

**ANTER KÜLTÜRÜNDE BAZI ACI BİBER
ÇEŞİTLERİNİN FARKLI BESİ ORTAMLARINDA
HAPLOİD BİTKİ OLUŞTURMA ETKİNLİKLERİ**

Tuğba Zeynep ÇARDAK



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTER KÜLTÜRÜNDE BAZI ACI BİBER ÇEŞİTLERİNİN FARKLI BESİ
ORTAMLARINDA HAPLOİD BİTKİ OLUŞTURMA ETKİNLİKLERİ**

Tuğba Zeynep ÇARDAK
0009-0006-5485-0897

Prof. Dr. Nuray AKBUDAK
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2023
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Tuğba Zeynep ÇARDAK tarafından hazırlanan “Anter Kültüründe Bazı Acı Biber Çeşitlerinin Farklı Besi Ortamlarında Haploid Bitki Oluşturma Etkinlikleri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Nuray AKBUDAK

Başkan	:	Prof. Dr. Nuray AKBUDAK 0000-0003-2669-5667 Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı	İmza
Üye	:	Prof. Dr. Meryem İPEK 0000-0002-0609-3442 Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı	İmza
Üye	:	Dr. Öğr. Üyesi Kenan SÖNMEZ 0000-0003-4040-4555 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı	İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ali KARA
Enstitü Müdürü
26/12/2023

B.U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

26/12/2023

Tuğba Zeynep ÇARDAK

TEZ YAYINLANMA FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezin/raporun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma izni Bursa Uludağ Üniversitesi'ne aittir. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet hakları ile tezin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları tarafımıza ait olacaktır. Tezde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığını ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederiz.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında, yönerge tarafından belirtilen kısıtlamalar olmadığı takdirde tezin YÖK Ulusal Tez Merkezi / B.U.Ü. Kütüphanesi Açık Erişim Sistemi ve üye olunan diğer veri tabanlarının (Proquest veri tabanı gibi) erişimine açılması uygundur.

Prof. Dr. Nuray AKBUDAK
26/12/2023

Tuğba Zeynep ÇARDAK
26/12/2023

İmza

Bu bölüme kişinin kendi el yazısı ile okudum
anladım yazmalı ve imzalanmalıdır.

İmza

Bu bölüme kişinin kendi el yazısı ile okudum
anladım yazmalı ve imzalanmalıdır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ANTER KÜLTÜRÜNDE BAZI ACI BİBER ÇEŞİTLERİNİN FARKLI BESİ ORTAMLARINDA HAPLOİD BİTKİ OLUŞTURMA ETKİNLİKLERİ

Tuğba Zeynep ÇARDAK

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nuray AKBUDAK

Bu çalışma, anter kültüründe farklı tiplerde 8 farklı acı biber genotipinin 2 farklı besi ortamında haploid bitki oluşturma etkinliklerini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Denemede bir adet California Wonder, iki adet Anaheim, iki adet Ancho ve üç adet Jalapone acı biber genotipi kullanılmıştır. Anterler; 4 mg/L Naphthaleneacetic acid (NAA), 0,1 mg/L Benzylaminopurine (BAP), 15 mg/L gümüş nitrat (AgNO_3), 2,5 g/L aktif kömür, 30 g/L sakkaroz ve 8 g/L agar içeren Murashige ve Skoog (MS) besi ortamı (BO1) ile 4 mg/L NAA, 0,1 mg/L BAP, 15 mg/L AgNO_3 , 0,5 mg/L Vitamin C, 0,05 mg/L biotin, 2,5 g/L aktif kömür, 30 g/L maltoz ve 8 g/L agar içeren MS besi ortamında (BO2) kültüre alınmışlardır. Çalışmada ele alınan tüm parametreler üzerinde besi ortamı ve genotip özelliklerinin etkisi istatistiksel olarak $p < 0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Genel olarak embriyo miktarı ve bitkiye dönüşen embriyo miktarı üzerinde BO2 besi ortamından daha yüksek sonuçlar elde edilirken incelenen diğer parametrelerde BO1 besi ortamı daha yüksek sonuçlar vermiştir. Elde edilen embriyo miktarı, bitkiye dönüşen embriyo, gelişen bitki, haploid bitki ve spontane double haploid bitki miktarı genotiplere göre istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli farklılık göstermiştir. İncelenen tüm parametrelerde Anaheim G2 genotipi daha iyi sonuç vermiştir. Anterlerden elde edilen embriyolar belirli oranlarda bitkiye dönüşürken Ancho G4 ve Jalapeno G6 genotiplerdeki bitkiler gelişme gösterememiştir. Bu sonuçlar tek bir standart anter kültürü protokolünün farklı biber tiplerinde aynı etkinliği meydana getirmediğini, protokollerin tip/genotip bazında özelleştirilmesi gerekliliğini de ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Anter kültürü, Acı biber, Haploid, Doku kültürü, Besi ortamı
2023, xii + 51 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

HAPLOID PLANT CREATION ACTIVITIES OF SOME HOT PEPPER GENOTYPES IN DIFFERENT NUTRITION MEDIUMS IN ANTHER CULTURE

Tuğba Zeynep ÇARDAK

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Nuray AKBUDAK

This study was conducted in order to determine the activities of forming haploid plants in 2 different nutrient mediums of 8 different types of chili pepper genotypes in anther culture. One California Wonder, two Anaheim, two Ancho and three Jalapone hot pepper genotypes were used in the experiment. Anthers; 4 mg/L Naphthaleneacetic acid (NAA), 0.1 mg/L Benzylaminopurine (BAP), 15 mg/L silver nitrate (AgNO₃), 2.5 g/L activated charcoal, 30 g/L sucrose and 8 g/L agar containing Murashige and Skoog (MS) nutrient medium (BO1) with 4 mg/L NAA, 0.1 mg/L BAP, 15 mg/L AgNO₃, 0.5 mg/L Vitamin C, 0.05 mg/L biotin, 2.5 g/L activated charcoal, 30 g/L maltose and 8 g/L agar containing MS nutrient medium (BO2) were cultured. The effect of nutrient medium and genotype characteristics on all parameters considered in the study was found to be statistically significant at the $p<0.01$ level. In general, higher results were obtained from the BO2 nutrient medium on the amount of embryos and the amount of embryos that turned into plants, while the BO1 nutrient medium yielded higher results in other parameters studied. The amount of embryos obtained, the embryo that turned into a plant, the developing plant, the haploid plant and the amount of spontaneous double haploid plants showed statistically significant differences at the level of 1% according to genotypes. The Anaheim G2 genotype performed better in all parameters examined. While embryos obtained from anthers turned into plants at certain rates, plants of Ancho G4 and Jalapeno G6 genotypes did not develop. These results reveal that a single standard anther culture protocol does not produce the same effectiveness in different pepper types, and it is necessary to customize the protocols on the basis of type/genotype.

Key words: Anther culture, Hot pepper, Haploid, Tissue culture, Media
2023, xii + 51 pages.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesinde, yürütülmesinde ve yazım aşamasında kıymetli bilgi, birikim ve katkılarıyla her zaman destek olan Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Nuray AKBUDAK’a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamda materyal, kaynak ve yöntem açısından sürekli fayda sağladığım çalışmakta olduğum şirketim United Genetics Turkey Tohum Fide A.Ş. ’ye teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte büyük özveri ve sabırla bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Prof. Dr. Hayrettin KUŞÇU’ya, Dr. Merve Arefe YİĞİT’e, Uzm. Biyolog Ayşe ŞEKER’e ve bütün çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca her zaman maddi ve manevi destek sağlayan, koşulsuz yanımda olan başta babam ve annem olmak üzere aileme sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tuğba Zeynep ÇARDAK
26/12/2023

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iii
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Ülkemizde ve Dünyada Biber Üretimi	2
1.2. Biberin Beslenme ve Sağlık Açısından Önemi	3
1.3. Biberde Anter Kültürü	4
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	6
3. MATERYAL ve YÖNTEM	15
3.1 Materyal	15
Çalışmada kontrol olarak 1 adet californi wonder, 2 adet anaheim, 2 adet ancho ve 3 adet jalapone acı biber genotipi kullanılmıştır. Kullanılan genotiplerin, tip ve dayanımları Çizelge 3.1’de, meyvelere ait görüntüler Şekil 3.1’de verilmiştir.	15
3.2. Yöntem	16
3.2.1. Bitki yetiştirme, tomurcuk alma, uygun anter aşaması	16
3.2.2. Çiçek tomurcuklarının dezenfeksiyonu, kültür sırasında kullanılan diğer malzemelerin sterilizasyonu ve anterlerin ayrılması	19
3.2.3. Besi ortamları ve hazırlanması	20
3.2.4. Kültür koşulları ve ön uygulamalar	21
3.2.5. Embriyo gelişimi ve bitkilerin dış ortama aktarılması	22
3.2.6. Ploidi düzeyinin tespiti	23
3.2.7. Moleküler analizler	24
3.2.8. İncelenen parametreler ve istatistiksel analizler	24
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	25
4.1. Toplam Embriyo Miktarı	25
4.2. Toplam Bitkiye Dönüşen Embriyo Miktarı	28
4.3. Toplam Gelişen Bitki Miktarı	30
4.4. Toplam Haploid Bitki Miktarı	33
4.5. Toplam Spontane Double Haploid Bitki Miktarı	36
4.6. Ploidi Analiz Sonuçları	38
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	43
KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ	51

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
g	Gram
kg	Kilogram
m ²	Metrekare
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
L	Litre
µg	Mikrogram
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
Kısaltmalar	Açıklama
AgNO ₃	Gümüş nitrat
BAP	6-Benzylaminopurine
Bs	Bacterial spot
DDV	Dumas de Vaulx ve ark. (1981)
DNA	Deoksiribo nükleik asit
FAO	Food and Agriculture Organization
Lt	Leveillula taurica
MS	Murashige and Skoog (1962)
NAA	Naftalenasetik asit
NaClO	Sodyum hipoklorit
IAA	Indol-3-Asetik asit
SA	Salisilik asit
TSWV	Tomato Spotted Wilt Virus
WAC	Aktif kömür içeren ortam
Vit.C	C vitamini
Zn	Çinko
2,4-D	2,4 -Diklorofenoksi asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3. 1. Çeşitlere ait meyvelerin fotoğrafları (A:Anaheim, B:California Wonder, C:Jalapeno)	16
Şekil 3. 2. Donör bitkilerin seradaki görünümü	17
Şekil 3. 3. Tomurcukların ve anterlerin büyüklüklerine göre durumu.....	17
Şekil 3. 4. Kültüre uygun anterlerin mikroskopta görünümü	18
Şekil 3. 5. Tomurcukların sterilizasyonu ve bistüri yardımıyla kesilerek anterlerin çıkarılması	19
Şekil 3. 6. Besi ortamının hazırlanması.....	21
Şekil 3. 7. Anter ekimi sonrası petrilerin bitki büyüme odasındaki görünümü....	21
Şekil 3. 8. Bitkiye dönüşen embriyoların petri ve tüpteki görünümü	22
Şekil 3. 9. Yetişen bitkilerin bitki büyütme odasında dış koşullara alıştırılması ..	23
Şekil 3. 10. Leica DMLB ışık mikroskobu görüntüsü (A: SDH bitkiye ait görüntü, B: Haploid bitkiye ait görüntü)	24
Şekil 4. 1. Besi ortamlarının embriyo miktarı üzerine etkisi.....	26
Şekil 4. 2. Farklı genotiplerin embriyo miktarı üzerine etkisi.....	27
Şekil 4. 3. Besi ortamlarının bitkiye dönüşen embriyo miktarı üzerine etkisi	28
Şekil 4. 4. Farklı genotiplerin bitkiye dönüşen embriyo miktarı performansı	29
Şekil 4. 5. Besi ortamlarının gelişen bitki miktarı üzerine etkisi.....	31
Şekil 4. 6. Farklı genotiplerin gelişen bitki miktarı performansı.....	32
Şekil 4. 7. Besi ortamlarının haploid bitki miktarı üzerine etkisi	34
Şekil 4. 8. Farklı genotiplerin haploid bitki miktarı performansı	35
Şekil 4. 9. Besi ortamlarının spontane double haploid bitki miktarları üzerine etkisi.....	36
Şekil 4. 10. Farklı genotiplerin spontane double haploid bitki miktarı performansı	37
Şekil 4. 11. Spontane double haploid bitkilere ait TSWV lokusu için jel görüntüsü	40
Şekil 4. 12. G2 genotipine ait haploid ve spontane double haploid bitkilerin saksıdaki görünümü.....	41
Şekil 4. 13. G1 genotipine ait haploid ve spontane double haploid bitkilerin meyve görüntüsü ve tohum tutumu	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1. 1. Dünya ve Lider Ülkelerde Biber Üretim İstatistikleri (FAO, 2021)...	3
Çizelge 1. 2. Biberin besin değeri (100 g yenilebilen kısımdaki miktar) (Buyukalaca,1993.....	4
Çizelge 3. 1. Kullanılan biber genotiplerinin tip ve dayanımları (TSWV: Tomato spotted wilt virüs, Lt: Leveillula taurica, Bs: Bacterial spot).....	15
Çizelge 3. 2. Besi ortamları ve içerikleri.....	20
Çizelge 4. 1. Embriyo miktarına ilişkin varyans analizi sonuçla.....	25
Çizelge 4. 2. Farklı genotip ve besi ortamı interaksyonunun embriyo miktarı performansı.....	27
Çizelge 4. 3. Bitkiye dönüşen embriyo miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları.	28
Çizelge 4. 4. Farklı genotip ve besi ortamı interaksyonunun bitkiye dönüşen embriyo miktarı performansı.....	30
Çizelge 4. 5. Gelişen bitki miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	30
Çizelge 4. 6. Farklı genotip ve besi ortamı interaksyonunun gelişen bitki miktarı performansı.....	32
Çizelge 4. 7. Haploid bitki miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları	33
Çizelge 4. 8. Farklı genotip ve besi ortamı interaksyonunun haploid bitki miktarı performansı.....	35
Çizelge 4. 9. Spontane double haploid bitki miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları	36
Çizelge 4. 10. Farklı genotip ve besi ortamı interaksyonunun spontane double haploid bitki miktarı performansı	38
Çizelge 4. 11. Genotiplere ait stoma sayıları.....	38

1. GİRİŞ

Bitkiler insan beslenmesinde, insanlığın varoluşundan bu yana çok önemli bir yere sahiptirler. Bitkileri insan beslenmesinde kullanmak ilk olarak doğadan toplanarak başlansa da daha sonrasında üstün olan tipler korumaya alınmış ve bu tiplerin tohumlarından ilk kültüre alma işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Ülkemiz sahip olduğu zengin ve verimli toprakları, uygun iklim şartları nedeniyle çok sayıda bitki çeşidine anavatan olurken, birçok sebze türünün de ikincil gen merkezi durumundadır (Şeker, 2018).

Ülkemizde ve dünyada biber, yaygın olarak tüketilen önemli bir sebzedir. Farklı toprak ve iklim özelliklerine sahip olan ülkemizin her bölgesinde biber yetiştiriciliği yapılabilmektedir. Biber taze olarak tüketilebildiği gibi pul ve toz biber, salça, közleme, turşu ve sos gibi farklı ürünler biçiminde tüketicilere sunulmaktadır. Solanaceae familyasında yer alan biberin en çok kullanılan türü *Capsicum annuum* L. olarak isimlendirilmektedir (Greenleaf, 1986).

Biberin anavatanı olarak bilinen ülkelerden Peru, Şili ve Meksika'da 2000 yıldan beri biber yetiştiriciliği yapılmaktadır. Biber bitkisi Amerika'nın keşfinden önce bilinmezken, Avrupa'ya gelişi Kristof Colomb sayesinde olmuştur (Şeniz, 1992). Biberin orijini üzerine yapılan taksonomik araştırmalar sonucu, biberin orijini Güney Amerika olarak bilinse de acı biberlerin orijininin Güney Brezilya ve Bolivya kökenli olduğu bildirilmiştir. (McLeod ve ark., 1983; Pickersgill, 1984).

Solanaceae familyasının *Capsicum* türünden olan biberlerin kromozom sayısı $2n = 24$ iken, $2n = 48$ olan yabani türleri de mevcuttur. Biber tek yıllık bir sebzedir. Kazık kök sistemine sahip olan biber bitkisinin gövdesi otsu yapıya sahiptir. Zaman içerisinde odunsu yapıya evrilmektedir. Biber bitkisinin çiçekleri salkım veya tekli olarak, yaprak ya da dal koltuklarında oluşmaktadır. Çiçeklerinde 5 sepal, 5 petal, 5 erkek organ ve 1 dişi organ bulunmaktadır (Şeker, 2018).

Biberler gruplandırılırken meyve biçimine göre; çarliston, sivri, dolmalık, süs, yağlık ve domates biber olarak ayrılmaktadır. Tadına göre ise acı, az acı ve tatlı olarak ayırımı yapılmaktadır (Özalp, 2010).

1.1. Ülkemizde ve Dünyada Biber Üretimi

Biber, dünyada üretimi ve tüketimi fazla olan sebzelerin başında gelmektedir. 2021 yılı verilerine göre Çin, Türkiye, Endonezya, Meksika ve İspanya dünyanın en büyük beş biber üretici ülkesi olurken, Çin dünya biber üretiminin yaklaşık yarısını gerçekleştirmiştir (FAO, 2021).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre 2021 yılında dünya biber üretimi 36 milyon 286 bin 640 ton ile tarihi bir rekor kırmıştır.

FAO'nun verilerine göre, 2021 yılında dünya genelinde 2 milyon 55 bin 310 hektar alanda biber üretimi yapılırken, metrekare başına ortalama verimin 1,77 kg olduğu görülmüştür.

Çin 2021 yılında, 752 121 hektar alanda 2,22 kg/m² verim ile 16 milyon 721 bin 690 ton biber üretimi gerçekleştirmiştir. Çin'in arkasında gelen Türkiye, 80 239 hektar alanda 3,85 kg/ m² verim ile 3 milyon 91 bin 290 ton biber üretmiştir. Biber üretiminde üçüncü sırada bulunan Endonezya, 321 923 hektar alanda 0,85 kg/m² verim ile toplam 2 milyon 747 bin 20 ton üretim gerçekleştirmiştir. Dünya biber üretiminin %72,92'sini bu beş ülke karşılamaktadır (FAO, 2021).

Çizelge 1. 1. Dünya ve Lider Ülkelerde Biber Üretim İstatistikleri (FAO, 2021)

Ülkeler	Üretim Miktarı (ton)	Üretim Alanı (ha)	Verim (kg/m ²)
Çin	16 721 691	752 121	2,22
Türkiye	3 091 295	80 239	3,85
Endonezya	2 747 018	321 923	0,85
Meksika	2 584 144	147 808	1,75
İspanya	1 511 560	22 240	6,80
Dünya	36 286 644	2 055 310	1,77

1.2. Biberin Beslenme ve Sağlık Açısından Önemi

Biber, ülkemizde ve dünyada taze tüketiminin yanı sıra toz ve pul biber yapımında, turşu, salça, konserve yapılarak, aynı zamanda boya ve ilaç sanayisinde de yoğun olarak üretilen ve tüketilen bir sebze çeşididir (Keleş, 2007).

Biberin beslenme açısından önemli olmasının sebeplerinden birisi içerisinde yoğun miktarda E ve C vitamini, karotenoidler ve provitamin A barındırmasıdır. Bununla beraber acı biberin içerisinde ona özel bir tat veren kapsonoidler bulunmaktadır (Materska ve Perucka, 2005). Biber bitkisinin besin içerikleri Çizelge 1.2’de verilmiştir.

Biber meyvelerinin ürettiği doğal antioksidanlar sayesinde yaşadığı yıla bağlı olarak meydana gelen veya süregelen hastalıkları önleme ya da ortaya çıkma olasılığını azaltıcı etkisi bulunmaktadır. Bu nedenle özellikle acı biber geçmişten günümüze kadar tedavi amacıyla kullanılmakta ve modern herbolojide hala yer aldığı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Palevitch ve Craker, 1996). Biber meyvelerine acılık veren, alkaloid yapıdaki ‘capsaicin’ maddesinin sağlık açısından da önemli olduğu bilinen bir gerçektir (Şeker, 2018). Baharat olarak kullanılan kırmızıbiber meyvesi olgunlaşma evresinde askorbik asit, tokoferoller ve karotenoidler bakımından zengindir; fakat kurutma aşamasında askorbik asit ve tokoferol miktarının önemli ölçüde, karotenoidlerde de az miktarda düşüş görüldüğü bildirilmektedir (Shinde ve Pawar, 2023).

Çizelge 1. 2. Biberin besin değeri (100 g yenilebilen kısımdaki miktar) (Buyukalaca, 1993)

İçerdiği maddeler	<i>Capsicum annuum</i> (Tatlı biber)		<i>Capsicum frutescens</i> (Acı biber)		<i>Capsicum</i> spp. (Biberler)
	Yeşil meyve	Kırmızı meyve	Taze meyve	Kuru meyve	Yapraklar
Su (ml)	86,00	87,00	74,00	8,00	82,00
Kalori	48,00	45,00	94,00	291,00	53,00
Protein (g)	2,00	2,00	4,10	15,00	5,80
Yağ (g)	0,80	0,80	2,30	11,00	1,00
Karbonhidrat (g)	10,00	9,00	18,00	33,00	8,00
Lif (g)	2,60	1,70	6,00	25,00	1,90
Kalsiyum (mg)	29,00	11,00	58,00	150,00	246,00
Fosfor (mg)	61,00	47,00	101,00	-	56,00
Demir (mg)	2,60	0,90	2,90	9,00	1,40
β-karoten (µg)	180,00	4770,00	7140,00	1000,00	6210,00
Tiamin (mg)	0,12	0,09	0,25	0,60	0,40
Riboflavin (mg)	0,25	0,12	0,20	0,50	0,33
Niasin (mg)	2,20	0,40	2,40	12,00	1,20
Askorbik asit (mg)	140,00	86,00	121,00	10,00	68,00

1.3. Biberde Anter Kültürü

Biber üretiminde verim ve kaliteyi olumsuz etkileyen faktörler arasında düzensiz sıcaklık rejimleri, hastalık ve zararlılar gibi problemler yer almaktadır. Bu problemlere tolerant çeşitlerin geliştirilmesiyle birim alandan alınan verim ve kalite artmaktadır. Klasik ıslah yöntemleri çok fazla zaman ve emeğe ihtiyaç duymaktadır ve uzun yıllar almaktadır. Bu yüzden daha kalıcı sonuçlar elde etmek ve bu süreyi kısaltmak için günümüzde doku kültürü teknikleri kullanılmaktadır.

Schleiden (1838) ve Schwann'ın (1839) tarafından ilk doku kültürü ya da mikro-çoğaltım çalışmaları, bütün canlı hücrelerin tam bir organizma oluşturma yeteneği olarak tanımlanan 'totipotensi'nin keşfedilmesi ile başlamıştır. Sonraki süreçte başarılı olamasa da in-vitro ilk olarak Haberland (1902) tarafından çalışılmıştır. 1967'de anter kültürü ile ilk haploid bitkinin üretimi, Bourgin ve Nitsch tarafından gerçekleştirilmiştir. Sonrasında anter kültürü tekniği yaygın olarak uygulanan bir teknik olmuştur.

Bitki ıslahında haploid bitki üretimi, homozigot saf hatların kısa sürede elde edilmesinden dolayı önemli bir yere sahiptir. Bu yöntem iki aşamada gerçekleşmektedir. Haploidizasyon aşamasında üreme hücrelerinde n kromozoma sahip haploid bitkiler elde edilmektedir. Diploidizasyon aşamasında ise kromozom sayıları katlanarak 2n kromozoma sahip diploid bitkiler elde edilmektedir. Dihaploid bitkilerde kendileme çalışmaları yapılarak tamamen homozigot saf hatlar elde edilmektedir (Arı ve ark., 2016).

Solanaceae familyasındaki bir çok tür anter kültüründe başarılı sonuçlar vermektedir (Babaoğlu ve ark., 2001). Biberde dihaploid hatların elde edilmesinde anter kültürü yöntemi uzun yıllardır kullanılmakta olup bu alanda başarı oranını artırmaya yönelik araştırmalar genişletilmektedir. Yapılan araştırmaların sayısının fazla olmasına rağmen geçerliliği bildirilmiş kurallar azdır (Irikova ve ark., 2011). Bu nedenle kullanılan yöntem ve teknikteki başarı türler arası, hatta çeşitten çeşide bile farklılık gösterebilmektedir. Bir çalışmada kullanılan başarılı bir teknik ve yöntem, diğer araştırmalarda aynı başarıyı göstermeyebilmektedir.

Anter kültürü ile zaman ve yer tasarrufu yapılarak kısa sürede saf hat elde edilebilmektedir. Aynı zamanda ıslah çalışmalarında dayanıklılık aktarma imkânı sağlamaktadır. Ancak bazı türlerde albino problemi oluşturması ve genotipe bağlı olarak cevap almanın zor olması yöntemin en önemli dezavantajlarını oluşturmaktadır (Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü, 2015). Günümüze kadar biberde anter kültürüne yönelik çok sayıda çalışma yapılmış ancak bu çalışmaların hemen hemen hepsi tatlı biber tipleriyle sınırlı kalmıştır. Acı biber genotiplerinde yapılmış çalışmalar az sayıdadır.

Bu çalışmada, ülkemizde yetiştiriciliği de yapılan ıslah ana materyali olarak kullanılma potansiyeli olan bazı acı biber genotiplerinin (anaheim, ancho, jalapeno) anter kültürü tekniği ile farklı besi ortamlarında haploid bitki oluşturma potansiyelleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen verilerin, acı biber genotiplerinin ıslah çalışmalarında kullanılabilirliğini ortaya koyarak sonraki araştırmalara önemli bir basamak oluşturması hedeflenmiştir. Çalışmanın özellikle; farklı şekillerde acı biber tüketiminin yaygın olduğu ülkemizde ve Dünya ülkelerinde yürütülen acı biber ıslah programlarına önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Misal ve Das (2023) tarafından yapılan çalışmanın amacı biberde double haploidler üretmek için tek adımlı doğrudan embriyogenez protokolü geliştirmeyi amaçlamaktadır. Mikrospor embriyogenezinin on acı biber genotipi üzerindeki etkinliğini, Supena ve ark. (2011), Dumas de Vault ve ark. (1981) ve Para-Vega ve ark. (2013) protokolleri dahil olmak üzere altı ortam kombinasyonu ile analiz edilmiştir. Altı ortam arasında bir ortam kombinasyonu diğer protokollerle karşılaştırıldığında %20'den fazla doğrudan embriyogeneze çok iyi yanıt verdiği görülmektedir. Araştırmacılar tarafından ortalama %7,53 embriyogenez ve %3,81 bitki rejenerasyon sıklığı gözlenmiş, bitkilerin dış koşullara alıştırılmasından sonra %97,61'lik bir hayatta kalma elde etmiştir. Bu deneylerin sonuçları, bitki büyüme düzenleyicilerinin kombinasyonu ile tek adımda doğrudan embriyogenezin sağlanabileceğini ortaya koymuştur.

Mangal ve ark. (2023) tarafından yapılan çalışmada Orobelle ve Bomby biber genotiplerinde mikrospor embriyogenezisi denenmiştir. Bu çalışma sırasında, tomurcuklara 4°C'de 4 gün boyunca soğuk ön uygulama yapılmış, her iki genotipten de erken ve başarılı embriyo oluşumu sağlamıştır. Anterler, 4 mg/L NAA, 1 mg/L BAP, %0,25 aktif kömür, 2,6 g/L gelrit, 30 g/L sakaroz ve 15 mg/L gümüş nitrat içeren MS ortamına ekilmiş, embriyo oluşumunda en yüksek verimliliği sırasıyla Orobelle ve Bomby'de %1,85 ve %1,46 olarak elde etmiştir.

Şimşek ve ark. (2022) tarafından yapılan çalışmada bitki materyali olarak California Wonder, Charleston, dolmalık biber, Jalapeno, Capia, Long green olmak üzere 11 farklı biber genotipi tomurcukları kullanılmıştır. Anterler, %0,25 aktif kömür (WAC ortamı) içeren MS besiyerinde (15 mg/L AgNO₃ + 4 mg/L NAA + 0,5 mg/L BAP + %100MS + 30 g/L sakkaroz) kültüre alınmıştır. 151 farklı genotipten toplam 4235 anter ve 446 (%10,5) embriyo elde edilmiştir. Araştırmacılar en düşük embriyo sayısını (%6,9) Charleston'dan elde ederken, en yüksek embriyo sayısını (%17,9) Long green tipinden elde etmiştir. California Wonder'da %13,1, Dolmalık biberde %8,7, Jalapeno'da %8,6 ve Capia'da %9,7 oranında embriyo elde edilmiştir. Bu sonuçlar, tek bir standart anter

kültürü protokolünün farklı biber çeşitlerinde aynı etkinliği sağlamadığı ve protokollerin tip/genotip bazında optimize edilmesi gerektiğini ortaya koymuştur.

Kanmaz (2021) tarafından yapılan çalışmada, Demrisa F1, Doğanay F1, Serenad F1 ve Tesla F1 dolma ve kopya biber tiplerinde anter ve mikrospor kültüründe 3 farklı besiyeri kullanılmıştır. Anter kültürü için P1 besiyeri (4 mg/L NAA, 0,5 mg/L BAP, % 0,25 aktif kömür, 30 g/L sukroz ve 15 mg/L AgNO₃) kullanılmıştır. Araştırmacılar yapılan çalışma sonucunda, çalışmada kullanılan dolma ve kopya biber genotiplerinin haploid embriyo-haploid bitki oluşturma etkinliklerinin anter kültüründe shed mikrospor yöntemine kıyasla daha başarılı olduğunu saptamıştır. Shed mikrospor ve anter kültürü yöntemlerinde dolma biber genotiplerinin kopya biber genotiplerine oranla daha düşük sonuç verdiği gözlemlenmiştir

Atasoy ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada, farklı 23 biber genotipinde anter kültürü denenmiştir. Anterler ilk aşamada; 30 g/L sakkaroz, 2,5 g/L aktif kömür, 6,5 g/L agar ve büyüme düzenleyici maddeler (15 mg/L AgNO₃, 4 mg/L NAA, 0,5 mg/L BAP) içeren MS besi ortamında kültüre alınmışlardır. Sonrasında anterler, 30 g/L sakkaroz ve 6,5 g/L agar içeren MS besi ortamına aktarılmışlardır. Araştırmacılar yapılan çalışma sonucunda genotipler arasında ortalama embriyo sayılarının %0,83 ile %44,44 arasında değiştiğini gözlemlemişlerdir. En yüksek embriyo ve bitkiye dönüşüm oranı FT509 genotipinde gözlenirken, en düşük embriyo ve bitkiye dönüşüm oranı FT1178 genotipinde gözlemlenmiştir. Elde edilen embriyoların hepsi bitkiye dönüşebilmiştir.

Sahana ve ark. (2021) yaptığı araştırmada, iki F1 biber hibritinde (Orobelle ve Bomby) gözle görülür, ölçülebilir tomurcuk ve anter gelişimi özelliklerini mikrosporogenezin bireysel aşamaları ile ilişkilendirmek için en kolay ve doğru kriteri geliştirmiştir. Araştırmacılar tarafından geç tek çekirdekli den erken iki çekirdekli aşamaya kadar mikrospor içeren anterlerin, çok çeşitli mahsul türlerinde androgenezin indüklenmesi için ideal olduğu gözlenmiştir. Ortalama anter uzunluğu Orobelle'de 2,75 mm ve Bomby'de 2,71 mm olan çiçek tomurcuklarında tek çekirdekli polen içeren anter gözlenmiş ve korollanın her ikisinde de çanaktan biraz daha uzun olduğu tespit edilmiştir. Orobelle'de

anterlerde herhangi bir mor pigmentasyon ve Bomby'de anter kesesi ucunun tepesinde pigmentasyon bulunmamaktadır.

Grozeva ve ark. (2021) tarafından yapılan araştırmada 17 biber genotipi ile çalışılmıştır. Farklı biber tiplerinin (konik, dolmalık ve kapyra) hibritleri ve yeni üretilen double haploid hatların agronomik özellikleri karakterize edilmiştir. En yüksek androjenik potansiyel, sırasıyla %9,55 ve %13,00 reaksiyona giren anterlerle 'Stryama' çeşidinde ve 560/06 ıslah hattında gözlenmiştir. Rejenere edilen 186 bitkiden 147'si, %79.03 hayatta kalma indeksi ile başarılı bir şekilde adapte edilmiştir. Araştırmacılar tüm diploid bitkilerin androjenik menşeli olduğunu doğrulamıştır. Diploid hatlar arasında uzunluk, genişlik, ağırlık, perikarp ağırlığı, perikarp kalınlığı ve bitki başına verimlilik gibi kantitatif meyve özellikleri açısından önemli farklılıklar vardır. Ayrıca, 'Stryama' çeşidinden elde edilen 21, 23 ve 74 nolu hatlar ile 'Zlaten medal 7' çeşidinden elde edilen 55 numaralı hatta diğer hatlara kıyasla bazı meyve özellikleri yönünden daha yüksek değerler elde edildiği gözlenmiştir. Bu sonuçlar, anter kültürünün iyileştirilmiş özelliklere sahip Balkan biber ıslah hatlarının oluşturulması için umut verici bir araç olduğunu göstermektedir.

Doğangüzel ve ark. (2021)'nın hazırladığı denemede 2 biber genotipi (G-1 ve G-2) ve MS + 30 g/L sükroz veya maltoz ile antioksidan olarak vitaminli veya vitaminsiz 4 besi ortamı oluşturulmuştur. Çalışmada 0,05 mg/L biotin (B7 vitamini) ve 0,5 mg/L askorbik asit (C vitamini) antioksidan olarak çalışılmıştır. Araştırmacılar en yüksek embriyo oranı ve embriyoların bitkicik haline gelişimini maltoz ve antioksidan içeren besiyerlerinden elde etmiştir. Embriyogenik yanıt açısından besiyeri-I (MS+sakaroz), besiyeri-II (MS+Sakaroz ve antioksidanlar) ve besiyeri-III (MS+Maltoz)'da arasında anlamlı fark bulunmamakla birlikte, genotipler arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Besiyeri-IV'te (MS + maltoz ve antioksidanlar), G-1'den elde edilen embriyo sayısının, besiyeri-I, besiyeri-II ve besiyeri-III'e göre sırasıyla 2,5, 6,4 ve 4,5 kat arttığı gözlenmiştir.

Çömlekçioğlu (2021) yaptığı çalışmada yarı katı ve çift katmanlı kültür ortamları incelenmiştir. Kontrol olarak M1 besin ortamı (4 mg/L NAA, 0,5 mg/L BAP, 2 g/L aktif kömür, 30 g/L sukroz, 10 mg/L AgNO₃, 0,05 mg/L biotin, 0,5 mg/L askorbik asit ve 7 g/L agar) kullanılmıştır. Yarı katı M2, M1 besiyeri %0,3 kolhisin içermektedir. Üçüncü

ortam (M3) çift katmanlıdır. Yarı katı katman M1 ile aynı ve sıvı katman %0.3 kolhisin solüsyonu içermektedir. Kontrol (M1) ile karşılaştırıldığında, embriyoların sıklığı M2 ve M3 ortamı için sırasıyla %89,5 ve %36,8 artmıştır. Spontan double haploid (SDH) oranları M1 ortamında %33,3, M2 ortamında %57,6 ve M3 ortamında %47,3 olarak bulunmuştur. Kolhisin uygulaması ile elde edilen embriyo sayısının, embriyo oranının, rejenera bitki sayısının ve SDH bitki sayılarının önemli ölçüde etkilendiği fark edilmiştir.

Demirkaya ve Çömlekçioğlu (2021)'in yaptığı çalışmanın amacı, yarı katı ve çift katmanlı besi ortamına askorbik asit ve biotin ilavesinin anter kültürü yöntemi ile haploid embriyo elde edilmesi üzerindeki etkilerini belirlemektir. Çalışmada 30 g/L sukroz, 4 mg/L NAA, 10 mg/L AgNO₃, 0,1 mg/L BAP ve %0,25 aktif kömür içeren MS besiyeri kullanılmıştır. Yarı katı ve iki katmanlı besin ortamlarında ayrı ayrı veya birlikte 0,05 mg/L biyotin ve 0,5 mg/L askorbik asit kullanılarak toplam 8 besin ortamı bileşiği üzerinde çalışılmıştır. Araştırmacılar embriyo elde etme başarısının yarı katı ortamda, çift katmanlı ortama göre daha yüksek olduğunu fark etmiştir. Besi ortamına askorbik asit ve biotin eklenmesi ile kontrol ortamına kıyasla embriyo rejenerasyonunda 8,8 kat artış sağlandığı gözlenmiştir. Besi ortamında sadece biotin veya askorbik asit varlığında, kontrole kıyasla embriyo sayısında artış gözlemlenmiştir.

Grozeva ve Nankar (2020) tarafından yapılan çalışmada, iki önde gelen Bulgar biber çeşidinin inkübasyon süresi ve kinetinin farklı dozlarını (0,1, 0,2 ve 0,3 mg/L) içeren rejenerasyon ortamları, zeatin (0,25 mg/L 0,5 mg/L) ve IAA (0,1 mg/L) kombinasyonu üzerine beş farklı süre içinde (12, 14, 16, 18 ve 20 gün) in vitro androjenik yanıtının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Araştırmacıların ulaştığı sonuçlar, genotipe bağlı olarak kültür ortamının bileşimi ve süresi için özel gereksinimleri göstermiştir. Ayrıca çalışma, indüksiyon ortamında uzun süreli anter inkübasyonunun, rejenerasyon ortamı varyantlarına kıyasla embriyo oluşumu ve bunların bitkiciklere dönüşmesi üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Çalışmada Stryama çeşidinin en yüksek sayıda embriyo ve bitki rejeneratörü, 18 günlük inkübasyon süresi ve 0,1 mg/L kinetin içeren besiyeri varyantından sonra elde edilmiştir. Zlaten Medal 7 çeşidinde embriyo indüksiyonu, bitki büyüme düzenleyicileri olmadan 16 gün ve kontrol ortamından sonra

daha yüksek olurken, aynı zamanda kontrol ortamı varyantında 20 günde rejenerasyon gözlemlenmiştir.

Bat ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada ortamda kullanılan farklı şeker türlerinin, androgenez verimi üzerindeki etkilerini görmek için anter kültüründe farklı şeker dozları test edilmiştir. Bu çalışmada, %1,5, 3 ve 6 dozlarında maltoz şeker kaynağı olarak, %3 sakkaroz da kontrol olarak kullanılmıştır. Haploid embriyo oluşumu üzerindeki genotipik etkileri bilmek için MS besiyeri içerisine, %0,25 aktif kömür, 15 mg/L AgNO₃, 4 mg/L NAA ve üç üreme hattı ile 2 farklı miktarda 0,5, 1 mg/L BAP eklenerek kullanılmıştır. Ortamda %1,5, 3 ve %6 maltoz ve %3 sakkaroz birbirleriyle karşılaştırıldığında, embriyo yanıtının maltoz konsantrasyonu ile arttığı fark edilmiştir. Araştırmacıların tespitine göre deneme parametreleri arasında embriyo elde etmek için en pozitif etkili kombinasyon, 0,5 mg/L BAP ve 30 g/L maltoz içeren besiyeri olmuştur. Ayrıca genotipin biber anter ve mikrospor kültüründe başarıyı etkileyen ana faktörlerden biri olduğu anlaşılmıştır.

Pınar ve ark. (2020) tarafından yapılan bu çalışmanın amacı biber genotiplerinde aktif kömürün androgenez üzerindeki etkisini araştırmaktır. Bitki materyali 34 adet Long Green (LG), 13 adet Dolmalık biber (BP), 13 adet Charleston (Ch), 6 adet California Wonder (CW) ve 23 adet Capia (CP) gelişmiş üreme hattından oluşmaktadır. Başlangıçta, anterler aktif kömür (WAC) içeren bir ortamda 25, 35 veya 45 gün kültürlenmiştir, ve daha sonra aktif kömür (NAC) içermeyen aynı besiyerine aktarılmıştır. WAC ortamında, LG genotipinin 15 hattı çalışmaya az oranda tepki gösterirken, CW'nin birçok hattı androgeneze yüksek oranda tepki göstermiştir; ancak, 35 günlük anterlerin NAC ortamına aktarılmasından sonra LG hatlarında androgeneze yanıt gözlemlenmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak, kültüre alınan anterlerin 35 gün sonra WAC ortamından NAC ortamına aktarılmasının biberde androgeneze karşı direncin üstesinden geldiğini tespit etmiştir.

Boncukçu ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada genotip, besin ortamı, ön işlemler ve inkübasyon koşullarının haploid bitki gelişimine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada Üçburun F2, Köylüm F1, İstek F1 ve Tokat yerel genotipi kullanılmıştır. DDV ve MS besiyerine ek 0,01 mg/L kinetin + 0,01 mg/L 2,4-D + 0,03 mg/L vitamin B12 eklenmiştir. Kontrol denemesinde çiçek tomurcuklarına soğuk ön

uygulama yapılmazken, diğer denemelerde çiçek tomurcukları 24 saat 4°C'de bekletilmiştir. Anterler kültüre alındıktan sonra 9°C ve 35°C'de 8'er saat karanlıkta bekletilerek iki farklı sıcaklık uygulaması denenmiştir. En fazla embriyo gelişimi Tokat genotipinden elde edilmiştir. Embriyo gelişim oranları %0,25 ile %31,00 arasında gözlemlenmiştir. Embriyo gelişim oranı MS besiyerinde %3,9 iken, DDV besiyerinde %9,33 olarak belirlenmiştir. Ayrıca soğuk ön uygulamasına maruz bırakılan anterlerde embriyo gelişim oranı %6,7 iken, kontrol uygulamasında bu oran %6,4 olmuştur. 9°C ve 35°C inkübasyon denemelerinde embriyo gelişim oranı sırasıyla %7,60 ve %5,50 olarak bulunmuştur.

Ceyhan ve Aktaş (2020) yaptığı çalışmada Üç burun, Buket, B22 ve B23 çeşitlerinde farklı oranlarda salisilik asit (SA), C vitamini (Vit. C) ve çinkonun besi ortamlarında kullanılmasıyla, biberde androgenesise etkisi incelenmiştir. Araştırmada tomurcuklar 24 saat 4°C'de soğuk uygulaması yapıldıktan sonra, anterler besi ortamı olarak MS temel besi ortamının 7 farklı kombinasyonunda denenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde Buket genotipinde embriyo oluşumu gözlenmemiştir. Besin ortamı kombinasyonlarının embriyo oluşturma etkinlikleri incelendiğinde O6 (50 mg/L Vit. C) besiyeri Üçburun ve B23 genotiplerinde en yüksek embriyo oluşumu gözlemlenmiştir. Yapılan denemede elde edilen embriyoların hepsinin bitkiye dönüştüğü gözlemlenmiştir. Araştırmacılar elde edilen bitkilerin %43'ünün haploid yapıya sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Benli (2019) yaptığı bu araştırmada 2 ticari biber çeşidinde anter kültürü ve shed mikrospor kültür yöntemini kullanmıştır. Anterler büyüme düzenleyici içeren (0,1 mg/l BAP + 4 mg/l NAA +15 mg/l AgNO₃ +2,5 g/l aktif kömür) MS besin ortamında kültüre alınmış, 35 gün sonra hormonsuz MS ortamına transfer edilmiştir. Araştırma sonuçları değerlendirildiğinde anter kültüründe Lombard RZ F1 ve Üçburun çeşitlerinden sırasıyla %8,94 ve %22,18'inin embriyo oluşumu gözlenmiş, oluşan embriyoların sırasıyla %23,63 ve %22,22'sinin bitkiye dönüştüğü gözlemlenmiştir. Shed mikrospor yönteminde Lombard RZ F1 çeşidinde %11,11 oranında embriyo oluşumu görülürken bu embriyoların %7,87'sinin bitkiye dönüştüğü gözlemlenmiştir. Sonuç olarak anter kültüründe iki çeşitte de yanıt görülürken, shed mikrospor kültüründe sadece Lombard RZ F1 çeşidinin yanıt verdiği görülmüştür.

Shimira ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada, Türkiye Akdeniz Bölgesi'nde Ruanda Pili-Pili çeşidinin anter kültürü performansını değerlendirmiş A111 Kahramanmaraş tipi-yeşil tip ve İnan 3363 çeşidi- Urfa tipi iki yerli biber kontrolü ile karşılaştırılmıştır. Denemede ilk aşamada anterler 30 g/L sakkaroz, 2,5 g/L aktif kömür, 15 mg/L AgNO₃, 4 mg/L NAA, 0,5 mg/L BAP, 6,5 g/L agar içeren MS besi ortamında kültürlenmiş daha sonra 30 g/L sakkaroz ve 6,5 g/L agar içeren MS besi ortamına transfer edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde İnan 3363 ve A111 çeşitlerinden sırasıyla %19,4 ve %4,46 embriyo oluşumu gözlemlenmiştir. Ruanda Pili-Pili çeşidinden hiç embriyo elde edilememiştir. Sonuç olarak bu çalışmada İnan 3363, A111 çeşidine göre daha iyi yanıt verirken Ruanda Pili-Pili çeşidi bu çalışmada anter kültürüne yanıt vermemiştir.

Shimira ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada, nematoda dayanıklı iki biber genotipinin (Alata 2095 ve Alata 2096) anter kültürüne tepkisi ve çiçek tomurcuklarına soğuk ön uygulamanın etkisi incelenmiştir. Yapılan denemelerde çiçek tomurcukları 24 saat 4°C'de bekletilirken diğer grup çiçek tomurcukları soğuk uygulamasına tabi tutulmamıştır. Anterler %0,25 aktif kömür, 6,5 g/L agar, 0,5 mg/L BAP, 4 mg/L NAA, 15 mg/L AgNO₃ ve 30 g/L sukroz içeren MS ortamında kültürlenmiştir. Değerlendirme sonucunda Alata 2095 genotipi için en yüksek ortalama bitki sayısı %39,08, soğuk ön uygulamada %46,61 ve soğuklama yapılmayan anterlerden ise %31,56 olmuştur. Alata 2096 genotipi için ortalama %1,96, soğuk ön uygulamada %1,68 ve soğuklama yapılmayan anterlerden ise %2,25 olmuştur. İstatistiksel analizler ile, genotipler arasında önemli bir fark olduğu ve ayrıca bu faktörler arasında önemli bir etkileşim olduğu doğrulanmıştır. Çalışmanın sonunda Alata 2095 genotipinin iyi bir androjenik cevaba sahip olduğu ve sonraki ıslah çalışmalarında kullanım potansiyelinin yüksek olduğu ortaya konmuştur.

Ata ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada düşük, yüksek sıcaklıklara toleranslı ve toleranssız 4 biber çeşidi (Alata 421, Alata 195, Alata 277A, İnan3363) kullanılmıştır. İki farklı kültür ortamı (besiyeri-1 'MS + 4 mg/L NAA + 0,1 mg/L BAP + %0,25 aktif kömür + 8 g/L agar + 30 g/L sükroz + 15 mg/L AgNO₃', besiyeri-2 'MS + 4 mg/L NAA + 0,5 mg/L BAP + %0,25 aktif kömür + 8 g/L agar + 30 g/L sükroz + 15 mg/L AgNO₃') ile çalışılmıştır. En yüksek embriyo oluşumu ve haploid bitki oluşturma etkinliğini belirlemek amacıyla anterler 12 ay boyunca farklı dönemlerde kültürlenmiştir. Ayrıca

kültür öncesi ve farklı ayların 1., 2., 3., 4., 8. ve 14. günlerinde tüm anterler alınarak Carnoy solüsyonu ile fikse edilmiştir. Çalışma sonunda hem embriyo oluşumu hem de haploid bitki gelişiminin genotipe ve yetiştirme dönemine bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirlenmiş olup kültür ortamları arasında önemli bir fark gözlemlenmemiştir. En yüksek embriyo oluşumu ve haploid bitki oluşturma etkinliğini belirlemek amacıyla anterler 12 ay boyunca farklı dönemlerde kültürlenmiştir. En fazla embriyo oluşumu İnan3363 çeşidinde gözlemlenmiştir. Ayrıca İnan3363 çeşidinin bazı dönemlerde anter kültürüne yanıt verme oranı %65'e yükselmiştir.

Öcal ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada, nematoda dayanıklı saf biber hatları elde etmeyi amaçlamışlardır. Çalışmada 5 yeşil, 5 dolmalık, 5 charleston ve 5 kapyra tipi biberden oluşan toplam 20 farklı genotip kullanılmıştır. MS besin ortamına, 30 g/L sükröz, %0,25 aktif kömür, 15 mg/L AgNO₃, 4 mg/L NAA ve 0,5 mg/L BAP eklenerek besin ortamı hazırlanmıştır. Yetiştirilen anterler 35 gün sonra hormonsuz MS besin ortamına aktarılmıştır. En yüksek embriyo verimi Z-tad 87 numaralı genotipten (nematoda dayanıklı× bell hibrit) elde edilmiştir. Nematod dayanımı ile farklı biber çeşitleri arasındaki geçişler içinde; en yüksek embriyo verimini dolmalık biber tipi vermiş, bunu kapyra, charleston ve yeşil biber tipleri izlemiştir. Test edilen tüm genotipler anter kültürüne tepki vermiştir. Çalışmada, Me1, Me3, N ve Me7 direnç genlerini içeren üç homozigot saf hat kaydedilmiştir. Ayrıca, Me1 içeren bir homozigot saf hat kaydedilmiştir. Elde edilen bu nematod dayanımlı genotiplerin ıslah çalışmalarında da kullanılabileceği düşünülmektedir.

Keleş ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada farklı biber genotiplerinde spontan double haploid oranları karşılaştırılmıştır. Çalışmada sekiz kapyra, yedi charleston, yedi yeşil biber ve altı dolmalık biber genotipi kullanılmıştır. Besiyeri olarak 4 mg/L NAA, 0,5 mg/L BAP, %0,25 aktif karbon, 30 g/L sükröz ve 15 mg/L AgNO₃ içeren MS besi ortamı kullanılmıştır. Anter kültürü yoluyla elde edilen bitkilerin ploidi seviyeleri, hem flow stometri hem de basit dizi tekrarları (SSR) işaretleri kullanılarak tespit edilmiştir. Araştırmacıların bulduğu sonuca göre farklı biber çeşitlerinden farklı spontan double haploidi oranlarının elde edildiği gösterilmiştir. En yüksek oran, %53,4 (altı genotipin ortalaması) ile spontan double haploid bitkilerde gözlenmiştir. Bunu sırasıyla %31,9 ve

%30,4 ile charleston ve kapyra çeşitleri izlemiştir. Yeşil biber tipi %22,2 ile, en düşük spontan double haploidi oranını vermiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların, hem biberde haploidi üzerine gelecekte yapılacak çalışmalar hem de ıslah programları için faydalı olacağı düşünülmektedir.

Kaplan (2012) yaptığı çalışmada 84 farklı genotip biber kullanılmış, üç besin ortamı denenmiştir. Anterler farklı konsantrasyonlarda BAP, 2,4-D, NAA ve kinetin hormonları içeren MS 'İM-1, İM-2 ve İM-3' ve CP ortamlarına ekilmişlerdir. Anterlere inkübatörde 35°C'de 8 gün karanlıkta ön uygulamaya yapılırken kontrollere standart anter kültürü protokolü uygulanmıştır. İM-1, İM-2 ve İM-3 kültürlerinde kallus oluşturan kültürler 1 ay sonra normal MS besiyerine transfer edilmişlerdir. CP besiyerinde kültürlenmiş anterler 35°C'de 8 gün karanlıkta ön uygulamaya tabi tutulduktan sonratoplam 12. günde R1 besiyerine transfer edilmişlerdir. Araştırmada toplam 7343 adet anter kültüre alınmıştır. Çalışma sonuçları incelendiğinde %0,98 androgenik kallus oluşumu gözlenmiş, kallusların hiçbiri embriyoya dönüşmemiştir. Yapılan çalışmadan hiç embriyo elde edilememiştir.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

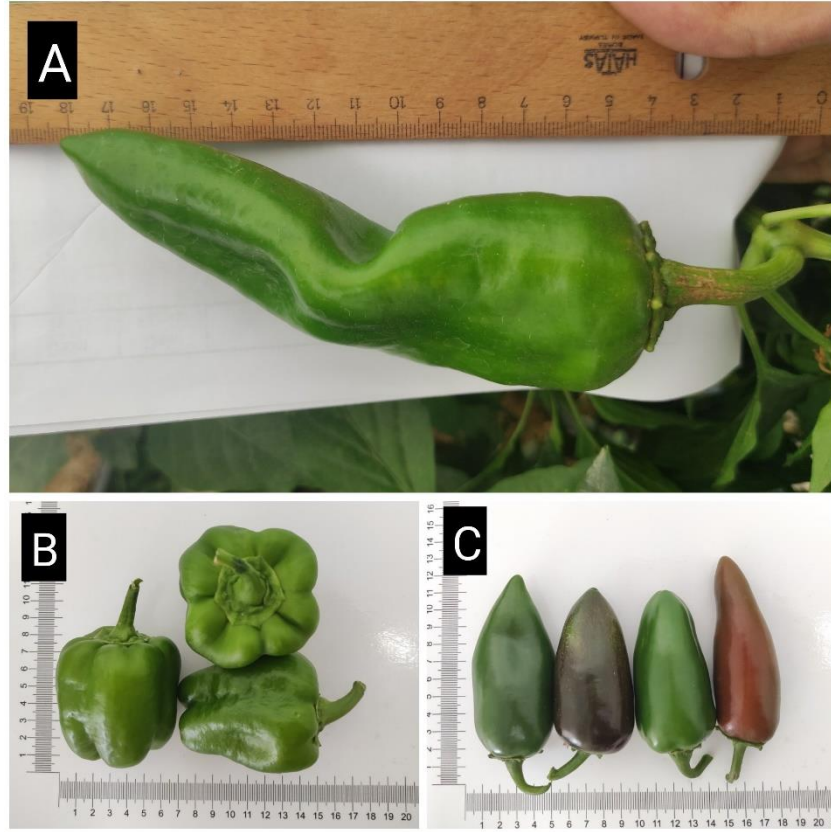
Çalışma 2022-2023 yıllarında, United Genetics Turkey Tohum Fide A.Ş. (Mustafakemalpaşa/Bursa)'nin sera ve laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1 Materyal

Çalışmada kontrol olarak 1 adet california wonder, 2 adet anaheim, 2 adet ancho ve 3 adet jalapone acı biber tipi kullanılmıştır. Kullanılan genotiplerin, tip ve dayanımları Çizelge 3.1'de, meyvelere ait görüntüler Şekil 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3. 1. Kullanılan biber genotiplerinin tip ve dayanımları (TSWV: Tomato spotted wilt virüs, Lt: Leveillula taurica, Bs: Bacterial spot)

Genotip No	Tip	Dayanım
G1	California Wonder	Lt: RR, TSWV: Rr
G2	Anaheim	Lt: Rr
G3	Anaheim	Bs2: RR, N:Rr
G4	Ancho	YOK
G5	Ancho	YOK
G6	Jalapeno	Bs2: Rr
G7	Jalapeno	TSWV: Rr
G8	Jalapeno	TSWV: Rr



Şekil 3. 1. Çeşitlere ait meyvelerin fotoğrafları (A:Anaheim, B:California Wonder, C:Jalapeno)

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki yetiştirme, tomurcuk alma, uygun anter aşaması

Genotiplere ait tohumların ekimi, 01.07.2022 tarihinde, hacmen 2:1 torf: perlit bulunan viyollere yapılmıştır. Fideler 6-7 gerçek yapraklı dönemde, her genotipden 6 bitki olacak şekilde toplam 48 bitki, 110 x 50 x 50 cm aralıklarla plastik örtülü sera içinde 3:1 torf : perlit bulunan saksılara dikilmiştir (Şekil 3.2). Sera sıcaklıkları $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ışık yoğunluğu olarak sadece gün ışığından yararlanılmıştır. Bitki gelişimi süresince gerekli kültürel işlemler (hastalık ve zararlılarla mücadele, gübreleme, sulama, yabancı ot mücadelesi vb.) dikkatli bir şekilde yapılmıştır. Çiçeklenmeye başlayan bitkilerden anter kültürü için uygun aşamadaki tomurcuklar sabah erken saatlerde toplanarak doku kültürü laboratuvarına getirilmiştir (Şekil 3.3).

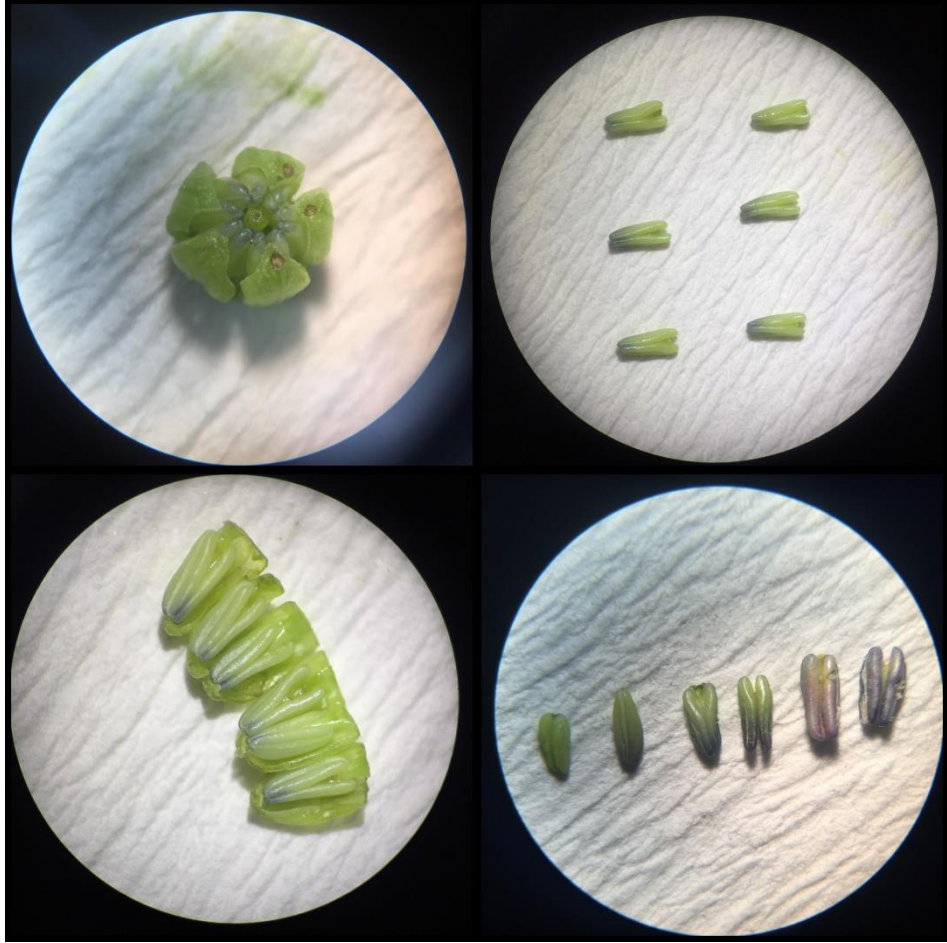


Şekil 3. 2. Donör bitkilerin seradaki görünümü



Şekil 3. 3. Tomurcukların ve anterlerin büyüklüklerine göre durumu

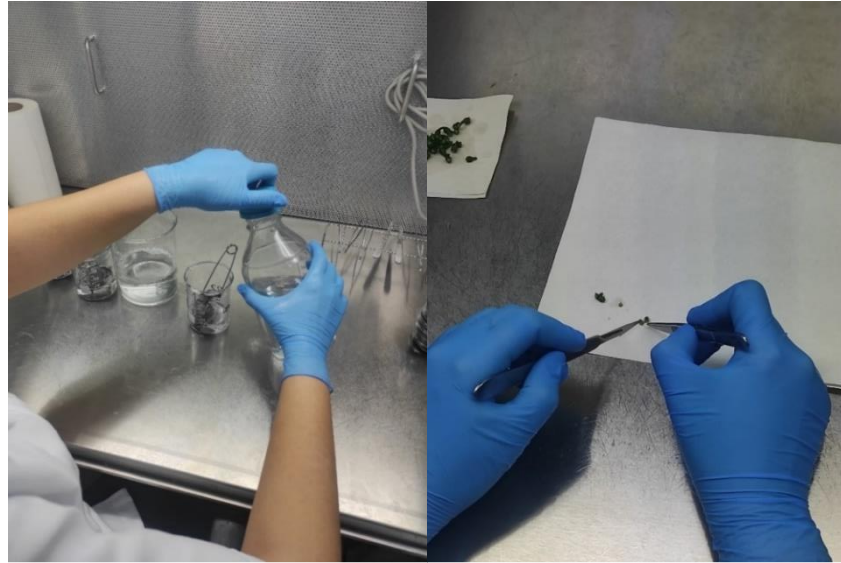
Anter kültüründe başarıya ulaşmak için ilk şart tomurcukların uygun aşamada toplanmasıdır. Androgenesis tekniği ile bitki elde etmede yapılması gereken ilk aşama, tek çekirdekli mikrosporları bulunduran tomurcukları seçebilmektir (Babaoğlu ve ark., 2001). Anterler, Parra-Vega ve ark. (2013) belirlediği yöntemde göre, tomurcukların taç yaprak uzunluklarını %80 tamamladığı, petallerin sepallerden biraz daha uzun olduğu dönemde ve anter uçlarında hafif morlaşmanın başladığı dönemde alınmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3. 4. Kültüre uygun anterlerin mikroskopta görünümü

3.2.2. Çiçek tomurcuklarının dezenfeksiyonu, kültür sırasında kullanılan diğer malzemelerin sterilizasyonu ve anterlerin ayrılması

Sera şartlarında yetiştirilen ve çiçeklenmeye başlayan bitkilerden, uygun anter safhasına sahip tomurcuklar, sabahın erken saatlerinde toplanmış, doku kültürü laboratuvarına getirilerek yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Tomurcuklar bu amaçla, steril kabin içerisinde 30 saniye % 70'lik etil alkolde bekletilerek birkaç defa steril saf su ile durulama işlemine tabi tutulmuş, sonrasında 10 dakika %15'lik sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisine 1-2 damla Tween-20 damlatılarak bekletilmiş ve tekrardan birkaç defa steril saf su ile durulanmıştır. Anterlerin tomurcuklardan alınması için, 121°C de 20 dakika süre ile otoklavda steril edilmiş filtre kağıtları üzerinde, steril pens ve bistüriler ile laminar flow kabin içerisinde tomurcuklar açılarak, anterlere zarar verilmeden filamentlerinden ayrılarak petri kaplarındaki besi ortamlarına yerleştirilmiştir (Şekil 3.5). Her bir tomurcuktan çıkarılan 5-6 adet anter, tek bir petri kabına ekilmiştir. Her genotipin birer tekerrüründe 100 anter olmak üzere toplam 25 petri ekilmiştir. Her genotipten 3 tekerrür yani 75 petri ekilirken, tüm genotiplerden toplam 600 petri olmak üzere 3000 anter ekimi yapılmıştır. Kontaminasyon ihtimaline karşı tedbir olarak petri kaplarının etrafı streç film ile sarılarak sıcaklık ön uygulaması için inkübatöre yerleştirilmiştir (Taşkın ve ark., 2011). Sterilizasyonda kullanılacak olan saf sular, steril kurutma kağıtları, pens ve bistüriler otoklavlanmak suretiyle steril edilmiştir.



Şekil 3. 5. Tomurcukların sterilizasyonu ve bistüri yardımıyla kesilerek anterlerin çıkarılması

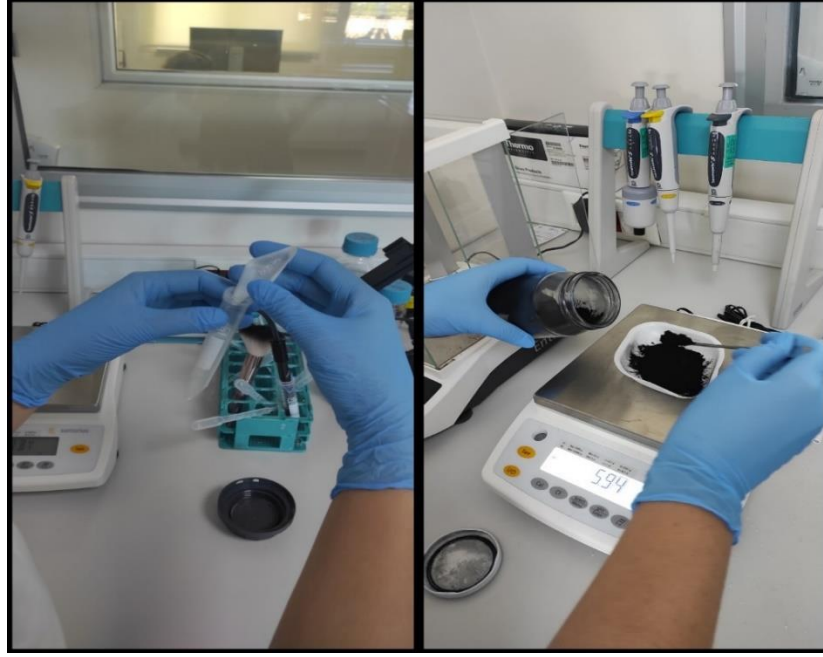
3.2.3. Besi ortamları ve hazırlanması

Besi ortamı olarak Murashige ve Skoog (1962) tarafından önerilen temel besin ortamının (MS) bitki büyüme düzenleyiciler içeren 2 farklı kombinasyonu (B serisi) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan besin ortamları ve içerikleri Çizelge 3.2’de verilmiştir. Besi ortamı hazırlığı sırasında 500 ml saf su içerisine Çizelge 3.2’de verilen büyüme düzenleyici maddeler eklenerek saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır (Şekil 3.6). Hazırlanan besin ortamlarının pH’sı, 1N’lik HCl ile 1N’lik NaOH kullanılarak 5.7’ye ayarlanmış, 121°C sıcaklık ve 1.2 kg/cm² basınç altında otoklavda 20 dk sterilize edilmiştir. Anter kültüründe kullanılan cam ve metal ekipmanlar otoklavlanarak steril edilmiştir (Doğangüzel ve ark., 2021).

Çizelge 3. 2. Besi ortamları ve içerikleri

BESİ ORTAMI-1 (BO1)		BESİ ORTAMI-2 (BO2)	
NAA	4 mg/L	NAA	4 mg/L
BAP	0,1 mg/L	BAP	0,1 mg/L
AgNO₃	15 mg/L	AgNO₃	15 mg/L
Aktif Kömür	2500 mg/L	Vitamin C	0,5 mg/L
Sakkaroz	30 g/L	Biotin	0,05 mg/L
Agar	8 g/L	Aktif Kömür	2500 mg/L
		Maltoz	30 g/L
		Agar	8 g/L

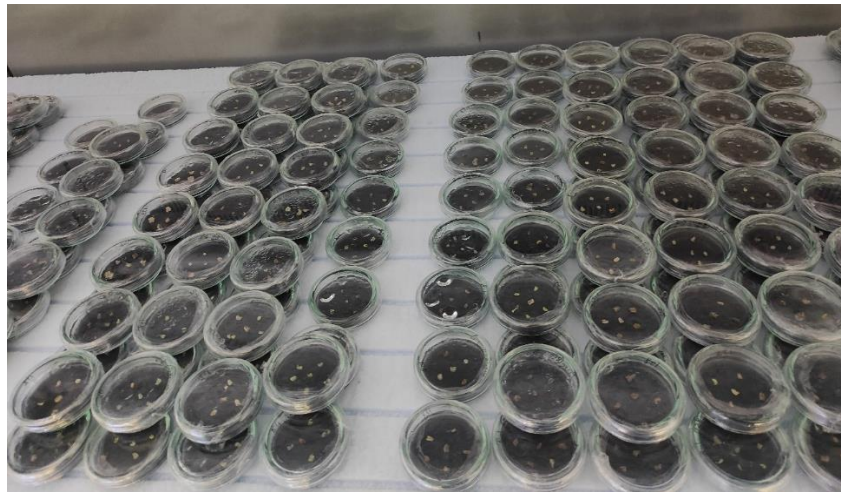
Hazırlanan ortamlar petri kaplarına aktarılarak kullanılabilecek kadar +4°C’de bekletilmiştir.



Şekil 3. 6. Besi ortamının hazırlanması

3.2.4. Kültür koşulları ve ön uygulamalar

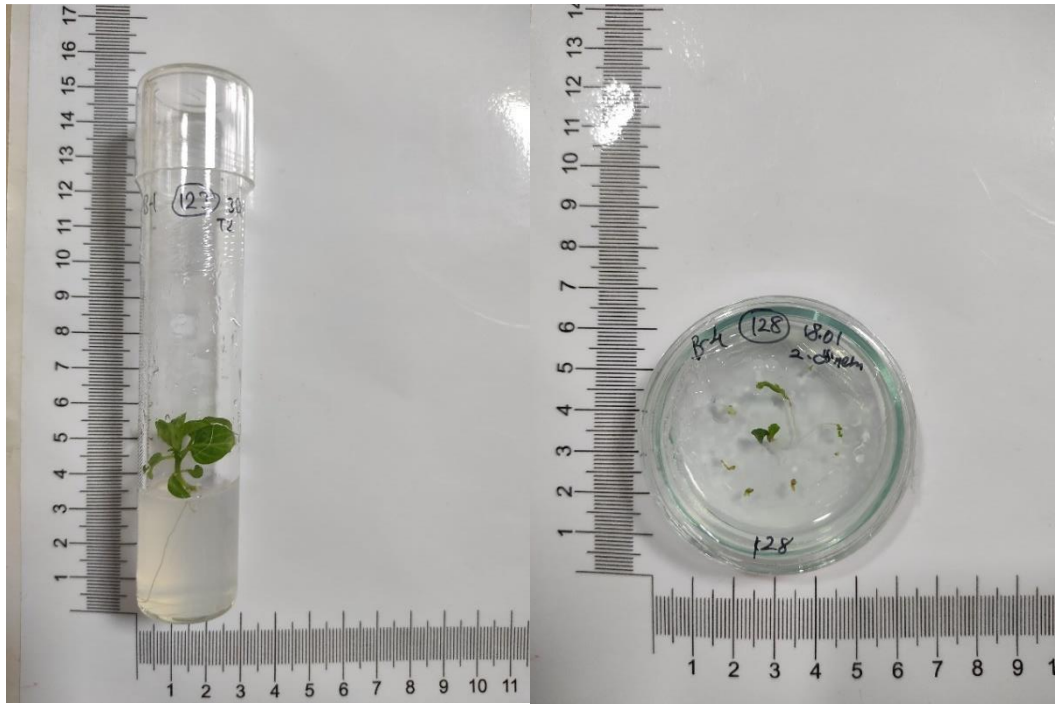
Kültüre alınan anterler 48 saat süresince +35°C’de ve karanlık koşullarda inkübatörde bekletilmiştir. Ön uygulamanın arkasından inkübatörden çıkan petriler, 25±1°C sıcaklık ve karanlık ışık rejimine sahip kültür odasında bekletilmiştir (Şekil 3.7) (Doğangüzel ve ark., 2021).



Şekil 3. 7. Anter ekimi sonrası petrilerin bitki büyüme odasındaki görünümü

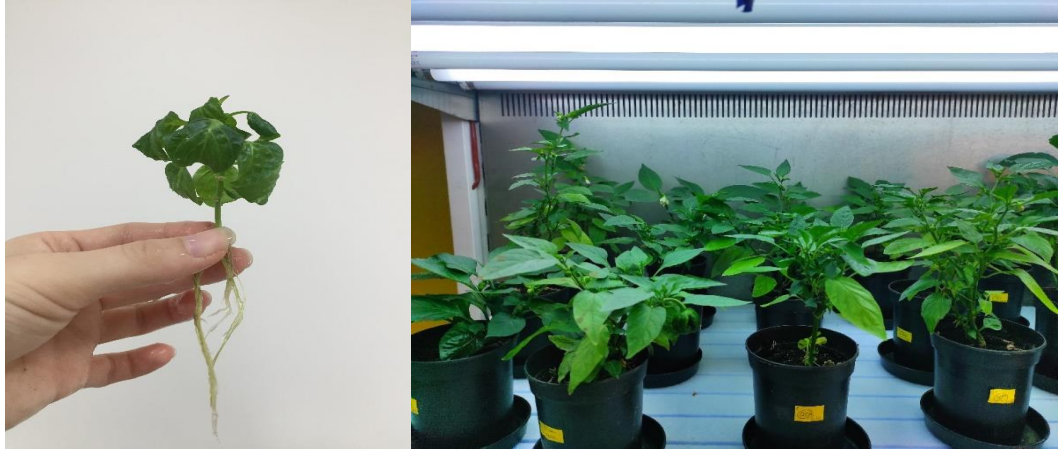
3.2.5. Embriyo gelişimi ve bitkilerin dış ortama aktarılması

Anterlerden gelişen embriyolar büyüme düzenleyici içermeyen MS besisi ortamında alt kültüre alınmıştır. Alt kültüre alınan embriyolar 5000 lux ışık yoğunluğuna sahip, %85 hava oransal nem, 22-24°C’de ortam sıcaklığına 16 saat aydınlık 8 saat karanlık koşullarda büyütme odasına aktarılmıştır. Çimlendirme ortamında 8-10 gün bekletildikten sonra kök gelişimi ve gerçek yaprak oluşumu başlayan bitkiler 2,5 cm çapında 12-15 cm uzunluğundaki deney tüplerine aktarılmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3. 8. Bitkiye dönüşen embriyoların petri ve tüpteki görünümü

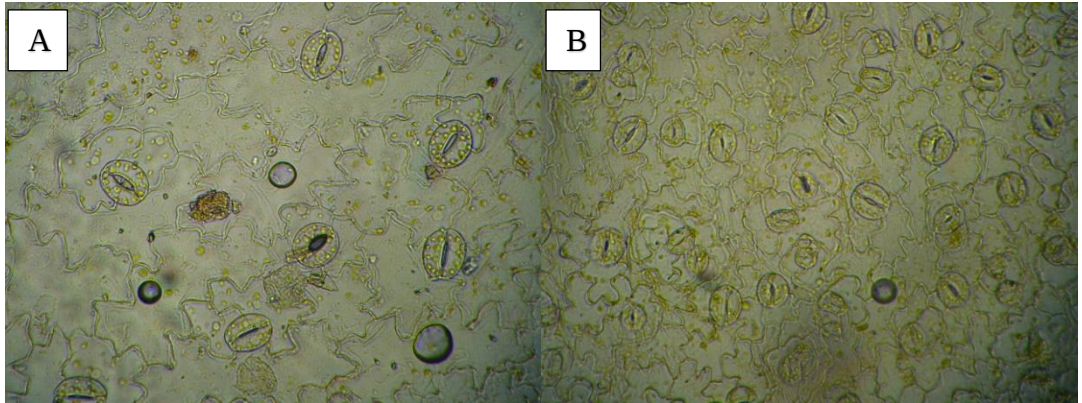
Cam tüplerdeki embriyolardan gelişen lateral kökleri gelişmiş 4-6 gerçek yapraklı bitkiler, içinde $\frac{1}{2}$ torf+ $\frac{1}{2}$ perlit karışımı bulunan plastik saksılara aktarılmıştır. Bu bitkiler 5000 lux ışık yoğunluğuna sahip, %85 hava oransal nem, 22-24°C’de ortam sıcaklığına 16 saat aydınlık 8 saat karanlık koşullarda büyütme odasına aktarılmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3. 9. Yetişen bitkilerin bitki büyütme odasında dış koşullara alıştırılması

3.2.6. Ploidi düzeyinin tespiti

Bitkilerde ploidi seviyesini doğrulamak için en güvenilir yöntemler, kromozomları saymak veya hücrelerdeki DNA'yı akış sitometrisi ile ölçmektir. Ancak bu yöntemler zahmetli, zaman alan ve özel ekipman gerektiren yöntemlerdir. Çalışmada dış koşullara alıştırılan bitkilerin ploidi düzeyinin tespiti için geçerliliği kanıtlanmış bir yöntem olan stoma sayımı yapılmıştır. Stoma yoğunluğu ortalaması biber bitkisinde haploidde 10,71 ve SDH'de 27,07 olarak bilinmektedir (Bat ve ark., 2021). Bu amaçla bitkilerden genç yaprakları alınarak yaprakların alt epidermisleri dikkatlice soyulmuştur. Daha sonra bir lam üzerine yerleştirilmiş ve üzerine 1-2 damla %1'lik gümüş nitrat çözeltisi damlatıldıktan sonra Leica DMLB ışık mikroskopunda incelenmiştir. Stoma özellikleri, her örnekte ışık mikroskobu görüntülerinden ölçülmüştür. Elde edilen görüntülerden yapılan stoma sayımı sonucu haploid bitkiler belirlenmiştir.



Şekil 3. 10. Leica DMLB ışık mikroskopi görüntüsü (A: SDH bitkiye ait görüntü, B: Haploid bitkiye ait görüntü)

Buna ek olarak bitkilerin ploidi seviyesinin belirlenmesinde morfolojik karakterizasyon yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde bitkilerin fenotipine göre yapılan ayrımlar sayesinde haploid/double haploid bitkiler belirlenmiş ve farklı genotiplerde spontane katlanma oranları kaydedilmiştir (Genç, 2023).

3.2.7. Moleküler analizler

Çalışmada kullanılan donör bitkilerin TSWV, Lt, Bs2 hastalık dayanımları açısından taranması için United Genetics Turkey Tohum Fide A.Ş.'nin moleküler biyoloji laboratuvar ekibinden destek alınmıştır. Alınan bilgiler ışığında heterezigot sonuç veren lokusların belirlenmesi ile bitkilerin SDH ya da diploid olduğu tespit edilmiştir.

3.2.8. İncelenen parametreler ve istatistiksel analizler

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

Deneme, iki farklı besi ortamında sekiz farklı biber genotipinin 3 tekerrürlü sonuçlarına göre gerçekleştirilen varyans (ANOVA) analizine tabi tutulmuştur. 100 anter başına embriyo sayısı, bitkiye dönen embriyo sayısı ve gelişen bitki sayıları, haploid ve spontane double haploid (SDH) bitki sayılarının 3 tekerrür için ortalama sonuçları kaydedilmiştir. Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde, SPSS 23 istatistik paket programı kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, F testinin önemli ($P < 0,05$) çıkması halinde %5 önem düzeyinde Duncan'ın Çoklu Dağılım Testi ile karşılaştırılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Araştırma bulguları kapsamında sekiz biber genotipinden alınan anterlerin farklı besi ortamlarında haploid bitki geliştirme performanslarını belirlemek için yapılan denemelerin sonuçları verilmiştir.

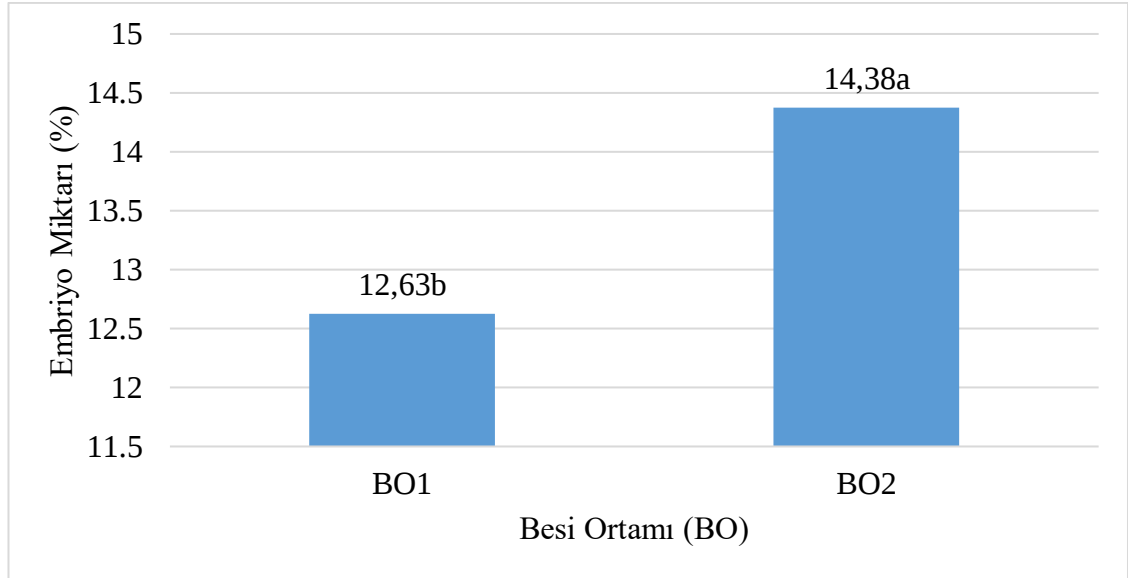
4.1. Toplam Embriyo Miktarı

Denemede gelişen bitki miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.1). Denemeden elde edilen ortalama sonuçlara göre, 100 anterden elde edilen embriyo miktarı 13,5 adet olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4. 1. Embriyo miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları

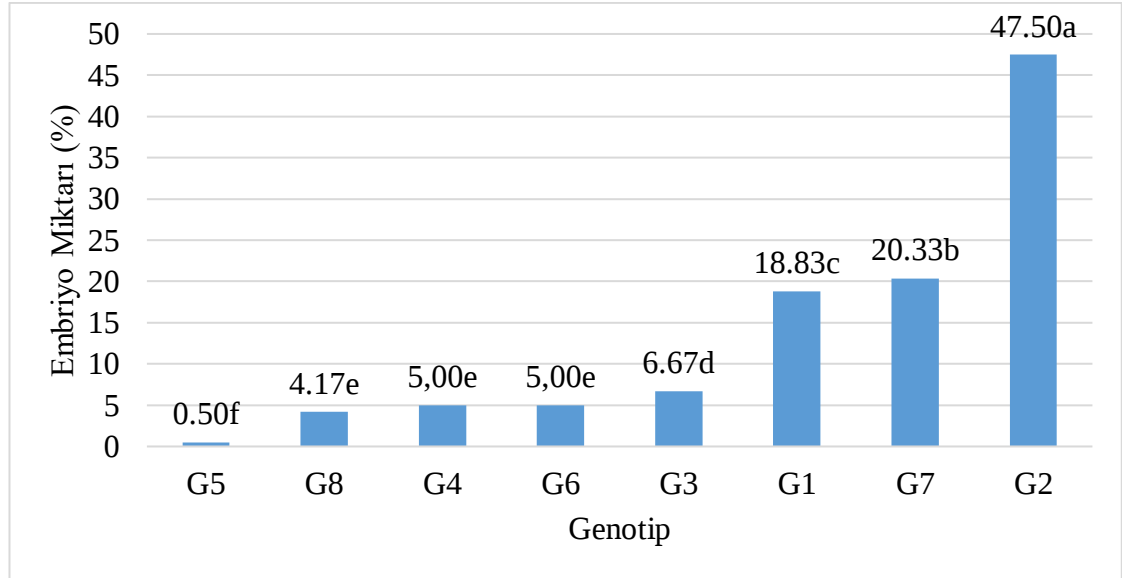
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F	Önem
Genotip (G)	10070,667	7	1438,667	908,632	,000
Besi Ortamı (BO)	36,750	1	36,750	23,211	,000
G × BO	6203,917	7	886,274	559,752	,000
Hata	50,667	32	1,583		
Toplam	25110,000	48			
^a . $R^2 = 0,997$					

Besi ortamındaki farklılık, embriyo miktarı üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olmuştur. BO2’de 100 anterden elde edilen embriyo miktarı 14,38 adet iken BO1’de 100 anterden elde edilen embriyo miktarı 12,63 adet olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.1). Bu sonuca göre, denemeye alınan tüm genotip ortalamaları dikkate alındığında ikinci besi ortamının daha iyi sonuç verdiği söylenebilir.



Şekil 4. 1. Besi ortamlarının embriyo miktarı üzerine etkisi

İki farklı besi ortamında kültüre alınan biber genotipinin 100 anter içinde embriyo üreten anter miktarı genotiplere göre $P < 0,01$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli farklılık göstermiştir. Bunun üzerine Duncan'ın Çoklu Dağılım Testine göre embriyo üreten anter miktarları gruplandırılmıştır. En yüksek embriyo miktarı %47,50 olarak G2 (Anaheim) genotipinden elde edilirken onu sırasıyla %20,33 ile G7 (Jalapeno), %18,83 ile G1 (California Wonder) ve %6,67 ile G3 (Anaheim) izlemiş ve en düşük embriyo miktarı ise %0,50 ile G5 (Ancho) genotipinden elde edilmiştir. G8, G4 ve G6 genotiplerinin embriyo oluşturma kabiliyetleri arasında $P < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bir fark oluşmamıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4. 2. Farklı genotiplerin embriyo miktarı üzerine etkisi

Not: Grafikte aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

Varyans analizi sonucuna göre, besi ortamı ile biber genotipleri arasındaki interaksiyonun embriyo miktarı üzerine etkisi $P < 0,01$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. 100 anter içinden en fazla embriyo miktarı (%75,00) elde edilen interaksiyon G2×BO1 olurken onu %33,67 ile G7×BO2 izlemiştir. G3×BO1, G4×BO1, G5×BO1 ve G8×BO1 interaksiyonlarından hiç embriyo elde edilememiştir (Çizelge 4.2). Bu sonuca göre birinci besi ortamında Anaheim tipinde, ikinci besi ortamında ise Jalapone biber tipinde daha iyi sonuç elde edildiği söylenebilir.

Çizelge 4. 2. Farklı genotip ve besi ortamı interaksiyonunun embriyo miktarı performansı

Besi Ortamı	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
BO1	18,33 c	75,00 a	0 f	0 f	0 f	0,67 f	7,00 f	0 f
BO2	19,33 c	20,00 c	13,33 d	10,00 e	1,00 g	9,33 e	33,67 b	8,33 ef

Not: Çizelgede aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

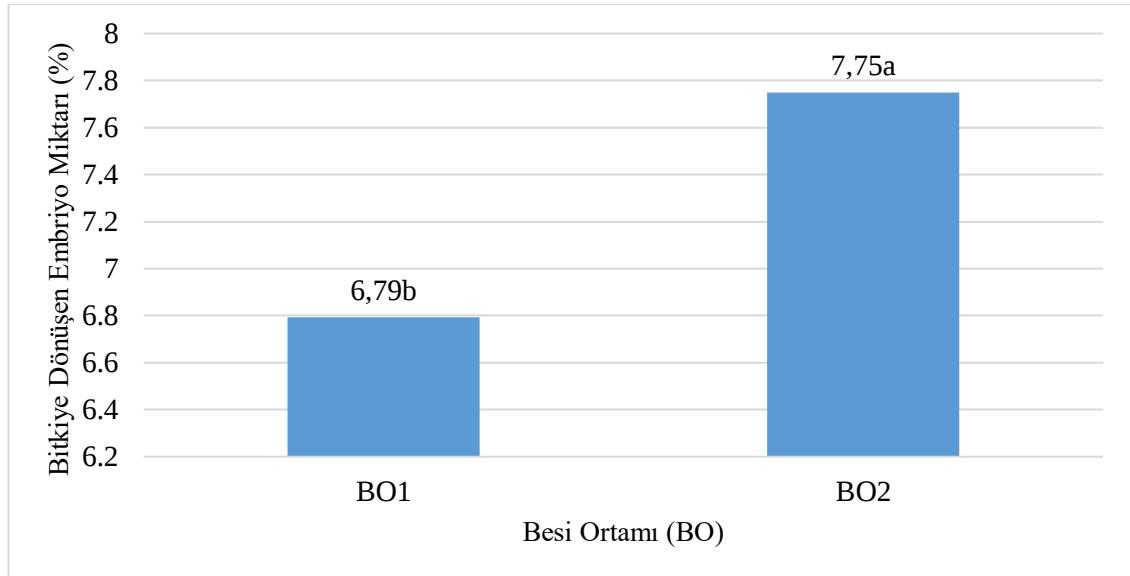
4.2. Toplam Bitkiye Dönüşen Embriyo Miktarı

Denemede bitkiye dönüşen embriyo miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.3’de verilmiştir. Denemeden elde edilen ortalama sonuçlara göre, 100 anterden elde edilen bitkiye dönüşen embriyo miktarı 7,27 adet olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4. 3. Bitkiye dönüşen embriyo miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları

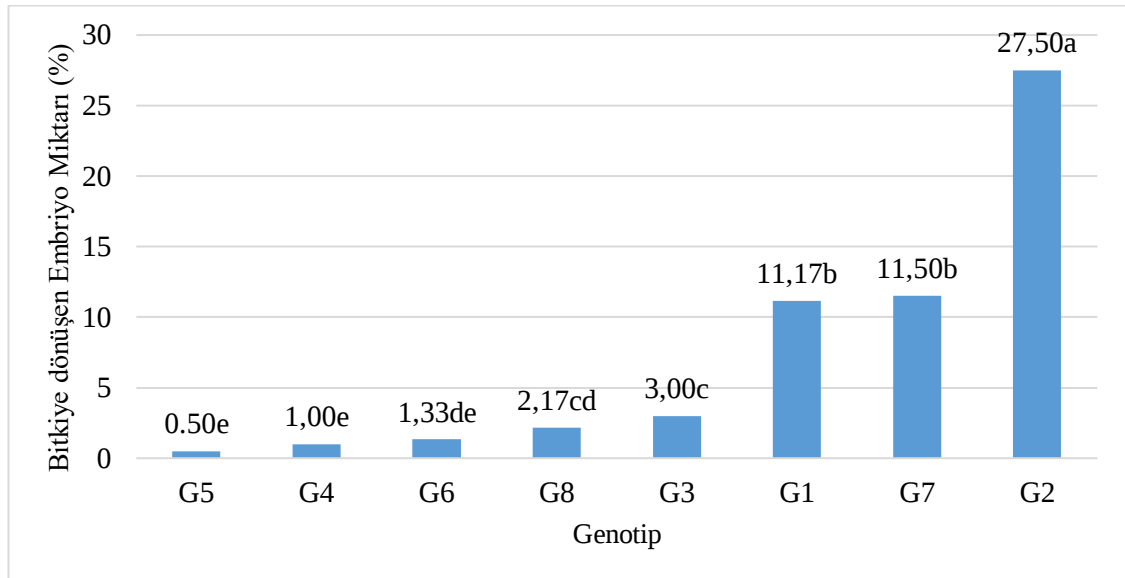
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F	Önem
Genotip (G)	3641,979	7	520,283	924,947	,000
Besi Ortamı (BO)	11,021	1	11,021	19,593	,000
G × BO	1396,479	7	199,497	354,661	,000
Hata	18,000	32	,563		
Toplam	7605,000	48			
a. $R^2 = 0,996$					

Farklı besi ortamlarında bitkiye dönüşen embriyo miktarı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. BO2’de 100 anterden elde edilen bitkiye dönüşen embriyo miktarı %7,75 iken BO1’de bu değer %6,79 olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4. 3. Besi ortamlarının bitkiye dönüşen embriyo miktarı üzerine etkisi

Farklı besi ortamlarında kültüre alınan 8 farklı biber genotipinin 100 anter içinde bitkiye dönüşen embriyo miktarı, genotiplere göre $P<0,01$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli farklılık göstermiştir. Bunun üzerine bitkiye dönüşen embriyo miktarları Duncan'ın Çoklu Dağılım Testine göre $P<0,05$ düzeyinde gruplandırılmıştır. En yüksek bitkiye dönüşüm %27,5 ile G2 genotipinden elde edilirken onu sırasıyla %11,5 ile G7, %11,17 ile G1 ve %3 ile G3 izlemiş ve en düşük bitkiye dönüşüm miktarı ise %0,50 ile G5 genotipinden elde edilmiştir. G8, G4 ve G6 genotiplerinin embriyo oluşturma kabiliyetleri arasında $P<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bir fark oluşmamıştır (Şekil 4.4).



Şekil 4. 4. Farklı genotiplerin bitkiye dönüşen embriyo miktarı performansı

Varyans analizi sonucuna göre, besi ortamı ile biber genotipleri arasındaki interaksiyonun bitkiye dönüşen embriyo miktarı üzerine etkisi $P<0,01$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. 100 anter içinden en fazla bitkiye dönüşüm (40,00 adet) elde edilen interaksiyon G2×BO1 olurken onu %19,33 ile G7×BO2 izlemiştir. G3×BO1, G4×BO1, G5×BO1, G6×BO1 ve G8×BO1 interaksiyonlarından hiç bitkiye dönüşen embriyo elde edilememiştir (Çizelge 4.4). Bu sonuca göre birinci besi ortamında Anaheim genotipinde (G2), ikinci besi ortamında ise Jalapone biber genotipinde (G7) daha fazla sayıda embriyonun bitkiye dönüştüğü gözlenmiştir.

Çizelge 4. 4. Farklı genotip ve besi ortamı interaksiyonunun bitkiye dönüşen embriyo miktarı performansı

Besi Ortamı	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
BO1	10,67 d	40,00 a	0 j	0 j	0 j	0 j	3,67 g	0 j
BO2	11,67 d	15,00 c	6,00 e	2,00 hi	1,00 ij	2,67 gh	19,33 b	4,33 f

Not: Çizelgede aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

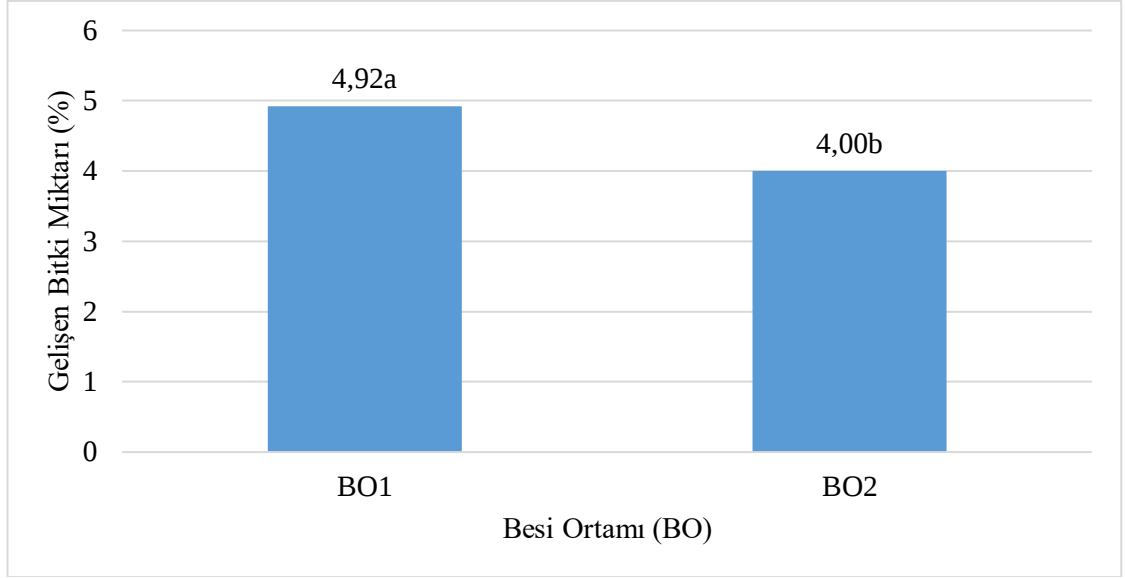
4.3. Toplam Gelişen Bitki Miktarı

Denemede toplam gelişen bitki miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.5’de verilmiştir. Her iki besi ortamı ve farklı çeşitlerden oluşan 8 biber genotipinden elde edilen ortalama sonuçlara göre, gelişen bitki miktarı 100 anter içinden 4,46 adet olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4. 5. Gelişen bitki miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları

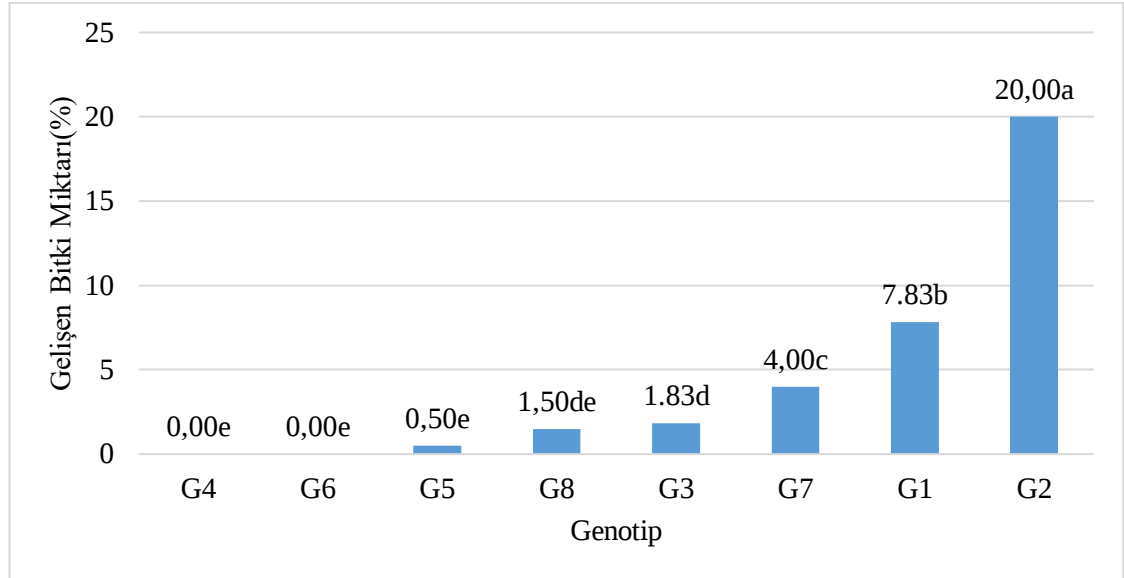
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F	Önem
Genotip (G)	1945,250	7	277,893	289,975	,000
Besi Ortamı (BO)	10,083	1	10,083	10,522	,003
G × BO	657,917	7	93,988	98,075	,000
Hata	30,667	32	,958		
Toplam	3598,000	48			
a. $R^2 = 0,988$					

Besi ortamındaki farklılık, gelişen bitki miktarı üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olmuştur. BO2’de gelişen bitki miktarı 100 anter içinden 4,00 adet iken BO1’de 100 anter içinden gelişen bitki miktarı 4,92 adet olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4. 5. Besi ortamlarının gelişen bitki miktarı üzerine etkisi

İki farklı bes ortamında kültüre alınan 8 farklı biber genotipinin 100 anter içinde gelişen bitki miktarı genotiplere göre $P < 0,01$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli farklılık göstermiştir. Bunun üzerine Duncan'ın Çoklu Dağılım Testine göre gelişen bitki miktarları gruplandırılmıştır. En yüksek gelişen bitki miktarı %20 ile G2 genotipinden elde edilirken onu sırasıyla %7,83 ile G1, %4 ile G7, %1,83 ile G3 ve %1,5 ile G8 izlemiş ve en düşük gelişen bitki miktarı ise %0,50 ile G5 genotipinden elde edilmiştir. G4 ve G6 genotipinden bitki elde edilememiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4. 6. Farklı genotiplerin gelişen bitki miktarı performansı

Not: Grafikte aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

Varyans analizi sonucuna göre, besi ortamı ile biber genotipleri arasındaki interaksyonun gelişen bitki miktarı üzerine etkisi $P < 0,01$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. 100 anter içinden en fazla gelişen bitki miktarı (30,00 adet) G2×BO1 interaksyonundan elde edilirken onu %10,00 ile G2×BO2 izlemiştir. G3×BO1, G4×BO1, G4×BO2, G5×BO1, G6×BO1, G6×BO2 ve G8×BO1 interaksyonlarında bitki gelişimi gerçekleşmemiştir (Çizelge 4.6). Bu sonuca göre, G2 genotipindeki (Anaheim) bitkiler her iki besi ortamında da daha iyi gelişme sergilemişlerdir. G2 genotipinden sonra, G1 genotipi (California Wonder) bitkilerin gelişimi de diğer genotiplere kıyasla her iki besi ortamında daha iyi sonuçlar vermiştir.

Çizelge 4. 6. Farklı genotip ve besi ortamı interaksyonunun gelişen bitki miktarı performansı

Besi Ortamı	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
BO1	7,67 c	30,00 a	0 f	0 f	0 f	0 f	1,67 ef	0 f
BO2	8,00 c	10,00 b	3,67 d	0 f	1,00 f	0 f	6,33 c	3,00 de

Not: Çizelgede aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

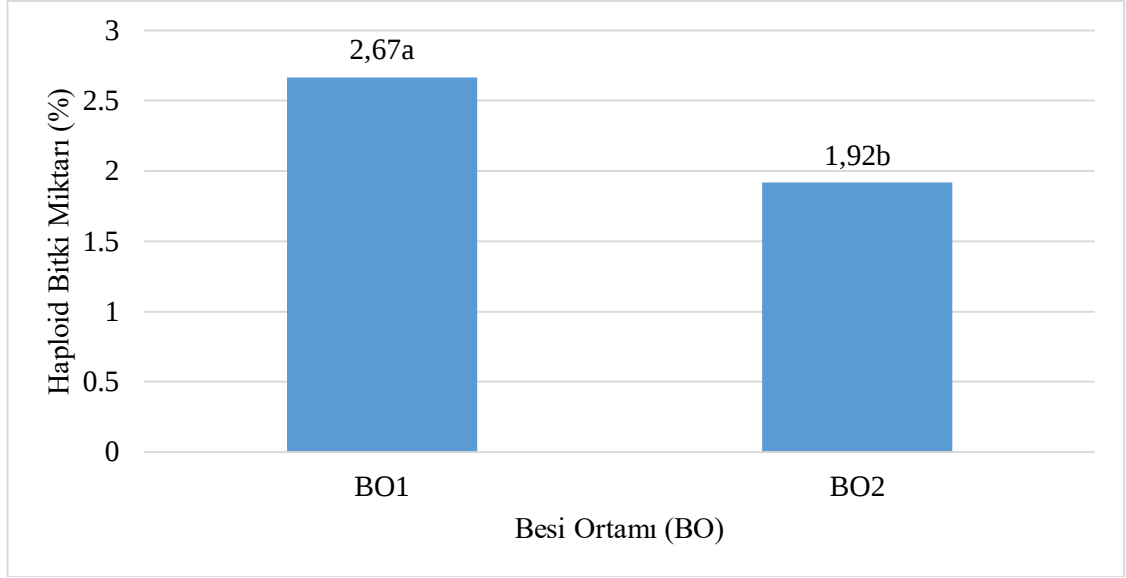
4.4. Toplam Haploid Bitki Miktarı

Haploid bitki miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir. Denemeden elde edilen ortalama sonuçlara göre, 100 anterden elde edilen haploid bitki miktarı 2,29 adet olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4. 7. Haploid bitki miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları

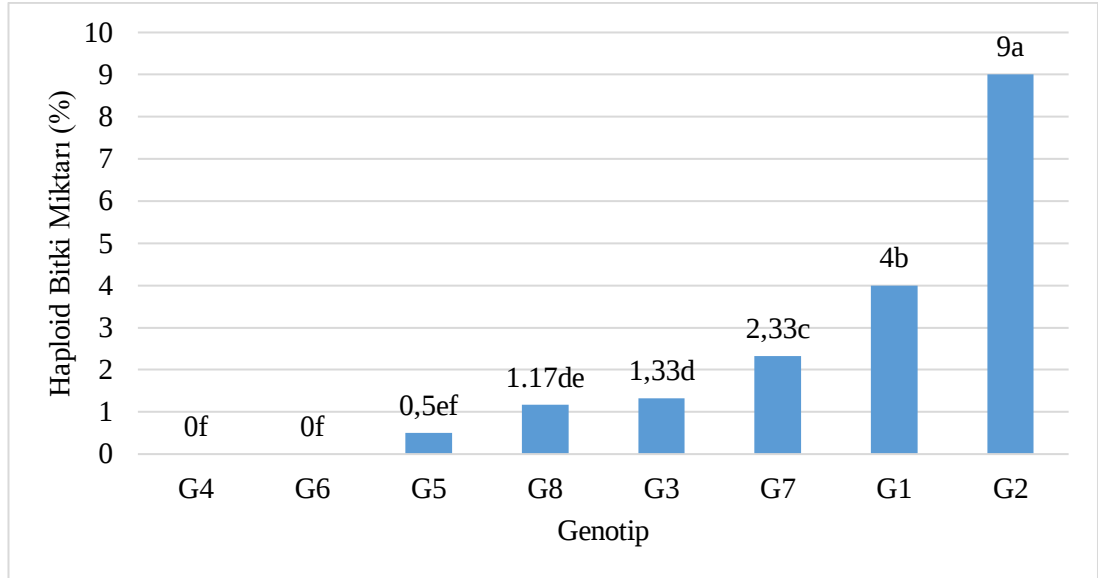
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F	Önem
Genotip (G)	382,917	7	54,702	131,286	,000
Besi Ortamı (BO)	6,750	1	6,750	16,200	,000
G × BO	262,917	7	37,560	90,143	,000
Hata	13,333	32	,417		
Toplam	918,000	48			
^a . $R^2 = 0,980$					

Haploid bitki miktarı üzerinde farklı besi ortamlarının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. BO2’de 100 anterden elde edilen haploid bitki miktarı 1,92 iken BO1’de 100 anterden elde edilen embriyo 2,67 adet olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.7). Bu sonuca göre, denemeye alınan tüm biber genotiplerinden elde edilen haploid bitki miktarı ortalaması dikkate alındığında Besi Ortamı-1’in daha uygun olduğu sonucuna varılabilir.



Şekil 4. 7. Besi ortamlarının haploid bitki miktarı üzerine etkisi

Farklı besi ortamlarında kültüre alınan 8 farklı biber genotipinin 100 anter içinde haploid bitki üreten anter miktarı, genotiplere göre $P < 0,01$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli farklılık göstermiştir. Bunun üzerine Duncan'ın Çoklu Dağılım Testine göre haploid bitki üreten anter miktarları %95 güven aralığında gruplandırılmıştır. En yüksek haploid bitki miktarı Anaheim tipi G2 genotipinden %9 olarak elde edilirken onu sırasıyla %4 ile California Wonder tipi G1, %2,33 ile Jalapeno tipi G7, %1,33 ile Anaheim tipi G3 ve %1,17 ile Jalapeno tipi G8 izlemiştir ve en düşük embriyo miktarı ise %0,50 ile Ancho tipi G5 genotipinden elde edilmiştir. G4 (Ancho) ve G6 (Jalapeno) genotiplerinden haploid bitki elde edilememiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4. 8. Farklı genotiplerin haploid bitki miktarı performansı

Not: Grafikte aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

Varyans analizi sonucuna göre, besi ortamı ile biber genotipleri arasındaki interaksyonun haploid bitki miktarı üzerine etkisi $P < 0,01$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. 100 anter içinden en fazla haploid bitki (15,00 adet) elde edilen interaksyon G2×BO1 olurken onu %2,33 ile G1×BO1 izlemiştir. G3×BO1, G4×BO1, G4×BO2, G5×BO1, G6×BO1, G6×BO2 ve G8×BO1 interaksyonlarından hiç haploid bitki elde edilememiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4. 8. Farklı genotip ve besi ortamı interaksyonunun haploid bitki miktarı performansı

Besi Ortamı	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
BO1	5,67 b	15,00 a	0 e	0 e	0 e	0 e	0,67 e	0 e
BO2	2,33 d	3,00 cd	2,67 d	0 e	1,00 e	0 e	4,00 c	2,33 d

Not: Çizelgede aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

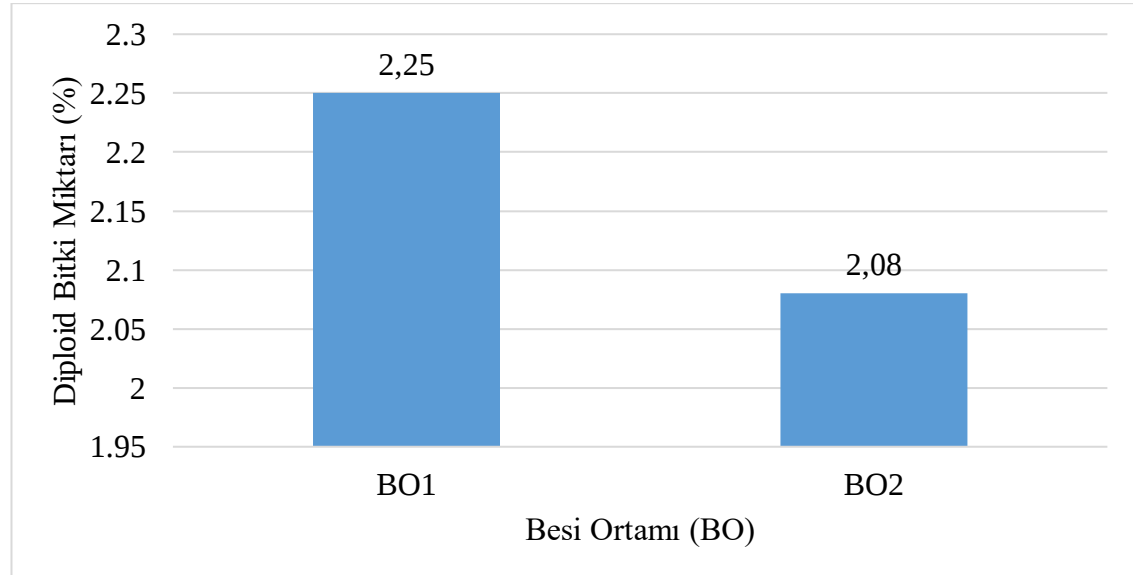
4.5. Toplam Spontane Double Haploid Bitki Miktarı

Denemede spontane double haploid (SDH) bitki miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.9). Denemeden elde edilen ortalama sonuçlara göre, 100 anterden elde edilen diploid bitki miktarı 2,17 adet olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4. 9. Spontane double haploid bitki miktarına ilişkin varyans analizi sonuçları

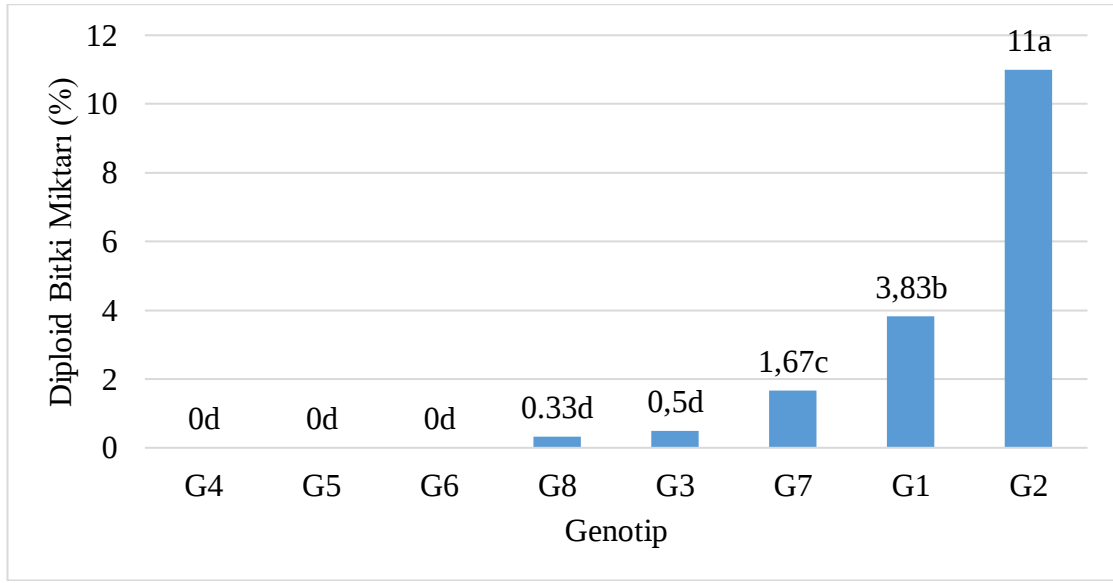
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F	Önem
Genotip (G)	607,667	7	86,810	347,238	,000
Besi Ortamı (BO)	,333	1	,333	1,333	,257
G × BO	120,667	7	17,238	68,952	,000
Hata	8,000	32	,250		
Toplam	962,000	48			
$R^2 = 0,989$					

Besi ortamındaki farklılık diploid bitki miktarı üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etki oluşturmamaktadır. BO2’de 100 anterden elde edilen SDH bitki miktarı 2,08 adet iken BO1’de 100 anterden elde edilen embriyo 2,25 adet olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4. 9. Besi ortamlarının spontane double haploid bitki miktarları üzerine etkisi

2 farklı besi ortamında kültüre alınan 8 farklı biber genotipinin 100 anter içinde SDH bitki üreten anter miktarı genotiplere göre $P<0,01$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli farklılık göstermiştir. Bunun üzerine Duncan'ın Çoklu Dağılım Testine göre embriyo üreten anter miktarı gruplandırılmıştır. En yüksek SDH bitki miktarı G2 genotipinden %11 olarak elde edilirken onu sırasıyla %3,83 ile G1, %1,67 ile G7 ve %0,5 ile G3 izlemiştir ve en düşük embriyo miktarı ise %0,33 ile G8 genotipinden elde edilmiştir. G4, G5 ve G6 genotiplerinden SDH bitki elde edilememiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4. 10. Farklı genotiplerin spontane double haploid bitki miktarı performansı

Not: Grafikte aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

Varyans analizi sonucuna göre, biber genotipleri arasındaki interaksyonun SDH bitki miktarı üzerine etkisi $P<0,01$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. 100 anter içinden en fazla SDH bitki (15,00 adet) elde edilen interaksyon $G2 \times BO1$ olurken onu sırasıyla %7,00 ile $G2 \times BO2$ ve %5,67 ile $G1 \times BO2$ izlemiştir. $G3 \times BO1$, $G4 \times BO1$, $G4 \times BO2$, $G5 \times BO1$, $G5 \times BO2$, $G6 \times BO1$, $G6 \times BO2$ ve $G8 \times BO1$ interaksyonlarından hiç SDH bitki elde edilememiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4. 10. Farklı genotip ve besi ortamı interaksiyonunun spontane double haploid bitki miktarı performansı

Besi Ortamı	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
BO1	2,00 d	15,00 a	0 f	0 f	0 f	0 f	1,00 e	0 f
BO2	5,67 c	7,00 b	1,00 e	0 f	0 f	0 f	2,33 d	0,67 ef

Not: Çizelgede aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

4.6. Ploidi Analiz Sonuçları

Çalışmada her genotipten yapılan stoma analiz sonuçları Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4. 11. Genotiplere ait stoma sayıları

BO1		BO2		BO1		BO2	
Genotip	Stoma Sayısı (adet)	Genotip	Stoma Sayısı (adet)	Genotip	Stoma Sayısı (adet)	Genotip	Stoma Sayısı (adet)
G1-1	24	G1-1	30	G2-37	29	G3-6	25
G1-2	24	G1-2	36	G2-38	26	G3-7	29
G1-3	28	G1-3	23	G2-39	28	G3-8	32
G1-4	25	G1-4	36	G2-40	31	G3-9	11
G1-5	35	G1-5	21	G2-41	30	G3-10	6
G1-6	26	G1-6	25	G2-42	32	G3-11	9
G1-7	36	G1-7	26	G2-43	26	G5-1	28
G1-8	30	G1-8	10	G2-44	27	G5-2	32
G1-9	25	G1-9	6	G2-45	28	G5-3	26
G1-10	31	G1-10	3	G2-46	9	G7-1	39
G1-11	27	G1-11	4	G2-47	5	G7-2	38
G1-12	38	G1-12	9	G2-48	5	G7-3	29
G1-13	21	G1-13	15	G2-49	15	G7-4	25
G1-14	23	G1-14	12	G2-50	12	G7-5	33
G1-15	27	G1-15	11	G2-51	9	G7-6	36

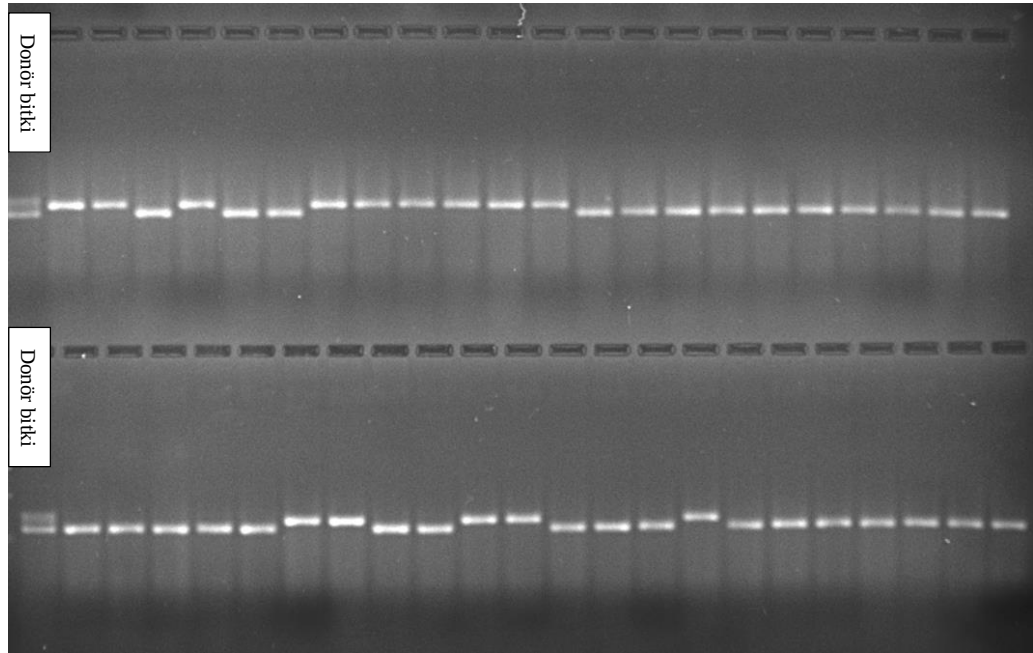
Çizelge 4. 12. Genotiplere ait stoma sayıları (devam)

G1-16	29	G1-16	16	G2-52	6	G7-7	26
G1-17	22	G1-17	10	G2-53	8	G7-8	19
G1-18	11	G1-18	13	G2-54	6	G7-9	27
G1-19	8	G1-19	7	G2-55	12	G7-10	25
G1-20	9	G1-20	9	G2-56	11	G7-11	33
G1-21	7	G1-21	9	G2-57	14	G7-12	31
G1-22	12	G1-22	14	G2-58	6	G7-13	5
G1-23	10	G1-23	8	G2-59	8	G7-14	14
G2-1	23	G1-24	11	G2-60	6	G7-15	10
G2-2	30	G2-1	28	G2-61	12	G7-16	8
G2-3	32	G2-2	26	G2-62	10	G7-17	13
G2-4	26	G2-3	36	G2-63	10	G7-18	12
G2-5	31	G2-4	29	G2-64	8	G7-19	10
G2-6	34	G2-5	27	G2-65	7	G8-1	29
G2-7	25	G2-6	31	G2-66	12	G8-2	21
G2-8	27	G2-7	30	G2-67	10	G8-3	23
G2-9	24	G2-8	27	G2-68	13	G8-4	26
G2-10	29	G2-9	32	G2-69	6	G8-5	18
G2-11	27	G2-10	4	G2-70	9	G8-6	23
G2-12	27	G2-11	12	G2-71	10	G8-7	29
G2-13	32	G2-12	15	G2-72	14	G8-8	6
G2-14	30	G2-13	13	G2-73	12	G8-9	11
G2-15	23	G2-14	7	G2-74	6		
G2-16	29	G2-15	11	G2-75	6		
G2-17	34	G2-16	9	G2-76	8		
G2-18	28	G2-17	9	G2-77	5		
G2-19	28	G2-18	10	G2-78	7		
G2-20	33	G2-19	6	G2-79	14		
G2-21	26	G2-20	5	G2-80	12		
G2-22	24	G2-21	12	G2-81	10		
G2-23	32	G2-22	8	G2-82	11		
G2-24	25	G2-23	10	G2-83	11		
G2-25	27	G2-24	11	G2-84	13		
G2-26	29	G2-25	14	G2-85	15		

Çizelge 4. 13. Genotiplere ait stoma sayıları (devam)

G2-27	26	G2-26	12	G2-86	9		
G2-28	35	G2-27	7	G2-87	7		
G2-29	30	G2-28	8	G2-88	9		
G2-30	26	G2-29	9	G2-89	12		
G2-31	25	G2-30	7	G2-90	10		
G2-32	38	G3-1	25	G7-1	28		
G2-33	34	G3-2	22	G7-2	32		
G2-34	38	G3-3	33	G7-3	12		
G2-35	25	G3-4	28	G7-4	14		
G2-36	28	G3-5	27	G7-5	7		

Stoma analiz sonucuna göre toplam haploid bitki sayısı 110 adet, toplam SDH bitki sayısı 104 adet olarak belirlenmiştir.



Şekil 4. 11. Spontane double haploid bitkilere ait TSWV lokusu için jel görüntüsü

Elde edilen bitkilerin SDH olduğundan emin olmak amacıyla heterezigot lokuslar açısından moleküler taramalar yapılmıştır. Şekil 4.11’de görüldüğü gibi donör bitkinin belirlenen lokus için heterezigot durumda, elde edilen bitkilerin homozigot durumda

olduğu görülmektedir. Sonuç olarak bitkilerin somatik hücreden gelmediği, SDH olduğu belirlenmiştir.

Yapılan analiz sonucu haploid ve double haploid bitkiler karşılaştırıldığında belli başlı farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Bunlar;

- Haploid bitkiler double haploid bitkilere göre daha sık yapraklı, internod aralıkları daha kısa ve daha karmaşık bir görünüme sahiptir (Şekil 3.10).



Şekil 4. 12. G2 genotipine ait haploid ve spontane double haploid bitkilerin saksıdaki görünümü

- Haploid bitkilerde meyve ve çiçek tutumu çok az olmaktadır.
- Haploid bitkiler gamet oluşturamadıkları için kısırdırlar, meyve tutumu görülse bile tohum bağlayamazlar (Şekil 3.11).



Şekil 4. 13. G1 genotipine ait haploid ve spontane double haploid bitkilerin meyve görüntüsü ve tohum tutumu

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Anter kültürü ile haploid bitki eldesinde kullanılan besi ortamı, genotip etkisi, ön uygulamalar gibi bazı etkenler başarıyı etkileyen faktörler arasında yer almaktadır. Bu çalışmada 2 farklı besi ortamında 8 acı biber genotipinin haploid bitki oluşturma etkinliği incelenmiştir.

Bu çalışmada seradan toplanan tomurcuklar kültüre alınarak anterler inkübatörde +35°C’de karanlık koşullarda 48 saat ön uygulamaya tabi tutulmuştur. Çalışmada sıcaklık ön uygulama denemesi yapılmamıştır. Boncukçu ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada donör bitki olarak dört yerel genotip ve iki farklı besi ortamı kullanılmış, çiçek tomurcuklarına ön uygulama yapılmasının önemli ölçüde embriyo oluşumunu değiştirmediğini raporlamışlardır. Daha önce yapılan çalışmalarda biberde anter kültüründe elde edilen embriyo oluşumu, kallus oluşumu, bitkiye dönüşüm oranları üzerinden değerlendirilmiş olup bu çalışmada ise bazı acı biber çeşitlerinin farklı besi ortamlarında haploid bitki oluşturma etkinliği incelenmiştir. Bu inceleme yapılırken embriyo sayısı, bitkiye dönüşen embriyo sayısı, gelişen bitki sayısı, haploid ve spontane double haploid bitki sayıları kaydedilmiştir.

İki farklı besi ortamında kültüre alınan anterlerden farklı tiplerde 8 acı biber genotipten elde edilen embriyo miktarı, bitkiye dönüşen embriyo, gelişen bitki, haploid bitki ve spontane double haploid bitki miktarı genotiplere ve besi ortamı ile genotip interaksiyonuna göre istatistiksel olarak %1 düzeyinde, spontane double haploid bitki miktarı dışında incelenen tüm parametrelerde ise besi ortamının etkisi %1 düzeyinde önemli farklılık göstermiştir.

Genel olarak embriyo miktarı ve bitkiye dönüşen embriyo miktarı üzerinde BO2 besi ortamından daha yüksek sonuçlar elde edilirken incelenen diğer parametrelerde BO1 besi ortamı daha yüksek sonuçlar vermiştir. BO2’de 100 anterden elde edilen embriyo miktarı 14,38 iken BO1’de 100 anterden elde edilen embriyo miktarı 12,63 olarak bulunmuştur. Bu sonuç, anter kültüründen bitki yetiştiriciliğinde, bitkinin farklı gelişme evrelerinde farklı besi ortamlarının kullanılması durumunda muhtemelen daha iyi sonuçlar elde

edilebileceğini göstermektedir. Atasoy ve ark. (2021), biber genotiplerinde bazı besin ortamı ve yetiştiricilik sezonlarında androgenesise cevabın düşük olduğunu, farklı besin ortamı ve dönemlerde performanslarının artabildiğini belirtmişlerdir.

İki farklı besi ortamında kültüre alınan anterlerden farklı tiplerde 8 acı biber genotipten elde edilen embriyo miktarı, bitkiye dönüşen embriyo, gelişen bitki, haploid bitki ve spontane double haploid bitki miktarı genotiplere göre istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli farklılık göstermiştir. İncelenen tüm parametrelerde Anaheim G2 genotipi daha iyi sonuç vermiştir. Deneme sonucunda, toplam haploid bitki miktarı ve spontane double haploid bitki miktarı yönüyle genotipler arasında yapılan kıyaslamaya göre, yüksekten düşüğe doğru sıralama Anaheim G2, California Wonder G1, Jalapeno G7, Anaheim G3 ve Jalapeno G8 şeklinde gerçekleşmiştir. Ancho G4 ve G5 ile Jalapeno G8 genotiplerinden haploid bitki ve doğal olarak da spontane double haploid bitki elde edilememiştir. Tüm anterlerden embriyo elde edilirken ve tamamında bu embriyolar belirli oranlarda bitkiye dönüşürken Ancho G4 ve Jalapeno G6 genotiplerindeki bitkiler gelişme gösterememiştir. Şimşek ve ark. (2022), bitki tek besi ortamı protokolü kullanılarak en düşük embriyo sayısını (%6,9) Charleston'dan elde ederken, en yüksek embriyo sayısını (%17,9) Long green tipinden elde etmişlerdir. California Wonder'da %13,1, Dolmalık biberde %8,7, Jalapeno'da %8,6 ve Capia'da %9,7 oranında embriyo elde edilmiştir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar ile Şimşek ve ark. (2022) çalışmaları birlikte değerlendirildiğinde anter kültürü protokolünün farklı biber genotiplerinde embriyo verimi üzerine aynı etkinliği sağlamadığı ve protokollerin tip/genotip bazında optimize edilmesi gerektiğini ortaya koymuştur.

Besi ortamı ve genotip interaksiyonları incelenen tüm parametrelerde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. En fazla embriyo miktarı %75,00 ile G2×BO1 interaksiyonundan elde edilirken onu %33,67 ile G7×BO2 izlemiştir. G3×BO1, G4×BO1, G5×BO1 ve G8×BO1 interaksiyonlarından hiç embriyo elde edilememiştir. En yüksek embriyo miktarına G2×BO1 kombinasyonundan ulaşılmış olmasına rağmen diğer genotiplerde iyi sonuç vermediği gözlenmiştir. BO2'de (maltoz) ise tüm genotiplerden sonuç alınmıştır. Doğangüzel ve ark. (2021) çalıştığı denemede de iki biber genotipi, sukroz veya maltoz ile 4 besi ortamı kullanılmıştır. Araştırmacılar en yüksek embriyo oranı ve embriyoların

bitkicik haline gelişimini, maltoz ve antioksidan içeren besi ortamlarından elde edildiğini, maltoz içeren besi ortamlarının embriyo oluşumunu birçok genotipte daha iyi teşvik ettiğini ve embriyo oluşumunda besi yerinin önemli bir yeri olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmada BO1’de en yüksek embriyo oluşumu G2 genotipinde gözlenirken, en düşük embriyo oluşumu G6 genotipinde gözlenmiştir. G3, G4, G5, G8 genotiplerinden hiç embriyo elde edilememiştir. BO2’de en yüksek embriyo oluşumu G7 genotipinde gözlenirken, en düşük embriyo oluşumu ise G5 genotipinde görülmüştür. Gelişen bitki miktarları bakımından incelendiğinde BO1’de en yüksek bitki miktarını G2 genotipinden elde ederken, en düşük bitki miktarı ise G7 genotipinden elde edilmiştir. G3, G4, G5, G6, G8 genotiplerinden hiç bitki elde edilememiştir. BO2’de en yüksek gelişen bitki miktarı G2 genotipinde gözlenirken, en düşük gelişen bitki miktarı G5 genotipinden gözlenmiştir. G4 ve G6 genotiplerinden hiç bitki elde edilememiştir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında biber tiplerine göre hatta genotipe de bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Bu farklılıklarda, kullanılan besi ortamı, besi ortamına ilave edilen büyüme düzenleyiciler ve konsantrasyonları, donör bitkinin yetiştirme koşulları, mevsim etkisi, genotiplerin genetik yapısı gibi faktörler etkili olmaktadır. Bu durum tek bir standart anter kültürü protokolünün farklı biber tiplerinde aynı etkinliği meydana getirmediğini, protokollerin tip/genotip bazında özelleştirilmesi gerekliliğini de ortaya çıkarmaktadır. Bu çalışmadan elde edilen diğer bir sonuç da, anter kültürüne düşük düzeylerde cevap veren veya hiç cevap vermeyen farklı tiplerdeki genotiplerin, farklı besi ortamlarında, sıcaklık değişkenliklerine tolerans durumları dikkate alınarak kültüre alma zamanlarının da incelenmesi sonraki çalışmalar için tavsiye edilebilir. Ayrıca, anter kültüründe acı biber bitki yetiştiriciliğinde, farklı gelişme dönemlerine (embriyo, bitkiye dönme, bitki gelişme vb.) göre besi ortamlarında değişiklikler yaparak daha iyi sonuçların elde edilebilme olanağı bulunmaktadır. Bu doğrultuda yeni çalışmaların yapılmasına gereksinim duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Arı, E., Yıldırım, T., Mutlu, N., Büyükalaca, S., Gökmen, Ü. & Akman, E. (2016). Comparison of different androgenesis protocols for doubled haploid plant production in ornamental pepper (*Capsicum annuum* L.). *Turkish Journal of Biology*, 40, 944-954. 10. <https://doi.org/10.3906/biy-1509-36>
- Ata, A., Keleş, D., Taşkın, H., & Büyükalaca, S. (2019). Effects of season, genotype, and nutrient medium on pepper anther culture and microspore development. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 43(2), 123-137. <https://doi.org/10.3906/tar-1802-35>
- Atasoy, D., Baktemur, G., & Taşkın, H. (2021). Bazı biber (*Capsicum annuum* L.) genotiplerinin anter kültürü performanslarının belirlenmesi. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 31(2), 282-293. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.835106>
- Babaoğlu, M., Gürel, E. & Özcan, S. (2001). Bitki Biyoteknolojisi I. Doku Kültürü ve Uygulamaları; Selçuk Üniversitesi Basımevi, 374p.
- Bat, H., Altındağ, F. N., Yiğit, M. A., Ellialtıoğlu, Ş. Ş., & Çömlekçioğlu, N. (2021). Ploidy estimation in pepper and eggplant via stomata characteristics. *International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences*, 5(2), 139-146.
- Bat, H., Shidfar, M., Çömlekçioğlu, N., & Ellialtıoğlu, Ş. Ş. (2020). In vitro androgenesis in pepper and the affecting factors on success: I. Carbon source and concentrations. *Biotech Studies*, 29(2), 62-68. <https://doi.org/10.38042/biost.2020.29.02.02>
- Benli, Y. (2019). *Bazı biber (Capsicum annuum L.) genotiplerinin farklı androgenesis yöntemlerine verdiği tepkiler üzerine bir araştırma* (Tez No. 574534) [Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi]. AÜ Kampüs Havuzu. <http://acikerisim.akdeniz.edu.tr/xmlui/handle/123456789/4483>
- Büyükalaca, S. (1993). *Somatic embryogenesis of Capsicum annuum L. (Sweet pepper)* (Publication No. 29057624) [Doctoral dissertation, University of Manchester]. ProQuest Dissertations & Theses Global.
- Boncukçu, S. D., Çelik, M. E., & Geboloğlu, N. (2020). Effect of media, stress conditions and genotype on androgenetic performance of pepper. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 37(1), 23-29. <https://doi.org/10.13002/jafag4627>
- Ceyhan, A. P., & Aktaş, H. (2020) Anter kültürü tekniği ile dihaploid nitelikli üç burun ve dolma tipli biber hatlarının geliştirilmesi. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(Suppl 1), 199-205. <https://doi.org/10.46239/ejbcs.822593>

Çömlekçioğlu, N. (2021). Effect of colchicine addition to culture medium on induction of androgenesis in pepper (*Capsicum Annuum* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 53(3), 1-5. [http://dx.doi.org/10.30848/PJB2021-3\(14\)](http://dx.doi.org/10.30848/PJB2021-3(14))

Demirkaya, B., & Çömlekçioğlu, N. (2021). Effects of biotin and ascorbic acid applications on haploid embryo induction in semisolid and double layer nutrient media in pepper (*Capsicum annuum* L.) anther culture. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 5(2), 191-196. <https://doi.org/10.31015/jaefs.2021.2.8>

Doğangüzel, E., Altındağ, F. N., Yiğit, M. A., Ellialtıoğlu, Ş. Ş., & Çömlekçioğlu, N. (2021). In vitro androgenesis in pepper (*Capsicum annuum* L.) and the affecting factors on success: II. Carbohydrate source and antioxidants. *Biotech Studies*, 30(2), 92-97. <https://doi.org/10.38042/biotechstudies.1000341>

FAO, 2021, Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>

Genç, F. (2023). *Farklı biber tiplerinin anter kültüründe bitkiye dönüşen embriyo sayısı, embriyo oluşum zamanı ve spontan double haploid oranına etkilerinin belirlenmesi* (Tez No. 780586) [Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi]. Ulusal Tez Merkezi.

Greenleaf, W. H. (1986). Pepper breeding. *Breeding Vegetable Crop*, CAP International, The Cambridge University Press. 67-134-uk.

Grozeva, S., & Nankar, A. N. (2020). Effect of incubation period and culture medium on pepper anther culture. *Indian Journal of Biotechnology (IJBT)*, 19(1), 53-59. <http://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/55162>

Grozeva, S., Todorova, V. & Nankar, A.N. (2021). Biber ikiye katlanmış haploidlerin oluşturulması ve androjenik bitkilerin morfolojik karakterizasyonu. *Euphytica*, 217, 113. <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02840-w>

Irikova, T., Grozeva, S., & Rodeva, V. (2011). Anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.) in vitro. *Acta physiologiae plantarum*, 33, 1559-1570. <https://doi.org/10.1007/s11738-011-0736-6>

Kanmaz, M. G. (2021). *Biber (Capsicum annuum L.) ıslahında anter ve iki farklı Shed-mikrospor kültürünün kopya ve dolma tiplerinde saf hat eldesi üzerine etkileri*. (Tez No. 683221) [Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi]. AÜ Kampüs Havuzu. <http://acikerisim.akdeniz.edu.tr/xmlui/handle/123456789/5923>

Kaplan, F. N. (2012). *Biber (Capsicum annum L.) ıslah materyallerinden dihaploid hatların üretimi*. (Tez No. 325795) [Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi]. PÜ Kampüs Havuzu. <https://hdl.handle.net/11499/1645>

Keleş, D., Pınar, H., Ata, A., Taşkın, H., Yıldız, S., & Büyükalaca, S. (2015). Effect of pepper types on obtaining spontaneous doubled haploid plants via anther

- culture. *HortScience*, 50(11), 1671-1676. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.50.11.1671>
- Keleş, D. (2007). *Farklı biber genotiplerinin karakterizasyonu ve düşük sıcaklığa tolerans*. (Tez No. 212528) [Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi]. Ulusal Tez Merkezi.
- Mangal, M., Sahana, K. P., Srivastava, A., Khar, A., Jain, N., Jain, P. K., ... & Harun, M. (2023). Haploid induction through microspore embryogenesis in Bell pepper genotypes. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2571870/v1>
- Materska, M., & Perucka, I. (2005). Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 53(5), 1750-1756. <https://doi.org/10.1021/jf035331k>
- McLeod, M. J., Guttman, S. I., Eshbaugh, W. H., & Rayle, R. E. (1983). An electrophoretic study of evolution in *Capsicum* (Solanaceae). *Evolution*, 562-574. <https://doi.org/10.2307/2408269>
- Misal, S., & Das, A. (2023). Development of a unique protocol for the production of doubled haploids in Hot Pepper. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3294597/v1>
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15:473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Olszewska, D., Kisiala, A., Niklas-Nowak, A., & Nowaczyk, P. (2014). Study of in vitro anther culture in selected genotypes of genus *Capsicum*. *Turkish Journal of Biology*, 38(1), 118-124. <https://doi.org/10.3906/biy-1307-50>
- Öcal, Y., Taşkın, H., Pınar, H., Keleş, D., Onsinejad, R., & Büyükalaca, S. (2018). Development of nematode resistant pure pepper lines via anther culture method. In XXX *International Horticultural Congress IHC2018: International Symposium on Tropical and Subtropical Vegetable Production*: 1257 (pp. 29-36). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1257.5>
- Özalp, R. (2010). Ülkemizde biber üretimi ve örtüaltı biber yetiştiriciliği. *Tarım Türk Dergisi*, 24(5), 29-32.
- Palevitch, D., & Craker, L. E. (1996). Nutritional and medical importance of red pepper (*Capsicum* spp.). *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, 3(2), 55-83. https://doi.org/10.1300/J044v03n02_08
- Parra-Vega, V., Renau-Morata, B., Sifres, A., & Seguí-Simarro, J. M. (2013). Stress treatments and in vitro culture conditions influence microspore embryogenesis and growth of callus from anther walls of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 112, 353-360. <https://doi.org/10.1007/s11240-012-0242-6>

Pickersgill, B. (1984). Migration of chili peppers, *Capsicum* spp, in the Americas. D. Stone (ed.) *Pre-Columbian plant migration peppers of the pea body Museum of Arceology and Ethnology*. Vol 76. Harvard University Press, pp 105-123, Cambridge Massachusetts.

Pınar, H., Mutlu, N., Yildiz, S., Simsek, D., & Shams, M. (2020). Transferring the cultured anther to a medium without activated charcoal overcomes the recalcitrance in pepper genotypes. *Canadian Journal of Plant Science*, 101(2), 151-156. <https://doi.org/10.1139/cjps-2020-0050>

Sahana, K. P., Singh, K., Srivastava, A., Khar, A., Jain, N., Jain, P. K., ... & Mangal, M. (2021). Morphological characterization of floral traits to predict ideal stage for haploid production in bell pepper. *Indian Journal of Horticulture*, 78(4), 365-369. <http://https://doi.org/10.5958/0974-0112.2021.00052.9>

Shinde, S. T., & Pawar, V. S. (2023). The antioxidant effect of certain fruit and vegetables: A review. *Journal of Current Research in Food Science*, 4(1), 11-16.

Shimira, F., Keleş, D., Taşkın, H., & Abak, K. (2019). The assessment of androgenic response of two nematode resistant pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7(12), 2103-2110. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v7i12.2103-2110.2828>

Shimira, F., Yıldız, S., Baktemur, G., Keleş, D., Aydın, M. Z., Büyükalaca, S., & Taşkın, H. (2019). Investigation of androgenesis capacity of rwandan Pili-Pili variety (*Capsicum chinense* L.) in Turkey. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 24(3), 170-175. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/en/pub/yyufbed/issue/51422/626070>

Supena, E. D. J., & Custers, J. B. M. (2011). Refinement of shed-microspore culture protocol to increase normal embryos production in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae*, 130(4), 769-774. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.08.037>

Şeker, A. (2018). *Bazı biber (Capsicum Annuum L.) çeşitlerinin ssr markerlar ile moleküler karakterizasyonu*. (Tez No. 517579) [Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi]. Ulusal Tez Merkezi.

Şeniz, V. (1992). *Domates, biber ve patlıcan yetiştiriciliği*. Tarımsal Araştırmaları Destekl. ve Gel. Vakfı. Yayın No:26 Yalova.

Şimşek, D., Genc, F., Şimşek, C., Pınar, H., & Ceyhan, E. (2022). Fruit type effects embryo yield, embryo formation time and haploid/double haploid plant yield in pepper. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 15(2), 212-220. Retrieved from <https://ijans.org/index.php/ijans/article/view/617>

Taskin, H., Büyükalaca, S., Keles, D., & Ekbiç, E. (2011). Induction of microspore-derived embryos by anther culture in selected pepper genotypes. *African Journal of Biotechnology*, 10(75), 17116-17121. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2023>

Tekin, H.İ. (2015). Bitki doku kültürü. T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/alata/Belgeler/Diger-belgeler/DokuK%C3%BClt%C3%BCr%C3%BCH.%C4%B0.Tekin.pdf>

Vaulx, R. D., Chambonnet, D., & Pochard, E. (1981). Culture in vitro d'anthères de piment (*Capsicum annuum* L.): amélioration des taux d'obtention de plantes chez différents génotypes par des traitements à + 35° C. *Agronomie*, 1(10), 859-864.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tuğba Zeynep Çardak
Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa-16.10.1998
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu
Lise : İzmir Anadolu İmam Hatip Lisesi
Lisans : Bursa Uludağ Üniversitesi-Tarım Ekonomisi Bölümü
Yüksek Lisans : Bursa Uludağ Üniversitesi-Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Çalıştığı Kurum/Kurumlar : May Tohum (Ekim 2020-Aralık 2020)
United Genetics Turkey Tohum Fide A.Ş. (2021-Halen)

İletişim (e-posta) : tgbcrdk@gmail.com

Yayımları :Yiğit, M., Tunalı, H., Çardak, T.Z., Altındağ, F.N., Şeker, E., Doğangüzel, E., Ellialtıoğlu, Ş.Ş. (2023). Parthenogenetic Embryo Induction in Different Zucchini Genotypes by Irradiated Pollen Technique [Conference presentation]. VI.Uluslararası Tarım Kongresi Bildiri Kitabı 75-80.