

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yusuf ÖCAL

**ANTER KÜLTÜRÜ YOLUYLA NEMATODA DAYANIKLI
SİVRİ, ÇARLISTON, DOLMA VE KAPYA BİBER SAF
HATLARININ GELİŞTİRİLMESİ**

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ADANA-2016

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTER KÜLTÜRÜ YOLUYLA NEMATODA DAYANIKLI SİVRİ,
ÇARLİSTON, DOLMA VE KAPYA BİBER SAF HATLARININ
GELİŞTİRİLMESİ**

Yusuf ÖCAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez / /2016 Tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA
DANIŞMAN

.....
Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN
ÜYE

.....
Yrd. Doç. Dr. Hasan PINAR
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Kod No:

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

Bu proje Sanayi Bakanlığı tarafından SAN-TEZ projesi kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: 0792.STZ.2014

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANTER KÜLTÜRÜ YOLUYLA NEMATODA DAYANIKLI SIVRI, ÇARLISTON, DOLMA VE KAPYA BİBER SAF HATLARININ GELİŞTİRİLMESİ

Yusuf ÖCAL

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİMDALI

Danışman : Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA
Yıl:2016, Sayfa: 75
Jüri : Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA
: Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN
: Yrd. Doç. Dr. Hasan PINAR

Bu çalışma 2015-2016 yılları arasında, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü, Troya Tohum Üretim Araştırma ve Pazarlama Ticaret A.Ş. seraları ve doku kültürü laboratuvarlarında yürütülmüştür. Denemede, Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü'nde yürütülen çalışmalar sonucunda elde edilen üç adet nematoda dayanıklı N-8, N-6 ve N-269 nolu genitörler ile Troya Tohum Üretim Araştırma ve Pazarlama Ticaret A.Ş.'nin ıslah programında yer alan, meyve kalitesi yüksek ve agronomik özellikler iyi olan farklı tiplere (dolma, sivri, çarliston ve kapy) ait ıslah hatlarının melezlenmesiyle elde edilen F₁'lerde anter kültürü yoluyla saf hatlar elde edilmiştir. Besin ortamı olarak, MS+ 30 g/l sakaroz +%0,25 aktif kömür+15 mg/l AgNO₃+4 mg/l NAA+ 0,5 mg/l BAP kullanılmıştır. Kültüre alınan anterler 35 gün sonra bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS ortamlarına alınmıştır. Denemede embriyo oluşturan anter oranı, embriyo oranı, bitkiye dönüşen embriyo oranı, gelişen bitki oranı ve haploid bitki oranı değerleri kaydedilmiştir.

Denemenin sonucunda; farklı parametrelerin genotiplere göre değiştiği gözlemlenmiştir. Genotipler arasında en yüksek embriyo verimi Nematoda dayanıklı x dolma melezi Z-tad 87 nolu genotipten elde edilmiştir. Nematoda dayanıklı x dolma, sivri, çarliston ve kapy tipi melezlemelerden ise en yüksek embriyo verimi dolma melezinden elde edilmiş, bunu kapy, çarliston ve sivri tipler takip etmiştir. Bitkiye dönüşen embriyo oranı, en fazla sivri biber tipi melezinde elde edilmiştir. En yüksek haploid bitki oranı ise kapy tipi melezinden elde edilmiş, bunu çarliston tipi izlemiştir. Sonuç olarak, denenen tüm genotipler anter kültürüne tepki vermiş ve değişen oranlarda embriyo ve haploid bitkiler elde edilmiştir. Yapılan çalışmada Me1, Me3, N ve Me7 dayanıklılık genlerine sahip olan üç adet homozigot saf hat elde edilmiştir. Ayrıca bir adet Me1 genine sahip saf hat elde edilmiştir. Elde edilen nematoda dayanıklı bu genotipler de ıslah çalışmalarında kullanılabilecektir.

Anahtar Kelimer: *Capsicum annum*, biber, anter kültürü, nematoda dayanıklılık

ABSTRACT

MSc THESIS

ANTER RESISTANT CULTURE BY NEMATODES SİVRİ, GREEN, STUFFED AND KAPY PEPPER DEVELOPMENT OF PURE LINES

Yusuf ÖCAL

CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF HORTICULTURE

Supervisor : Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA
Year: 2016, Page: 75
Jury : Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA
: Asst. Prof. Dr. Hatıra TAŞKIN
: Asst. Prof Dr. Hasan PINAR

This study was carried out in the laboratories and greenhouses of Department of Horticulture Faculty of Agriculture Cukurova University, Alata Horticultural Research Institute and Troya Seed Company between 2015 and 2016. The pure lines were obtained from F1 plants via anther culture methods. F1 plants were obtained via crossing of three nematode resistant pepper genitors obtained from the studies carried out at the Alata Horticultural Research Institute with breeding pepper lines of Troya Seed Company selected in terms of high fruit quality and desired agronomic characters. MS medium contained 30 g/l sucrose, 0,25% activated charcoal, +15 mg/l AgNO₃, 4 mg/l NAA and 0,5 mg/l BAP was used as nutrient medium. The cultivated anthers were transferred hormone free MS nutrient medium after 35 days. The anther percentage produced embryo, the embryo percentage, the embryo percentage produced plant, the developed plant percentage and the haploid plant percentage were recorded in the study.

As a result of the experiment; it was observed that different parameters were changed according to genotypes. The highest embryo yield was obtained from the genotype numbered Z-tad 87 (Nematode resistance x bell hybrid). Among nematode resistance x bell, nematode resistance x green long, nematode resistance x charleston and nematode resistance x capia; bell pepper type gave the highest embryo yield and this was followed by capia, charleston and green long types. The embryo percentage produced plant was observed in green long pepper type. The highest haploid plant percentage was observed in capia pepper type, this was followed by charleston. As a result, all genotypes tested reacted to anther culture and the number of embryo and haploid plants obtained were varied. In the study, three homozygote pure lines contained Me1, Me3; N ve Me7 resistance genes were recorded. Also, one homozygote pure lines contained Me1 was noted. These obtained genotypes resistant to nematode can also be used in breeding studies.

Keywords: *Capsicum annum*, pepper, anther culture, nematode resistant

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Bitkiler insanlığın varoluşundan bu yana insan beslenmesinde çok önemli bir yere sahiptirler. Bitkilerden besin olarak yararlanma ilk doğadan toplanma şeklinde başlamış ve daha sonra üstün olan tipler korumaya alınmış, bu aşamadan sonra da tohumları alınarak ilk kültüre alma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Solanaceae familyası içerisinde yer alan biber (*Capsicum annuum* L.) besin değeri ve üretiminin hızla artması nedeni ile oldukça önemli bir sebze türüdür. 2012 yılında dünyada toplam 57,2 milyon hektar alanda 1,1 milyar ton yaş sebze üretimi yapılmış ve bu üretiminin % 2.82'sünü, yani 31.1 milyon tonunu biber oluşturmuştur. Türkiye 97 bin ha alanda yaklaşık 2.159 milyon ton biber üretimi ile dünya biber üreticisi ülkeler arasında üçüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2013). Biber gıda olarak tüketiminin yanında ilaç sanayiinde de kullanılmaktadır. Biberin anavatanı Orta ve Güney Amerika'dır. *Capsicum annuum*'ın geniş bir çeşitlilik gösterdiği Meksika ve Orta Amerika biberin birincil gen merkezidir. Güney ve Orta Avrupa, Afrika, Asya ve Latin Amerika 'nın bazı kesimleri ikincil gen merkezi olarak bilinmektedir (IBPGR, 1983).

Bitkilerde uygulanan biyoteknolojik yöntemlerden biriside doku kültürü teknikleridir. Doku kültürü teknikleri içerisine giren haploid bitki üretimi bitki ıslahında önemli bir yere sahiptir (Heiser, 1976; Andrews,1985). Haploidi tekniği ıslah sürecini kısalttığı için sebze ıslahında geniş uygulama alanı bulmuştur. Haploid bitkilerin en önemli kullanım alanı, kendine uyumsuz türlerde bile tamamen homozigot katlanmış dihaploid hatların hızlı üretimidir. Geleneksel yöntemlerle de saf hatlar elde edilebilir. Fakat bu işlem yabancı tozlanan bitkilerde 10-12, kendine tozlanan bitkilerde ise 6-7 generasyon sürebilmektedir. Dioik türlerde ise kendileme olanaksızdır. Haploidi yöntemleri ile bu süre 1-2 yıla inebilmektedir. Klasik ıslah çalışmalarında genotiplerin seçilmesi ve bu seçilen genotiplerin saflaştırılması uzun yıllar almaktadır.

Biber tarımının en önemli sorunlarının başında hastalık ve zararlılar gelmektedir. Hastalıkların içinde özellikle domates mozaik virüsü (TMV), hıyar mozaik virüsü (CMV), domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV), Patates Y virüsü (PVY) gibi virüsler ile kökboğazı yanıklığı (*Phytophthora capsici* Leon.) ve külleme gibi funguslar; zararlılar içinde de nematodlar en fazla zarar yapan ve ürün kayıpları meydana getirenlerdir. Toprak zararlısı olan nematodların mücadelesi oldukça zordur. Hastalık ve zararlılara karşı mücadelede en sağlıklı, kolay ve ekonomik çözüm dayanıklı çeşit kullanmaktır. Değişik ülkelerdeki farklı resmi ve özel kuruluşlarda yapılan araştırmalar, biberlerde nematoda dayanıklı genotiplerin bulunduğunu göstermiştir. Ülkemizde yapılan ve TÜBİTAK tarafından desteklenen bir proje kapsamında da (Türkiye F1 Hibrit Sebze Çeşit ve Nitelikli Hat Geliştirme Projesi) Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü'nde nematoda dayanıklı genitör hatlar geliştirilmiştir. Ancak nematoda dayanıklı olan bu hatlar, henüz çeşit niteliğinde değildir ve agronomik, fizyolojik, morfolojik ve teknolojik açıdan ticari özellikler taşımamaktadır.

Bu çalışmada; Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen sivri, dolma, çarliston ve kapyra biber tiplerinde nematoda dayanıklı olan ve örtüaltı yetiştiriciliğine elverişli özellikler gösteren yüksek verimli ve kaliteli çeşit geliştirmeye yönelik ebeveyn aday ıslah hatları geliştirmek hedeflenmiştir. Araştırma kapsamında; Troya Tohum Üretim Araştırma ve Pazarlama Ticaret A.Ş.'de biber ıslahı programlarında kullanılan biber gen havuzu populasyonlarında anter kültürü için optimizasyonunun yapılması, devamında haploid bitkilerin elde edilmesi, bu bitkilerden de kromozom sayısı katlanmış dihaploid hatların (DH = doubled haploid) elde edilmesi planlanmıştır.

Bu çalışma 2015-2016 yılları arasında, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakùltesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü, Troya Tohum Üretim Araştırma ve Pazarlama Ticaret A.Ş. seraları ve doku kültürü laboratuvarlarında yürüt÷lm÷ştür. Denemede; Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü'nde yürüt÷len çalışmalar sonucunda elde edilen üç adet nematoda

dayanıklı N-8, N-6 ve N-269 nolu genitörler ile Troya Tohum Üretim Araştırma ve Pazarlama Ticaret A.Ş.'nin ıslah programında yer alan, meyve kalitesi yüksek ve agronomik özellikler iyi olan farklı tiplere (dolma, sivri, çarliston ve kaypa) ait ıslah hatlarının melezlenmesiyle elde edilen F₁'lerde anter kültürü yoluyla saf hatlar elde edilmiştir. Besin ortamı olarak, MS+ 30 g/l sakaroz +%0,25 aktif kömür+15 mg/l AgNO₃+4 mg/l NAA+ 0,5 mg/l BAP kullanılmıştır. Kültüre alınan anterler 35 gün sonra bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS ortamlarına alınmıştır. Denemede embriyo oluşturan anter oranı, embriyo oranı, bitkiye dönüşen embriyo oranı, gelişen bitki oranı ve haploid bitki oranı değerleri kaydedilmiştir.

Denemenin sonucunda; farklı parametrelerin genotiplere göre değiştiği gözlemlenmiştir. Genotipler arasında en yüksek embriyo verimi Nematoda dayanıklı x dolma melezi Z-tad 87 nolu genotipten elde edilmiştir. Nematoda dayanıklı X dolma, sivri, çarliston ve kaypa tipi melezlemelerden ise en yüksek embriyo verimi dolma melezinden elde edilmiş, bunu kapyra, çarliston ve sivri tipler takip etmiştir. Bitkiye dönüşen embriyo oranı, en fazla sivri biber tipi melezinde elde edilmiştir. En yüksek haploid bitki oranı ise kapyra tipi melezinden elde edilmiş, bunu çarliston tipi izlemiştir. Sonuç olarak, denenen tüm genotipler anter kültürüne tepki vermiş ve değişen oranlarda embriyo ve haploid bitkiler elde edilmiştir. Yapılan çalışmada Me1, Me3, N ve Me7 dayanıklılık lokuluslarına sahip olan üç adet homozigot saf hat elde edilmiştir. Bir tane Me1 dayanıklılık lokulusuna sahip saf hat elde edilmiştir. Elde edilen nematoda dayanıklı bu genotipler de ıslah çalışmalarında kullanılabilecektir.



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesi, yürütülmesi ve yazım aşamasında yönlendirici katkılarıyla desteğini bulduğum Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Saadet BÜYÜKALACA'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamda her türlü yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Hasan PINAR ve Doç. Dr. Hatıra TAŞKIN'a da sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamda kullandığım biber genotiplerinin tohumlarını sağlayan ve her türlü yardımı aldığım Dr. Davut KELEŞ'e, laboratuvar çalışmasında yardımlarını esirgemeyen Haluk İhsan TEKİN, Serhat YILDIZ ve Emrah KAYMAKÇI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tezimin, SANTEZ projesi kapsamında gerçekleştirilmesinden dolayı Sanayi Bakanlığına katkı sağlayan tüm emeği geçen kişilere de teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam sırasında idari ve kişisel yardımını esirgemeyen Enstitü Müdürü Mustafa GÖK'e, Yüksek lisans döneminde bana izin ve desteklerinden dolayı Gıda Tarım ve Hayvancılık İlçe Müdürü Sayın Murat ÖDOĞLU'na, İlçe Tarım Müdürlüğünde tez yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen Rıfat ARIK'a ve işlerimi aksatmayan ve yokluğumu aratmayan oda arkadaşım İlyas DEMİREL'e de teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam sırasında zamanlarını kullandığım ve hiçbir zaman fedakârlıktan kaçınmayan eşim Saadet ÖCAL, oğlum İbrahim Sungur ve kızım Hayrünnisa'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR	VII
İÇİNDEKİLER.....	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR	XIV
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
3. MATERYAL VE METOD	19
3.1. Materyal.....	19
3.2. Metod.....	22
3.2.1. Başlangıç melezlemeleri.....	22
3.2.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi	22
3.2.3. Uygun Anter Safhasının Belirlenmesi	23
3.2.4. Besin Ortamları ve Besin Ortamlarının Hazırlanması.....	25
3.2.5. Çiçek Tomurcuklarının Dezenfeksiyonu.....	26
3.2.6. Anterlerin Çıkarılması ve Besin Ortamına Ekilmesi	27
3.2.7. Kültür Sırasında Kullanılan Malzemeler	27
3.2.8. Kültür Koşulları ve Ön Uygulamalar	28
3.2.9. Dış Ortama Aktarma.....	29
3.2.10. Ploidy Belirleme	31
3.2.11. Haploid Bitkilerin Katlanması.....	33
3.2.12. Tohum Üretimi ve Hat Oluşturma	34
3.2.13. Dayanıklılık Testleri	34
3.2.14. Verilerin Alınması ve Değerlendirilmesi.....	35

4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	37
4.1. Nematoda Dayanıklı Farklı Biber Tiplerinin Anter Kültürü Performansı...	37
4.1.1. Nematoda Dayanıklı Dolma Tipi Genotiplerin Anter Kültürü	
Performansı	37
4.1.2. Nematoda Dayanıklı Sivri Tipi Genotiplerin Anter Kültürü	
Performansı	43
4.1.3. Nematoda Dayanıklı Kopya Tipi Genotiplerin Anter Kültürü	
Performansı	47
4.1.4. Nematoda Dayanıklı Charleston Tipi Genotiplerin Anter Kültürü	
Performansı	52
4.1.5. Farklı Biber Tiplerinin Anter Kültürü Performanslarının Kendi	
Aralarında Karşılaştırılması.....	57
4.1.6. Denemelerde Kullanılan Genotiplerin Anter Kültürü	
Performanslarının Kendi Aralarında Karşılaştırılması	58
4.1.8. Denemelerden Elde Edilen Genotiplerin Nematoda Dayanıklılık	
Markır Testleri.....	62
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR.....	69
ÖZGEÇMİŞ.....	75

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Alata ve Metgen’de yapılan moleküler testleme sonuçları	23
Çizelge 3.2. Çalışma programı.....	23
Çizelge 3.3. MS besin ortamının bileşimi (Murashige and Skoog, 1962).....	26
Çizelge 4.1. Nematoda dayanıklı dolma tipi genotiplerden alınan anterlerde embriyo oluşum, bitkiye dönüşüm ve haploid bitki oranları.....	38
Çizelge 4.2. Nematoda dayanıklı sivri tipi genotiplerden alınan anterlerde embriyo oluşum, bitkiye dönüşüm ve haploid bitki oranları.....	44
Çizelge 4.3. Nematoda dayanıklı kapyası tipi genotiplerden alınan anterlerde embriyo oluşum, bitkiye dönüşüm ve haploid bitki oranları.....	48
Çizelge 4.4. Nematoda dayanıklı çarliston tipi genotiplerden alınan anterlerde embriyo oluşum, bitkiye dönüşüm ve haploid bitki oranları	53
Çizelge 4.5. Nematoda dayanıklı dolma, sivri, kapyası ve çarliston tipi genotiplerden alınan anterlerde ortalama embriyo oluşum, bitkiye dönüşüm ve haploid bitki oranları.....	58
Çizelge 4.6. Nematoda dayanıklı genotiplerden alınan anterlerde embriyo oluşum, bitkiye dönüşüm ve haploid bitki oranları.....	60
Çizelge 4.7. Denemede kullanılan genotiplerin korelasyon analizi.....	61
Çizelge 4.8. Denemeden elde edilen genotiplerin Nematoda dayanıklılık markır testleri	63



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1.	N-269 genitör hat	20
Şekil 3.2.	N-8 genitör hat	20
Şekil 3.3.	N-6 genitör hat	20
Şekil 3.4.	Dikimleri yapılan biber bitkilerinin görünümü	23
Şekil 3.5.	Denemede kullanılan genotiplerden, anter kültürüne alınacak tomurcuklarının ve anterlerinin görünümü	24
Şekil 3.6.	Anterlerin petriye yerleştirilmesi	27
Şekil 3.7.	İklim odasının görünümü	28
Şekil 3.8.	Anterlerin 35 gün sonra alt kültüre alınması	29
Şekil 3.9.	Viyollere dikime hazır bitkilerden görünüm	30
Şekil 3.10.	Steril kabinde dikimleri yapılan bitkilerden görünüm	30
Şekil 3.11.	Tünellere bırakılan viyollerden görünüm	31
Şekil 3.12.	Yaprakların ezilmesi ve plastik eppendorf tüplere konulması	32
Şekil 3.13.	Flow-sitometri cihazında biber örneklerinin diploid görünümü	33
Şekil 3.14.	Flow-sitometri cihazında biber örneklerinin haploid görünümü	33
Şekil 3.15.	Kolisin uygulanmasından bir görünüm	34
Şekil 4.1.	Z-tad-87 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyo	39
Şekil 4.2.	Z-tad-87 nolu genotipe ait gelişen bitkiler	39
Şekil 4.3.	Z-tad-81 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyolar ve gelişen bitki	40
Şekil 4.4.	Z-tad-81 nolu genotipe ait gelişen bitkiler	40
Şekil 4.5.	Z-tad-83 nolu genotipe çimlenmiş embriyolar ve gelişen bitki	41
Şekil 4.6.	Z-tad-83 nolu genotipe ait gelişen bitkiler	41
Şekil 4.7.	Z-tad-75 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyo ve gelişen bitki	42
Şekil 4.8.	Z-tad-75 nolu genotipe ait gelişen bitkiler	42
Şekil 4.9.	Z-tad-86 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyo ve gelişen bitki	43
Şekil 4.10.	Z-tas-58 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyolar ve gelişen bitki	45
Şekil 4.11.	Z-tad-58 nolu genotipe ait bitkiler	45

Şekil 4.12. Z-tas-67 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyo	46
Şekil 4.13. Z-tas-67 nolu genotipe ait gelişen bitki.....	46
Şekil 4.14. Z-tas-48 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyo	47
Şekil 4.15. T-tak-38 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyolar.....	49
Şekil 4.16. T-tak-38 nolu genotipe ait gelişen bitkiler	49
Şekil 4.17. T-tak-35 nolu genotipe ait gelişen bitkiler	50
Şekil 4.18. T-tak-40 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyolar.....	50
Şekil 4.19. T-tak-40 nolu genotipe ait gelişen bitkiler	51
Şekil 4.20. T-tak-28 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyolar.....	51
Şekil 4.21. T-taç-22 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyolar.....	53
Şekil 4.22. T-taç-22 nolu genotipe ait gelişen bitkiler	54
Şekil 4.23. T-taç-8 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyolar.....	54
Şekil 4.24. T-taç-8 nolu genotipe ait gelişen bitki	55
Şekil 4.25. T-taç-3 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyolar.....	55
Şekil 4.26. T-taç-3 nolu genotipe ait gelişen bitkiler	56
Şekil 4.27. T-taç-25 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyo	56
Şekil 4.28. T-taç-25 nolu genotipe ait gelişen bitkiler	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

MS	: Murashige ve Skoog
MMS	: Modifiye edilmiş Murashige veSkoog
2,4-D	: 2,4-Dikloro fenoksi asetik asit
AgNO ₃	: Gümüş nitrat
NAA	: Naftalen asetik asit
BAP	: Benzil amino purin
BA	: Benzil adenin
ABA	: Absisik asit
K	: Kinetin
HCl	: Hidrojen klorür
KOH	: Potasyum hidroksit
ml	: Mililitre
cm	: Santimetre
gr	: Gram
mg	: Miligram
l	: Litre
mg/l	: Miligram/litre
µg	: Mikrogram
µM	: Mikromol
BDO	: Bitkiye dönüşen embriyo oranı
GEO	: Gelişen embriyo oranı
ES	: Embriyo sayısı



1. GİRİŞ

Bitkiler insanlığın varoluşundan bu yana insan beslenmesinde çok önemli bir yere sahiptirler. Bitkilerden besin olarak yararlanma ilk doğadan toplanma şeklinde başlamış ve daha sonra üstün olan tipler korumaya alınmış, bu aşamadan sonra da tohumları alınarak ilk kültüre alma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Solanaceae familyası içerisinde yer alan biber (*Capsicum annuum* L.) besin değeri ve üretiminin hızla artması nedeni ile oldukça önemli bir sebze türüdür. 2013 yılında dünyada toplam 57,2 milyon hektar alanda 1,1 milyar ton yaş sebze üretimi yapılmış ve bu üretiminin % 2.82'sünü, yani 31.1 milyon tonunu biber oluşturmuştur. Türkiye 97 bin ha alanda yaklaşık 2.159 milyon ton biber üretimi ile dünya biber üreticisi ülkeler arasında üçüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2013). Biber gıda olarak tüketiminin yanında ilaç sanayiinde de kullanılmaktadır. Biberin anavatanı Orta ve Güney Amerika'dır. *Capsicum annuum*'ın geniş bir çeşitlilik gösterdiği Meksika ve Orta Amerika biberin birincil gen merkezidir. Güney ve Orta Avrupa, Afrika, Asya ve Latin Amerika 'nın bazı kesimleri ikincil gen merkezi olarak bilinmektedir (IBPGR, 1983). 16. yy'a kadar Avrupa'da bilinmeyen biber, 1493 yılında Kolombo'nun Amerika'yı keşfinden sonra Portekiz'e ve İspanya'ya getirilmiş ve 16. yy'ın ortalarında da Orta ve Kuzey Avrupa'ya yayılmıştır (Greenleaf, 1986). İlk kültüre alınan biber genotiplerinin ve yabani formlarının küçük meyveli, çok tohumlu ve ince etli oldukları tahmin edilmektedir. Bu bitkilerin tohumlarının kuşlar ve diğer hayvanlar tarafından yayıldığı düşünülmektedir. Daha sonra insanlar, talepleri doğrultusunda olan bitkileri seleksiyon yolu ile seçmişler ve çoğaltmışlardır. Başlangıçta amatör olarak yapılan bu seçimler artan dünya nüfusu ve tüketici talepleri doğrultusunda profesyonel anlamda ıslah çalışmalarını başlatmıştır. Biberde de 20. yüzyıl boyunca meyve kalitesi, hastalıklara karşı dayanıklılık, erkencilik, verimlilik, abiyotik streslere tolerans ve bitki morfolojisinde önemli ıslah çalışmaları yapılmıştır. Biberin güneyde 55. enlem ile kuzeyde 52. enlemleri arasında geniş bir aralıkta

yetiştiriciliği yapılmaktadır. Optimum çimlenme sıcaklığı 25-30°C arasında iken, yetiştiricilik için en uygun sıcaklık 21-29°C arasındır. Ortam sıcaklıkları 32°C'yi aştığında veya 15°C'nin altına düştüğünde gelişmesi yavaşlamaktadır. Ülkemizde ve dünyada yetiştiriciliği yaz aylarında açıkta, kış aylarında ise örtü altında yapılmaktadır. Bu mevsimlerde biberin ihtiyaç duyduğu optimum iklim koşulları yeterli düzeyde sağlanamazsa verim ve kalite kayıpları oluşmaktadır. Bu nedenle optimum iklim koşullarının dışında verimliliği ve kaliteyi devam ettirebilen çeşitlerin ıslahına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu anlamda ıslah, bir popülasyonun ihtiyaç doğrultusunda genetik yapısının değiştirilerek daha verimli ya da daha dayanıklı hale getirilmesi olarak tanımlanabilir ve zaman alan bir süreçtir. Islah süresinin kısaltılmasında, son yıllarda kullanılan bitki biyoteknolojisi en önemli araçlardan bir tanesidir. Bitki biyoteknolojisi kısaca biyolojik bilimlerdeki gelişmelerin, teknolojiye gelişmeler yardımıyla uygulamaya ve ticari amaçlara yönelik kullanılması şeklinde tanımlanabilir (Kaya, 2001). Bitki biyoteknolojisinin amacı, bitkisel üretimde bilinen klasik yöntemlerle çözilemeyen veya çözümü güç olan problemlere çözüm getirerek, daha ekonomik, kalite ve kantite yönünden daha yüksek bitkisel üretimin gerçekleşmesine yardımcı olmaktır (Hatipoğlu, 1997). Bitkilerde uygulanan biyoteknolojik yöntemlerden biriside doku kültürü teknikleridir. Doku kültürü teknikleri içerisine giren haploid bitki üretimi bitki ıslahında önemli bir yere sahiptir (Heiser, 1976; Andrews, 1985). Haploidi tekniği ıslah sürecini kısalttığı için sebze ıslahında geniş uygulama alanı bulmuştur. Haploid bitkilerin en önemli kullanım alanı, kendine uyumsuz türlerde bile tamamen homozigot katlanmış dihaploid hatların hızlı üretimidir. Geleneksel yöntemlerle de saf hatlar elde edilebilir. Fakat bu işlem yabancı tozlanan bitkilerde 10-12, kendine tozlanan bitkilerde ise 6-7 generasyon sürebilmektedir. Dioik türlerde ise kendileme olanaksızdır. Haploidi yöntemleri ile bu süre 1-2 yıla inebilmektedir. Klasik ıslah çalışmalarında genotiplerin seçilmesi ve bu seçilen genotiplerin saflaştırılması uzun yıllar almaktadır. Ayrıca düşük ve yüksek sıcaklık gibi abiyotik şartlara toleranslılık biberde birçok gen tarafından kontrol edilmekte,

bu da dayanıklılığın yeni nesillere aktarılmasını zorlaştırmaktadır. Denemeler sonucunda herhangi bir stres faktörüne karşı dayanıklı veya tolerant olduğu belirlenen heterozigot bireylerin istenen özellikleri kaybetmeden saflaştırılması haploidizasyon yöntemi ile daha kolay olmaktadır. Haploid kromozom sayısına sahip bitkilerin elde edilmesi ve bunların kolhisin gibi bazı maddelerle kromozom sayılarının iki katına çıkartılmasıyla bir yıl içerisinde %100 homozigot saf hatlar elde etmek mümkün olabilmektedir. Böylece 5-6 generasyon süren homozigotlaştırma işlemini bir yılda, ıslah çalışmalarını 3-4 yıl gibi bir sürede tamamlama olanağı ortaya çıkmaktadır. Doğada ortaya çıkış sıklığı az ve düzensiz olan haploid bitkiler yeterli miktarda olmadığı ve ihtiyaç duyulduğunda bulunamadığı için ıslah çalışmalarında kullanılabilme özelliğine sahip değildir. Erkek ve dişi gamet hücrelerinden *in vitro* koşullarda haploid embriyo ve bitki elde etme olanağı sağlayan doku kültürü teknikleri birçok bitki türünde dihaploidlerin elde edilmesinde faydalıdır. Solanaceae ve Cruciferae familyalarına ait türlerin birçoğunda anter ve mikrospor kültürleri yoluyla androgenetik haploidler elde edilebilirken, Cucurbitaceae familyasına ait sebze türlerinde gynogenetik yolla daha olumlu sonuçlar alınabilmektedir. Koleva-Gudeva ve arkadaşlarının (2007) bildirdiğine göre; ilk anter kültürü yoluyla *in vitro* haploid biber çalışması Wang ve ark. (1973) tarafından yapılmıştır. Biberde anter kültürü yoluyla ilk polen embriyogenesi 1973 yılında George ve Narayanaswamy tarafından gerçekleştirilmiştir. Tekrar edilebilir metot ise Dumas de Valux ve ark. (1981) tarafından geliştirilmiştir. Ülkemizde biberde anter kültürü yoluyla ilk çalışmalar Abak (1983) tarafından yapılmış, Türkiye orijinli biber genotiplerinde uygun besi ortamında %10,38 kadar ulaşan haploid bitki elde edilmiştir. Bu yöntemle oluşan haploid bitkilerin kromozom sayıları katlanarak elde edilen saf hatlar, çeşit geliştirmeye yönelik ıslah programlarında kullanılmıştır. Biberde anter kültürü ıslah çalışmalarında kullanılmakta ve bu yolla yeni çeşitler geliştirilmektedir. Ancak embriyo ve bitkiye dönüşümün yetiştirilme koşulları, ortam, uygulama

zamanı ve genotipe göre farklılık göstermesi ve bütün genotiplerde yüksek oranda haploid bitki elde edilememesi, yöntemin yaygınlaşmasını engelleyen faktörlerdir.

Biber tarımının en önemli sorunlarının başında hastalık ve zararlılar gelmektedir. Hastalıkların içinde özellikle domates mozaik virüsü (TMV), hıyar mozaik virüsü (CMV), domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV), Patates Y virüsü (PVY) gibi virüsler ile kökboğazı yanıklığı (*Phytophthora capsici* Leon.) ve külleme gibi funguslar; zararlılar içinde de nematodlar en fazla zarar yapan ve ürün kayıpları meydana getirenlerdir. Toprak zararlısı olan nematodların mücadelesi oldukça zordur. Kimyasal savaş uygulamalarının güç olmasının yanında etkinlikleri de sınırlıdır. Ayrıca bunların yanında, kimyasal savaş çok yüksek maliyet unsurları da yaratmaktadır. Öte yandan kimyasal ilaçlar, insan ve çevre sağlığı bakımından çok ciddi problemler doğurmakta, bu nedenle daha az kullanılmaları için yoğun çabalar gösterilmektedir. Hastalık ve zararlılara karşı mücadelede en sağlıklı, kolay ve ekonomik çözüm dayanıklı çeşit kullanmaktır. Değişik ülkelerdeki farklı resmi ve özel kuruluşlarda yapılan araştırmalar, biberlerde nematoda dayanıklı genotiplerin bulunduğunu göstermiştir. Ülkemizde yapılan ve TÜBİTAK tarafından desteklenen bir proje kapsamında da (Türkiye F1 Hibrit Sebze Çeşit ve Nitelikli Hat Geliştirme Projesi) Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü'nde nematoda dayanıklı genitör hatlar geliştirilmiştir. Ancak nematoda dayanıklı olan bu hatlar, henüz çeşit niteliğinde değildir ve agronomik, fizyolojik, morfolojik ve teknolojik açıdan ticari özellikler taşımamaktadır.

Bu çalışmada; Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen sivri, dolma, çarliston ve kapyra biber tiplerinde nematoda dayanıklı olan ve örtüaltı yetiştiriciliğine elverişli özellikler gösteren yüksek verimli ve kaliteli çeşit geliştirmeye yönelik ebeveyn aday ıslah hatları geliştirmek hedeflenmiştir. Araştırma kapsamında; Troya Tohum Üretim Araştırma ve Pazarlama Ticaret A.Ş.'de biber ıslahı programlarında kullanılan biber gen havuzu popülasyonlarında anter kùltürü için optimizasyonunun yapılması, devamında haploid bitkilerin elde edilmesi, bu

bitkilerden de kromozom sayısı katlanmış dihaploid hatların (DH = doubled haploid) elde edilmesi planlanmıştır.





2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Toprak paraziti olan kök ur nematotları *Meloidogyne* cinsine girmekte ve bu cinsin içinde 60'dan fazla tür bulunmaktadır. Buna karşılık yaygın zarar meydana getiren en önemli türler; *Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica* ve *Meloidogyne* hapla olarak bilinmektedir. Djian-Caporalino ve ark. (2013) nematotlara karşı mücadelenin çok zor olduğunu vurgulamış ve dünyanın her tarafında kültür bitkilerinde önemli zararlar meydana getirdiğini belirtmişlerdir. Yazarlar, Chitwood (2003)'e atfen nematodların kültür bitkilerinde her yıl 120 milyar dolar seviyesinde ürün kayıpları oluşturduğunu, bunun da dünya toplam bitkisel ürün değerinin %12'sine karşılık geldiğini bildirmektedirler. Ayrıca, kök ur nematotları zararının en yüksek oranda yoğun tarım işlemlerinin uygulandığı sebze yetiştiriciliğinde ortaya çıktığına da dikkati çekmektedir.

Biberde allel olmayan farklı nematod dayanıklılık genleri vardır. İlk dayanıklılık geni N geni olarak isimlendirilmiştir. Biber N geninin, *M. arenaria*, *M. incognita* ve *M. javanica*'ya karşı dayanıklılık sağladığı, ancak bu dayanıklılığın etkinliğinin nematod izolatına ve inoculum düzeylerine bağlı olduğu bilinmektedir (Thies ve ark. 2008). N geni ilk defa Mississippi Nemaheart genotipinde tespit edilmiş ve geriye melezleme ile dayanıklılık hassas biber çeşitleri olan Carolina Wonder ve Charleston Bell'e aktarılmış ve bu dayanıklılığın 32°C'de bile etkili olduğu ve kırılmadığı saptanmıştır. (Thies ve Fery, 2002).

Özarslandan (2009) tarafından yapılan bir çalışmada; Türkiye'de en yaygın nematot türlerinin *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne chitwoodi* olduğu anlaşılmış, toplanan nematod örneklerinde bu türlerin bulunma oranlarının sırasıyla %35, %28, %27 ve %10 olduğu tespit edilmiştir.

Yücel ve ark. (2001) Türkiye'de biberlerde nematot zararlarının %26-61 arasında değiştiğini bildirmişler. Türkiye'de biberlerde en yaygın görünen nematot

türü ve ırkının *Meloidogyne incognita*'nın 2 nolu ırkı olduğunu belirtmişlerdir (Öztürk, 2012).

Biberlerde bazı genotiplerde nematoda karşı dayanıklılık özelliği bulunduğu tespit edilmiş ve günümüze kadar yapılan çalışmalarda, farklı orijinlerden gelen dokuz farklı nematoda dayanıklılık geni (N, Me1, Me2, Me3, Me4, Me5, Me7, Mech1, Mech2) tespit edilmiştir (Djian-Caporalino ve ark. 2007). Bunların bir kısmı ıslah çalışmalarında kullanılmaya başlanmış, bazılarının genetik haritalamaları yapılmış ve markır destekli ıslah programlarında kullanılabilecek markırları geliştirilmiştir. Türkiye'de de Me1 genini belirlemek için moleküler markır geliştirme çalışmaları yapılmaya başlanmış ve bazıları sonuçlandırılmıştır (Öztürk, 2012).

Mersin ilindeki biber alanlarından toplanan 57 adet saf biber hattı, $25\pm 2.0^{\circ}\text{C}$ 'de, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood populasyonu açısından testlenmiştir. Nematod inokulasyonundan 60 gün sonra ur skalasına bakılarak değerlendirme yapılmış, testlenen biber genotiplerinden 27 adedi 0-2, 30 adedi ise 3-5 ur skalası grubunda yer almıştır. Dayanıklı bulunan hatlar, farklı *M. incognita* populasyonlarına karşı üç defa daha tekrar test edilmiştir. Dayanıklı hatlar ile hassas olan yüksek verimli hatlar melezlenerek verim değerleri alınmış ve bunlardan dört tane melez kombinasyonunun en yüksek verim performansını gösterdiği saptanmıştır. (Özarslandan ve ark. 2014)

Biberde anter kültürü ile ilgili çalışmalar 1970'li yıllarda başlamış ve günümüzde de artan bir hızla sürdürülmektedir. Kırk yılı aşan bu süreçte, farklı ülkelerden araştırmacılar konu üzerinde çalışmışlar ve başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Çalışmalar daha çok biberde anter kültüründe genotipin, besin ortamının, büyümeyi düzenleyicilerin, besin ortamına ilave edilen farklı maddelerin (aktif kömür, gümüş nitrat, havuç ekstraktı vb.), farklı ön uygulamaların, donör bitkilerin yetiştirme koşullarının ve farklı anter alma zamanlarının etkileri üzerine yoğunlaşmıştır. Anılan araştırmalarda anter kültürü ile elde edilen haploid embriyo sayısı ve biber ıslahında anter kültürü yönteminin

kullanılabilirliği artırılmaya çalışılmıştır. Ülkemizde de gerek üniversitelerde gerekse araştırma kuruluşlarında yürütülen çalışmalarda başarılı sonuçlar alınmış ve elde edilen çıktılar dünya bilimi ile paylaşılmıştır.

Capsicum cinsinde anter kültürü ile ilgili çalışmalar Wang ve ark. (1973), George ve Narayanaswamy (1973), Saccardo ve Devreux (1974), Novak (1974) ve Harn ve ark. (1975) tarafından başlatılmış, sonrasında birçok araştırmacı bu konu üzerine yoğunlaşmışlardır. Daha sonra Dumas de Vaultx ve ark. (1981) biberde anter kültürünün başlangıç döneminde uygulanacak olan 35°C gibi yüksek sıcaklık uygulamalarının embriyo oluşumunu teşvik ettiğini bildirmişlerdir.

Abak (1983) Türkiye orijinli biberlerde haploid bitki elde etmek amacıyla doku kültürü yöntemlerinden anter kültürü tekniğini kullanmış ve farklı besin ortamı ve yöntemlerin etkisini araştırmıştır. Çalışmasında anter kültürü için uygun anter safhasını belirlemek, kültüre almadan önce bazı ön uygulamaların etkisini araştırmak, besin ortamına eklenen bazı maddelerin etkisini incelemek için denemeler yapmıştır. Besin ortamına ilave edilen 5 mg/l kinetin, 5 mg/l 2,4-D, 120 g/l sakkaroz ve 37.3 mg/l Na₂EDTA+27.8 mg/l FeSO₄7H₂O ilavesinin embriyo oluşumunu teşvik ettiği belirlenmiştir. En uygun anter safhasının tomurcukların 3.5-4 mm büyüklüğüne ulaştığı aşamanın olduğu tespit edilmiştir. Tomurcukların kültür öncesi 25°C ve 35°C’de tutulması uygulamalarından olumlu sonuçlar alınamamıştır.

Vegera ve Havranek (1985) biberde yapılan anter kültürü çalışmalarında tam ve yoğunluğu azaltılmış MS ortamının, aktif kömürün ve FeEDTA’nın etkisini araştırmışlardır. Aktif kömürün embriyo gelişimini ve kültür süresini uzattığını, FeEDTA’nın globüler embriyo oranını arttırdığını belirlemişlerdir.

Abak (1986) biberde dişi organ kültürlerinin kullanımıyla haploid embriyo oluşumunun oldukça düşük olduğunu, oranın genotiplere göre değişmekle beraber genellikle %0.05 olup, bazı genotiplerde % 0.1’e kadar çıktığını bildirmiştir. Anter kültürü yöntemiyle biberde haploid embriyo elde edilmesi oranının ise yüksek

olduğu, her 100 adet anterden ortalama 5-10 adet haploid embriyo elde edilebildiği rapor edilmiştir.

Morrison ve ark. (1986) biberde anter kültüründe farklı genotiplerin etkisini araştırmıştır. Araştırmacılar, haploid embriyo sayısının ve embriyoların bitkiye dönüşümlerinin genotiplere göre farklılık gösterdiğini bildirmişler, embriyoların çoğunun bitkiye dönüşemediğini ve anormal bitki oluşumlarının gerçekleştiğini ortaya koymuşlardır.

Bajaj (1990) genotipin, anter kültüründe kullanılacak olan donör bitkilerin yetiştirilme koşullarının, kültürden önce anter ve çiçek tomurcuğuna yapılan ön uygulamaların, mikrospor gelişme safhasının ve kültür sonrası inkübasyon koşulları gibi birçok faktörün anter kültüründe başarı oranını etkilediğini bildirmiştir.

Kristiansen ve Andersen (1993) biberde anter kültüründe kullanılacak olan donör bitkilerin yaşının, kültür esnasındaki sıcaklığın ve ışıktanmanın etkisini araştırmışlardır. Sıcaklık olarak 22°C, 26°C ve 30°C olmak üzere 3 farklı sıcaklık; ışık olarak 11, 15 ve 19 saat olmak üzere 3 farklı fotoperiyod kullanmışlardır. Araştırmacıların deneme sonuçları, sıcaklığın ve bitki yaşının embriyo oluşumunda etkili olduğunu, ancak fotoperiyodun etkili olmadığını göstermiştir.

Mityko ve ark. (1995) biberde 4 adet ıslah hattı, 7 adet çeşit ve bunların melezlerini anter kültürüne tepki açısından incelemişlerdir. İki adet çeşit dışında tüm çeşit, genotip ve melezlerden olumlu tepkiler alabilmişlerdir. Elde edilen bitkilerin kromozom sayısını belirleyebilmek için flow sitometri yöntemini kullanmışlar ve bitkilerin haploid ve spontan dihaploid olduklarını belirlemişlerdir. Bitkiye dönüşüm oranları genotiplere göre değişmiştir.

Matsubara ve ark. (1998) biberde anter kültüründe farklı anter alma dönemlerinin etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla 6 adet farklı genotip kullanmışlar ve Kasım ayından Temmuz ayına kadar olan periyodu incelemişlerdir. Deneme sonuçları, en başarılı sonuçların sıcaklığın 15-25°C arasında olduğu,

Eylül-Ekim aylarından alındığını göstermiştir. Denemeye alınan genotipler arasında da farklılıklar tespit edilmiştir.

Çömlekçioğlu ve ark. (1999a) Şanlıurfa ve Kahramanmaraş biber popülasyonlarında, anter kültüründe uygun besin ortamı ve kültür koşullarını belirlemek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Denemelerinde 4 farklı besin ortamı (I. Ortam: 5 mg/l kinetin, 5 mg/l 2,4-D, 120 g/l sakkaroz, 37.3 mg/l Na₂EDTA+27.8 mg/l FeSO₄7H₂O içeren Abak (1983) ortamı; II. Ortam: 0.01 mg/l 2,4-D, 0.01 mg/l kinetin, 30 g/l sakkaroz içeren Dumas de Vaulx ve ark. (1981) besin ortamı; III. Ortam: 4 mg/l kinetin, 1 mg/l NAA, 30 g/l sakkaroz, %0.25 aktif kömür içeren Li Chunling (1992) besin ortamı; IV. Ortam: 4 mg/l NAA, 0.1 mg/l BAP, 30 g/l sakkaroz içeren Li Chunling (1994) besin ortamı) ve 2 ön sıcaklık (4°C’de 2 gün bekletme ve 35°C’de 8 gün bekletme) uygulaması kullanmışlardır. 4 mg/l kinetin ve 1 mg/l NAA içeren Li Chunling (1992) ve 4 mg/l NAA ve 0.1 mg/l BAP içeren Li Chunling (1994) besin ortamlarından 35°C’de 8 gün bekletmeden çok sayıda embriyo elde edilebilmiştir.

Çömlekçioğlu ve ark. (1999b) yine Şanlıurfa ve Kahramanmaraş biber popülasyonlarında yaptıkları bir çalışmada, iki farklı besin ortamını (MS ortamına ilave edilen 4 mg/l NAA, 0.1 mg/l BAP, %0.25 aktif kömür, 30 g/l sakkaroz ve MS ortamına ilave edilen 4 mg/l NAA, 0.1 mg/l BAP, %0.25 aktif kömür, 30 g/l sakkaroz, 10 mg/l AgNO₃) test etmişler ve deneme sonucunda gümüş nitratın (AgNO₃) embriyo oluşumu artırdığını görmüşlerdir.

Terzioğlu ve ark. (2000) Kahramanmaraş biber popülasyonunda, anter kültüründe, farklı inkübasyon koşulları ve besin ortamlarının etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, besin ortamına aktif kömür ilavesinin embriyo oluşumu üzerine etkisini incelemişlerdir. 35°C sıcaklıkta 8 gün tutulduktan sonra 25°C sıcaklıkta 16/8 aydınlık/karanlık koşullarda tutulma ve 29°C sıcaklıkta sürekli aydınlık koşullarda bekletme olmak üzere iki inkübasyon koşulunu karşılaştıran araştırmacılar, denemeler sonunda 29°C’de ve sürekli ışıklandırılan koşullarda bekletilen anterlerden daha başarılı sonuçlar alındığını rapor etmişlerdir.

Biner ve ark. (2001) biberde anter kültüründe farklı sıcaklık ve ışık uygulamalarının etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada besin ortamı olarak 5 mg/l kinetin, 5 mg/l 2,4-D, %30 sakkaroz ve %1 aktif kömür ilave edilmiş MS besin ortamı kullanılmıştır. Anterler taç yaprağın çanak yaprağı biraz geçtiği tomurcuk aşamasından alınmıştır. Işık uygulamaları; 25°C’de 16 saat aydınlık 8 saat karanlık koşullarda bekletme, 25°C’de 1 hafta süre bekletme ve 35°C’de 1 hafta karanlık koşullarda bekletme şeklinde yapılmıştır. 25°C’de 1 hafta bekletme, diğer uygulamalara göre daha başarılı olmuştur. Düşük sıcaklık şoku uygulaması olarak 4°C’de 24 saat ve 48 saat bekletme uygulamaları yapılmıştır. Soğuk uygulaması denemelerinden de genotiplere göre değişmekle beraber olumlu yanıtlar alınmıştır.

Gemesne Juhasz ve ark. (2001) biberde anter kültürü ile elde edilen bitkilerin %70’inin haploid olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmalarında değişik sürelerde kolhisin uygulamalarının kromozom sayısı üzerine etkisini de incelemişlerdir. Flow sitometri yöntemi ile ploidi seviyeleri belirlenen haploid bitkiler, %0.04 kolhisin içeren besin ortama aktarılmış ve bitkiler bu ortamda 2, 4 ve 6 gün süre ile tutulmuşlardır. En yüksek katlanma oranı %75.8’lik oran ile 6 gün bekletme uygulamasından alınmıştır. Kolhisine tabi tutulmuş bitkilerdeki canlılık oranı %90’dan fazla olmuştur.

Ellialtıoğlu ve ark. (2001) Kahramanmaraş biber populasyonunda anter kültüründe farklı besin ortamlarının ve inkübasyon koşullarının etkisini araştırmışlardır. Besin ortamı olarak Dumas de Vault ve ark. (1981) tarafından tanımlanmış 5 mg/l 2,4-D, 5 mg/l kinetin ilave edilmiş C ortamı ve 4 mg/l NAA, 1 mg/l BA ilave edilmiş MS ortamı kullanılmıştır. Kontrol grubu dışında besin ortamlarına %1 aktif kömür yalnız olarak ve 200 ml/l havuç ekstraktı ile birlikte eklenmiştir. İlk inkübasyon uygulamasında petriler 35°C’de karanlıkta 8 gün süresince tutulmuş, sonrasında 25°C’ye alınmış ve 0.1 mg/l kinetin içeren R ortamına transfer edilmişlerdir. Diğer inkübasyon koşulu ise 29°C’de sürekli aydınlık koşullarda bekletme olmuştur. En fazla embriyo oluşumu 29°C’de sürekli

aydınlık koşullarda bekletme ve aktif kömür ile havuç ekstraktı içermeyen MS ortamında gözlemlenmiştir.

Çömlekçioğlu ve ark. (2001) besin ortamına eklenen gümüş nitratın (AgNO_3) haploid embriyo oluşumuna etkisini araştırmışlardır. Besin ortamı olarak 4 mg/l NAA, 0.1 mg/l BAP, %0.25 aktif kömür, 30 g/l sakkaroz içeren MS ve aynı ortama 10 mg/l AgNO_3 ilave edilmiş MS ortamı kullanılmıştır. Araştırmacılar AgNO_3 'ün belirgin bir şekilde haploid embriyo oluşumunu arttırdığını belirlemişlerdir. Şanlıurfa yerel popülasyonunda %51.6, Kahramanmaraş yerel popülasyonunda %35.7 oranında başarı sağlanmıştır. Ayrıca korollanın kalikse eşit olduğu veya bir miktar geçtiği tomurcuk aşamasının anter kültürü için en uygun aşama olduğu belirtilmiştir.

Ercan ve ark. (2001) biberde anter kültüründe besin ortamının etkisini araştırdıkları çalışmalarında, 5 adet biber çeşidi ve kinetin, BA, NAA, 2,4-D, aktif kömürün farklı dozlarını içeren 11 farklı besin ortamının etkisini araştırmışlardır. %1 aktif kömür, 5 mg/l 2,4-D, 5 mg/l kinetin içeren %1 aktif kömür, 4 mg/l NAA ve 0.1 mg/l BA içeren MS ortamlarından olumlu sonuçlar alınmıştır.

Çiner ve Tıpırdamaz (2002) biberde anter kültüründe besin ortamına eklenen aktif kömürün ve soğuk uygulamasının etkisini araştırmışlardır. Soğuk uygulamaları 4°C'de, 48 ve 96 saat bekletme şeklinde yapılmıştır. Besin ortamı olarak ise %0.8 agar, %3 sakkaroz, %0.25 aktif kömür, 4 mg/l NAA, 1 mg/l BA içeren ve 1 mg/l NAA, 4 mg/l BA içeren MS besin ortamları kullanılmıştır. En başarılı sonuçlar hiçbir ön uygulamaya tabi tutulmayan ve aktif kömürlü 4 mg/l NAA, 1 mg/l BA içeren ortamdan alınmıştır. Denemede Malatya bölgesinin yerel biber popülasyonu kullanılmıştır.

Sayılır ve Özzambak (2005) altı farklı biber çeşidinde yapılan anter kültürü çalışmalarında, anter kültürü için uygun tomurcuk büyüklüğü, besin ortamı ve soğuk uygulama süresini belirlemeye çalışmışlardır. 5-6 mm uzunluğundaki tomurcuk büyüklüğünün anter kültürü için en uygun tomurcuk büyüklüğü olduğunu bildirmişlerdir. Besin ortamı olarak 4 mg/l NAA, 0.1 mg/l BA, havuç

ekstraktı, aktif kömürün farklı dozlarını içeren MS ve B5 ortamları kullanılmış ve 6 farklı kombinasyon oluşturulmuştur. En başarılı sonuçlar 4 mg/l NAA, 0.1 mg/l BA içeren MS besin ortamından alınmıştır. Havuç ekstraktı ve aktif kömürden olumlu sonuçlar alınamamıştır. 4°C’de farklı sürelerde bekletmede ise 0 ve 25 saat bekletme uygulamalarından olumlu sonuçlar alınmıştır.

Ayar (2003) biberde Kekova ve Sera-Demre 8 çeşitlerinde anter kültüründe mevsimin ve anter kültüründe kullanılacak olan donör bitkilerin yaşının etkisini araştırmışlardır. Mevsim etkisi yaz ve kış, bitki yaşının etkisi ise aylık olarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda, yaz döneminde Kekova çeşidi %4.97’lik embriyo oluşum oranı ile Sera-Demre 8 çeşidinden (%1.49) daha iyi sonuç verirken, kış döneminde Sera-Demre 8 (%4.26) çeşidi, Kekova (%2.69) çeşidinden daha yüksek oranda embriyo oluşturduğu gözlemlenmiştir. Yaz döneminde Kekova çeşidinde çiçeklenmenin 2. ayı olan Haziran ayı (%7.3), Sera-Demre 8 çeşidinde ise çiçeklenmenin 3. ayı olan Ağustos ayı (%3.96) en yüksek embriyo oluşumunun sağlandığı ay olarak tespit edilmiştir. Kış döneminde hem Kekova (%7.70) hem de Sera-Demre 8 (%8.75) çeşidinde çiçeklenmenin 4. ayı olan Şubat ayında en yüksek embriyo oluşum oranları elde edilmiştir.

Büyükalaca ve ark. (2004) biberde anter kültüründe besin ortamına eklenen gümüş nitratin farklı dozlarını araştırmışlardır. Bu amaçla gümüş nitratin 5, 10, 15, ve 20 mg/l’lik dozlarını test etmişlerdir. Ayrıca donör bitkilerin açıkta ve serada yetiştirilmesinin anter kültürü üzerindeki etkilerini de araştırmışlardır. Deneme sonuçları donör bitkilerin serada yetiştirilmesinin embriyo verimini artırdığını ve gümüş nitratin 15 mg/l’lik dozunun biberde anter kültürü için en uygun doz olduğunu göstermiştir.

Rodeva ve ark. (2004) onaltı Bulgar biber genotipinin anter kültürüne tepkisini araştırmışlardır. Bu genotiplerin 6 adedini hatlar, 6 adedini çeşitler ve 4 adedini hibritler oluşturmuştur. Çalışılan genotiplerden iki adedi indirekt organogenesis, diğerleri direkt embriyogenesis göstermişlerdir.

Çağlar ve ark. (2004) Kahramanmaraş kırmızı biber popülasyonunda besin ortamlarının ve farklı sıcaklık ön uygulamalarının anter kültürü üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Ön uygulama olarak 4°C, 29°C ve 35°C'de 7 gün süresince karanlıkta bekletmenin 37 farklı kombinasyonunu denemişlerdir. Besin ortamı denemelerinde NAA, 2,4-D, kinetin ve BAP'ın farklı kombinasyonlarını denemeye almışlar ve besin ortamlarına 10 mg/l AgNO₃ ve %0.25 aktif kömür eklemişlerdir. MS+0.1mg/l BAP+4 mg/l NAA+% 0.25 aktif kömür+10 mg/l AgNO₃ besin ortamından kallus gelişimi olmadan direkt haploid embriyolar elde edilmiştir.

Koleva-Gudeva ve ark. (2007) biberde yaptıkları anter kültürü çalışmalarında, besin ortamının ve farklı inkübasyon koşullarının etkisini test etmişlerdir. Besin ortamı olarak MS, N, LS, NN ve CP ortamları kullanılmıştır. İnkübasyon denemeleri için: (a) 7°C'de karanlıkta 7 gün bekletme ve sonrasında 4 hafta için ışık koşullarına alma (12 saat fotoperiyod-25°C). Bu koşullarda LS ve NN ortamlarında anterler kallus üretmişlerdir. (b) 25°C'de 7 gün karanlıkta bekletme ve sonrasında 4 hafta için ışık koşullarına alma (12 saat fotoperiyod-25°C). Bu koşullarda MS ve N ortamlarında anterler kallus üretmişlerdir. (c) 35°C'de karanlık koşullarda 8 gün bekletme, sonrasında eksplantları 4 gün için ışık koşullarına CP ortamına alma (12 saat fotoperiyod-25°C) ve 4 hafta için R1 ortamına alma. Bu koşullarda embriyo elde edilebilmiştir.

Zhao ve ark. (2010) biberde karbon kaynağı ve bitki büyümeyi düzenleyicilerin anter kültürü üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Büyümeyi düzenleyicilerin kallus oluşumu teşvik etme sırası 2, 4-D > ZT > NAA > KT > 6-BA şeklinde; embriyo oluşumunu teşvik etme sırası ise 2, 4-D > NAA > ZT > KT > 6-BA şeklinde olmuştur. 2, 4-D, ZT, NAA ve KT kallus ve embriyo oluşumunu önemli derecede etkilemiştir. 1.0 mg/l 2, 4-D ve ZT, 0.5 mg/l NNA ve KT en iyi etkiyi göstermiştir. Kallus ve embriyo oluşumunda ZT'nin etkisi, KT ve 6-BA'dan daha olumlu olmuştur. 1.0 mg/l 2, 4-D + 1.0 mg/l ZT + 0.5 mg/l KT + 0.5 mg/l 6-BA en başarılı kombinasyon olmuştur. Karbon kaynağı olarak maltozun etkisi tüm

dozlarda sakkarozdan daha yüksek olmuştur. %3-6 arasındaki maltoz ve sakkaroz dozları kallus ve embriyo oluşumunu arttırmıştır. Ancak %6'nın üzerindeki dozlarda düşüşler gözlemlenmiştir.

Taşkın ve ark. (2011) biberde anter kültüründe farklı genotiplerin, farklı besin ortamlarının ve farklı anter alma dönemlerinin etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla 5 adet biber genotipi (düşük sıcaklığa tolerant A71, A269, A313; düşük sıcaklığa orta derecede tolerant A109 genotipi ve düşük sıcaklığa duyarlı A74 genotipi) ve 4 adet besin ortamı (I nolu besin ortamı: MS + 30 g/l sakkaroz + %0.25 aktif kömür + 15 mg/l gümüş nitrat + 4 mg/l NAA + 0.1 mg/l BAP, II nolu besin ortamı: MS + 30 g/l sakkaroz + %0.25 aktif kömür + 15 mg/l gümüş nitrat + 4 mg/l NAA + 0.5 mg/l BAP, III nolu besin ortamı: MS + 30 g/l sakkaroz + %0.25 aktif kömür + 15 mg/l gümüş nitrat + 4 mg/l NAA + 1 mg/l BAP, IV nolu besin ortamı: modifiye edilmiş MS + 30 g/l sakkaroz + %0.25 aktif kömür + 15 mg/l gümüş nitrat + 4 mg/l NAA + 0.1mg/l BAP) denenmiş ve deneme her ay yeniden kurulmuştur. Ayrıca kültüre alınan ortamlarda gelişmesini tamamlayamayan embriyolar 10 gün süresince 0.5 mg/l absisik asit içeren besin ortamına alınarak absisik asitin embriyo olgunlaşmasına etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Genotipler arasında en yüksek embriyo verimi, düşük sıcaklığa tolerant olarak belirlenmiş olan 269 nolu genotipten elde edilmiştir. Anter alma dönemlerinden ise en başarılı sonuçlar Nisan ve Mayıs aylarından elde edilmiştir. Besin ortamları arasında ise III ve IV nolu besin ortamlarından, diğer ortamlara göre daha fazla sayıda embriyo elde edilmiştir. Olgunlaşmamış embriyolara absisik asit uygulamasından olumlu sonuçlar alınamamıştır.

Ata (2011) biberde yaptığı anter kültürü çalışmasında, farklı genotiplerin (düşük sıcaklığa hassas 195 nolu genotip, tolerant 421 nolu genotip, yüksek sıcaklığa hassas 277 nolu genotip, tolerant İnan 3363 çeşidi), besin ortamına ilave edilen 2 farklı BAP dozunun ve farklı kültüre alma zamanlarının etkilerini araştırmıştır. Ekim, Şubat, Mayıs ve Ağustos aylarında anter kültürlerinin 0.,1., 2., 3., 4., 8. ve 14. günlerinde anterler alınarak fiksasyon çözeltisi ile sabitlenerek

DAPI ve asetokarmen boyama yöntemleriyle mikrospor gelişimleri incelenmiştir. Genotipler arasında en yüksek embriyo verimi İnan 3363 nolu genotipten, antere alma dönemlerinden ise en olumlu sonuçlar Nisan ve Ağustos aylarından elde edilmiştir. Besin ortamları arasında ise Kasım, Aralık, Ocak, Nisan ve Eylül aylarında MS + 30 g/l sakkaroz + %0.25 aktif kömür + 15 mg/l AgNO₃ + 4 mg/l NAA + 0.1mg/l BAP besin ortamı ve Ekim, Mart, Mayıs, Temmuz ve Ağustos aylarında MS + 30 g/l sakkaroz + %0.25 aktif kömür + 15 mg/l AgNO₃ + 4 mg/l NAA + 0.5 mg/l BAP besin ortamı daha başarılı bulunmuştur. Bitkiye dönüşüm açısından Nisan ayından daha olumlu sonuçlar alınmıştır.

Irikova ve ark. (2011) ondokuz adet Bulgaristan biber genotipinde (8 adet ıslah hattı, 7 adet çeşit, 4 adet melez), anter kültüründe besin ortamının etkisini araştırmışlardır. İndüksiyon ortamı olarak C ve Cm, rejenerasyon ortamı olarak R ve Rm besin ortamlarını kullanmışlar ve ilk besin ortamlarından rejenerasyon ortamına aktarmada 12 ve 40 gün aralıklarla aktarmanın etkisini denemişlerdir. 6 hat, 6 çeşit ve 3 melez genotipten kültürden 35-40 gün sonra direkt embriyolar oluşmuştur. Rejenere olan bitkiler 4 adet hat, 6 adet çeşit ve 1 adet hibritten elde edilmiştir. C ortamında 12 günden sonra aktarma, embriyo oluşumu için yeterli olmamış, 40 gün sonra aktarmada ise embriyo oluşumları gözlemlenmiştir. R ortamına aktarmadan sonra yüksek oranda (%50-100) bitkiye dönüşüm sağlanmıştır. Cm ortamında 12 gün bekletip aktarmadan sonra daha yüksek oranda embriyo oluşumu görülmüş, ancak bu embriyoların Rm ortamına aktarılmasından sonra, bitkiye dönüşüm sağlanamamıştır. Çalışma ile kullanılan her bir genotipin anter kültürü ihtiyaçlarının farklı olduğu belirlenmiştir.

Niklas-Nowak ve ark. (2012) biberde anter kültüründe, bireysel bitki reaksiyonunu araştırmışlardır. Bu amaçla hibrit *C. annuum* F₂ (ATZ1TG), türlerarası hibrit F₂ (*C. frutescens* x *C. chinense*), AT6 hattından elde edilen androgenik dihaploid hatları kullanmışlardır. Değerlendirmeler her bitki için bireysel olarak ve elde edilen embriyo yüzdelerinin kültüre alınan toplam anter sayısı ile karşılaştırılmasıyla yapılmıştır. En düşük androgenik tepki türler arası

melez hibrit F_2 'den elde edilmiş ve değerlendirilen 19 adet bitkinin sadece 5 tanesinden embriyo alınabilmiştir. Androgenesis etkinliği % 2'yi aşmamıştır. Hibrit *C. annum* F_2 'de değerlendirilen 20 bitkinin 19'undan % 0.5-16.5 oranla embriyo elde edilebilmiştir. AT6 dihaploid bitkilerde 20 adet bitkinin 13'ünden olumlu sonuçlar alınmış ve androgenesis etkinliği %3'ü aşmamıştır. Ploidi seviyelerinin belirlenmesi çalışmalarından elde edilen sonuçlar, kullanılan tüm genotiplerde hem haploid hem de diploid bitkilerin olduğunu göstermiştir.

Olszewska ve ark. (2013) Polonya'da 17 adet biber genotipinde, anter kültüründe 3 farklı inkübasyon zamanı (12, 14 ve 16 gün) ve CP ortamında besin ortamına eklenen 2 farklı kinetin dozunun (0.1 ve 0.3 mg/l) kombine etkisini araştırmışlardır. Bitkisel materyal olarak ıslah hatları; *C. annuumun* tür içi 4 adet hibriti, *C. frutescens*, *C. chinense*, *C. baccatum* var. *pendulum* türleri, *C. frutescens* x *C. chinense*'nin türler arası F1 hibritleri, *C. frutescens* x *C. baccatumun* türler arası F1 hibritleri ve hibritlerden elde edilen dihaploidler kullanılmıştır. Deneme sonuçları, daha önce tanımlanan standart protokolün (CP ortamında 12 gün inkübasyon, 0.1 mg/l kinetin içeren R1 ortamı) sonuçları ile karşılaştırma şeklinde değerlendirilmiştir. Kontrolde denenen geotiplerden sadece 3 adedinden tepki alınırken, denemelerle bu sayı 12'ye çıkarılmıştır. En başarılı uygulama olarak CP ortamında 16 gün bekletme ile 0.1 mg/l kinetin içeren R1 ortamının kombinasyonu olmuştur. 12 ve 14 gün bekletme uygulaması, 0.3 mg/l kinetin içeren ortamların kombinasyonu ile daha efektif olarak bulunmuştur.

3. MATERYAL VE METOD

Çalışma 2015-2016 yılları arasında, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü (Adana), Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü (Mersin) ve Troya Tohum Üretim Araştırma ve Pazarlama Ticaret A.Ş. (Antalya) araştırma alanları ve laboratuvarlarında yürütölmüştür. Araştırmanın anter kùltürü protokolu adaptasyon kısmı Çukurova Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde, haploid embriyo elde edilmesi ve bitki üretimi kısmı Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü'nde; başlangıç melezlemeleri, haploid bitkilerin büyütölüp geliştirilmesi, dış koşullara adaptasyonu, dihaploidizasyonu ve saf hatların üretimi kısımları ise Troya Tohum Üretim Araştırma ve Pazarlama Ticaret A.Ş.'de gerçekleştirilmiştir.

3.1. Materyal

Araştırmada bitkisel materyal olarak Troya Tohum Üretim Araştırma ve Pazarlama Ticaret A.Ş. firmasının ıslah programında yer alan, meyve kalitesi yüksek ve agronomik özellikleri iyi olan F3 aşamasında farklı ıslah hatları ile Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü biber gen havuzunda bulunan nematoda dayanıklı genitör hatlar kullanılmıştır. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü biber gen havuzundan, F6 kademesinde olan, N-269 (Sivri- N geni), N-8 (Sivri-N geni) ve N-6 (Dolma-N geni) hatları kullanılmıştır (Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3), ayrıca moleküler testleme sonuçları sunulmuştur. (Çizelge 3.1)



Şekil 3.1. N-269 genitör hat



Şekil 3.2. N-8 genitör hat



Şekil 3.3. N-6 genitör hat

Çizelge 3.1. Alata ve Metgen’de yapılan moleküler testleme sonuçları

Field nr.	Alata Field nr.	Alata marker test sonucu		Antalya(MASGEN) marker test sonucu		Remarks
		Me1	N	Me1	Me3/N/Me7	
P407	H8	rr	rr	rr	RR	10/1,3 cm, sivri, Acı, ince üç burun C6
P408	H9	rr	rr	rr	RR	Sg. ,20/1,8 cm, sivri, Acı, C5/4/1.5
P409	N50	RR	RR	rr	RR	Sg.12/1.5 & 5/1cm, turşuluk, Acı, C6
P410	N221	?	?	rr	Rr	Sivri, kısa 12/2.5, Acı, C8
P411	N269	RR	RR	-	-	sivri, 17/1.5 cm, Acı, C6
P412	N379	RR	RR	rr	RR	Sg., 15/2, sivri, Acı, C7, 3 type
P413	N390	RR	RR	rr	RR	3/1 cm, Süs biberi, Mor, Acı, C8
P414	398-A	RR	RR	rr	RR	12/1, turşuluk, Acı, C5
P1204	N-1	RR	rr	rr	rr	Dolma, 7/7, tatlı
	H6	RR	RR	?	?	Alata’dan tomurcuk alındı
P415	Ala-2002b	RR		rr		Sivri, 18/2,5, C6
P183	Ç1998	RR		rr		Çarlison, 17/3, C3

3.2. Metod

3.2.1. Başlangıç melezlemeleri

Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü'nden alınan genitör hatlar Troya Tohum Üretim Araştırma ve Pazarlama Ticaret A.ř. Ar-Ge seralarında yetiştirilmiş ve yetiştiricilik esnasında bitkilerin morfolojik özellikleri (bitki ve meyve özellikleri) incelenmiştir. Bu arada, genitör hatların nematot dayanıklılıkları da test edilmiştir. Dayanıklılık testleri, hizmet alımı şeklinde, moleküler yöntemlerin kullanımıyla Akdeniz Üniversitesi TEKNOKENT bünyesinde bulunan METGEN firması tarafından yapılmıştır. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü biber gen havuzundan seçilen en uygun üç dayanıklı genitör hat (iki adedi sivriye yakın tipte, bir adedi de dolmaya yakın özelliklerde) ile firmanın kendi materyali içinden belirlediği F3 kademesindeki 5 adet sivri biber, 5 adet dolma biber, 5 adet çarliston biber ve 5 adet kapa biber hattı melezlenmiştir. Bu yolla elde edilen melezlerden, her tipten 5'er adet F1 melez seçilmiştir. Elde edilen her bir melezden 10'ar bitki yetiştirilerek, anter kùltürü çalışmalarında kullanılmıştır. Yani, anter kùltürü çalışmalarında toplam 200 adet F1 melez, bitkisel materyal olarak kullanılmış ve çalışma için iki farklı besin ortamı denemeye alınmıştır. Ebeveyn belirleme ve melezleme çalışmaları Ocak 2015-Haziran 2015 tarihleri arasında yapılmıştır.

3.2.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi

Anter kùltürü optimizasyon çalışmaları, 2015 yılı Ocak-Haziran ayları arasında, melez bitkilerde haploid bitki üretimi çalışmaları ise 2015 Temmuz-2016 Mayıs ayları arasında yapılmıştır. Anter kùltüründe kullanılan donör bitkilerin tohum ekimleri, optimizasyon çalışmaları için 2015 Ocak ayında; melez bitkilerin tohum ekimleri ise 2015 Temmuz ayında yapılmıştır. Tohumlar, içinde fide harcı (2 hacim torf:1 hacim perlit) bulunan viyollere ekilmişlerdir. Fideler 6-7 gerçek yapraklı dönemde iken 110 x 50 x 50 cm aralıklarla plastik seraya, her melez genotipten 20 adet bitki olacak şekilde dikilmiştir (Çizelge 3.2). Dikim sırasında taban gübresi olarak 15:15:15 ticari kompoze gübre kullanılmıştır. Bitki gelişimi

boyunca gerekli bakım işlemleri yapılmıştır. Sera koşullarında yetiştirilen ve çiçeklenmeye başlayan bitkilerden (Şekil 3.4) anter kültürü için uygun safhadaki tomurcuklar sabah saatlerinde toplanarak, doku kültürü laboratuvarına getirilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışma programı

Melezlemelerin yapılması için tohum ekimi	1 Şubat 2015
Başlangıç melezlemelerin yapılması	15 Nisan-15 Mayıs-2015
Melezlenen tohumların ekimi	25 Temmuz 2015
Anter kültürü çalışması	29 Eylül-30 Ekim 2015
Anterlerin aktarılması	5 Kasım-5 Aralık 215
Embriyoların alınması	10 Ocak-15 Mart 2016
Haploid bitkilerin belirlenmesi ve katlanması	15-30 Nisan 2016
Bitkilerin teslim edilmesi	15 Mayıs 2016
Dayanıklılık Testlerinin yapılması	10 Ağustos 2016

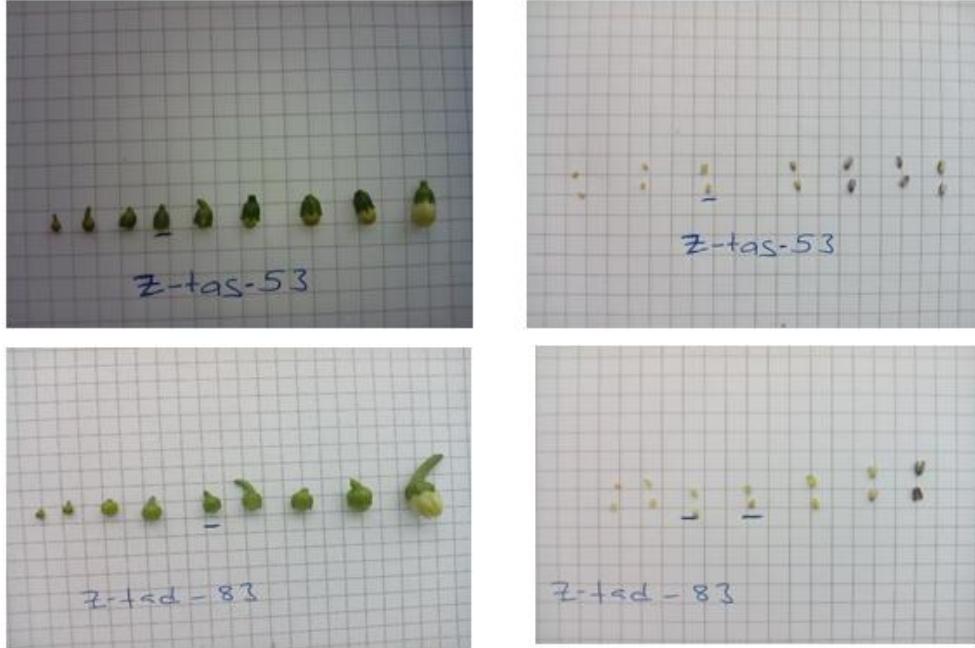


Şekil 3.4. Dikimleri yapılan biber bitkilerinin görünümü

3.2.3. Uygun Anter Safhasının Belirlenmesi

Kültüre alınan anterlerin bulunduğu gelişme safhası, haploid embriyo elde edilmesini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Biberde anter kültürü için en uygun aşama, mikrosporların tek çekirdekli aşamanın sonunda veya iki çekirdekli

aşamanın başında olduğu, yani I. mitoz bölünmesinin başladığı dönemdir. Daha önce biberde yapılmış birçok çalışmada uygun anter safhası morfolojik olarak belirlenmiştir. Bu safha; biber çiçek tomurcuklarında, çanak yaprak ve taç yaprak boylarının eşit olduğu veya taç yaprakların çanak yapraklardan biraz daha uzun olduğu, anterlerin yaklaşık yarı boyuna kadar antosiyan oluşumunun görüldüğü gelişme aşaması olarak tanımlanmıştır (Chambonnet, 1988; Abak, 1983). Bu nedenle, bu dönemden daha erken ya da daha geç gelişme safhasında olan tomurcukların kullanılmasından kaçınılmıştır. Çukurova Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yapılan birçok çalışmada da bu safha anter kültürü için en uygun safha olarak belirlenmiştir (Çömlekçioğlu ve ark. 1999, 2001; Büyükalaca ve ark. 2004; Taşkın ve ark. 2011; Ata, 2011). Bu nedenle, çalışmada bu aşamadaki tomurcuklar kullanılmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Denemede kullanılan genotiplerden, anter kültürüne alınacak tomurcuklarının ve anterlerinin görünümü

3.2.4. Besin Ortamları ve Besin Ortamlarının Hazırlanması

Araştırmada anter kültürü için temel besin ortamı olarak, MS (Murashige ve Skoog, 1962) (Çizelge 3.3) besin ortamı kullanılmıştır. Besin ortamları, karışımların hazırlanması ve ilave maddelerin eklenmesini takiben hacmin tamamlanması şeklinde hazırlanmıştır. Ortamların tümü, %0.8 oranında agar ile katılaştırılmıştır. Besin ortamının pH'sı, 1 N'lik HCl ve 1 N'lik KOH kullanımıyla 5.8'e ayarlanmıştır. Anterlerin kültüre alınması esnasında, besin ortamı çözündürülme amaçlı kaynatılmadan, 6 cm çapındaki petrilere birlikte, 121°C sıcaklık ve 1.2 kg/cm² basınç altındaki otoklavda 15 dakika süre ile sterilize edilmiş ve besin ortamları petrilere steril kabin içerisinde 15 ml/petri olacak şekilde dökülmüştür. Oluşan embriyoların çimlendirilmesinde ve geliştirilmesinde 2.5 cm çapında ve 25 cm uzunluğundaki deney tüpleri veya cam kavanozlar kullanılmış ve bunun için besin ortamları manyetik ısıtıcı-karıştırıcıda kaynatılma yoluyla çözüldükten sonra, 10 ml/petri olacak şekilde kavanoz veya tüplere dökülerek otoklavda steril hale getirilmiştir. Kullanılan MS besin ortamlarının içeriği aşağıda özetlenmiştir:

MS + 30 g/l sakkaroz + 2,5g/l aktif kömür + 15 mg/l AgNO₃ + 4 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP

Optimizasyon çalışmalarında, 2 nolu besin ortamı olması nedeniyle, çalışmada bu besin ortamı ile çalışmalara devam edilmiştir. Anterlerde oluşan embriyoların bitkiye dönüşümlerinin sağlanması için, büyümeyi düzenleyici içermeyen, sadece 30 g/l sakkaroz içeren MS besin ortamı kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. MS besin ortamının bileşimi (Murashige and Skoog, 1962)

Makro elementler	Miktarı (mg/l)
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
CaCl ₂ .2H ₂ O	440
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
Mikro Elementler	Miktarı (mg/l)
KI	0.83
H ₃ BO ₃	6.20
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ .5 H ₂ O	0.025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
Na ₂ EDTA	37.3
FeNaEDTA	36.70
Vitaminler	Miktarı (mg/l)
Myo-Inositol	100
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine-HCl	0.5

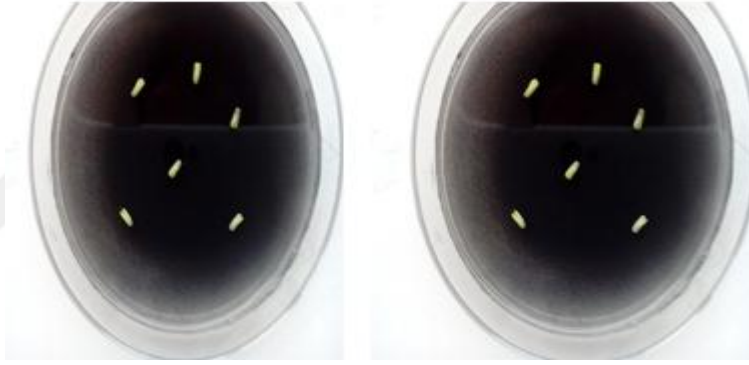
3.2.5. Çiçek Tomurcuklarının Dezenfeksiyonu

Sera koşullarında yetiştirilen ve çiçeklenmeye başlayan bitkilerden anter kültürü için uygun safhadaki tomurcuklar sabah saatlerinde toplanarak doku kültürü laboratuvarına getirilmiş ve steril kabin içerisinde 30 saniye süresince %70'lik etil alkol uygulamasına maruz bırakılmıştır. Sonrasında steril saf su ile durulanan tomurcuklar, yine steril kabin içerisinde 1-2 damla Tween-20 içeren

%15'lik sodyum hipoklorit içerisinde 10 dakika bekletilmiş ve tekrar saf su ile durulanmıştır.

3.2.6. Anterlerin Çıkarılması ve Besin Ortamına Ekilmesi

Dezenfeksiyon işlemimi takiben, tomurcuklar steril filtre kağıtları üzerinde pens ve bistüriler yardımıyla açılmış ve içerisinde bulunan anterler dikkatlice, zedelenmeden çıkarılmıştır. Anterler filamentlerinden ayrılarak, besin ortamlarına dorsal kısımları ortama temas edecek şekilde dikimleri yapılmıştır. Dikimden sonra petrilerin etrafı streç film ile sarılmış ve böylece dışardan herhangi bir bulaşıklık olması önlenmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Anterlerin petriye yerleştirilmesi

3.2.7. Kültür Sırasında Kullanılan Malzemeler

Anter kültürü çalışmaları esnasında, değişik aşamalarda değişik kültür kapları kullanılmıştır. Kültür esnasında kullanılan malzemelerin (besin ortamları, petri kapları, steril su şişeleri, pens-bistüriler, karton tabaklar, filtre kağıtları ve cam kavanozlar) sterilizasyonu 121°C sıcaklık ve 1.2 kg/cm² basınç altında 20 dakika süresince olacak şekilde otoklavda yapılmıştır. Otoklav işlemi tamamlanan malzemeler, steril kabine alınarak kültür aşamasına geçilmiştir. Hazırlanan besin ortamları 6 cm çapındaki plastik petrilere, her bir plastik petride 15 ml besin ortamı olacak şekilde doldurulmuştur. Embriyoların çimlendirilmesi aşamasında 6 cm

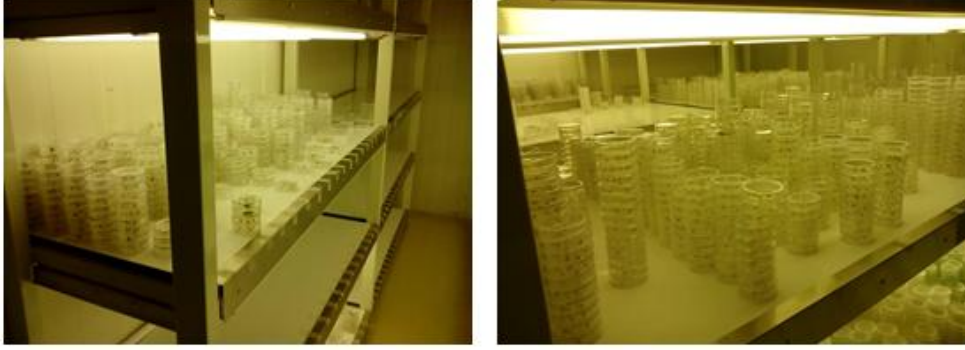
apında cam kavanozlar kullanılmıştır. Gelişmelerini tamamlayan bitkiler, içerisinde otoklavlanmış torf/perlit (2 hacim/1 hacim) bulunan viyollere aktarılmıştır.

3.2.8. Kùltür Koşulları ve Ön Uygulamalar

MS besin ortamına yerleştirilen anterler, inkübatörde +35°C’de ve karanlık koşullarda 2 gün ön uygulamaya tabi tutulmuşlardır. Ön uygulamayı takiben petriler 3600 lux gücündeki floresan lamba ile aydınlatılan, 16 saat aydınlık-8 saat karanlık ışıık rejiminde, 25°C sıcaklıktaki iklim odasında (şekil 3.7) bekletilmişlerdir. Deneme süresince tüm uygulamalarda kontaminasyon açısından kontroller yapılarak, bulaşma görölen kùltürler ortamdan uzaklaştırılmıştır. MS ortamına yerleştirilen tüm anterler, 35 gün sonra bir alt kùltüre (%50 MS + 30 g/l sakkaroz + 5,5 g/l agar) alınmışlardır (şekil 3.8).



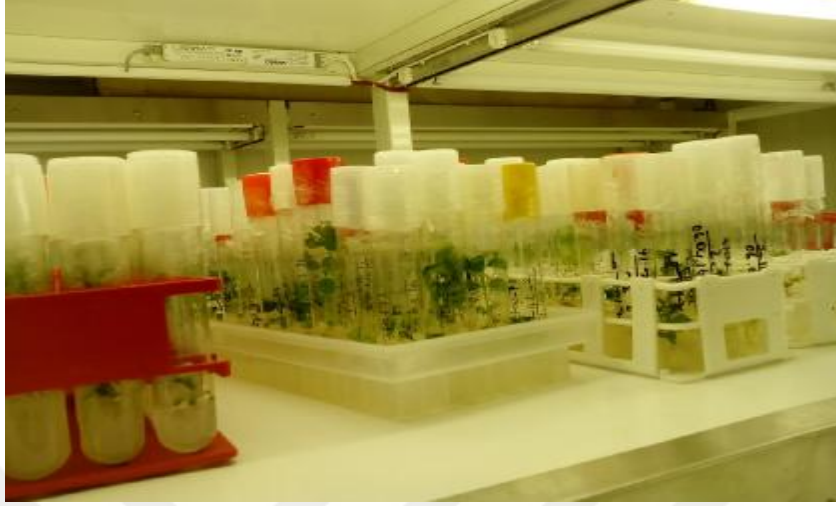
şekil 3.7. İklım odasının görünüümü



Şekil 3.8. Anterlerin 35 gün sonra alt kültüre alınması

3.2.9. Dış Ortama Aktarma

Köklenen bitkilerin (Şekil 3.9) dış ortama adaptasyonlarını sağlamak amacıyla, tüplerin kapaklarında bulunan streç film çıkarılarak 1 gün bekletilmiştir. Daha sonra kültür tüplerinin kapakları gevşetilerek 1 gün ve tamamen açılarak 1 gün bekletme yapılmıştır. Dış koşullara bir miktar adapte olan bitkiler, uzun pens yardımıyla tüplerden çıkarılarak musluk suyu altında kökleri besin ortamı kalıntılarından tamamen temizlenene kadar yıkanmıştır. Bitki köklerin fungusitli suya daldırılmasını takiben, bitkiler steril torf-perlit (2 hacim/1 hacim) karışımı bulunan viyollere dikilmiştir (Şekil 3.10). Dikimden sonra can suyu olarak fungusitli su verilmiştir. Dışarıya aktarımı tamamlanan bitkiler yaklaşık 1 hafta süre ile % 90-100 nem içeren plastik tüneller altında bekletilmiş (Şekil 3.11) ve bu esnada yapraklara su püskürtülmesi ve tünel içinin sürekli nemlendirilmesi şeklinde sulama yapılmıştır. Daha sonra tünellerin örtüleri kademeli olarak açılarak dış ortama alışmaları sağlanmıştır.



Şekil 3.9. Viyollere dikime hazır bitkilerden görünüm



Şekil 3.10. Steril kabinde dikimleri yapılan bitkilerden görünüm



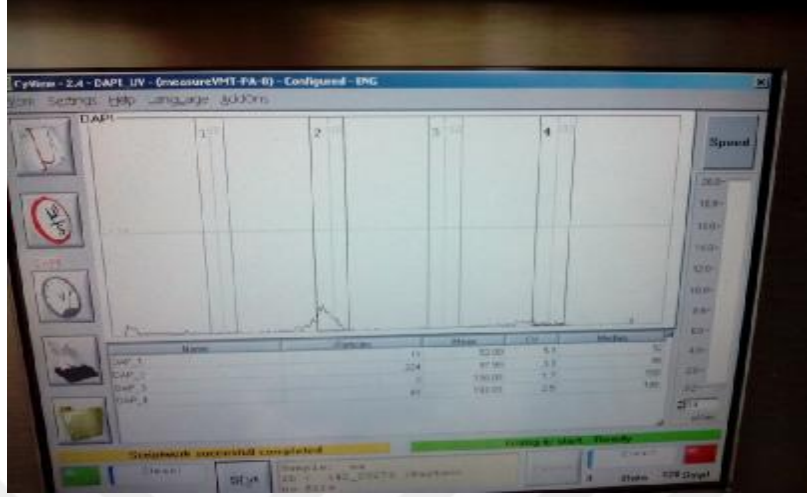
Şekil 3.11. Tünellere bırakılan viyollerden görünüm

3.2.10. Ploidy Belirleme

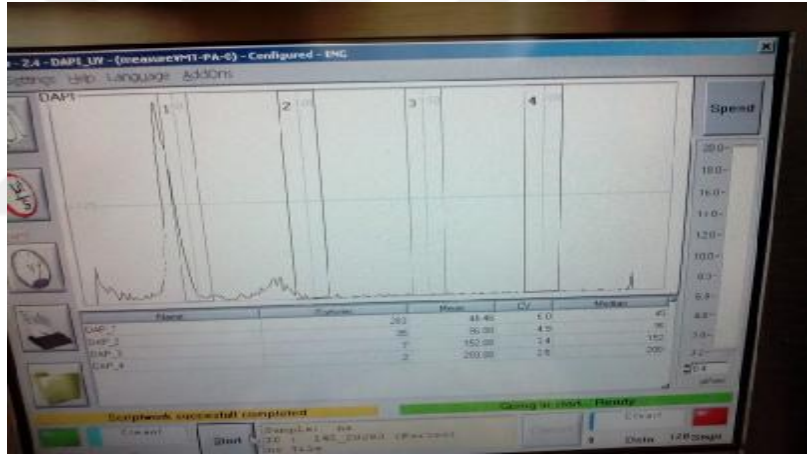
Anter kültüründen elde edilen bitkiler dış koşullara alıştırıldıktan sonra, yaprak örnekleri alınarak laboratuvara getirilmiş ve jilet yardımıyla çok küçük parçalara ayrılmıştır. Petri kutusunun içerisindeki bu yaprak örneğine 1.5 ml cystain uv plioy çözeltisi ilave edilmiştir. Elde edilen karışımdan 0.3 ml alınarak plastik eppendorf tüpe konulmuş (Şekil 3.12) ve tüp flow sitometri cihazına yerleştirilmiştir. Cihazdaki pik aralığının gösterdiği değerler doğrultusunda bitkinin kromozom yapısının haploid veya diploid olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.13, Şekil 3.14).



Şekil 3.12. Yaprakların ezilmesi ve plastik eppendorf tüplere konulması



Şekil 3.13. Flow-sitometri cihazında biber örneklerinin diploid görünümü



Şekil 3.14. Flow-sitometri cihazında biber örneklerinin haploid görünümü

3.2.11. Haploid Bitkilerin Katlanması

Anter kültürü yöntemiyle elde edilen bitkilerin kromozomlarının katlanarak bitkilerin dihaploid hale getirilmesi için kolhisin kullanılmıştır. Gelişen embriyoların tam bitkiye dönüşmesiyle elde edilen ve bunun ardından iklim odasında dış koşullara alıştırılan; sonrasında plastik viyollere aktarılacak ploidite tayinleri yapılan ve haploid oldukları belirlenen bitkilere kolhisin uygulaması yapılmıştır. Bu amaçla, haploid biber bitkileri budanmış ve tepe kısmında sadece 1-

3 adet yaprak kalacak hale getirilmiştir. Bunun ardından, %0.5 oranında kolhisin çözeltisi emdirilmiş pamuklar yaprak koltuklarındaki tomurcukların üzerine yerleştirilerek 2 saat süreyle bekletilmiştir (Şekil 3.15). Uygulamanın ardından gelişen sürgünlerden alınan örneklere tekrar flow sitometri cihazı kullanımı ile bakılarak katlama işleminin başarılı olup olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 3.15. Kolisin uygulanmasından bir görünüm

3.2.12. Tohum Üretimi ve Hat Oluşturma

Diploidleştirilmesi gerçekleştirilen bitkilerde en az 3-4 çiçekte kendileme yapılmış ve her bitkiden 2-3 adet arasında meyve elde edilmiştir. Olgunlaşan meyvelerden çıkartılan tohumlar hasat edilmiş ve paketlenip numaralandırılmıştır.

3.2.13. Dayanıklılık Testleri

Nematodların teşhis ve tanımlamalarında morfolojik karakterler ve morfometrik ölçümler kullanılmaktadır. Bazı durumlarda klasik teşhis yöntemleri ile güvenilir sonuçlar elde etmek zor olabilmektedir. Bu nedenle nematodların doğru ve hızlı tanımlanmasında moleküler markörlerden yararlanılmaktadır. Moleküler markörler DNA baz alınarak uygulanan yöntemlerdir.

Elde edilen dihaploid hatların tohumlarından 10'ar bitki yetiştirilmiş ve moleküler yöntemle nematod dayanıklılığı testi uygulanmıştır. Nematod dayanımı ile ilgili N ve Me genlerine bağlı Fazari ve ark. (2012)'nın bildirdiği SCAR_PM6a,

SCAR_PM6b, SCAR_ HM6, SCAR_PM54, ve SCAR_HM60 markırları; Me1, Me3, M7 ve N genlerinin varlığını ve homozigot/heterozigotluk durumlarını belirlemek için kullanılmıştır.

3.2.14. Verilerin Alınması ve Değerlendirilmesi

Ortamlara dikilen anterlerde; embriyo oluşturan anter sayısı, embriyo sayısı, bitkiye dönüşen embriyo sayısı ve gelişen bitki sayıları kaydedilmiştir.

Embriyo oluşturan anter oranı: Embriyo oluşturan anter sayısının kültüre dikilen tüm anterlere oranı

Embriyo oranı: Ortamlarda oluşan toplam embriyo sayısının kültüre dikilen tüm anterlere oranı.

Bitkiye dönüşen embriyo oranı: Bitkiye dönüşen embriyo sayısının tüm oluşan embriyolara oranı

Gelişen bitki oranı: Gelişen toplam bitki sayısının oluşan embriyolara oranı

Gelişen bitkilerin haploidy oranı: Haploid olan bitkilerin tüm gelişen bitkilere oranı

Verilerin değerlendirilmesinde JMP version 5.0.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC) istatistik rpogramı kullanılmış ve açı transformasyonu uygulanan veriler tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak analizlenmiştir. İncelenen parametreler arasındaki ilişkiler ise Pearson korelasyon katsayısına göre yapılmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA**4.1. Nematoda Dayanıklı Farklı Biber Tiplerinin Anter Kültürü Performansı****4.1.1. Nematoda Dayanıklı Dolma Tipi Genotiplerin Anter Kültürü Performansı**

Nematoda dayanıklı dolma tipi genotiplere ait embriyo oluşturan anter oranı, embriyo sayısı ve oranı, bitkiye dönüşen embriyo oranı, gelişen bitki oranı ve haploid bitki oranı Çizelge 4.1’de verilmiştir. Embriyo oluşturan anter oranı, embriyo oranı ve embriyo sayısı açısından Z-tad 87 nolu genotip %18,2 embriyo oluşturan anter oranı ve %23,0 embriyo oranı ve 33 adet embriyo sayısı ile en yüksek değeri almıştır. Z-tad 81 nolu genotip embriyo oluşturan anter oranı %15,8, embriyo oranı %18,4 ve embriyo sayısı 23 adet olarak ikinci sırada yer almıştır. Bununla birlikte Z-tad 87 ile Z-tad 81 nolu genotipler arasında embriyo oluşturan anter oranı, embriyo sayısı ve oranı bakımından istatistiki olarak bir fark bulunmamıştır. Embriyo oluşturan anter ve embriyo oranı açısından 3. sırada yer alan genotip %8,3 değerinde embriyo oluşturan anter oranı ve %12 embriyo oranı ile Z-tad 83 nolu genotip olmuş, Z-tad 75 nolu genotipdeki embriyo oluşturan anter oranı % 6,4 ve embriyo oranı ise % 8,4 olarak kaydedilmiştir. Z-tad 83 ile Z-tad 75 nolu genotipler arasında embriyo oluşturan anter oranı, embriyo sayısı ve embriyo oranı bakımından istatistiki olarak bir fark bulunmamıştır. Z-tad 86 nolu genotip ise; %4,6 embriyo oluşturan anter oranı ve %4,2 embriyo oranı ve 6,6 adet embriyo sayısı ile bu iki parametre açısından en düşük değerleri vermiştir. Z-tad 86 nolu genotip, Z-tad 74 nolu genotiple embriyo oluşturan anter oranı, embriyo oranı ve embriyo sayısı bakımından istatistiki bir fark bulunmamış ama Z-tad 83 nolu genotiple embriyo oranı ve embriyo sayısı bakımından istatistiki olarak farklı gruplarda yer almıştır. Genotipler arasında bitkiye dönüşen embriyo oranı, gelişen bitki oranı ve haploid bitki oranı bakımından istatistiki bir fark bulunmamıştır. Denenen dolma tipi genotiplerin tamamında embriyo ve bitki oluşumları

gözlemlenmiş ve haploid bitkiler elde edilmiştir. Denemelere ait görüntüler Şekil 4.1-Şekil 4.9’da sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Nematoda dayanıklı dolma tipi genotiplerden alınan anterlerde embriyo oluşum, bitkiye dönüşüm ve haploid bitki oranları

Tip	Genotipler	EOAO (%)	EO (%)	ES (adet)	BDEO (%)	GBO (%)	HBO (%)
Dolma	Z-tad 75	6.4 b (14.4)	8.4 cd (16.7)	12.6 bc	67.0 (55.7)	62.3 (53.0)	68.0 (55.5)
	Z-tad 81	15.8 a (23.2)	18.4 ab (25.2)	23.0 ab	57.0 (49.2)	55.6 (48.3)	70.3 (58.7)
	Z-tad 83	8.1 b (16.5)	11.9 bc (19.8)	19.6 b	40.3 (39.4)	32.3 (34.6)	53.3 (46.9)
	Z-tad 86	4.6 b (12.2)	4.2 d (11.8)	6.6 c	33.3 (34.7)	24.3 (24.7)	27.6 (26.6)
	Z-tad 87	18.2 a (25.1)	23.0 a (28.6)	33.0 a	54.0 (47.3)	37.0 (37.3)	59.3 (50.4)
	D	6.98**	7.6**	11.7**	Ö. D.	Ö. D.	Ö.D

EOAO: Embriyo oluşturan anter oranı, EO: Embriyo oranı, ES: Embriyo sayısı, BDEO: Bitkiye dönüşen embriyo oranı, GBO: Gelişen bitki oranı, HBO: Haploid bitki oranı

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): Ö.D.: Önemli Değil.. ***:p<0.001; **:p<0.01; *:p<0.05

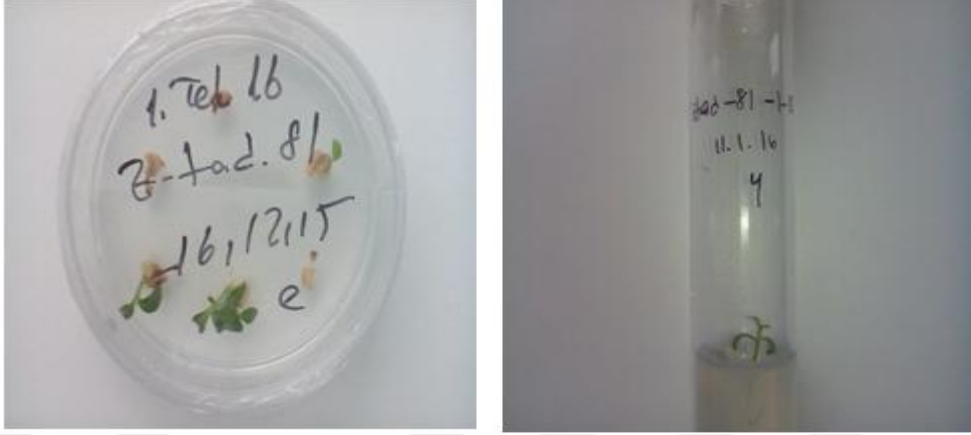
(3): Parantez içinde yüzde değerlerin transforme edilmiş hali gösterilmiştir



Şekil 4.1. Z-tad-87 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyo



Şekil 4.2. Z-tad-87 nolu genotipe ait gelişen bitkiler



Şekil 4.3. Z-tad-81 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyolar ve gelişen bitki



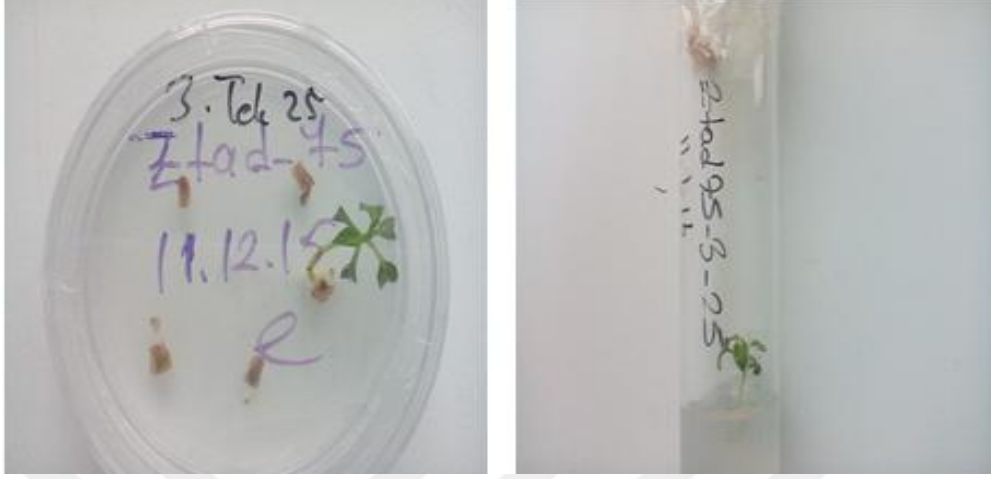
Şekil 4.4. Z-tad-81 nolu genotipe ait gelişen bitkiler



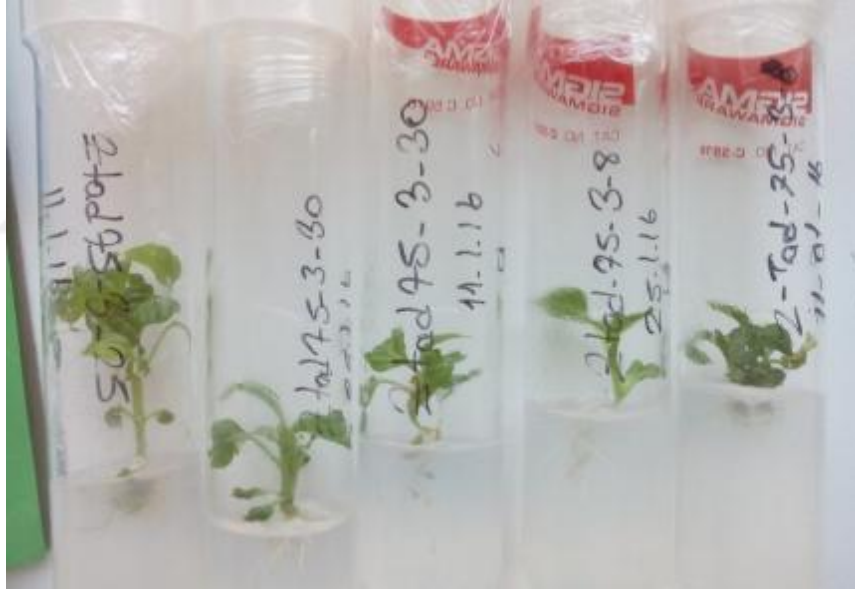
Şekil 4.5. Z-tad-83 nolu genotipe çimlenmiş embriyolar ve gelişen bitki



Şekil 4.6. Z-tad-83 nolu genotipe ait gelişen bitkiler



Şekil 4.7. Z-tad-75 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyo ve gelişen bitki



Şekil 4.8. Z-tad-75 nolu genotipe ait gelişen bitkiler



Şekil 4.9. Z-tad-86 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyo ve gelişen bitki

4.1.2. Nematoda Dayanıklı Sivri Tipi Genotiplerin Anter Kültürü Performansı

Nematoda dayanıklı sivri tipi genotiplere ait embriyo oluşturan anter oranı, embriyo sayısı ve oranı, bitkiye dönüşen embriyo oranı, gelişen bitki oranı ve haploid bitki oranı Çizelge 4.2’de verilmiştir. Z-tas 58 nolu genotip Embriyo oluşturan anter oranı (%6,4), embriyo oranı (%8,3) ve 11,0 adet embriyo sayısı ile en yüksek değeri almıştır. Z-tas 67 nolu genotip embriyo oluşturan anter oranı (%3,5), embriyo oranı (%4,2) ve 5,6 adet embriyo sayısı ile ikinci sırada yer almıştır. Z-tas 58 ile Z-tas 67 nolu genotipler arasında embriyo oluşturan anter oranı, embriyo oranı ve embriyo sayısı bakımından istatistiki bir fark bulunmamıştır. Embriyo oluşturan anter oranı, embriyo oranı ve embriyo sayısı bakımından 3. sırada yer alan %2 embriyo oluşturan anter oranı, % 2,2 embriyo oranı ve 3,3 embriyo sayısı ile Z-tas 53 nolu genotip yer almıştır. Z-tas 70 nolu genotip ise embriyo oluşturan anter oranı (%1,5), embriyo oranı (%1,5) ve 2,3 embriyo sayısı ile en düşük sonuçların elde edildiği ikinci genotip olmuştur. Z-tas 48 nolu genotipte ise embriyo oluşturan anter oranı (% 1), embriyo oranını (%1,2) embriyo sayısı (1,6 adet) bakımından en düşük değeri alan genotip olmuştur. Z-tas 67, Z-tas 53, Z-tas 70 ve Z-tas 48 nolu genotipler arasında embriyo oluşturan anter

oranı, embriyo oranı ve embriyo sayısı bakımından istatistiki bir fark bulunmamış ve aynı grup içerisinde yer almışlardır. Genotipler arasında bitkiye dönüşen embriyo oranı, gelişen bitki oranı ve haploid bitki oranı bakımından istatistiki bir fark bulunmamıştır. Denemede sivri tipi genotiplerin tamamından embriyo ve bitki oluşumları gözlenmiş ve haploid bitkiler elde edilmiştir. Denemelere ait görüntüler Şekil 4.10-Şekil 4.14’de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Nematoda dayanıklı sivri tipi genotiplerden alınan anterlerde embriyo oluşum, bitkiye dönüşüm ve haploid bitki oranları

Tip	Genotipler	EOAO (%)	EO (%)	ES (adet)	BDEO (%)	GBÖ (%)	HBO (%)
Sivri	Z-tas 48	1.0 c (3.3)	1.2 c (3.7)	1.6 b	33.3 (30.)	26.6 (21.1)	8.3 (10.0)
	Z-tas 53	2.0 bc (7.9)	2.2 bc (8.2)	3.3 b	44.3 (41.6)	44.3 (41.6)	33.3 (30.0)
	Z-tas 58	6.4 a (14.5)	8.3 a (16.4)	11.0 a	70.6 (62.3)	50.6 (45.0)	36.6 (31.9)
	Z-tas 67	3.5 ab (10.4)	4.2 ab (11.6)	5.6 ab	70.6 (57.2)	70.6 (57.2)	76.6 (66.1)
	Z-tas 70	1.5 bc (6.8)	1.5 bc (6.8)	2.3 b	66.3 (59.7)	66.3 (59.7)	50.0 (45.0)
	D	3.60*	4.03*	5.4*	Ö. D.	Ö. D.	Ö.D

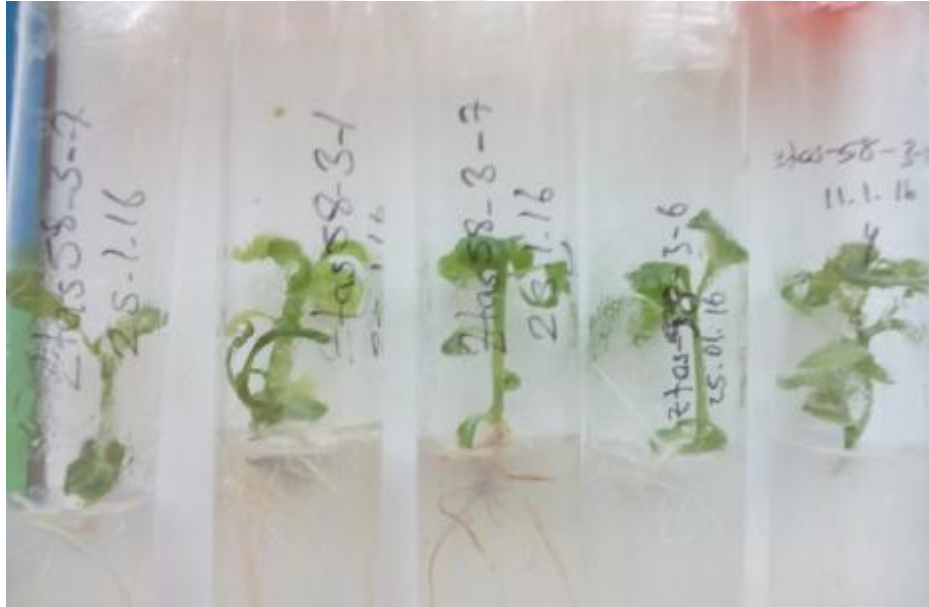
(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): Ö.D.: Önemli Değil.. ***:p<0.001; **:p<0.01; *:p<0.05

(3): Parantez içinde yüzde değerlerin transforme edilmiş hali gösterilmiştir



Şekil 4.10. Z-tas-58 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyolar ve gelişen bitki



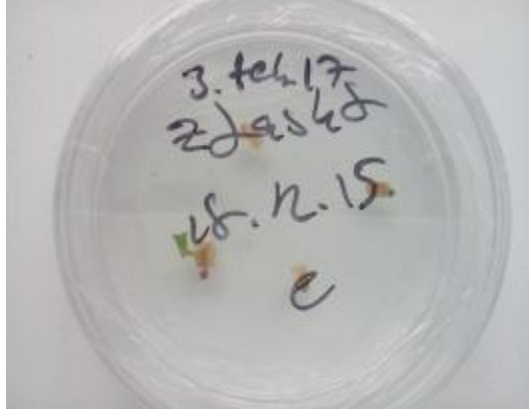
Şekil 4.11. Z-tad-58 nolu genotipe ait bitkiler



şekil 4.12. Z-tas-67 nolu genotipe ait şimlenmiş embriyo



şekil 4.13. Z-tas-67 nolu genotipe ait gelişen bitki



Şekil 4.14. Z-tas-48 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyo

4.1.3. Nematoda Dayanıklı Kopya Tipi Genotiplerin Anter Kültürü Performansı

Nematoda dayanıklı kopya tipi genotiplere ait embriyo oluşturan anter oranı, embriyo sayısı ve oranı, bitkiye dönüşen embriyo oranı, gelişen bitki oranı ve haploid bitki oranı Çizelge 4.3’de verilmiştir. T-tak 31 nolu genotip embriyo oluşturan anter oranı (%13), embriyo oranı (%16,6), gelişen bitki oranı (%55) ve 41 adet embriyo ile en yüksek değeri almıştır. T-tak 38 nolu genotip ise embriyo oluşturan anter oranı (%8,1), embriyo oranı (%9,9) , gelişen bitki oranı (%54,6) ve 21,6 adet embriyo sayısı ile 2. sırada yer almıştır. T-tak 35 nolu genotip ise embriyo oluşturan anter oranı (%6,2) ve embriyo oranı (%8,2) ile 3. sırada yer alırken gelişen bitki oranı (%41) ve embriyo sayısı ile 4. sırada yer almıştır. T-tak 40 nolu genotip ise embriyo oluşturan anter oranı (%5,4), embriyo oranı (%7,9) ile 4. sırada ve gelişen bitki oranı (%44) ve embriyo sayısı 17,6 adet ile 3. sırada yer almıştır. T-tak 28 nolu genotip ise embriyo oluşturan anter oranı (%4,2), embriyo oranı (%5,6) ve gelişen bitki oranı (%34) ve 12,6 adet embriyo ile en düşük değeri almıştır. T-tak 31 nolu genotip kopya tipi genotiplerle karşılaştırıldığında gelişen bitki oranı hariç embriyo oluşturan anter oranı, embriyo oranı ve embriyo sayısı bakımından diğer genotiplerle istatistiki olarak bir fark bulunmuştur. T-tak 35, T-tak 40 ve T-tak 38 nolu genotipler arasında embriyo oluşturan anter oranı, embriyo

oranı, gelişen bitki oranları ve embriyo sayısı bakımından istatistiki bir fark bulunmamış ve aynı grupta yer almışlardır. T-tak 31 ve T-tak 38 genotiplerle T-tak 28 nolu genotip arasında istatistiki fark bulunmuştur. T-tak 38 nolu genotip embriyo oluşturan anter oranı açısından diğer genotiplerle istatistiki olarak farklı gruplarda yer almıştır. Bununla birlikte embriyo oranı bakımından T-tak 35 ve T-tak 40 nolu genotiplerle arasında fark bulunmamıştır. Embriyo sayısı açısından T-tak 31 nolu genotip hariç diğer genotipler arasında istatistiki bir fark bulunmamıştır. Genotipler arasında bitkiye dönüşen embriyo oranı ve gelişen bitki oranları bakımından bir farklılık bulunmamıştır. Denemede kopya tipi genotiplerin tamamından embriyo ve bitki oluşumları gözlenmiş ve haploid bitkiler elde edilmiştir. Denemelere ait görüntüler Şekil 4.15-Şekil 4.20’de sunulmuştur.

Çizelge 4.3. Nematoda dayanıklı kopya tipi genotiplerden alınan anterlerde embriyo oluşum, bitkiye dönüşüm ve haploid bitki oranları

Tip	Genotipler	EOAO (%)	EO (%)	ES (adet)	BDEO (%)	GBÖ (%)	HBO (%)
Kopya	T-tak 28	4.2 d (11.8)	5.6 c (13,6)	12.6 b	37.0 (37.3)	34.0 b (35.6)	83.3 (70.0)
	T-tak 31	13.0 a (21.1)	16.5 a (24.0)	41.3 a	60.0 (50.8)	55.0 a (47.9)	80.3 (63.7)
	T-tak 35	6.2 c (14,4)	8.2 bc (16.5)	15.3 b	45.3 (42.2)	41.0 ab (39.7)	90.0 (75.0)
	T-tak 38	8.1 b (16.5)	9.9 b (18.3)	21.6 b	60.3 (51.0)	54.6 a (47.6)	93.0 (77.4)
	T-tak 40	5.4 cd (13.4)	7.9 bc (16.3)	17.6 b	56.0 (48.5)	44.0 ab (41.5)	69.3 (56.3)
	D	1.77***	3.29***	12.9***	Ö. D.	15.1*	Ö.D

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): Ö.D.: Önemli Değil.. ***:p<0.001; **:p<0.01; *:p<0.05

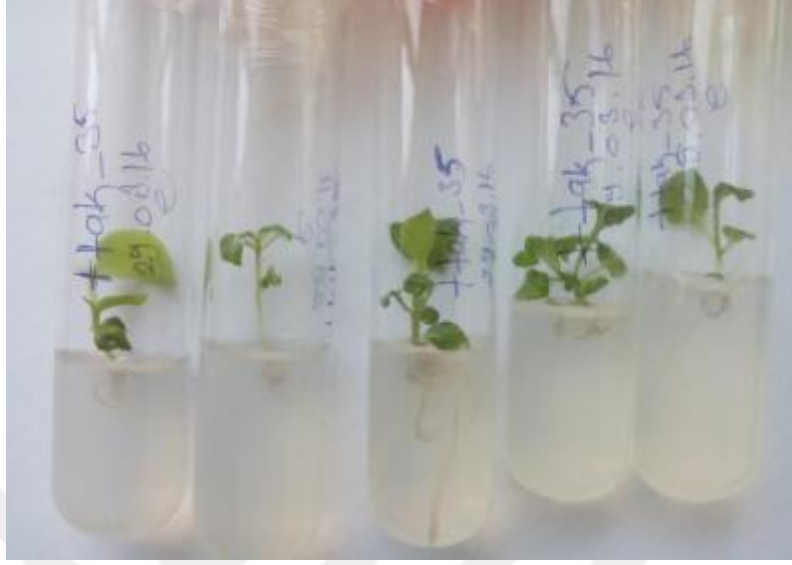
(3): Parantez içinde yüzde değerlerin transforme edilmiş hali gösterilmiştir



şekil 4.15. T-tak-38 nolu genotipe ait şimlenmiş embriyolar



şekil 4.16. T-tak-38 nolu genotipe ait gelişen bitkiler



şekil 4.17. T-tak-35 nolu genotipe ait gelişen bitkiler



şekil 4.18. T-tak-40 nolu genotipe ait çımlenmiş embriyolar



şekil 4.19. T-tak-40 nolu genotipe ait gelişen bitkiler



şekil 4.20. T-tak-28 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyolar

4.1.4. Nematoda Dayanıklı Çarliston Tipi Genotiplerin Anter Kültürü Performansı

Nematoda dayanıklı çarliston tipi genotiplere ait embriyo oluşturan anter oranı, embriyo sayısı ve oranı, bitkiye dönüşen embriyo oranı, gelişen bitki oranı ve haploid bitki oranı Çizelge 4.4’de verilmiştir. T-taç 22 nolu genotip embriyo oluşturan anter oranı (%10,2), embriyo sayısı (30,6 adet), embriyo oranı (%14,4), bitkiye dönüşen embriyo oranı (%70,3) ve gelişen bitki oranı (%67,3) ile en yüksek değerleri almıştır. Embriyo oranı %8,8, bitkiye dönüşen embriyo oranı %61,6 ve embriyo sayısı 14,6 ile 2. sırada olan genotip T-taç 25 nolu genotip olmuştur. T-taç 3 nolu genotip bitkiye dönüşen embriyo oranı(%60,6) ve embriyo sayısı (%14,3) ile 3.sırada yer almıştır. T-taç 8 ise embriyo oluşturan anter oranı % 8,1 ile 2. sırada yer almış, T-taç 3 %5,2 embriyo oluşturan anter oranı ile 3.sırada ve embriyo oluşturan anter oranı %4,5 ile T-taç 25 nolu genotip 4. sırada yer almıştır. Embriyo oluşturan anter oranı %1,2, embriyo sayısı 4,6 adet ve embriyo oranı %1,6, bitkiye dönüşen embriyo oranı %41,6, gelişen bitki oranı %28,6 ile en düşük değerleri almıştır. T-taç 22 nolu genotip ile diğer genotipler arasında embriyo oluşturan anter oranı, embriyo oranı ve anter sayısı bakımından aralarında istatistiki bir fark bulunmuştur. Bitkiye dönüşen embriyo oranı ve gelişen bitki oranı bakımından T-taç 3, T-taç 25 nolu genotipler arasında istatistiki olarak bir fark bulunmamıştır. T-taç 8 nolu genotip embriyo oluşturan anter oranı bakımından T-taç 25 ve T-taç 3 ile istatistiki bir fark bulunmuş ve T-taç 25 ve T-taç 3 embriyo oluşturan anter oranı bakımından aynı grupta yer almışlardır. T-taç 22, T-taç 3 ve T-taç 25 nolu genotipler bitkiye dönüşen embriyo oranı bakımından istatistiki bir fark bulunmamış ancak gelişen bitki oranı T-taç 22 ile T-taç 3 nolu genotipler aynı grupta yer almıştır. T-taç 8 ve diğer genotiplerle istatistiki bir fark bulunmuş ve farklı grupta yer almışlardır. Tüm genotipler arasında haploid bitki oranında istatistiki bir fark bulunmamıştır. Denemede çarliston tipi genotiplerin de tamamından embriyo ve bitki oluşumları gözlenmiş ve haploid bitkiler elde edilmiştir. Denemelere ait görüntüler Şekil 4.21-Şekil 4.28’de sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Nematoda dayanıklı çarliston tipi genotiplerden alınan anterlerde embriyo oluşum, bitkiye dönüşüm ve haploid bitki oranları

Tip	Genotipler	EOAO (%)	EO (%)	ES (adet)	BDEO (%)	GBO (%)	HBO (%)
Çarliston	T-taç 3	5.2 c (13.1)	7.5 b (15.8)	14.3 b	60.6 ab (51.1)	59.3 ab (50.3)	71.3 (57.6)
	T-taç 8	6.4 b (14.6)	8.1 b (16.5)	10.6 b	50.0 bc (45.0)	50.0 c (45.0)	81.0 (64.1)
	T-taç 12	1.2 d (6.4)	1.6 c (7.18)	4.6 c	41.6 c (40.1)	28.6 d (32.3)	66.6 (60.0)
	T-taç 22	10.2 a (18.6)	14.4 a (22.3)	30.6 a	70.3 a (57.0)	67.3 a (55.2)	80.6 (60.1)
	T-taç 25	4.5 c (12.3)	8.8 b (17.2)	14.6 b	61.6 a (51.7)	52.6bc (46.5)	77.6 (61.9)
	D	1.35***	2.01***	5.69***	10.89**	8.78***	Ö.D

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): Ö.D.: Önemli Değil.. ***:p<0.001; **:p<0.01; *:p<0.05

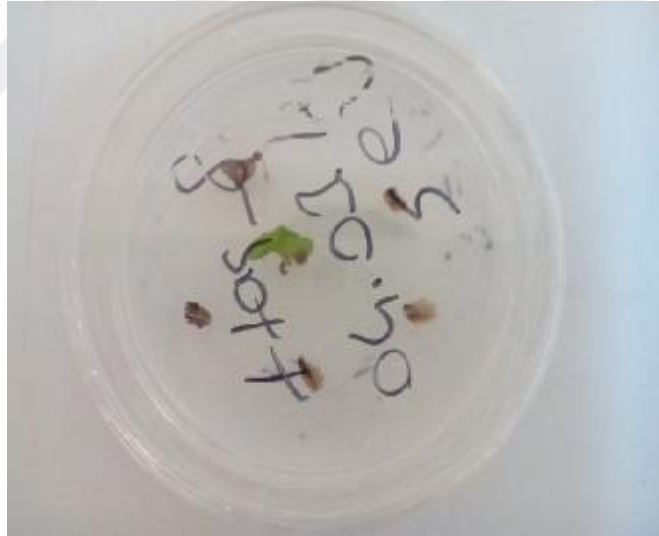
(3): Parantez içinde yüzde değerlerin transforme edilmiş hali gösterilmiştir



Şekil 4.21. T-taç-22 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyolar



şekil 4.22. T-ta-22 nolu genotipe ait gelişen bitkiler



şekil 4.23. T-ta-8 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyolar



şekil 4.24. T-taç-8 nolu genotipe ait gelişen bitki



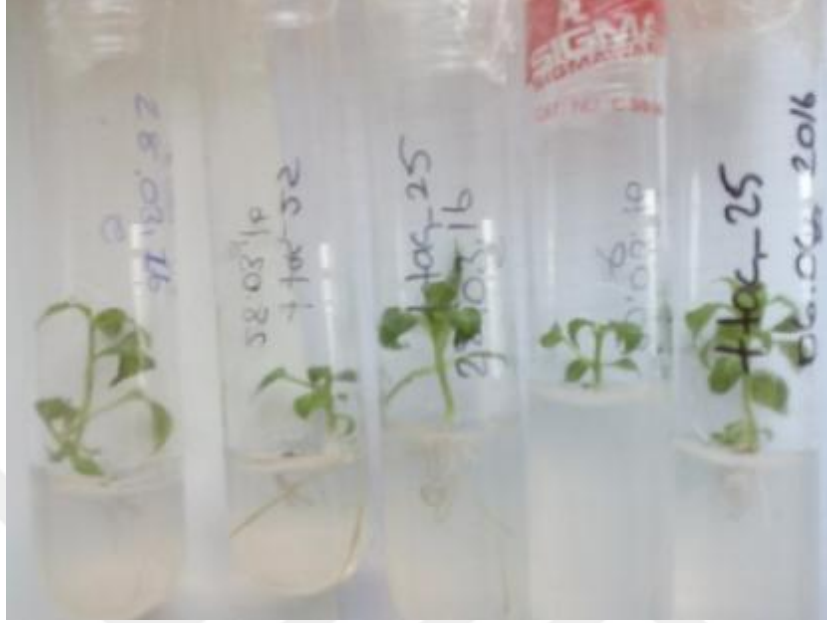
şekil 4.25. T-taç-3 nolu genotipe ait şimlenmiş embriyolar



şekil 4.26. T-7ac-3 nolu genotipe ait gelişen bitkiler



şekil 4.27. T-7ac-25 nolu genotipe ait çimlenmiş embriyo



Şekil 4.28. T-taç-25 nolu genotipe ait gelişen bitkiler

4.1.5. Farklı Biber Tiplerinin Anter Kültürü Performanslarının Kendi Aralarında Karşılaştırılması

Farklı biber tiplerinin embriyo oluşturan anter oranı, embriyo sayısı ve oranı, bitkiye dönüşen embriyo oranı, gelişen bitki oranı ve haploid bitki oranı açısından kendi aralarında karşılaştırmaları Çizelge 4,5’de sunulmuştur. Embriyo oluşturan anter oranı (%10,6) ve embriyo oranı (%13,2) açısından en yüksek değerler dolma tipinden elde edilmiş ve bunu %7,4e mbriyo oluşturan anter oranı ve %9,6 embriyo oranı ile kapyra tipi biberler takip etmiştir. Çarliston tipi biberler ise embriyo oluşturan anter oranı (%5,5) ve embriyo oranı (%8,1) ile 3. sırada yer almıştır. Çarliston ile kapyra arasında istatistiki bir fark bulunmamış ama dolma ile çarliston arasında istatistiki bir fark bulunmuştur. Embriyo oluşturan anter oranı (%2,9) ve embriyo oranı (%3,5) ile sivri tipi en düşük değeri almış diğer tiplerle istatistiki olarak farklı gruplarda yer almıştır. Bitkiye dönüşen embriyo oranında ve gelişen bitki oranında ise tüm tipler arasında istatistiki bir fark bulunmamıştır. Haploid bitki oranında ise en yüksek değer %83,4 ile kapyra biber tipinden elde edilmiş ve

bu tipi %77,4 ile çarliston tipi takip etmiş ve kapy a ile çarliston arasında istatistiki bir fark bulunmamıştır. Haploid bitki oranında %55,7 ile dolma, %41 ile de sivri biber takip etmiş ve istatistiki bir fark bulunmamıştır. Embriyo sayısı açısından kaydedilen değerler en yüksekten en düşüğe şu şekilde sıralanmıştır: 65 adet embriyo ile kapy a, 57 adet embriyo ile dolma, 45 adet embriyo ile çarliston ve 14,4 embriyo ile sivri tipi kaydedilmiştir. Embriyo sayıları bakımından dolma, kapy a ve çarliston tipleri arasında istatistiki bakımından bir fark bulunmazken, sivri tipi biberlerle karşılaştırıldığında ise istatistiki bakımından fark bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Nematoda dayanıklı dolma, sivri, kapy a ve çarliston tipi genotiplerden alınan anterlerde ortalama embriyo oluşum, bitkiye dönüşüm ve haploid bitki oranları

Genotipler	EOAO (%)	EO (%)	ES (adet)	BDEO (%)	GBO (%)	HBO (%)
Dolma	10.6 a (18.3)	13.2 a (20.4)	19.0 a	50.3 (45.3)	42.3 (39.6)	55.7 b (47.68)
Kapy a	7.4 ab (15.4)	9.6 ab (17.7)	21.7 a	51.7 (46.0)	45.7 (42.5)	83.2 a (68.5)
Çarliston	5.5 b (13.0)	8.1 b (15.8)	15.0 a	56.8 (49.0)	51.6 (44.9)	75.4 a (61.6)
Sivri	2.9 c (8.6)	3.5 c (9.3)	4.8 b	57.0 (50.2)	51.7 (44.9)	41.0 b (36.6)
D	3.0***	3.8***	6.9***	Ö. D.	Ö. D.	18.1***

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): Ö.D.: Önemli Değil.. ***:p<0.001; **:p<0.01; *:p<0.05

(3): Parantez içinde yüzde değerlerin transforme edilmiş hali gösterilmiştir.

4.1.6. Denemelerde Kullanılan Genotiplerin Anter Kültürü Performanslarının Kendi Aralarında Karşılaştırılması

Nematoda dayanıklı tüm biber tiplerindeki genotiplere ait embriyo oluşturan anter oranı, embriyo sayısı ve oranı, bitkiye dönüşen embriyo oranı, gelişen bitki oranı ve haploid bitki oranı Çizelge 4,7’de verilmiştir. Embriyo

oluşturan anter ve embriyo oranı açısından Z-tad 87 nolu genotip %18,2 embriyo oluşturan anter oranı ve %23,0 embriyo oranı ile en yüksek değeri alırken, Z-tad 81 nolu genotip embriyo oluşturan anter (%15,8) ve embriyo oranında (%18,4) ikinci sırada yer almıştır. Embriyo oluşturan anter oranı (%13), embriyo oranı (%16,5) ile 3. sırada T-tak 31 nolu genotipten alınmıştır. Z-tad 87, Z-tad 81 ve T-tak 31 genotipleri arasında embriyo oluşturan anter sayısı (EOAO) ve embriyo sayısı (EO) bakımından istatistiki olarak bir farklılık bulunmamış ve hepsi aynı grupta yer almıştır. 4. sırada yer alan genotip %10,2 değerinde embriyo oluşturan anter oranı ve %14,4 embriyo oranı T-taç 22 nolu genotip olmuş ve bunu %8,1 değerinde embriyo oluşturan anter oranı ve %11,9 embriyo oranı ile Z-tad 83 nolu genotip takip etmiştir. T-taç 22 ile Z-tad 83 nolu genotipler arasında istatistiki bakımından bir farklılık bulunmamıştır. %6,4 embriyo oluşturan anter oranı ile Z-tas 58, T-taç 8 ve Z-tad 75 nolu genotipler aynı değeri almış ve bunları %6,2 ile T-tak 35 nolu genotip takip etmiştir. Embriyo oluşturan anter oranı bakımından Z-tad 83, T-tak 35, Z-tas 58, T-taç 8 ve Z-tad 75 nolu genotipler arasında istatistiki bir farklılık bulunmamıştır. Embriyo oranı bakımından Z-tad 83 ile T-taç 22 arasında istatistiki olarak bir farklılık yoktur. Z-tad 83 ve Z-tas 58 nolu genotipler ile Z-tad 75 ve T-tak 35 genotipleri arasında istatistiki belirlenmiş ve bu genotipler farklı gruplara yerleşmiştir. Genotiplerden embriyo oluşturan anter oranı (% 1,0) ve embriyo oranı (% 1,2) ile Z-tas 48, embriyo oluşturan anter oranı (% 1,5) ve embriyo oranı (% 1,5) ile Z-tas 70 ve embriyo oluşturan anter oranı (% 1,2) ve embriyo oranı (% 1,6) ile T-taç 12 nolu genotipler en düşük değeri almışlardır.

Embriyo sayıları bakımından ele alındığında ise 41,3 adet ile T-tak 31 nolu genotip en yüksek değeri almış ve diğer genotiplerle kıyaslandığında istatistiki olarak bir farklılık bulunmuştur. Embriyo sayısı 33 ile Z-tad 87 ve 30,6 ile T-taç 22 nolu genotipler ikinci ve üçüncü sırayı paylaşmışlardır ve istatistiki olarak aralarında bir farklılık bulunmamıştır. Embriyo sayısı 23 adet olan Z-tad 81 nolu genotip 4. sırayı alırken bunu 21,6 adet ile T-tak 38, 19,6 ile Z-tad 83 ve 17,6 ile T-tak 40 nolu genotip takip etmiştir ve genotipler arasında istatistiki olarak bir

farklılık bulunmamıştır. Embriyo sayısı 4,6 ile de T-taç 12, 2,3 ile Z-tas 70 ve 1,6 adet Z-tas 48 nolu genotipler en son sıraları almışlardır ve istatistiki olarak aralarında bir fark bulunmamıştır.

Genotipler arasında bitkiye dönüşen embriyo oranı ve gelişen bitki oranı arasında istatistiki olarak bir fark yoktur.

Genotipler arasında haploid bitki oranı ise %93 ile T-tak 38, %90 ile T-tak 35 ve %83,3 ile T-tak 28 nolu genotipler sırasıyla 1., 2. ve 3. sırayı paylaşmışlardır. Bu genotipleri %81 ile T-taç 8, %80,6 ile T-taç 22, %80,3 ile T-tak 31, %77,6 ile T-taç 25 ve %76,6 ile Z-tas 67 nolu genotipler takip etmişlerdir ve bu genotipler arasında istatistiki olarak bir farklılık yoktur. %33,3 ile Z-tas 53, %27,6 ile Z-tad 86 ve %8,3 ile Z-tas 48 nolu genotipler en son sırayı almışlardır ve aralarında istatistiki olarak bir farklılık bulunmamıştır.

Çizelge 4.6. Nematoda dayanıklı genotiplerden alınan anterlerde embriyo oluşum, bitkiye dönüşüm ve haploid bitki oranları

Genotipler	EOAO (%)	EO (%)	ES (adet)	BDEO (%)	GBO (%)	HBO (%)
Z-tad 75	6.4 cde (14.4)	8.4 ef (16.7)	12.6 e-f-g	67.0 (55.7)	62.3 (53.0)	68.0 abcd (55.5)
Z-tad 81	15.8 a (23.2)	18.4 ab (25.2)	23.0 c	57.0 (49.2)	55.6 (48.3)	70.3 abcd (58.7)
Z-tad 83	8.1 cd (16.5)	11.9 cde (19.8)	19.6 c-d-e	40.3 (39.4)	32.3 (34.6)	53.3 abcd (46.9)
Z-tad 86	4.6 de (12.2)	4.2 ghı (11.8)	6.6 g-h-i-j	33.3 (34.7)	24.3 (24.7)	27.6 de (26.6)
Z-tad 87	18.2 a (25.1)	23.0 a (28.6)	33.0 b	54.0 (47.3)	37.0 (37.3)	59.3 abcd (50.4)
Z-tas 48	1.0 h (3.3)	1.26 j (3.7)	1.6 j	33.3 (30.0)	26.6 (21.1)	8.3 e (10.0)
Z-tas 53	2.0 fg (7.9)	2.2 ij (7.1)	3.3 ı-j	44.3 (41.6)	44.3 (41.6)	33.3 cde (30.0)
Z-tas 58	6.4 cde (14.5)	8.3 efg (16.4)	11.0 f-g-h	70.6 (62.3)	50.6 (45.0)	36.6 bcde (31.9)
Z-tas 67	3.5 efg (10.4)	4.2 hı (11.6)	5.6 g-h-i-j	70.6 (57.2)	70.6 (57.2)	76.6 ab (66.1)
Z-tas 70	1.5 gh (6.8)	1.5 j (6.8)	2.3 j	66.3 (59.7)	66.3 (59.7)	50.0 abcd (45.0)
T-tak 28	4.2 ef (11.8)	5.6 fgh (13.6)	12.6 e-f-g	37.0 (37.3)	34.0 (35.6)	83.3 a (70.0)
T-tak 31	13.0 ab (21.1)	16.5 abc (24.0)	41.3 a	60.0 (50.8)	55.0 (47.9)	80.3 abc (63.7)
T-tak 35	6.2 cde (14.4)	8.2 efg (16.5)	15.3 d-e-f	45.3 (42.2)	41.0 (39.7)	90.0 a (75.0)
T-tak 38	8.1 cd (16.5)	9.9 def (18.3)	21.6 c-d	60.3 (51.0)	54.6 (47.6)	93.0 a (77.4)
T-tak 40	5.4 de (13.4)	7.9 efgh (16.3)	17.6 c-d-e-f	56.0 (48.5)	44.0 (41.5)	69.3 abcd (56.3)
T-taç 3	5.2 de (13.1)	7.5 efgh (15.8)	14.3 d-e-f	60.6 (51.1)	59.3 (50.3)	71.3 abcd (57.6)
T-taç 8	6.4 cde (14.6)	8.1ef (16.5)	10.6 f-g-h-ı	50.0 (45.0)	50.0 (45.0)	81.0 abc (64.1)
T-taç 12	1.2 gh (6.4)	1.6 (7.1)	4.6 h-ı-j	41.6 (40.1)	28.6 (32.3)	66.6 abcd (60.0)
T-taç 22	10.2 bc (18.6)	14.4 bcd (22.3)	30.6 b	70.3 (57.0)	67.3 (55.2)	80.6 abc (60.1)
T-taç 25	4.5 de (12.3)	8.8 ef (16.5)	14.6 d-e-f	61.6 (51.7)	52.6 (46.5)	77.6 abc (61.9)
D	3.60***	4.3***	7.6***	Ö. D.	Ö. D.	3.8**

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): Ö.D.: Önemli Değil.. ***:p<0.001; **:p<0.01; *:p<0.05

(3): Parantez içinde yüzde değerlerin transforme edilmiş hali gösterilmiştir

4.1.7. Korelasyon analizi

Çalışmada incelenen özellikler arasında korelasyon analizi yapıldığında embriyo oranı ile embriyo oluşturan anter sayısı ve embriyo sayısı arasında çok kuvvetli pozitif bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Gelişen bitki oranı ile bitkiye dönüşen embriyo oranı arasındaki korelasyonda önemli bulunmuştur. Haploid bitki oranı ile embriyo oranı, embriyo sayısı ve gelişen bitki oranında da bir korelasyon vardır. Korelasyon ilişkileri Çizelge 4.7 sunulmuştur.

Çizelge 4.7. Nematoda dayanıklı genotiplerin korelasyon analizi

	EO	EOAO	ES	BDEO	GBO	HBO
EO						
EOAO	0,961*					
ES	0,908*	0,847*				
BDEO	0,137	0,089	0,148			
GBO	0,130	0,082	0,147	0,841*		
HBO	0,288*	0,236	0,368*	0,152	0,255*	

EOAO: Embriyo oluşturan anter oranı, EO: Embryo oranı, ES: Embriyo sayısı, BDEO: Bitkiye dönüşen embriyo oranı, GBO: Gelişen bitki oranı, HBO: Haploid bitki oranı

4.1.8. Denemelerden Elde Edilen Genotiplerin Nematoda Dayanıklılık Markır Testleri

Denemeden elde edilen genotiplerden nematoda dayanıklılık testleri sivri biber melezlerinden Z-tas 58-3 nolu genotip sadece Me1'e homozigot dayanıklı, Z-tas 70-1 nolu genotipin Me1, Me3, N ve Me7 lokulusunu taşıyan homozigot dayanıklı oldukları belirlenmiştir. Dolma biber melezlerinden ise Ztas-81-1 ve Ztas-81-22 nolu genotiplerin Me1, Me3, N ve Me7 lokulusunu taşıyan homozigot dayanıklı oldukları bulunmuştur. Test sonuçları Çizelge 4.6 sunulmuştur. Testlemeler, Dihaploidizasyon çalışmaları devam ettiğinden markır testlemeleri devam etmektedir.

Çizelge 4.8. Denemeden elde edilen genotiplerin Nematoda dayanıklılık markır testleri

Biber de Markır Testi Santez Projesi- DH hatlar						Troya Tohum 23.08.2016
				Nematod		
Field No.	Kutu	Tswv	Tmv2(L3)	Me1	Me3/N/Me7	Remark
ZTAS-58-3	1. C7	RR	rr	R	??	
ZTAS-70-1	1. A8	??	rr	R	RR	
ZTAD-81-2	1. C9	rr	rr	R	RR	
ZTAD-81-22	1. H12	rr	R	R	RR	

Bitki ıslahı çalışmalarında en uzun süren aşamalardan bir tanesi de ebeveynlerin homozigot hale getirilmesidir. Bu işlemin klasik yöntemlerle yapılması için bitkisel özelliklere göre değişen uzun yıllar boyunca, ebeveyn hatların kendi çiçek tozları ile tozlanarak homozigotlaştırılması gerekmektedir. Bu uzun yıllara rağmen, homozigotlaştırma %100 oranında sağlanamayabilmektedir. Haploid bitki elde edilmesini amaçlayan doku kültürü tekniklerinin kullanımı ile çok daha kısa sürede %100 oranında homozigot saf hatlar elde edilebilmektedir. Bu yöntemler uzun yıllardan beri farklı türlerde uygulanmakta ve başarılı sonuçlar alınmaktadır. Biberde de başarılı bir şekilde uygulanmakta ve besin ortamları, inkübasyon koşulları vb. anter kültürünü etkileyen faktörler açısından kullanılabilir sonuçlar elde edilmektedir. Ancak elde edilen sonuçlar tüm genotiplerde efektif olarak kullanılamayabilmekte ve bu nedenle farklı genotiplerde farklı protokol denemeleri devam etmektedir. Doku kültürü çalışmaları laboratuvar alt yapısı ve teknik bilgi gerektiren çalışmalardır. Bu nedenle, herhangi bir doku kültürü tekniğini kullanmak özel amaç ve hedefler gerektirir. Haploid bitki elde etme yöntemleri de daha çok bitki ıslahı çalışmalarında, kullanılmak istenen ebeveynlerin daha kısa sürede ve %100 homozigotlaştırılması için kullanılmaktadır. Anter kültürü tekniğinin yoğun olarak kullanıldığı biberde de ebeveyn hatların bu teknikle homozigotlaştırılması ve bu amaçla genotiplere göre protokol şartlarının geliştirilmesi çalışmaları yaygındır. Bu çalışmada da, Alata

Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü biber gen havuzundan seçilen üç dayanıklı genitör hat ile firmanın kendi materyali içinden belirlediği F3 kademesindeki 5 adet sivri biber, 5 adet dolma biber, 5 adet çarliston biber ve 5 adet kapyra biber hattı melezlenmiştir. Bu yolla elde edilen melezlerden, her tipten 5'er adet F1 melez seçilip yetiştirilerek anter kùltürü çalışmalarında kullanılmıştır. Bu yolla, farklı biber tiplerinde nematoda dayanıklı olan ve örtüaltı yetiştiriciliğine elverişli özellikler gösteren yüksek verimli ve kaliteli çeşit geliştirmeye yönelik ebeveyn adayları ıslah hatları geliştirilmek istenmiştir. Çalışma süresince, embriyo oluşturan anter oranı, embriyo oranı, bitkiye dönüşen embriyo oranı, gelişen bitki oranı, haploid bitki oranı ve embriyo sayısı kaydedilmiş. Biberde anter kùltürü konusunda çalışmalar yapan farklı araştırmacılar tarafından da benzer parametrelerde ölçümler yapılmıştır. Ata (2011) tarafından biberde yapılan bir anter kùltürü çalışmasında, dört adet genotipin farklı kùltüre alma zamanlarında ve iki farklı besin ortamında anter kùltürü performansları denenmiştir. Embriyo oluşturan anter oranı Nisan ayında %5,38 ile %18,25; Eylül ayında %0,67 ile %24,38 ve Ağustos ayında %0 ile %40,79 arasında değişmiştir. Embriyo oranı ise, Nisan ayında %6,71 ile %26,86; Eylül ayında %0,67 ile %57,05 ve Ağustos ayında %0 ile %66,36 arasında değişmiştir. Yine bu çalışma içerisinde değerlendirilen genotiplerden birisi olan ve Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü tarafından yapılan denemelerde yüksek sıcaklığa dayanıklı olarak bulunarak İnan 3363 adı ile tescil edilen çeşidinde ise Nisan ayında %9,11 embriyo oranı, %6,10 embriyo oluşturan anter oranı hesaplanırken, Ağustos ayında embriyo oranı %46,97 ve embriyo oluşturan anter oranı %30,87 olmuştur. Eylül ayında ise embriyo oranı %51,32 ve embriyo oluşturan anter oranı %20,92 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada da, kullanılan melez genotiplerin embriyo oranları %1 ile %23,0; embriyo oluşturan anter oranları ise %0,9 ile 18,2 arasında değişmiştir. Bu çalışma ile elde edilen sonuçların en üst sınırları Ata (2011) tarafından yapılan çalışmadaki kadar yüksek olmamıştır. Ancak, Ata (2011)'nın çalışmasında farklı dönemler denendiği için her ay deneme tekrarlanmış ve burada en iyi çıkan dönemlerin sonuçları sunulmuştur.

Diğer çalışmalarda da gözlemlenen ve bu araştırmada da açıkça görülen diğer önemli bir bulguda sivri biber genotiplerinin anter kültürüne tepkisinin düşük olmasıdır. Sunulan bu çalışmada, incelenen parametreler açısından en düşük sonuçlar genellikle sivri biber tipine ait genotiplerden elde edilmiştir. Yukarıda 20 adet genotipi kendi aralarında sıraladığımızda, sivri tiplere ait genotipler ilk defa yedinci sırada görülmeye başlamış, diğer genotipler sonlarda yer almıştır. Keleş ve ark. (2015) tarafından biberin farklı tiplerinde spontan dihaploid oranının karşılaştırıldığı bir çalışmada da en düşük embriyo ve bitki oranı sivri tipten elde edilmiştir.

Bu çalışmada da haploid bitki elde edilmesini amaçlayan doku kültürü tekniklerinin kullanılması ile çok kısa bir sürede %100 homozigot saf hatlar elde edilmiştir. Yapılan çalışmada Me1, Me3, N ve Me7 ırklarına dayanıklı olan üç adet homozigot saf hat elde edilmiştir. Bir tane Me1 ırkına dayanıklı saf hat elde edilmiştir. N geni Missisipi Nemaheart genotipinde tespit edilmiş ve geriye melezleme ile dayanıklılığı hassas olan Carolina Wonder ve Charleston Bell'e aktarılmıştır. (Thies ve Fery,2002).

Nematoda dayanıklılık ilk gen N geni olarak isimlendirilmiştir. N geninin Ülkemizde en yaygın nematod türlerinden (Özarlan 2009) *M. incognita* *M. arenaria* ve *M. javanica*'ya karşı dayanıklılık sağladığını bildirmişlerdir. (Thies ve ark. 2008). Elde edilen nematoda dayanıklı bu genotipler de ıslah çalışmalarında rahatlıkla kullanılabilecektir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Araştırmadan elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- 1- Deneme sonucunda nematoda dayanıklı x dolma melezinden Z-tad 87 nolu genotip embriyo oluşturan anter oranı ve embriyo oranı ile en yüksek değeri almıştır. İkinci sırada yine nematoda dayanıklı x dolma melezinden Z-tad 81 nolu genotip yer almıştır. Bu genotipi, nematoda dayanıklı x kapy melezinden T-tak 31 nolu genotip takip etmiştir.
- 2- Bitkiye dönüşen embriyo oranına bakıldığında ise en yüksek sonuçlar; nematoda dayanıklı x çarliston melezi T-taç 22 nolu genotip ile nematoda dayanıklı x sivri melezleri Z-tas 70 ve Z-tas 67 nolu genotiplerde aynı oranda kaydedilmiştir.
- 3- Gelişen bitki oranları açısından; nematoda dayanıklı x sivri melezleri Z-tas 67 en yüksek değeri alırken, nematoda dayanıklı x çarliston melezi T-taç 22 nolu genotip ikinci sırada yer almıştır.
- 4- Haploid bitki oranları karşılaştırıldığında ise nematoda dayanıklı x kapy melezlerinden elde edilen T-tak 38, T-tak 35 ve T-tak 28 nolu genotipler en yüksek değerleri vermişlerdir.
- 5- Biber tiplerinin ortalamaları bazında ele alındığında, embriyo oluşturan anter oranı ve embriyo oranı en yüksek olan nematoda dayanıklı X dolma melezinden elde edilmiş, dolma tipini kapy, çarliston biber tipleri izlemiş ve son sırayı da sivri biber tipi almıştır.
- 6- Biber tiplerinin ortalamaları bazında ele alındığında, bitkiye dönüşen embriyo oranı ve gelişen bitki oranı açısından nematoda dayanıklı x sivri melezi genotipleri ilk sırada yer alırken, bunu nematoda dayanıklı x çarliston melezi, nematoda dayanıklı x kapy melezi izlemiş ve son sırada da nematoda dayanıklı x dolma melezi genotipleri yer almıştır.

- 7- Haploid bitki oranı olarak karşılaştırıldığında ise sıralama şu şekilde olmuştur: nematoda dayanıklı x kapyra melezi genotipler, nematoda dayanıklı x çarliston, nematoda dayanıklı x dolma ve nematoda dayanıklı x sivri biber genotipleri yer almıştır.
- 8- Yapılan çalışmada Me1, Me3, N ve Me7 lokuluslarını taşıyan dayanıklılık genlerine sahip olan üç adet homozigot saf hat elde edilmiştir. Bir tane Me1 lokulusunu taşıyan dayanıklı saf hat elde edilmiştir.

Deneme sonucunda denenen tüm genotiplerden değişen oranlarda tepki alınabilmektedir. Nematoda dayanıklı, yüksek verimli ve kaliteli çeşit geliştirmeye yönelik ebeveyn adayları ıslah hatları geliştirmenin hedeflendiği bu çalışmada nematoda dayanıklı genotiplerle, yüksek kaliteli ve verimli genotiplerin melezlenmesiyle elde edilmiş melez genotiplerden anter kültürüne olumlu tepkilerin alınmış olması bilimsel öneminin yanı sıra, ıslah konusunda çalışan araştırma kurumları ve özel firmalar içinde çok önemli bir sonuçtur. Yani deneme sonuçları pratiğe aktarılabilir ve kullanılabilir nitelik içermektedir.

KAYNAKLAR

- Abak, K., 1983. Biberde (*Capsicum annuum* L.) Anter Kùltürü Yoluyla Haploid Bitki Elde Etme Üzerinde Araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakùltesi Yıllığı. Cilt: 33, Fasikùl 1-2-3-4den Ayrı Basım, 155-163.
- Abak, K., 1986. Biber Islahında Anter Kùltüründen Yararlanma. Tubitak Bitki Islahı Sempozyumu Bildiri Özetleri, 15-17 Ekim, İzmir.
- Andrews, J., 1985. Peppers. The Domesticated Capsicum. University. Of Texas Pres, Box 7819 Austin, Texas 78713.
- Ata, A., 2011. Biberlerde (*Capsicum annuum* L.) Anter Kùltüründe Mevsim Etkisi Ve Mikrospor Gelişimi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 89.
- Ayar, F., 2003. Bazı Biber (*Capsicum annuum* L.) Çeşitlerinde Anter Kùltürü Yöntemiyle Haploid Bitki Elde Edilmesinde Mevsimin Ve Bitki Yaşının Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 82.
- Bajaj, Y.P.S., 1990. Haploids İn Crop İmprovement. I. Biotechnology İn Agriculture And Forestry, Vol: 12, Berlin, Germany; Springer-Verlag.
- Biner, B., Ercan, N., ve Akıllı, M., 2001. Biberde (*Capsicum annuum* L.) Anter Kùltürü Yoluyla Haploid Bitki Eldesi Üzerine Farklı Sıcaklık Ve Işık Uygulamalarının Etkileri. Gap 1ı. Tarım Kongresi, 24-26 Ekim, şanlıurfa, Cilt 1: 47-54.
- Buyukalaca, S., Comlekcioglu, N., Abak, K., Ekbıç, E., and Kılıç, N., 2004. Effect Of Silver Nitrate And Donor Plant Growing Conditions On Production Of Pepper (*Capsicum annuum* L.) Haploid Embryos Via Anther Culture. Europ. J. Hort. Sci., 69 (5): 206-209.
- Chambonnet, D., 1988. Production Of Haploid Pepper Plants. Bulletin İterne De La Station D'amelioration Des Plantes Maraicheres D'avignon-Montfavet, France, 1-10.

- Chidwood., 2003. Research On Plantum Paracitic Nematode Biology Conducted By The United States Jun-Jul:59(6-7):748-53.
- Comlekcioglu, N., Buyukalaca, S., and Abak, K., 2001. Effect Of Silver Nitrate On Haploid Embryo İnduction By Anther Culture İn Pepper (*Capsicum annuum*). Xıth Eucarpia Meeeting On Genetics And Breeding Of Capsicum & Eggplant, 2001, Antalya-Turkey.
- Çaglar, Ç., Aras, V., ve Bayram, A., 2004. Kurutmalık Kırmızı Biberlerde Androgenesis Yoluyla *In vitro* Haploid Embriyo Uyartımı. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 17(1): 87-94.
- Çiner, D., and Tıprıdamaz, R., 2002. The Effects Of Cold Treatment And Charcoal On The *In vitro* Androgenesis Of Pepper (*Capsicum annuum* L.). Turkish Journal Of Botany, 26: 131-139.
- Çömlekçioğlu, N., Büyükalaca, S., ve Abak, K., 1999. Şanlıurfa Ve Kahramanmaraş Biber Populasyonlarında Anter Kültürü Yöntemiyle Haploid Bitki Elde Etme Olanakları. Türkiye 11. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ankara, 897-900.
- Djian-Caporalino, C., Fazarı, A., Arguel, M.J., Vernie, T., Vandecasteele, C., Faure, I., Brunoud, G., Pjarowski, L., Palloix, A., Lefebvre, V., and Abad, P., 2007. Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* Spp) Me Resistance Genes İn Pepper (*Capsicum Annuum* L.) Are Clustered On The P9 Chromosome. Theorical And Applied Genetics. 114, 478-486.
- Djian-Caporalino, C., Palloix, A., Fazarı, A., Mateu, N., Barnary, A., Sage Palloix, A.M., Rıssso, S., Lanza, R., Tausog, C., and Castagnone-Sereno, P., 2013. Evaluation Of New Resistance Genes Deployment Strategies İn The Pepper *Capsicum annuum* For The Durable Management Of Root-Knot Nematodes. Xv. Eucarpia Meeting On Genetics And Breeding Of Capsicum And Eggplant. 2-4 September 2013 Torino Italy, (Edit. S. Lanteri And G. L. Rotino), 37-45.

- Dumas De Vault, R., Chambonnet, D., and Sibi, M., 1981. Culture *In Vitro* Dantheres De Piment (*Capsicum annuum* L.): Amelioration Des Taux Dobtention De Plantes Chez Differents Genotypes Par De Traitments A+35°C. *Agronomie*, 11: 859.
- Ellialtıoğlu, Ş., Kaplan, F., and Abak, K., 2001. The Effect Of Carrot Extract And Activated Charcoal On The Androgenesis Of Pepper. X¹th Eucarpia Meeting On Genetic And Breeding Of Capsicum And Eggplant, Antalya-Turkey, 142-145.
- Ercan, N., Boyacı, F., ve Ayar, F., 2001. Biberde (*Capsicum annuum* L.) Anter Kültürü Yoluyla Haploid Bitki Eldesi Üzerine Farklı Besin Ortamlarının Etkisi. *Gap Iı. Tarım Kongresi*, 24-26 Ekim, Şanlıurfa, Cilt 1: 121-128.
- Fao, 2013
- Fazari, A., A.Palloix, Wang. M.Yan Hua, A. Sage-Palloix, B. Zang X and C. Djian-Caporalino, 2012. The Root-Knot Nematode Resistance N-Gene Co-Localizes In The Me-Genes Cluster On The Pepper (*Capsicum annuum* L.) Pg Chromosome. *Plant Breeding*, 131 (5):665-663.
- Gemesne Juhasz, A., Petus, M., Venzcel, H., Sagi, Z.S., and Zatyko, L., 2001. Colchicine, An Efficient Genome Doubling Agent For Anther Derived Haploid Paprika (*Capsicum annuum* L.) Plants. X¹th Eucarpia Meeting On Genetics And Breeding Of Capsicum & Eggplant, Antalya, 146.
- George, L., and Narayanaswamy, S., 1973. Haploid *Capsicum* Through Experimental Androgenesis. *Protoplasma*, 78: 467-470.
- Greenleaf, W.H., 1986. Pepper Breeding. *Breeding Vegetable Crops*. A.V.I., 67-127.
- Harn, C., Kim, M.Z., Choi, K.T, and Lee, Y.I., 1975. Production Of Haploid Callus And Embryoid From The Cultured Anther Of *Capsicum annuum*. *Sabrao J*, 7: 71-77.
- Hatipoğlu, R., 1997. Bitki Biyoteknolojisi, Çukurova Üniversitesi Yayınları.

- Heiser, C.B.Jr., 1976. Peppers, In Evolution Of Crop Plants. (Edited By N. W. Simmonds, 1986). Longman Sci.& Tech. Report, 265-268.
- Ipgr, 1983. Genetic Resources Of *Capsicum*. Ibpgr Secretariat, Rome, 49.
- İrıkova, T., Grozeva, S., And Rodeva, V., 2011. Anther Culture İn Pepper (*Capsicum annuum* L.) *İn Vitro*. Acta Physiol Plant, Doi: 10.1007/S11738-011-0736-6.
- Kaya, Z., 2001 Bitki Biyoteknolojisi I Doku Kùltürü Uygulamaları Sayfa Xıv.
- Keleş, D., Pınar, H., Ata, A., Taşkın, H., Yıldız S., and Büyükalaca S., 2015. Effect Of Pepper Types On Obtaining Spontaneous Doubled Haploid Plants Via Anther Culture. Hortscience, 50(11): 1-6.
- Koleva-Gudeva, L.R., Spasenoski, M., and Trajkova, F., 2007. Somatic Embryogenesis İn Pepper Anther Culture: The Effect Of İncubation Treatments And Different Media. Scientia Horticulturae, 111: 114119.
- Kristiansen, K., and Andersen, B., 1993. Effect Of Donor Plant Temperature, Photoperiod And Age On Anther Culture Response Of *Capsicum annuum* L. Euphitica, 67: 105-109.
- Matsubara, S., Yamamoto, M., Jo, M.H., and Murakami K., 1998. Embryoid And Callus Formation From Microspor By Anter Culture From July To November İn Pepper (*Capsicum annuum* L.). Scientif Report Of The Faculty Of Agriculture, Okoyama University , 87: 117-122.
- Mityko, J., Andrasfalvy, A., Csillery, G., And Farı, M., 1995. Anther Culture Response In Different Genotypes And F1 Hybrids Of Pepper (*Capsicum annuum* L.). Plant Breeding, 114: 78-80.
- Morrison, R., Koning, R.E., And Evans, D.A., 1986. Anther Culture Of An İnterspecific Hybrid Of Capsicum. J. Plant Physiol, 126: 1-9.
- Murashige, T., and Skoog, F., 1962. A Revised Medium For Rapid Growth And Bioassy With Tobacco Tissue Cultures. Physiol. Plant, 15: 473-497.

- Niklas-Nowak, A., Olszewska, D., Kısıala, A., and Nowaczyk, P., 2012. Study Of Individual Plant Responsiveness In Anther Cultures Of Selected Pepper (*Capsicum* Spp.) Genotypes. *Folia Horticulturae*, 24(2): 141-146.
- Novak, F.J., 1974. Induction Of A Haploid Callus In Anther Cultures Of *Capsicum* Sp., *Z. Pflanzenphysiol*, 68: 97-114.
- Olszewska, D., Kısıala, A., Niklas-Nowak, A., and Nowaczyk, P., 2013. Study Of *In vitro* Anther Culture İn Selected Genotypes Of Genus *Capsicum*. *Turk. J. Biol.*, 38: 118-124.
- Özarslandan, A., 2009. Türkiyenin Farklı Bölgelerinden Alınan Kök Ur Nematodu Türlerinin Tanısı Ve Bazı Kök Ur Nematodu Populasyonlarının Virülenliğinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 94 S.
- Özarslandan, A., Pınar, H., Ata, A., Keleş, D., 2014 Biber Hat Ve Çeşitlerinin *Meloidoyne incognita*'ya Karşı Dayanıklılığı *Türk. Entomol. Derg.*, 39(29) 209-215.
- Öztürk; L., 2012. Development Of Molecular Markers Linked To Me1 Gene Conferring Resistance To Nematode İn Pepper. Msc Thesis, Graduate School Of Engineering And Sciences Of İzmir Institut Of Technology, 47 P.
- Rodeva, V.N., Irikova, T.P., and Todorova, V.J., 2004. Anther Culture Of Pepper (*Capsicum annuum* L.) Comparative Study On Effect Of The Genotype *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 18/2004/3.
- Saccardo, F., and Devreux, M., 1974. *In Vitro* Production Of Plantlets From Anther Culture Of *Capsicum Annuum* L. *Proc. Of Eucarpia: Genet. Breeding Of Capsicum*. Budapest, Pp. 45-49.
- Sayılır, A., ve Özzambak, E., 2002. Biber Anter Kültüründe Uygun Tomurcuk Büyüklüğü Tespiti İle Besin Ortamları Karışımlarının Ve Soğuk Uygulama Sürelerinin Embriyo Verimine Etkisi Üzerine Bir Araştırma. *İv. Sebze Tarımı Sempozyumu*, Bursa.

- Taşkın, H., Büyükalaca, S., Keleş, D., and Ekbiç, E., 2011. Induction Of Microspore-Derived Embryos By Anther Culture In Selected Pepper Genotypes. *African Journal Of Biotechnology*. 10(75): 17116-17121.
- Terzioğlu, Ş., Ellialtıoğlu, Ş., ve Abak, K., 2000. İnkübasyon Koşullarının Biber Anter Kültüründe Embriyo Oluşumu Üzerine Etkisi. 11. Sebze Tarımı Sempozyumu, Isparta, 233-238.
- Thies, J.A., and Fery, R.L., 2002. Heat Stability Of Resistance To Southern Root-Knot Nematode İn Bell Pepper Genotypes Homozygous And Heterozygous For The N Gene. *Journal Of American Society Of Horticultural Science*, 127: 371-375.
- Thies, J.A., Dickson, D.W., and Fery, R.L., 2008. Stability Of Resistance To Root-Knot Nematodes İn ‘Charles Belle’ And ‘Carolina Wonder’ Bell Peppers İn A Sub-Tropical Environment. *Hortscience*, 43: 188-190.
- Vagera, J., and Havranek, P., 1985. *In vitro* Induction Of Androgenesis İn *Capsicum annuum* L. And İts Genetic Aspects, *Biologia Plantarum*, 27(1): 10-21.
- Yücel, S., Elekçioğlu, İ., H., Uludag, A., Can, C., Gözel, U., Söğüt, M., A., Özarslandan, A., Aksoy, E., 2001 The First Year Results Of Methyl Bromide Alternatives İn Strawberry, Pepper And Eggplant İn The Eastern Mediterranean Part Of Turkey. Annual International Research Conference On Methyl Bromide Alternatives And Emissions Reductions, California, 94: 1-4.
- Wang, Y.Y., Sun, C.S., Wang, C.C., and Chien, N.J., 1973. The İnduction Of Polen Plantlets Of Triticale And *Capsicum annuum* From Anther Culture. *Sci. Sin* 16: 147-151.
- Zhao, J., Zou, X., Zhang, Z., Yang, B., and Zhou, S., 2010. Influences Of Carbon Sources And Plant Growth Regulators On Anther Culture Efficiency Of Pepper. *Agricultural Science & Technology*, 11(4): 102-105.

ÖZGEÇMİŞ

1972’de Diyarbakır’ın Eğil İlçesinde doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Eğil’de tamamladı. 1994 yılında vatani görevini tamamladı. 1995 yılında Harran Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümünü kazandı. 1996 yılında ise Çukurova Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü’ne yatay geçiş yaptı. 1999 yılında mezun oldu. 2001-2003 yıllarında Bereket Tarım Ltd. Şti’nde (ziraai ilaç bayisinde) Mesul Müdür olarak çalıştı. 2003-2013 yılları arasında Alanya Tohumculuk Ltd. Şti’nde çalıştı. 2013 yılında T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Diyarbakır ili Dicle İlçe Tarım Müdürlüğü’ne atandı. Halen Dicle İlçe Tarım Müdürlüğünde çalışmaktadır. Evli ve iki çocuk babasıdır.