. P. ve Murthy, H. N. 2007. The effect of sugars on niger embryogenesis and plant regeneration in anther culture. *Biologia Plantarum*, 51(4), 773-776.
- Irikova, T. Grozeva, S., Popov, P., Rodeva, V., Todorovska, E., 2011. In Vitro Response of Pepper Anther Culture (*Capsicum annuum* L.) Depending on Genotype, Nutrient Medium and Duration of Cultivation. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.*, 25(4): 2604-2609.
- Irikura, Y. 1975. Induction of haploid plants by anther culture in tuber-bearing species and interspecific hybrids of Solanum. *Potato Research*, 18(1), 133-140.
- Irikova T. 2008. Obtaining and genotype investigations of androgenic haploids from Bulgarian pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. PhD thesis, University of Plovdiv, Plovdiv, Bulgaria, 199.b

- Irikova, T., Grozeva, S. ve Rodeva, V. 2011b. Anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.) in vitro. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(5), 1559-1570.
- Ismaili, A. ve Mohammadi, P. P. 2016. Effect of genotype, induction medium, carbohydrate source, and polyethylene glycol on embryogenesis in maize (*Zea mays* L.) anther culture. *Acta physiologiae plantarum*, 38(3), 74.
- Jain, N. ve Babbar, S. B. 2003. Effect of carbon source on the shoot proliferation potential of epicotyl explants of *Syzygium cuminii*. *Biologia plantarum*, 47(1), 133-136.
- Johansson, L., Eriksson, T. 1977. Induced embryo formation in anther culture of several *Anemone* species. *Physiol. Plant.*, 40: 172-174.
- Khush, G.S., Virmani, S.S. 1996. Haploids Ġn Plant Breedings (S. Mohan Jain, Sopory S.K., Veilleux R.E.). In *Vitro Haploid Production Ġn Higher Plants* Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 1, 11-33.
- Kim JY., Kim YS., Yi G. ve Kim K.M. 2005. Anther culture of transgenic pepper (*Capsicum annuum* L.). *Korean J Breed* 37,241–246.
- Kim, M. Z. 1999. The influence of temperature pretreatment on the production of microspore embryos in anther culture of *Capsicum annuum* L. *Korean Journal of Plant Tissue Culture*.
- Koch, K. E. 1996. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual review of plant biology*, 47(1), 509-540.
- Koleva Gudeva, L. ve Trajkova, F. 2012. Anther Culture of Pepper: Morphological Charactersitics of Fruits of Androgenetic Pepper Lines (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Research in Agriculture*, 1(2): 136-145.
- Koleva-Gudeva, L., Spasenoski, M. ve Trajkova, F. 2007. Somatic embryogenesis in pepper anther culture: the effect of incubation treatments and different media. *Scientia Horticulturae* 111:114–119.
- Lentini, Z., Reyes, P., Martínez, C. P. ve Roca, W. M. 1995. Androgenesis of highly recalcitrant rice genotypes with maltose and silver nitrate. *Plant Science*, 110(1), 127-138.
- Lihao, W., Baoxi, Z., Jiazhen, G., Guimei, Y. ve Meizhen, D. 2004. Studies of Effects of Several Factors on Anther Culture of *Capsicum annuum* L. *Acta Horticulture Sinica*, 31(2), 199-204.
- Linsmaier, E. M.; Skoog, F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 18:100±127.
- Liu, G. X., Zhang, X. W., Jiang, W. S., Yuan, Y. X. ve Yao, Q. J. 2009. Effects of Tempreture and Additives in Medium on Embryoid Induction in Anther Culture of Pepper (*Capsicum annuum* L.)[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 5, 029.
- Ltifi, A. ve Wenzel, G. 1994. Anther culture of hot sweet pepper (*Capsicum annum* L.): influence of genotype and plant growth temperature. *Capsicum Eggplant Newsletter*, 13,74-77.

- Mityko J., Andrasfalvy, A., Csillery, G. ve Fari, M. 1995. Anther culture response in different genotypes and F1 hybrids of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Breeding*, 114:78-80.
- Mityko, J., Fari, M. 1997. Problems and results of doubled haploid plant production in pepper (*Capsicum annuum* L.) via anther and microspore culture. *Acta Hort.* 447:281-287.
- Morrison R.A., Koning E.R. ve Evans D.A. 1986. Anther culture of an interspecific hybrid of *Capsicum*. *J Plant Physiol* 126,1-9
- Munyon, I. P., Hübstenberger, J.F. ve Phillips, G.C. 1989. Origin of plantlets and callus obtained from chile pepper anther cultures. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*. 25. 3,293-296.
- Murashige, T. ve Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Nervo, G., Carannante, G., Azzimonti, M. T. ve Rotino, G. L. 1995. Use of anther culture method in pepper breeding: factors affecting plantlets production. In *Current issues in plant molecular and cellular biology* (155-160). Springer, Dordrecht.
- Niklas-Nowak, A., Olszewska, D., Kisiała, A. ve Nowaczyk, P. 2012. Study of individual plant responsiveness in anther cultures of selected pepper (*Capsicum spp.*) genotypes. *Folia Horticulturae*, 24(2), 141-146.
- Nitsch C. 1981. Production of Isogenic Lines: Basic technical Aspects of Androgenesis. In *Plant Tissue Culture Methods and Applications in Agriculture* (T.A. Thorpe ed.), 241-252. Academic Press Inc.
- Nitsch, J.P. ve Nitsch, C. 1969. Haploids Plants from Pgrains. *Science* 163:85-87.
- Nowaczyk, L., Nowaczyk, P., Olszewska, D. ve Niklas-Nowak, A. 2015. Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid pretreatment of *Capsicum spp.* donor plants on the anther culture efficiency of lines selected by capsaicinoid content. *BTa JCBBB* 96: 179-183.
- Nowaczyk, P. ve Kisiała, A. 2006. Effect of selected factors on the effectiveness of *Capsicum annuum* L. anther culture. *Journal of Applied Genetics* 47: 113-117.
- Olszewska, D., Kisiała, A., Niklas-Nowak, A. ve Nowaczyk, P. 2014. Study of *in vitro* anther culture in selected genotypes of genus *Capsicum*. *Turkish Journal of Biology* 38: 118-124.
- Ouyang, J. W., He, D. G., Feng, G. H. ve Jia, S. E. 1987. The response of anther culture to culture temperature varies with growth conditions of anther-donor plants. *Plant Science*, 49(2), 145-148.
- Ozsan, T. ve Naci Onus, A. 2017. In vitro Pepper (*Capsicum annuum* L.) Anther Culture: Can be Affected Via Vitamins B?. *Biotechnology Journal International*, 20(1), 1-13. <https://doi.org/10.9734/BJI/2017/37102>
- Özkum Çiner, D. ve Tıprıdamaz, R. 2001. A Short Report on the Parameters of a Successful Anther Culture. *G.Ü. Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi*, 2(2): 35-39.

- Özkum Çiner, D. ve Tıprıdamaz, R. 2002. The Effects of Cold Treatment and Charcoal on the *In Vitro* Androgenesis of Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Turk J. Bot.*, 26: 131-139.
- Özkum, D. ve Tıprıdamaz, R. 2007. Effects of silver nitrate, activated charcoal and cold treatment on the *in vitro* androgenesis of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Acta Horticulturae* 729: 133-136.
- Özkum, D., Tıprıdamaz, R. ve Ellialtıoğlu, Ő. 2000. Relationship between endogenous abscisic acid content of anthers and *in vitro* androgenesis in pepper (*Capsicum annuum* L.) 4 th Int. Symp. on Ğn Vitro Culture and Horticultural Breeding, 2-7 July 2000, Tampere, Finland, Abstracts (Late arrivals):8.
- Paksoy, M., Ellialtıoğlu, Ő., Sarı, N. ve Abak, K. 1995. Bazı Brassica sp. türlerinde anter kültürüne etki eden faktörler üzerinde araştırmalar. DOĞA T. Botanik, 19: 281- 286.
- Parra-Vega, V., González-García, B. ve Seguí-Simarro, J.M. 2013a. Morphological markers to correlate bud and anther development with microsporogenesis and microgametogenesis in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Acta Physiol Plant* 35: 627- 633.
- Parra-Vega, V., Renau-Morata, B., Sifres, A. ve Seguí-Simarro, J.M. 2013b. 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 Tiss Organ Culture* 112: 353-360
- Qin, X. ve Rotina, G.L. 1993. Anther Culture of Several Sweet and Hot Pepper Genotypes. *Capsicum and Eggplant Newsletter*. 12:59-62.
- Qin, X. ve Rotino, G. L. 1995. Anther culture of several sweet and hot pepper genotypes. *Acta Hortic.* 402, 313-316.
- Rodeva V. ve Koleva-Gudeva L., Grozeva S. ve Traikova F. 2007. Obtaining of haploids in anther culture of pepper *Capsicum annuum* L. and their including in the breeding process. *Goce Delchev Univ Stip Fac Agric Yearbook* 7,7-17.
- Rodeva, V.N., Irikova T.P. ve 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.
- Sayılır, A. ve Özzambak, E. 2000. Brokkolide anter kültürü denemeleri. III. Sebze Tarımı Sempozyumu, Isparta, 218-222.
- Sayılır, A. ve Özzambak, E. 2002. Biber anter kültüründe uygun tomurcuk büyüklüğü tespiti ile besin ortamları karışımlarının ve soğuk uygulama sürelerinin embriyo verimine etkisi üzerine bir araştırma. IV. Sebze Tarımı Sempozyumu, Bursa.
- Spory, S.K., Jakobson, E. ve Wenzel, G. 1978 Production of monoploid embryos and plantlets in cultured anthers of *solanum tuberosum*, *Plant. Sci. Lett.* 12:47-54
- Supena, E.D.J., Shuharsono, S., Jacobsen, E. ve Custers, J.B.M. 2006. Successful development of a shed-microspore culture protocol for doubled haploid production in Indonesian hot pepper (*Capsicum annum* L.), *Plant Cell Rep*, 25:1-10.

- Taşkın, H. 2005. Bazı biber genotiplerinde anter kültürü ile haploid embriyo uyartımında embriyo kalitesinin artırılmasına yönelik bazı uygulamalar. Ziraat Fakültesi Yüksek Lisans, Sayfa Sayısı: 79.
- Taşkın, H. Büyükalaca, S., Keleş, D. ve Ekbiç, E., 2011. Induction of microspore-derived embryos by anther culture in selected pepper genotypes. *African Journal of Biotechnology*. 10(75): 17116-17121.
- Terzioğlu, Ş., Ellialtıoğlu, Ş. ve Abak, K. 2000. İnkübasyon Koşullarının Biber Anter Kültüründe Embriyo Oluşumu üzerine Etkisi. III. Sebze Tarımı Sempozyumu. 11-13 Eylül, Isparta. s:233-238.
- Thomas, T. D. 2008. The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology advances*, 26(6), 618-631.
- Vagera, J. ve Havranek, P. 1985. In vitro induction of androgenesis in *Capsicum annuum* L. and its genetic aspects. *Biologia plantarum*, 27(1), 10-21.
- Wang, Y.Y., Sun, C.S., Wang, C.C. ve Chien, N.J. 1973. The induction of pollen plantlets of *Triticale* and *Capsicum annuum* from anther culture. *Sci. Sin*, 16:147-151.
- Yadollahi, A., Abdollahi, M. R., Moieni, A. ve Danaee, M. 2011. Effects of carbon source, polyethylene glycol and abscisic acid on secondary embryo induction and maturation in rapeseed (*Brassica napus* L.) microspore-derived embryos. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(5), 1905-1912.
- Yang, B. Z., Zhou, S. D., Zhang, Z. Q., Dai, X. Z., Li, L. H. ve Xie, D. P. 2009. Effects of different medium and hormone on cultured anther of hot pepper [J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 1, 018.
- Yaseen, M., Ahmad, T., Sablok, G., Standardi, A. ve Hafiz, I. A. 2013. Review: role of carbon sources for in vitro plant growth and development. *Molecular biology reports*, 40(4), 2837-2849.
- Yoon, Y. J., Lee, K. S. ve Chang, S. K. 1991. *Plant induction by anther culture of hot-pepper (Capsicum annuum L.)* (No. RESEARCH).
- Zhao, J., Zhou, X., Zhang, Z., Yang, B. ve Zhou, S. 2010. Effects of culture media on anther culture of chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)* 36: 181-184.
- Zhongheng, Z. H. Z. 2002. An analytic study of the sucrose concentrations, the exogenous hormones and the low temperature pretreatment influencing the initiation of cell division in wheat pollen culture *Natural Science Journal of Harbin Normal University*, 3, 021.

7. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Müzeyyen HÜLÜL
Doğum Tarihi ve Yeri	01.05.1992/ Şanlıurfa
E-posta	mzyn_hulul9292@hotmail.com

Eğitim Bilgileri

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Tokat Gaziosmanpaşa Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü	2015
Lise	Gazi Lisesi/ Ş.Urfa	2011