



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü



**BİBERDE ANTER KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARINDA  
FARKLI BESİ ORTAMLARININ ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Yüksek Lisans Tezi**

Musa KURT

Tohumluk Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı

İzmir

2019



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü

**BİBERDE ANTER KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARINDA  
FARKLI BESİ ORTAMLARININ ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

Musa KURT

Danışman: Prof. Dr. Hülya İLBİ

Tohumluk Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı  
Çeşit Geliştirme Yüksek Lisans Programı

İzmir  
2019



Musa KURT tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan“**Biberde Anter Kùltürù Çalışmalarında Farklı Besi Ortamlarının Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliđi ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 10.09.2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:**

**İmza**


**Jüri Başkanı : Prof. Dr. Hülya İLBİ**

  
.....

**Raportör Üye : Doç. Dr. Birsen ÇAKIR AYDEMİR**

  
.....

**Üye : Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ**

  
.....



## EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Biberde Anter Kültürü Çalışmalarında Farklı Besi Ortamlarının Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

10 / 09 / 2019



Musa KURT



**ÖZET****BİBERDE ANTER KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARINDA FARKLI BESİ ORTAMLARININ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

KURT, Musa

Yüksek Lisans Tezi, Tohumluk Bilimi ve Teknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hülya İLBİ

Eylül 2019, 42 sayfa

Çalışma kapsamında *C. annuum* L.türüne ait 4 farklı çeşitte (12-081(Kapia A), 10-714 (Kapia B),15-416 (Dolma 39), 12-013 (Dolma 47)) haploid bitki elde etmek amacıyla yapılan anter kültürü çalışmalarında besin ortamında karbonhidrat kaynağı olarak maltoz, sakkaroz ve ön sıcaklık uygulamalarının biberde androgenesise etkisi incelenmiştir. Ayrıca genotip ve farklı besin ortamlarının anter kültürüne etkisinin ortaya konması amaçlanmıştır.

Çalışmada kullanılan anterler 2 farklı ön uygulamaya (25 ve 35°C(karanlık)) maruz bırakıldıktan sonra, 2 farklı şeker içerikli (maltoz ve sakkaroz) besin ortamı kombinasyonunda kültüre alınmışlardır. Çalışmada besin ortamı olarak önceki çalışmalarda biber anter kültüründe olumlu sonuçların alındığı Murashige ve Skoog (1962) temel besin ortamı ve 0.1 mg/l BAP + 4 mg/l NAA + 2,5 mg/l aktif karbon kullanılmıştır. Kültüre alınan anterlerin, ön uygulama ve şeker içerikli besin ortamında kallus oluşumları değerlendirilmiştir.

Çalışma sonuçları çeşitler bazında değerlendirildiğinde her çeşitte kallus oluşumu gözlemlenmiştir. Sonuçlar ortamlar ve ön uygulamalar açısından değerlendirildiğinde ise kallus oluşumu bakımından en olumlu sonuçlar karbonhidrat kaynağı olarak maltoz ilavesi ön uygulama olarak ise 6 gün süresince 35 °C sıcaklık ön uygulamasından geçirilmiş petrilerden elde edilmiştir. Karbonhidrat kaynağı olarak sakkarozun kullanıldığı besi ortamlarında ise çeşitlere bağlı olarak kısmen başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Çeşit x ortam interaksyonu incelendiğinde ise kallus oluşumu açısından en başarılı sonuçlar 35 °C sıcaklık ön

uygulamasında 6 gün bekletilen ve karbonhidrat kaynağı olarak maltoz kullanılan ortamlardan, Kapia B ve Kapia A çeşitlerinde alınmıştır.

Sonuç olarak yapılan bu çalışma biberde anter kültürü çalışmalarında karbonhidrat kaynağı olarak maltoz kullanımının ön uygulama olarak ise anterleri 35 °C de 6 gün bekletmenin kallus oluşumu üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Biber, Kallus, Anter kültürü, Maltoz, Sakkaroz, Besi ortamı, Genotip, Ön uygulama.



**ABSTRACT****INVESTIGATION THE EFFECTS OF DIFFERENT MEDIA ENVIRONMENTS IN ANTHER CULTURE STUDIES IN PEPPER**

KURT, Musa

M.Sc. Thesis, Department of Seed Science and Technology

Supervisor: Prof. Dr. Hülya İLBİ

September 2019, 42 pages

In the scope of the study, in order to obtain haploid plants belonging to *C. annuum* L. species of 4 different varieties (12-081 (Kapia A), 10-714 (Kapia B), 15-416 (Dolma 39), 12-013 (Dolma 47)) In tissue culture studies, the maltose and sucrose effect and pre-temperature applications as a carbohydrate source in food medium and androgenesis in pepper was investigated. In addition, it is aimed to reveal the effect of genotype and different nutrient media on anther culture.

Anthers used in the study were subjected to 2 different pre-treatments (25 and 35 ° C (dark)) and cultured in a combination of 2 different sugars (maltose and sucrose). In the present study, Murashige and Skoog (1962), the main nutrient medium and 0.1 mg / l BAP + 4 mg / l NAA + 2.5 mg / l activated carbon, were used as the nutrient media. Callus formation of cultured anthers in pre-treatment and sugar-containing nutrient media were evaluated.

When the results of the study were evaluated on the basis of varieties, callus formation was observed in all varieties. When the results were evaluated in terms of environments and pretreatments, the most successful results in terms of callus formation were obtained from pretreatment of maltose as a carbohydrate source for 6 days at 35 ° C. In nutrient environments where sucrose was used as a carbohydrate source, some successful results were obtained depending on the varieties. When the cultivar x medium interaction was examined, the most successful results in terms of callus formation were obtained in Kapia B and Kapia A cultivars in maltose medium which was kept at 35 ° C for 6 days.

As a result, this study showed that the use of maltose as a carbohydrate source in pepper anther culture studies had a positive effect on the formation of callus at 35 ° C for 6 days.

**Keywords:** Pepper, Callus, Anther culture, Maltose, Sucrose, Feed medium, Genotype, Pretreatment.



## ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında her geçen gün artan dünya ihtiyaçları, bu ihtiyaçlara paralel olarak artış gösteren tüketim talebi ve bunlara ek olarak artan hastalık-zararlılar, abiyotik stres koşulları gibi bir çok olumsuzluğa karşı daha güçlü (dayanıklı) ve daha verimli çeşitlerin geliştirilmesine yönelik olarak yürütülen ve uzun süren ıslah çalışmalarının daha kısa sürede tamamlanmasına olanak tanıyan haploid bitki ıslahının; doğuşu, gelişimi, gelinen son noktada yapılan çalışmalar ve bu teknolojinin önemi ve bitki ıslahına katkıları ele alınarak bu teknolojiye katkı sağlamak amaçlanmıştır.

İZMİR

10/09/2019

Musa KURT



**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
İÇ KAPAK SAYFASI.....	ii
ONAY SAYFASI.....	iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
İÇİNDEKİLER.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xviii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	6
2.1 Haploid Bitkilerin Önemi .....	7
2.2 Androgenesis ile İlgili Gerçekleştirilen Çalışmalar.....	8
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1 Gereç.....	16

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
3.1.1 Çalışmada kullanılan çeşitler ve özellikleri .....	16
3.2 Yöntem.....	18
3.2.1 Bitkilerin yetiştirilmesi .....	18
3.2.2 Uygun aniterler seçimi .....	18
3.2.3 Kültür sırasında kullanılan malzemeler ve bitkisel materyallerin sterilizasyonu .....	20
3.2.4 Kültüre alınma şartları ve ön sıcaklık uygulamaları .....	20
3.3 İstatistiki Analizler.....	22
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	23
5.TARTIŞMA .....	29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	31
KAYNAKLAR DİZİNİ .....	33
TEŞEKKÜR.....	41
ÖZGEÇMİŞ .....	42

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. <i>Capsicum</i> cinsi ve kapsadığı türler. ....	2
3.1. Kapia A çeşidi (a) serada bitki görseli (b) meyve görseli.....	16
3.2. Kapia B çeşidi meyve görselleri. ....	17
3.3. Dolma 39 çeşidi (a) serada bitki görseli (b) meyve görseli. ....	17
3.4. Dolma 47 çeşidi (a) serada bitki görseli (b) meyve görseli. ....	18
3.5. (a) Tomurcukların boylanması, (b) Tomurcuklardan anterlerin çıkarılması, (c) Asetokarmen boyama görüntüsü, (d) Mikrosporların mikroskop altında tek çekirdekli gelişim aşaması .....	19
3.6. Tomurcuk dezenfeksiyonu.....	20
3.7. Fungal bulaşıklık gösteren petriler. ....	22
4.1. Çeşitlerin ortamlar ve ön uygulamalara göre kallus oranları.....	24
4.2. Çeşitlerin Ortamlara göre kallus oranları.....	25
4.3. Çeşitlerin ön uygulamalara göre kallus oranları. ....	26
4.4. Karbonhidrat kaynağı ve ön uygulamaların kallus oluşumu üzerine etkileri. ....	27
4.5. Kapia A çeşidi kallus oluşumu görseli. ....	27
4.6. Kapia B çeşidi kallus oluşumu görseli.....	28

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil

Sayfa

4.7. Dolma 39 çeşidi kallus oluşumu görseli. ....28

4.8. Dolma 47 çeşidi kallus oluşumu görseli. ....28



**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Yıllara göre biber üretim miktarı verileri .....	3
3.1. Anter kültürü çalışmasında kullanılan besin ortamları ve içerikleri.....	21
4.1. Uygulamaların kallus oluşumunda çeşit ve karbonhidrat kaynağı ilişkisi (Varyans analiz tablosu).....	23
4.2. Uygulamaların kallus oluşum oranı (%) üzerine etkisi .....	24
4.3. Çeşitlerin ortamlara göre kallus oluşum oranları (%).....	25
4.4. Çeşitlerin ön uygulamalara göre kallus oranları .....	26
4.5. Kabonhidrat içeriği ve ön uygulamalara göre kallus oranları.....	27

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ****Simgeler**      **Açıklama**AgNO<sub>3</sub>      Gümüş nitrat

°C      Santigrad derece

cm      Santimetre

EtOH      Etanol

HCl      Hidrojen klorür

g      Gram

g/l      Gram/litre

mg/l      Miligram/litre

M      Mol

N      Normalite

**Kısaltmalar**

BAP      6-Benzylaminopurine

DAPI      4-6 diamidinophenylindole

DH      Dihaploid

DNA      Deoksiribonükleik asit

FAO      Tarım ve Gıda Örgütü

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
IAA	İndol-3-asetik asit
MS	Murashige ve Skoog (1962) temel besi ortamı
NLN	Sıvı N ve N medyası
NAA	1-Naftalen asetik asit



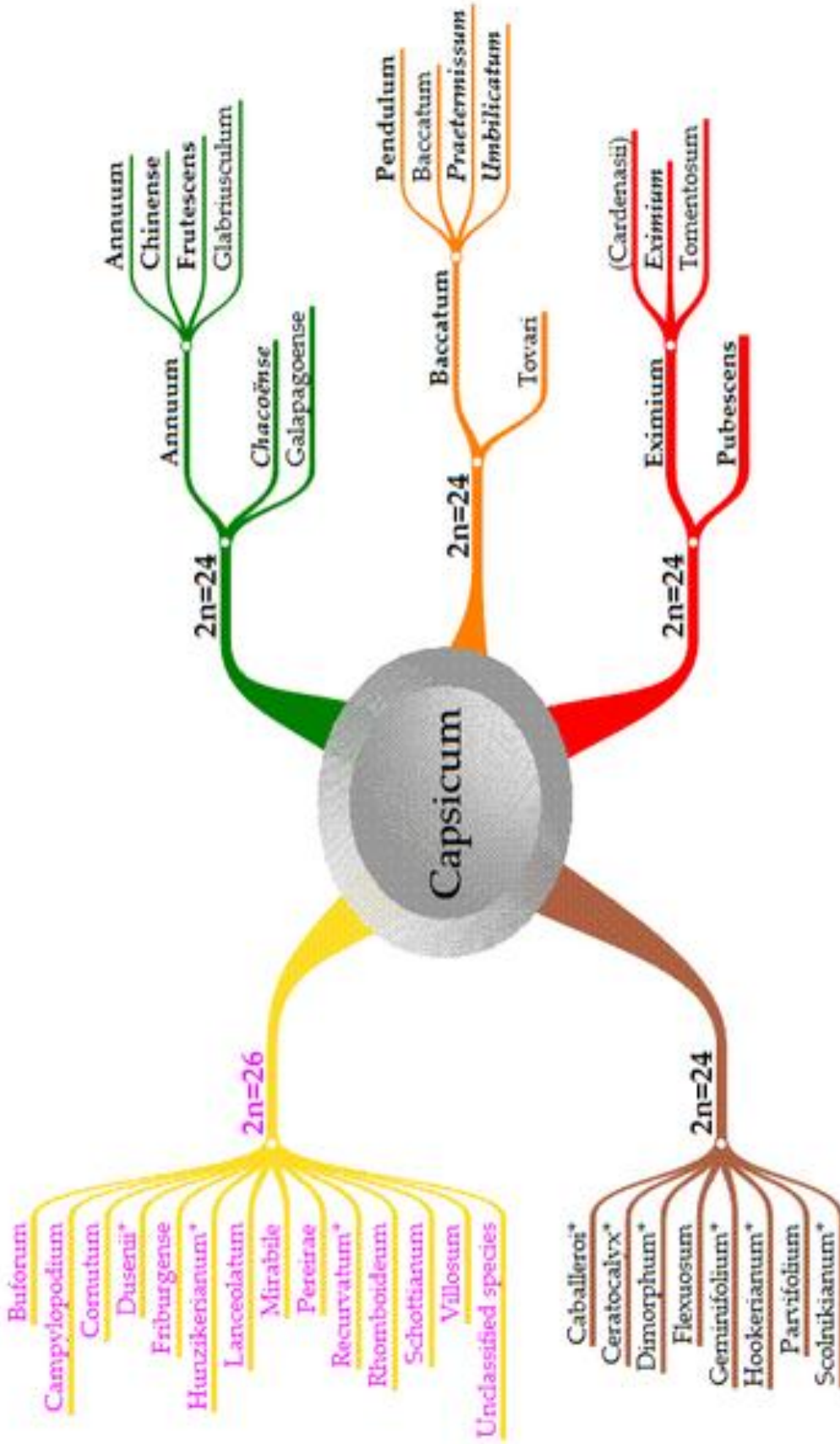


## 1. GİRİŞ

Biberin anavatanı Amerika'nın tropik bölgeleridir. Kuzey ve Güney Amerika ülkelerinden Peru, Şili ve Meksika'da 2000 yıldan beridir üretimi yapılmaktadır. Amerika keşfedilmeden önce diğer kıtalarda biber bitkisi bilinmezken, Avrupa'ya getirilişi ve popüler oluşu Kristof Colomb sayesinde olmuştur(Şeniz, 1992). Amerika'dan da 1493 yılında İspanya'ya geldiği, 1548 yıllarında İngiltere'ye ve 1578 yılından sonra da tüm Avrupa ülkelerine getirildiği ve buradan da dünyaya dağıldığı bildirilmiştir (Somos, 1984). Biberin orijini Güney Amerika olarak bilinse de türlere göre değişiklik gösterdiği biber orijinleri üzerine yapılan taksonomik araştırmalar ile bildirilmiştir. Acı biberlerin özellikle Bolivya ile Güney Brezilya kökenli olduğu açıklanmıştır (McLeod ve ark., 1983; Pickersgill, 1984). Osmanlı İmparatorluğu zamanında ilk olarak biber İstanbul'a 16. yüzyılda gelmiş ve buradan da diğer bölgelerimize dağılmıştır (Vural ve ark., 2000). Biber, *Solanacea* familyasının *Capsicum* cinsi içinde yer almaktadır.

Yaklaşık 30 türü bulunan *Capsicum* cinsi *Solanaceae* familyası içinde kendine önemli bir yer edinmiştir(Greenleaf, 1986). Bu cinsin ekonomik olarak kültüre alınan beş türü bulunmaktadır. Bunlar; *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. pubescens*, *C. frutescens* ve *C. Chinense* türleridir. Bu türler içerisinde, *Capsicum annuum* ekonomik olarak en fazla üretimi yapılan türdür. Yüksek oranda kendine tozlanan bir tür olan *Capsicum annuum*  $2n=24$  kromozom yapısına sahiptir(Şekil1.1).

Biber önemli sebzelerden birisi olup, taze ve salça şeklinde baharat olarak (toz ve pul), turşu, dondurulmuş gıda, salata, yeşil zeytinlerin içi, hazır çorbalar, konserve, ketçap, sos, tarhana, sucuk, pastırma, bazı peynirler, çocuk mamaları, kurutulmuş, ilaç ve boya sanayisinde kullanılmaktadır (Aybak, 2002). Ülkemizde çoğunlukla yetiştiriciliği yapılan biberler; sofralık olarak sivri, kapyra, dolmalık, çarliston, kurutmalık olarak yetiştirilen biberler ise süs biberleri ve turşuluk biberlerdir. Ayrıca üretim miktarları daha az olmakla birlikte Yunan çarlisti, Macar biberi, Şili biberi, blok biberler (California Wonder-iri dolmalık) ve Jalapeno gibi biber çeşitleri de yetiştirilmektedir (Özalp, 2010).



Şekil 1.1. *Capsicum* cinsi ve kapsadığı türler (Anonim, 2015).

FAO 2017 verilerine göre, dünya biber üretim alanları son beş yılda (2012-2016) artış göstermiştir. Dünyadaki artış alanlarına paralel olarak ülkemizde de artışlar söz konusudur. Türkiye üretim miktarı, 2012 yılında 1 975 269 ton iken, 2018 yılında 579 705 ton artış göstererek 2 554 974 ton miktarına yükselmiştir (Çizelge 1.1)

Çizelge 1.1. Yıllara göre biber üretim miktarı verileri (TÜİK 2019)

Yıllar	Biber üretim miktarı (ton)			
	Salçalık, kapyra	Dolmalık	Sivri	Çarliston
1988	-	470 000	260 000	-
1989	-	525 000	328 000	-
1990	-	320 000	580 000	-
1991	-	350 000	570 000	-
1992	-	380 000	574 000	-
1993	-	385 000	580 000	-
1994	-	368 000	640 000	-
1995	-	330 000	750 000	-
1996	-	350 000	800 000	-
1997	-	330 000	800 000	-
1998	-	390 000	1 010 000	-
1999	-	393 000	1 069 000	-
2000	-	390 000	1 090 000	-
2001	-	410 000	1 150 000	-
2002	-	410 000	1 340 000	-
2003	-	420 000	1 370 000	-
2004	615 000	375 000	710 000	-
2005	685 000	400 000	744 000	-
2006	673 981	392 617	775 577	-
2007	674 788	357 246	725 192	-
2008	690 531	371 050	734 596	-
2009	700 038	384 273	752 692	-
2010	782 173	387 626	816 901	-
2011	730 493	364 930	879 846	-
2012	748 422	383 213	910 725	-
2013	814 372	398 470	946 506	-
2014	829 809	391 009	907 126	104 364
2015	879 775	393 109	919 004	115 568
2016	957 030	418 435	967 466	114 891
2017	1 107 713	420 904	945 361	134 194
2018	1 128 060	397 175	930 349	99 390

Dünya’da toplam biber üretim miktarları Çin % 50.60, Meksika % 7.93, Türkiye % 7.12, Endonezya % 5.68, İspanya % 3.13 ve diğer bütün ülkelerin toplamı ise % 25.50 üretim potansiyeline sahiptirler (Anonim, 2017a). Türkiye’nin üretim miktarına göre üçüncü sırada yer almasına rağmen, dekar başına alınan verimde ise birinci sırada yer almaktadır. Ülkemizde biber üretimi dağılımı incelendiğinde (% 33) Akdeniz Bölgesinin ilk sırada yer aldığı, bunu Ege, Marmara ve Karadeniz Bölgelerinin takip ettiği görülmektedir.

Ülkemizde ve dünyada bu denli ekonomik öneme sahip olan biber; ıslahçılar tarafından da ıslah programlarında sıklıkla tercih edilen bir bitki türüdür. Biber ıslahında ıslahçılar sıklıkla pedigri ve saf hat seleksiyonunu kullanmaktadır. Dihaploid saf hatların (DH) üretilmesi; tüm alleller için homozigot (% 100 durulmuş) ebeveyn hatlarının geliştirilebilmesi için gereken sürenin kısaltılması amacıyla uygulanan bir prosedürdür. Biberde haploid bitkiler poliembriyoni ve *in vitro* androgenesis yoluyla elde edilir. *In vitro* haploid embriyo uyartımı biberde erkek gametlerde embriyogenesis yöntemiyle gerçekleştirilmektedir. Anter kültürü; anterlerin içindeki polenler olgunlaşmadan bağlı oldukları tomurcuklardan dikkatli bir şekilde ayrılarak *in vitro* koşullarda yapay besi ortamlarına aktarılması ve burada henüz olgunlaşma aşamasını tamamlamamış polenlerden haploid embriyolar elde edilmesi işlemine dayanmaktadır.

Yalnızca erkek gametten embriyo meydana gelmesine androgenesis denir. Anter ve mikrospor kültürü *in vitro* koşullarda haploid bitki eldesinde yaygın olarak kullanılan tekniklerdir. Mikrospor kültürü ise; erkek gameti oluşturma özelliğinde olan polen hücrelerinin gelişimini belirli bir aşamada sekteye uğratarak polen hücresinden embriyo oluşturma işlemi olarak tanımlanabilir. Bu yöntem diğer *in vitro* haploid bitki elde etme yöntemlerine göre daha avantajlıdır; bunun sebebi ise bir anter içerisinde binlerce mikrospor bulundurur ve bu mikrosporların birçoğu haploid bitki oluşturabilecek güçtedir (Ellialtıoğlu ve ark., 2000).

Wang ve arkadaşları biberlerde anter kültürü ile ilk haploid bitki üretimini (1973)’de gerçekleştirmişlerdir. Daha sonra biberde anter kültürü alanında çalışmalar yapan George ve Narayanswamy (1973), Novak (1974), Saccardo ve Devreux (1974), Harn ve ark. (1975) gibi birçok araştırmacı tarafından başarılı

sonuçlar elde edilmiştir. Sibi ve ark. (1979), doku kültüründe androgenesis için en uygun aşamanın mikrosporların 1.mitoz bölünme evresi de denen tek çekirdekli safha olduğunu belirlemişlerdir. Dumas de Vaultx ve Chambonnet (1980) ve Dumas de Vaultx ve ark. (1981) androgenesis performansı üzerinde n sıcak uygulamalarının etkilerini araştırmışlar ve denemeler sonucunda başarılı sonuçlar elde etmişlerdir Mityko ve ark., (1995), Bajaj, (1990), Kim ve ark., (2008), Nowaczyk ve ark., (2009) de bu tekniği geliştirerek daha başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Ülkemizde ise bu alandaki ilk *in vitro* androgenesis çalışmalarını yerli biber genotipleri üzerinde Abak (1983) tarafından gerçekleştirmiştir. Ercan ve ark., (2001); iner ve Tıyırdamaz, (2002) haploid embriyo elde etmek için farklı ortamlar, n uygulamalar; sıcaklık(soğuk/sıcak), ışık(aydınlık/karanlık), gümüş nitrat, büyüme düzenleyici hormonlar ve aktif kömür kullanımının başarıyı artırmada etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Bu bilgiler doğrultusunda yapılacak olan bu çalışmada amaç; bazı bakteriyel ve viral hastalıklara dayanıklılığı bilinen 4 biber çeşidinde anter kültüründe farklı ön uygulama ve ortamların etkisinin belirlenmesidir.

## 2. GENEL BİLGİLER

Somatik hücrelerindeki kromozom sayısı üreme hücrelerindeki kromozom sayısına eşit olan bitkilere haploid bitki denir. Haploidizasyon bitki ıslahında oldukça önemli bir yere sahip olan doku kültürü tekniklerinden biridir.(Heiser, 1976; Andrews, 1985).

Haploid bitki elde etmede kullanılan temelde üç yöntem vardır;

### 1) Dişi Gametten Haploid Uyartımı (Gynogenesis ve Parthenogenesis);

Ovül ve Ovaryum Kültürleri Döllenenmemiş yumurtalığın ya da yumurta hücrelerinin kültüre alınmasıyla haploid embriyo ve bitki oluşumuna ovaryum veya ovül kültürleri adı verilmektedir.

### 2) Eksik veya Yetersiz Polenle Tozlama;

bu teknikte eksik veya yetersiz polenlerle tozlama yapılarak partenogenetik embriyo uyartımını sağlamak için, değişik kimyasal maddeler ile radyoaktif ışın uygulamalarından yararlanılmaktadır. Ayrıca, türler arası ya da cinsler arası melezleme çalışmaları, tozlamamanın geciktirilmesi, sıcak-soğuk şokları da uygulanmaktadır. Bu uygulamalarla polen generatif çekirdeği inaktif hale gelmekte ve partenogenetik olarak haploid seviyede embriyolar elde edilebilmektedir.

### 3) Erkek Gametten Haploid Uyartımı (Androgenesis):

Erkek bireyin n sayıda kromozoma sahip yapılarından haploid bitkicik oluşmasına androgenesis adı verilir.

Androgenesis temelde iki yolla uygulanır; Anterlerden izole edilen mikrosporların kültüre alınması sonucu haploid bitki elde edimesine mikrospor kültürü, belirli bir gelişme aşamasındaki mikrosporları içeren anterlerin çiçek yapısı içerisinden çıkarılarak uygun besi ortamında geliştirilmesi ve mikrosporların bölünmesi sonucu haploid bitki eldesi işlemine de anter kültürü denilmektedir. Anter kültürü mikrospor kültürüne göre daha fazla tercih edilen bir yöntemdir (Hatipoğlu 1999).

Anterler kültürü çalışmalarında kullanılan başlıca iki yöntem vardır (Kalloo 1986).

1. Direkt yolla; kültüre alınan polenlerden direkt olarak embriyo oluşmasına embriyogenesis ya da direkt olarak embriyo eldesi denir.
2. Indirekt olarak; bu yolla polen tanesinden önce kallus elde edilen kalluslardan embriyo veya sürgün gelişiminin (organogenesis) teşvik edilmesi olarak ifade edilebilir.

## 2.1 Haploid Bitkilerin Önemi

- Çok kısa bir sürede % 100 homozigoti seviyesine ulaşılır.
- Kromozom sayılarının iki katına çıkartılması ile haploid bitkiler % 100 homozigot dihaploid saf hatlara dönüştürülürler.
- Dihaploid hatların kullanılması bitki genetik ve ıslahı çalışmalarını kolaylaştırmakta ve çalışmaları tamamlamak için gereken süreyi kısaltmaktadır.
- Haploid bitkiler homolog kromozomlardan sadece bir takım içerdiği için resesif mutasyon oluşmasına olanak tanır.
- Resesif genler, dominant genler tarafından maskelenmeyeceğinden, homozigot bireylerde genetik açılımı gözlemek daha basit bir işlem haline gelmektedir.
- Dioik ya da kendine uyumsuzluk sorunu bulunan türlerde homozigot bitki eldesi zor olmaktadır. Ancak anter kültürü tekniği; bu zorluğu ortadan kaldırmaktadır.
- Allogam türlerde çok yüksek oranda heterozigoti görülmektedir. Bu türlerde homozigot hatların elde edilmesi 8-10 generasyon kendileme yapılarak mümkün olmaktadır hatta autogam türlerde bile bu amaçla 5-6

generasyon kendileme zorunluluğu vardır. Anter kültürü çalışmaları ile bu sürelerden en az yarı yarıya tasarruf sağlanması mümkün olmaktadır.

- Yonca ve patates doğada ve ticari olarak tetraploidtir, bu türler haploidi tekniği sonucunda diploidlerin elde edilmesine olanak tanır. Elde edilen bu diploid hatlar fenolojik ve pomolojik olarak çok ilgi çekici olabilmekte tüketim dışında süs bitkileri gibi kullanılabilir. Ayrıca bu dihaploid bitkiler yabancı türler ile melezlenerek farklı ve üstün kombinasyonlar yaratılabilmektedir.

## 2.2 Androgenesis ile İlgili Gerçekleştirilen Çalışmalar

Olgunlaşmamış *Datura sp.* anterlerinden elde edilmiş haploid bitkiler androgenesis çalışmalarının başlangıcı olarak kabul edilmektedir.(Guha and Maheshwari, 1966). Bu çalışmadan sonra Bourgin ve Nitsch (1967) tütünde yaptıkları androgenesis çalışmaları neticesinde haploid seviyede bitkiler elde etmişlerdir. Gerçekleştirilen bu başarılı denemeler akabinde bu tekniğe olan ilgi artmış ve günümüze kadar birçok bitki türünde bu tekniklerin uygulanması ve geliştirilmesine yönelik çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Ellialtıoğlu ve ark., 2000).

Androgenesis çalışmalarında başarı; anterlerin alınma dönemlerine bağlıdır. Novak (1974), biberde anter kültürü için uygun tomurcuk büyüklüğünü araştırdığı çalışmasında 2,6-5,0 mm boyutunda, açık yeşil petalleri olan tomurcukların olgunlaşmamış tek çekirdekli 1. mitoz aşamasındaki mikrosporları içerdiğini tesbit ederek araştırmacılara fiziksel olarak doğru tomurcuk alma zamanını ifade etmiş ve bu tomurcuklardan başarılı sonuçlar aldığını raporlamıştır.

Sibi et al (1980), biberde taç ve çanak yaprakların aynı boyda olduğu veya taç yaprakların bir miktar daha uzun olduğu dönemin doğru anter alma zamanı olduğunu ve polen mitoz bölünmesinde bu döneme denk geldiğini ifade etmiş ve bu anterleri kullanarak başarılı sonuçlar aldığını raporlamıştır.

Dumas de Vault et al. (1981), haploid embriyo uyartımına ön sıcaklık uygulamasının etkisini araştırdığı çalışmasında kültürün ilk aşamalarında 35 °C gibi yüksek sıcaklık uygulamalarından pozitif yanıtlar aldığını bildirmiştir.

Abak (1983), Türkiye’de mevcut lokal biber çeşitlerinde doku kültürü çalışmaları yaparak uygun anter alınma zamanı, ön uygulamaların etkileri ve besin ortamına ilave edilen bazı kimyasal maddelerin etkilerini incelemiş ve sonuç olarak; uygun tomurcuk alma zamanının tomurcuklar 3,5-4 mm olduğu, ön sıcaklık uygulamaları olarak tomurcukları 25°C ve 35°C’de tutmanın olumlu sonuçlar verdiğini, medya ortamına 5 mg/l 2,4-D, 5 mg/l kinetin, 120 g/l sakkaroz ve 27,8 mg/l FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O+37,3 mg/l Na<sub>2</sub>EDTA ilave etmenin embriyogenesi pozitif yönde etkilediğinin raporlamışlardır.

Biberde yapılan androgenesis çalışmalarında tam ve yoğunluğu azaltılmış MS ortamının, aktif kömürün ve FeEDTA’nın etkisini araştıran Vegeera and Havranek (1985), aktif kömürün embriyo gelişimini ve kültür süresini uzattığını, FeEDTA’nın globüler embriyo oranını arttırdığını belirlemişlerdir.

Gönülşen (1987), biberde gerçekleştirdikleri anter kültürü çalışmalarında anter alınma zamanını anter kültürü performansını etkileyen en önemli parametreler arasında göstererek, mikrosporogenesi üç ana safhaya ayırmış ve bu aşaları şu şekilde tanımlamışlardır; mayoz bölünme ve tetratların oluşması, tetratların ayrılması ve mikrosporların gelişmesi, mikrosporların polen tanesi haline dönüşmesidir. Bu aşamalardan; polenlerin tek çekirdekli olduğu aşama olarak ikinci aşama gösterilmiş, ikinci safhadan üçüncü safhaya geçişin 1. Mitoz bölünme aşamasına denk geldiği, üçüncü aşamayı da çok hücreli gametofitler olarak tanımlamıştır.

Çömlekçioğlu vd. (1999), yerel biber popülasyonları üzerinde (Şanlıurfa ve Kahramanmaraş) yürüttükleri doku kültürü çalışmalarında kültür koşullarının optimizasyonu ve uygun besi ortamlarının özelliklerini belirlemeye çalışmışlardır. Çalışmalarını 4 ayrı besi yeri (I.kombinasyon: 5 mg/l kinetin, 5 mg/l 2,4-D, 120 g/l sakkaroz, 27,8mg/l FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 37,3 mg/l Na<sub>2</sub>EDTA, II. kombinasyon: 0,01 mg/lkinetin, 30 g/l sakkaroz 0,01 mg/l 2,4-D, III. kombinasyon: 4 mg/l kinetin, 30

g/l sakkaroz, 1 mg/l NAA, % 0.25 aktif kömür, IV. kombinasyon: 4 mg/l NAA, 30 g/l sakkaroz, 0,1 mg/ BAP) ve iki ön sıcaklık (35 °C'de 8 gün ve 4 °C'de 2 gün ) uygulaması olacak şekilde planlamışlardır. Çalışma sonucunda 3. ve 4. Ortamlarından ve ön uygulama olarak 35°C sıcaklıkta 8 gün boyunca bekletme uygulamasından fazlaca haploid embriyo elde etmişlerdir. Aynı araştırmacıların Şanlıurfa ve Kahramanmaraş biber populasyonlarından anter kültürü yöntemiyle haploid bitki elde etmek için yaptıkları çalışmada MS ortamına ilave edilen gümüş nitratin ( $AgNO_3$ ) embriyo oluşumunu artırdığını belirlemişlerdir. (Alremi, 2013)

Terzioğlu vd. (2000), Kahramanmaraş bölgesinde yetiştirilen biber genotiplerinde besin ortamları ve farklı inkübasyon koşullarının anter kültürüne etkilerini araştırdıkları çalışmalarında besin ortamına aktif kömür ilavesinin embriyo oluşumu üzerinde olumlu etkileri olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar iki farklı inkübasyon koşullarını test etmişlerdir: 35°C sıcaklıkta 8 gün tutulduktan sonra 25°C sıcaklıkta 16/8 aydınlık/karanlık koşullarda tutulma ve 29°C sıcaklıkta sürekli aydınlık koşullarda bekletme. Denemeler neticesinde 29°C'de ve devamlı ışıktaki tutulan anterlerden daha başarılı sonuçlar alınmıştır. Aynı araştırmacılar çalışmalarında uygun tomurcuk alma zamanını belirlemeye yönelik uygulamalarda çalışmalarında yer vererek mikrosporların tek çekirdekli olduğu aşamayı belirlemek için asetokarmin ile boyanan ezme preparatlarından tek çekirdekli mikrospor aşamasındaki anterlerin hangi uzunlukta oldukları ve fiziksel görünüşleri hakkında bilgiler vermişlerdir. Bu tomurcukları soluk yeşil renkli, 5-7 mm uzunluğa sahip ve kenarları açık mavi renkli olarak ifade etmişlerdir. Anter kültürü için en uygun materyallerin yine bu tarife uyan materyaller olduğunu ve bu materyallerin birinci mitoz safhasındaki tek çekirdekli mikrosporları bulunduran ve olgunlaşmamış anterler olarak tanımlamışlardır.

Biberde farklı sıcaklık ön uygulamalarını kıyasladıkları çalışmalarında Ellialtıoğlu ve ark., (2000); 4-10 °C'ler de, 72 saat ile 4 hafta arasında tutulan tomurcukların androgenesis performanslarını yüksek bulurken, Morrison ve ark., (1986), Sunderland ve Roberts (1979) ise 7-15 °C sıcaklıklarda uzun süre (bir-iki hafta) bekletmenin, düşük sıcaklıkta kısa süreli bekletmeye göre daha başarılı olduğunu raporlamışlardır. Biner vd. (2001) ise; besi yeri olarak MS+ 5 mg/l 2,4-

D, 5 mg/l kinetin, %30 sakkaroz ilave olarak %1 aktif kömür kullanmışlardır. Çalışmalarında; sıcaklık ve karanlık/aydınlık uygulamaları yapmış ve denemelerini 25°C sıcaklıkta 7 gün tutma, 35°C sıcaklıkta 7 gün karanlıkta tutma, 25°C sıcaklıkta 16 saat aydınlık/8 saat karanlıkta tutmak şeklinde planlamışlardır. Sonuç olarak 25 °C'de 1 hafta bekletmeden daha başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Soğuk uygulamalarında olumlu sonuçların alındığını ancak oranların genotiplere göre değiştiğini ifade etmişlerdir.

Elliältioğlu vd. (2001), Kahramanmaraş yerel biber genotipleri kullandıkları anter kültürü çalışmalarında farklı medya ve inkübasyon koşullarının etkilerini araştırmışlardır. Besi yeri tercihlerini Dumas de Vaultx et al. (1981)'un geliştirilmiş olduğu 5 mg/l kinetin, 5 mg/l 2,4-D eklenmiş C ortamı ve 4 mg/l NAA, 1 mg/l BA ilaveli MS olarak kullanmışlardır. Kontrol grubu ayrı tutularak ortamlara %1 aktif kömür ve %1 aktif kömür+ 200 ml/l havuç ekstraktı beraber eklenmiştir. Petriler önce 35 °C karanlık koşullarda 8 gün tutulduktan sonra 25 °C sıcaklık koşulunda 0,1 mg/l kinetin ilave edilmiş R ortamına aktarılmıştır. Bir diğer inkübasyon koşulu 29°C sıcaklıkta devamlı surette aydınlatma şeklinde planlanmış ve embriyogenesis açısından en başarılı sonuçlar 29 °C sıcaklıkta devamlı aydınlatmalı şartlarda bekletilen ve aktif kömür ve havuç ekstraktı eklenmemiş (MS) ortamından alınmıştır.

Çiner ve Tıyrıdamaz (2002), Malatya bölgesine ait biber genotipinde uygun tomurcuk büyüklüğünü belirlemeye yönelik olarak yaptıkları çalışmalarında ezme preparat ve parafin uygulamalarından faydalanmışlar ve en uygun safha olarak mikrosporların henüz tek çekirdekli olduğu 1. Mitoz bölünme safhasında oldukları dönem olarak tanımlamışlardır. Bu aşamada tomurcukları sınıflandırdıklarında tomurcukların 7mm boyunda ve 5mm çapında olduklarını, anter renginin yeşil olduğunu ve anterlerin uçlarında mor renk görüldüğünü raporlamışlardır. Yine bu çalışmada soğuk uygulaması bitki büyüme bützenleyicileri ve aktif kömürün etkilerini de incelemişlerdir. Soğukta bekletme 4 °C'de, 48 ve 96 saat olarak planlanmış, hormonlar; 4 mg/l NAA, 1 mg/l BAP /1 mg/lNAA, 4 mg/l BAP, aktif kömür; % 0,25 ve yok olarak planlanmıştır, ortamların temel besin içeriği ise; ise %3 sakkaroz, % 0,8 agar içeren MS ortamı şeklindedir. Bu çalışmada ön

uygulama görmemiş, aktif kömürlü 4 mg/l NAA ve 1 mg/l BAP hormonları ilave edilmiş ortam en başarılı sonucu vermiştir.

Sayılr ve Özzambak (2002) biberde yürüttükleri anter kültürü çalışmalarında 4-6 mm uzunluğundaki tomurcukların kallus oluşumu ve embriyogenesis başarısının yüksek olduğunu ifade etmişlerdir.

Sayılr ve Özzambak (2005), anter kültürü için uygun tomurcuk büyüklüğü, besin ortamı içeriği ve soğuk uygulama süresinin etkinliğini belirlemeye çalışmıştıkları çalışmalarında 6 farklı biber çeşidi kullanmışlardır. Besi ortamı olarak MS ortamına ilave edilmiş 0,1 mg/l BA, 4 mg/l NAA, havuç ekstraktı ve farklı aktif kömür dozları ihtiva eden B5 ve MS ortamlarının 6 değişik kombinasyonu denenmiştir. Çalışma sonucunda uygun tomurcuk büyüklüğü 5-6 mm uzunluğundaki tomurcuklar olarak raporlanırken ortamlar arasında en başarılı sonuçlara ise 0,1 mg/l BA, 4 mg/l NAA içeren MS ortamından ulaşılmıştır.

Taşkın (2005), biberde anter kültüründe besin ortamları, genotip ve farklı anter alma dönemleri arasındaki interaksyonu incelediği doktora tezinde üç kez kendileme(selfing) işlemi uygulanmış düşük sıcaklığa toleranslı olan A313,A71, A269 kodlu genotipler, orta dayanıklı A109 kodlu genotip hassas olarak ise A74 kodlu genotipi tercih etmişlerdir. Araştırmada dört ayrı yetiştirme ortamı kullanılmıştır. Kullanılan 5 farklı genotip için embriyogenesis ve bitkiye rejenerasyonunun farklı anter alma zamanları ile olan ilişkisini ortaya koymak için anterler değişik tarihlerde ortama alınmıştır. Kültüre alınan ortamlarda gelişme geriliği gösteren embriyolar 10 gün boyunca 0.5 mg/l ABA ihtiva eden ortamlara transfer edilerek absisik asitin embriyogenesis performansına etkisi ortaya konmaya çalışılmıştır. Sonuç olarak embriyogenesis ve organogenesis performansı genotip, besi yeri içeriği ve anterlerin alınma dönemlerine göre değişim göstermiştir. Genotipler embriyogenesis performansları açısından değerlendirildiğinde soğuğa toleransı yüksek 269 nolu genotip en yüksek başarıyı göstermiştir. Anterin alındığı dönemler kıyaslandığında Nisan ve Mayıs aylarında alınan anterlerden daha yüksek performans sağlandığı görülmüştür. Yetiştirme ortamları kıyaslandığında III nolu ortam (MS+ 30 g/l sakkaroz, % 0.25 aktif kömür, 15 mg/l gümüş nitrat, 1 mg/l BAP, 4 mg/l NAA) ve IV nolu ortamlardan

(MS+ 30 g/l sakkaroz, % 0.25 aktif kömür, 15 mg/l gümüş nitrat, 4 mg/l NAA, 0.1 mg/l BAP) daha yüksek oranda embriyo elde edilmiştir. Absisik asit uygulaması olumlu sonuç vermezken bitkiye dönüşüm, hormonsuz Murashige and Skoog ortamına alınan olgun embriyolardan sağlanmıştır.

Ata (2011), çalışmasında farklı biber genotiplerinin (yüksek sıcaklığa tolerant İnan 3363 çeşidi, hassas 277 nolu genotip ile düşük sıcaklığa tolerant 421 kodlu genotip ve hassas 195 kodlu genotip), farklı kültüre alma zamanları ve yetiştirme ortamına eklenen 2 farklı büyüme düzenleyicisi(BAP) dozunun androgenesis performansını nasıl etkilediğini test etmişlerdir. Yılın farklı aylarında (Şubat, Mayıs ve Ağustos, Ekim) ve kültüre almanın 0.,1., 2., 3., 4., 8. ve 14. günlerinde anterleri alarak fiksasyon çözeltilisiyle sabitlemiş, asetokarmen, DAPI gibi özel boyamalar sayesinde mikrosporların hangi gelişim döneminde olduklarını saptanmışlardır. İnan 3363 nolu genotip en yüksek embriyo verimi ile öne çıkarken, anterlerin alındığı dönemlerinkarşılaştırıldığında ise Nisan ve Ağustos aylarının öne çıktığı raporlanmıştır. (MS + 0.1mg/l BAP, 30 g/l sakkaroz, 4 mg/l NAA, 15 mg/l AgNO<sub>3</sub>, % 0.25 aktif kömür,) Ocak, Nisan, Eylül, Kasım ve Aralık, (MS + 30 g/l sakkaroz, 0,5 mg/l BAP % 0.25 aktif kömür, 15 mg/l AgNO<sub>3</sub>, 4 mg/l NAA) ortamı ise Temmuz, Ağustos, Ekim, Mart ve Mayıs dönemlerinde daha başarılı görülmüştür. Bitki rejenerasyonu açısından değerlendirildiğinde en yüksek dönüşüm Nisan ayından alınmıştır.

Olszewska et al. (2013), çalışmalarında *C. annuum*'un tür içi 4 adet hibriti, *C. Chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* var. *Pendulum*, türleri, *C. frutescens* × *C. chinense*'nin melezleri, *C. frutescens* × *C. baccatum*'un melezleri ile F1'lerden elde üretilmiş dihaploid hatları kullanarak 17 farklı biber genotipini 3 farklı inkübasyon periyodu (12, 14 ve 16 gün) ile 2 ayrı kinetin dozunun (0.1 - 0.3 mg/l) etkisini birlikte incelemişlerdir. Denemede kontrol olarak CP ortamında 12 gün bekletme, 0.1 mg/l kinetin ihtiva eden R1 ortamı kullanılmış ve kontrol gurubunda sadece 3 genotipten yanıt alınmıştır, 0.1 mg/l kinetin ihtiva eden ve 16 gün bekletme uygulaması ile R1 ortamı en başarılı sonuçları verirken. 12 ve 14 gün inkübasyon, 0.3 mg/l kinetin dozunda ise ve 12-14 gün inkübasyon daha başarılı sonuçlar vermiştir.

Parra-Vega et al. (2013), biberde polen gelişim aşamalarını 7 safha olarak değerlendirmiştir. Bunlar; ‘’Meiocytes ve tetrad aşaması, genç mikrospor, orta mikrospor, boşluklu mikrospor, genç biselüler polen tanecikleri, orta biselüler polen tanecikleri ve gelişmiş biselüler polen tanecikleri’’ olarak ifade edilmiştir. Fiziksel gözleme dayalı olarak taç ve çanak yaprakların eşit olduğu dönemin (5. ve 6. Safha) aşamalarına denk geldiğini ve bu aşamalarda anterlerin sarıdan mora döndüğünü bildirmiştir. Anter uzunluklarının genotiplere göre değiştiğini ifade etmiş sonuç olarak ise anter büyümesi ve mikrospor gelişimi arasında paralellik olduğunu ve polen gelişiminin orta biselüler safhaya kadar devam ettiğini ifade etmişlerdir.

Alremi et al. (2014), biber anter kültüründe ortam ve genotip interaksiyonunu araştırmak için gerçekleştirdiği çalışmada 3 ayrı genotip ve bir çeşidi (B, 151 ve 171 kodlu hatlar ve Alfajer çeşidi) 16 farklı ortam kombinasyonunda deneyerek embriyo oluşum oranlarını karşılaştırmışlardır. Besin ortamı olarak MS (1962) medyasının 8 ayrı kombinasyonu (B serisi, B1-B8) ile Dumas de Vaulx ve ark. (1981) medyasının 8 ayrı kombinasyonu (C serisi, C1-C8) kullanılmıştır. Genotipler; embriyogenik anter sayısı, anterdeki embriyo sayısı ile organogenesis oranları açısından değerlendirilmiş ve Alfajer ile B hattı daha başarılı bulunmuştur, ortamlar açısından değerlendirilme yapıldığında ise C serisi ortamların 2,4-D+Kinetin ve içeren versiyonları öne çıkmıştır. MS ortamı+(NAA,BAP) içeren B serisi ortamda ise 151 ve 171 kodlu yerel genotipler daha yüksek başarı sağlamıştır. Yetiştirme ortamına aktif kömür (% 0.25) eklenmesinin genotiplere bağlı olmak koşulu ile embriyo oluşumunu teşvik ettiği belirtilmiştir. Embriyogenesis açısından en yüksek sonuçlar B5 ortamının gümüş nitrat içermeyen kombinasyonundan alınmış ve bu ortamı C6, B3, B2, B7 kombinasyonları izlemiştir. Oluşan embriyoların tamamı (B3 ortamında elde edilenler hariç) bitkiye dönüşmüştür. Alfajer çeşidi ve B ıslah hattı, 151 ve 171 numaralı genotiplerden daha yüksek başarı göstermiştir. Ploidi düzeyine ilişkin bulgular değerlendirildiğinde, elde edilen embriyolardan gelişen bitkilerin %94’ünün haploid kromozom yapısında olduğu saptanmıştır.

Özsan (2014), yüksek lisans çalışmasında 4 farklı genetik ilerleme seviyesindeki biber genotipini kullanarak, genetik ilerleme seviyelerinin anter ve

mikrospor kültürlerinde haploid embriyo eldesi üzerine etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla çalışmada kullanılan biber genotiplerine ait tomurcukların sınıflandırması yapılmıştır. Uygun mikrospor aşamasının belirlenmesi amacıyla gruplandırılan tomurcuklar ethidium bromid boyama tekniği kullanılarak boyanmıştır. Çalışmada anter kültürü için MS, mikrospor kültürü için ise B5 besi ortamları kullanılmış olup, bu temel besi ortamlarına anter kültürü için 1 mg/l BA + 4 mg/l NAA hormon kombinasyonu ilave edilirken, mikrospor kültürü için ise 0.2 mg/l kinetin + 0.1 mg/l 2,4-D hormon kombinasyonu eklenen besi ortamları kullanılmıştır. Çalışmanın anter kültürü kısmında anterlere 8 gün süreyle +35 °C sıcaklık ön uygulaması işlemi yapılmıştır. Mikrospor kültürü kısmında ise mikrospora haploid embriyo oluşumunu uyartmak amacıyla anterlerin kültüre alınmasından önce ilk 7 gün boyunca +32 °C sıcaklık ve 0.3 M mannitol içeren ortamda bekletilmesiyle ön uygulama işlemi yapılmıştır. Kültürü tamamlanan anter kültürüne ait petriler 25 °C sıcaklık, 16 saat aydınlık/8 saat karanlık fotoperiyot ve 3000 lüks aydınlatmaya sahip olan büyüme odasına alınırken, mikrospor kültürüne ait petrilerin ise 25 °C 'de karanlık koşullarda kültürlerinin devamlılığı sağlanmıştır. Çalışmada sıcaklık ön uygulamalarının ve açlık ön uygulamasının herhangi bir etkisi gözlemlenmemiş olup, elde edilen sonuçlarda kallus, embriyo benzeri yapılar ve embriyoların oluştuğu saptanmıştır. Çalışılan genotipler arasında anter kültürüne gösterdikleri tepki bakımından F4 hattına ait anterlerin %15.07 oranında torpedo embriyo oluşturması dolayısıyla en başarılı genetik ilerleme seviyesinde olduğu saptanmıştır. Mikrospor kültüründe yapılan değerlendirmelere göre ise çalışılan genotipler bazında bakıldığında yine F4 hattının % 13.89 embriyo oluşum oranı ile mikrospor kültürüne en iyi tepkiyi veren genotip olduğu belirlenmiştir. Kullanılan diğer genotiplerde farklı oranlarda kallus oluşumu gözlemlenirken, embriyo oluşumu saptanmamıştır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, 2018-2019 yılları arasında Tohumluk Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı ve Ege Üniversitesi Tohumculuk Uygulama ve Araştırma Merkezi (TOTEM) laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında kullanılan bitkisel materyaller AD-Rossen firmasına ait hibrit biber çeşitleridir.

#### 3.1 Gereç

##### 3.1.1 Çalışmada kullanılan çeşitler ve özellikleri

Denemede bitki materyali olarak dolma tipinde 2 farklı çeşit / kapyta tipinde 2 farklı çeşit olmak üzere toplamda 4 farklı biber çeşidi kullanılmıştır.

**Kapia A :** (12-081) Adana bölgesi açık saha çeşidi olup, 2 loblu, et kalınlığı orta, sap çukuru düz, meyve rengi açık yeşil, ortalama 1 meyve ağırlığı 130 gramdır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Kapia A çeşidi (a) serada bitki görseli (b) meyve görseli.

**Kapia B :** (10-714) Açık saha yetiştiriciliği için uygun tatlı bir çeşittir, 2-3 loblu, et kalınlığı kalın, sap çukuru düz, meyve rengi yeşil, ortalama 1 meyve ağırlığı 130 gramdır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Kapia B çeşidi meyve görselleri.

**Dolma 39** : (15-416) Örtüaltı yetiştiriciliği için uygun kışlık bir çeşittir, geçici olum grubunda, 3 loblu, et kalınlığı orta, sap çukuru derin, meyve rengi açık yeşil, ortalama 1 meyve ağırlığı 85 gramdır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Dolma 39 çeşidi (a) serada bitki görseli (b) meyve görseli.

**Dolma 47** : (12-013) Tokat için yazlık ve Mısır için kışlık olarak değerlendirilen bu çeşit, uzun dolmalık grupta olup, ince kabuklu, 4 loblu, et

kalınlığı orta, sap cukuru derin, meyve rengi açık yeşil, ortalama 1 meyve ağırlığı 80 gramdır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Dolma 47 çeşidi (a) serada bitki görseli (b) meyve görseli.

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 Bitkilerin yetiştirilmesi

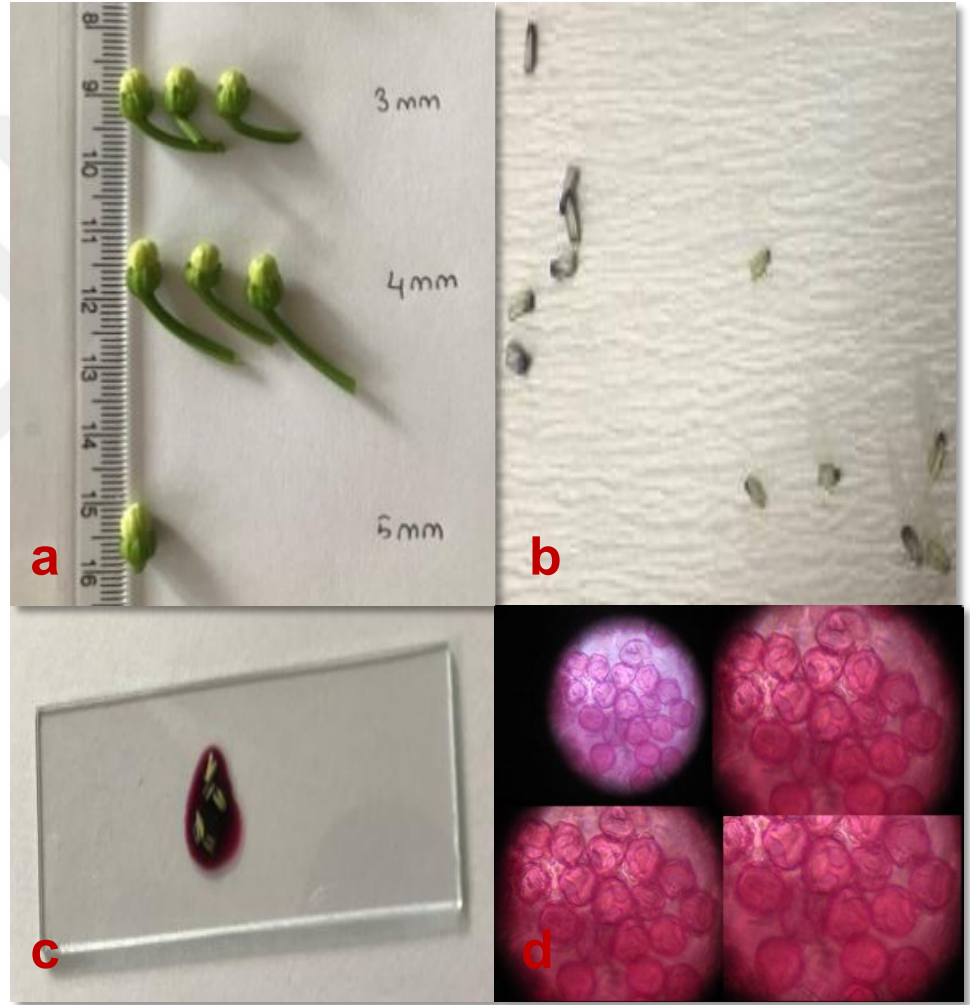
AD-Rossen firmasından 05.08.2018 tarihinde tohum ekimi yapılan ve 05.09.2018 tarihinde fide dikimi gerçekleştirilen bitkilerden 18.12.2018 tarihinde alınan farklı büyüklükteki tomurcuklar alınmıştır.

Genotiplerden alınan 3-5mm arasındaki anterler, MS medyasına iki ayrı karbonhidrat kaynağı (maltoz ve sakkaroz) ile iki farklı ön sıcaklık uygulamasının (25 °C 6 gün, 35 °C 6 gün) denendiği 4 farklı ortamda kallus oluşturma performansları incelenmiştir.

### 3.2.2 Uygun anterler seçimi

Bu çalışmada, anterler 1-7 mm arasında gruplandırılarak, mikrosporların hangi gelişme aşamasında olduğu asetokarmen ile boyanarak belirlenmiştir (Şekil 3.5). Bitkilerden 1 mm ile 7 mm arasındaki tomurcuklar seçilmiş ve çiçek parçaları sepal, petal, kaliks, filament, ovaryum kısımları özenli bir şekilde

uzaklaştırılmıştır (şekil 3.5 b). Anterlerin ayırma işlemi tamamlandıktan sonra lam üzerine alınarak asetokarmen ilavesi ile preparatlar hazırlanmıştır. Lam ve lamel arasında dikkatlice yerleştirilen anterlerin açılması ve mikrosporların görünür hale gelmesi için bastırma işlemi uygulanmıştır (şekil 3.5c). Hazırlanan preparatlar mikroskop altında incelenerek mikrosporların tek çekirdekli olduğu aşamaya denk gelen tomurcuk büyüklüğü saptanmıştır (şekil 3.5d). Sonuç olarak, 3-5 mm uzunluktaki anterlerin tek çekirdekli aşamada olduğu ve çalışmaya bu büyüklükteki anterlerle devam etmenin doğru olacağı anlaşılmıştır (şekil 3.5a).

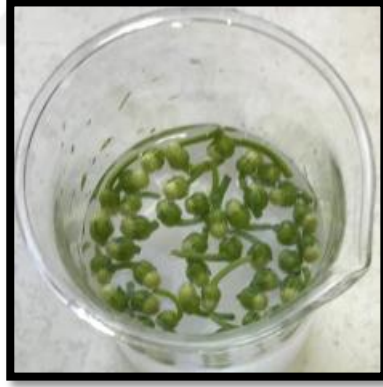


Şekil 3.5. (a) Tomurcukların boylanması, (b) Tomurcuklardan anterlerin çıkarılması, (c) Asetokarmen boyama görüntüsü, (d) Mikrosporların mikroskop altında tek çekirdekli gelişim aşaması

### 3.2.3 Kültür sırasında kullanılan malzemeler ve bitkisel materyallerin sterilizasyonu

Anter kültürü çalışmaları boyunca her aşamada farklı petri kapları kullanılmıştır. Kültüre alma sırasında kabinde kullanılan malzemeler etüvde 170 °C sıcaklıkta 1 saat süreyle steril edilmiştir.

Bitkisel materyallerin sterilizasyonunda ise %70'lik etil alkol ve %20'lik sodyum hipoklorid kullanılmıştır. Sterilizasyonda kullanılacak olan %70'lik etil alkol, saf sular, steril kurutma kağıtları ve %20'lik sodyum hipoklorid yüzey sterilizasyonu için 15 dk steril kabin içerisinde UV ışık altında bekletilmiştir. UV sterilizasyonu bitmesinin ardından tomurcuklar öncelikle 1dk boyunca %70'lik etil alkol ile çalkalanmıştır ve 1 dakika boyunca saf sudan geçirilerek %20'lik sodyum hipoklorit içerisinde bekletilmiş (yaklaşık yarım saat) 3 kez saf sudan geçirilerek durulanmış ve steril kurutma kağıdı üzerine alınarak hafifçe kurulanmıştır (şekil 3.6).



şekil 3.6. Tomurcuk dezenfeksiyonu.

### 3.2.4 Kültüre alınma şartları ve n sıcaklık uygulamaları

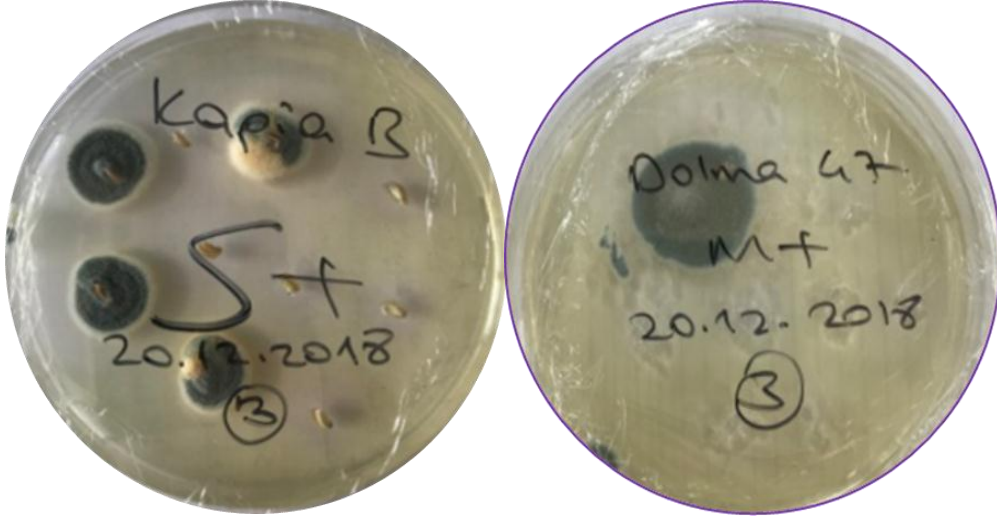
Çalışmada biber anter kültürü çalışmalarında denenmiş ve başarılı sonuçları literatürlerle desteklenmiş MS ortamına ilaveten iki ayrı şekerlerin (sakkaroz ve maltoz ) ve farklı sıcaklık derecelerinde (25-35°C) bekletmenin, kallus oluşumuna etkisini incelemek için (izelde 3.1)' de gösterilen 2 ayrı ortam test edilmiştir.

Çizelge 3.1 de içeriği verilen ortamlar gereken miktarda hazırlandıktan sonra pH metre yardımı ile ölçüm yapılmış pH'sı 5,8'e sabitlenmiştir. pH değerinin düşük olması halinde 1 N NaOH, yüksek olması halinde ise 1 N HCl kullanılarak pH istenilen seviyeye sabitlenmiştir. pH ölçüm işleminin ardından çözeltiye % 0,7'lik agar eklenmiş ve jelleşme sağlanmıştır. 2 lt lik erlenmayerlerde hazırlanan ortamlar alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra ağzuları pamuk ile kapatılarak 1 atm basınç altında 15 dk boyunca 121°C'de otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Otoklavlama işleminin ardından erlenmayer yüzeysel sterilizasyona tabi tutularak steril kabin içerisine alınmış ve yine steril petrilere 10-15 ml oranında dökülmüşlerdir. Streçleme ve etiketleme çalışmalarının ardından petrilere UV ışık altında 12 saat bekletilmiş ve ardından anterlerin ekimine geçilmiştir.

Her bir petri kabına on adet olacak şekilde anterler ekilmiş ve deneme 5 tekrarlı olarak kurulmuştur. MS besin ortamına ekimi gerçekleştirilen anterler, 25-35 °C lerde ve karanlık koşullarda 6 gün boyunca ön uygulamaya maruz bırakılmışlardır. Ön uygulama işleminin tamamlanmasının ardından petrilere 1500-2000 lüks yoğunluk ve (25±1 °C) sıcaklık şartlarına sabitlenen iklim odasına transfer edilmişlerdir. Deneme boyunca kültüre alınan anterlerde düzenli olarak her gün kontaminasyon kontrolü yapılmış ve bulaşma görülen petrilere ortamdan uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.7). Her ay düzenli olarak dokuların yeni ortamlara transferi sağlanmış 3. ve 4. alt kültüre alınma işleminde ise elde edilen dokuların organ rejenerasyonu göstermeleri için BAP dozu iki katına çıkarılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Anter kültürü çalışmasında kullanılan besin ortamları ve içerikleri

ORTAMLAR	ŞEKER	ÖN UYGULAMA	NAA	BAP 1.ve 2. alt kültür	BAP 3.ve 4. alt kültür	AgNO <sub>3</sub>	Aktif karbon
1	MALTOZ	25 C 6 gün	4 mg/l	0,1 mg/l	0,2 mg/l	15mg/l	0,250gr/l
2		35 C 6 gün					
3	SAKKAROZ	25 C 6 gün					
4		35 C 6 gün					



Şekil 3.7. Fungal bulaşıklık gösteren petriler.

### 3.3 İstatistik Analizler

Araştırmanın laboratuvar kısmında yapılan çalışmadan elde edilen tüm veriler beş tekerrürlü tesadüf blokları deneme desenine göre TARİST istatistik paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuştur. Her bir uygulama için anter sayısı tekerrür sayısı, tesadüf parselleri. Her bir uygulamanın kallus oluşumuna etkileri % olarak değerlendirilmiştir. Ortalamaların karşılaştırılması LSD testine göre yapılmış ve karşılaştırmalarda % 5 önemlilik seviyesi ele alınmıştır (Açıkgöz ve ark., 1994).

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Deneme ile ilgili sonuçlar incelendiğinde, kallus oluşumu üzerine; çeşit\*ortam\*ön uygulama üçlü interaksiyonu, çeşit\*ön uygulama ve ortam\*ön uygulama ikili interaksiyonları % 5 seviyesinde istatistiki önemde bulunmuş, çeşit\*ortam ikili interaksiyonu ise önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Uygulamaların kallus oluşumunda çeşit ve karbonhidrat kaynağı ilişkisi (Varyans analiz tablosu)

#### VARYANS ANALİZ TABLOSU

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F değeri	Tablo değeri %5	Tablo değeri %1
Tekerrür	4	13.991	3.498	3.221*	2.602	3.812
Çeşit	3	89.100	29.700	27.350**	2.832	4.292
Ortam	1	51.320	51.320	47.259**	4.072	7.287
A*B	3	4.665	1.555	1.432 ns	2.832	4.292
Ön uygulama	1	4.661	4.661	4.292*	4.072	7.287
A*C	3	28.058	9.353	8.613**	2.832	4.292
B*C	1	20.537	20.537	18.912**	4.072	7.287
A*B*C	3	21.106	7.035	6.479**	2.832	4.292
Hata	42	45.609	1.086			
Genel	61	279.048	4.575			

ns = önemsiz (not significant)

\* =önemli %5 alfa seviyesinde (significant at alfa level %5)

\*\* = önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

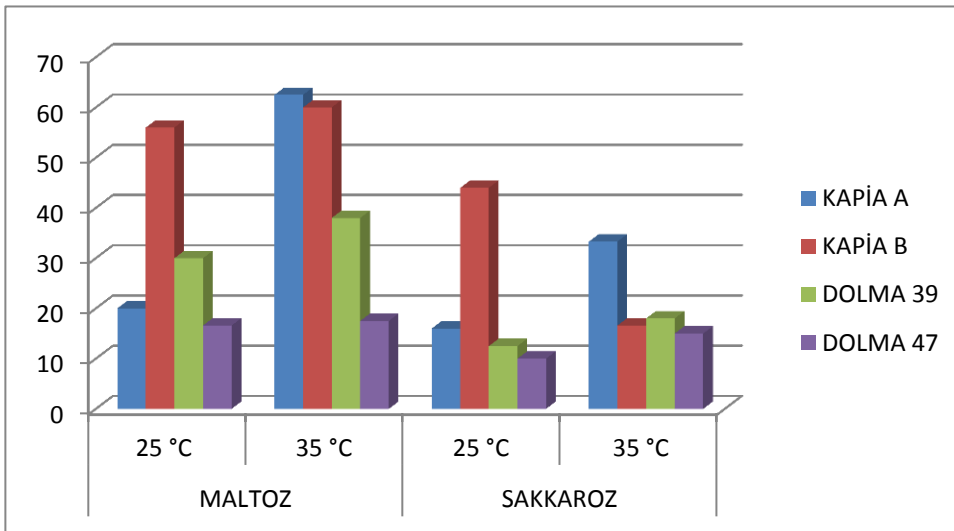
Çizelge 4.2.'de üçlü interaksiyon tablosu ve Şekil 4.1'deki kallus oluşum grafikleri incelendiğinde, en yüksek kallus oluşum oranlarının Kapia A (%62,5) ve Kapia B (%60,0) çeşitlerinde ve 35 °C de 6 gün (karanlık) koşullarda bekletildikten sonra maltoz içerikli besi ortamına alınan petrilere elde edildiği belirlenmiştir. Aynı çeşitlerin aynı ön uygulamadaki sakkaroz içerikli besi ortamında ise kallus oluşum oranları sırasıyla %33,3 ve %16,6 olarak görülmektedir. Kapia A çeşidinin 25 °C sıcaklık ön uygulaması sonrası kallus oluşum oranları maltoz ortamında % 20, sakkaroz ortamında ise % 16, aynı

koşullarda Kapia B'nin kallus oluşum oranları ise sırasıyla % 56 ve % 44 olarak görülmektedir.

Dolmalık çeşitlerin kallus oluşum oranları değerlendirildiğinde, Dolma 39 çeşidinin en yüksek kallus oluşum gösterdiği ortam, maltoz (35°C sıcaklık ön uygulaması) %38, en düşük başarı gösterdiği ortam ise sakkaroz (25°C sıcaklık ön uygulaması) %12,5 olmuştur. Maltoz (25°C sıcaklık ön uygulaması) %30 kallus oluşum başarısıyla 2. sırada yer alırken sakkaroz (35°C sıcaklık ön uygulaması) ortamı % 18 lik başarıyla 3. sırada yer almıştır. Dolma 47 çeşidi de Dolma 39 çeşidi gibi en yüksek başarıyı %17,5 ile maltoz(35°C sıcaklık ön uygulaması) ortamında göstermiş, maltoz (25°C sıcaklık ön uygulaması) % 16,6 ile 2. sakkaroz (35°C sıcaklık ön uygulaması) %15,5 ile 3.,% 10 ile Sakkaroz (25°C sıcaklık ön uygulaması) son sırada kalmıştır.

Çizelge 4.2. Uygulamaların kallus oluşum oranı (%) üzerine etkisi

ÇEŞİT	MALTOZ		SAKKAROZ	
	25 °C	35 °C	25 °C	35 °C
KAPİA A	20 def	62,5 a	16,0 ef	33,3 cde
KAPİA B	56,0 ab	60,0 a	44,0 abc	16,6 ef
DOLMA 39	30,0 cdef	38,0 bcd	12,5 ef	18,0 def
DOLMA 47	16,6 ef	17,5 def	10,0 f	15,0 ef

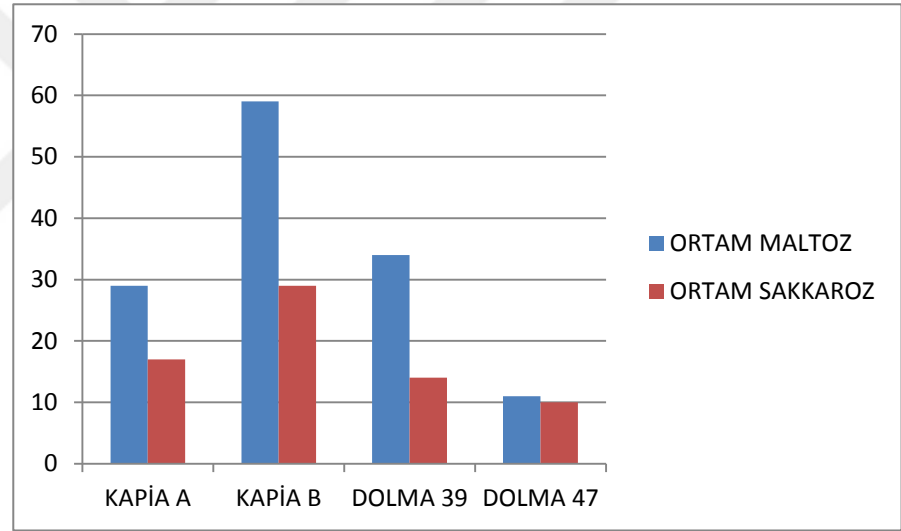


Şekil 4.1. Çeşitlerin ortamlar ve ön uygulamalara göre kallus oranları.

Çeşit\*ortam interaksiyonu istatistiki önemde bulunmamakla birlikte, Çizelge 4.3 incelendiğinde en yüksek kallus oranı maltoz besi ortamında Kapia B ve Dolma 39 çeşidinden elde edilmiştir. Tüm genotiplerde sakkaroz içeren besi ortamında kallus oluşum oranları maltoz içeren besi ortamına göre daha düşük bulunmuştur (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2).

Çizelge 4.3. Çeşitlerin ortamlara göre kallus oluşum oranları (%)

ÇEŞİT	ORTAM	
	MALTOZ	SAKKAROZ
KAPİA A	29,0	17,0
KAPİA B	59,0	29,0
DOLMA 39	34,0	14,0
DOLMA 47	11,0	10,0

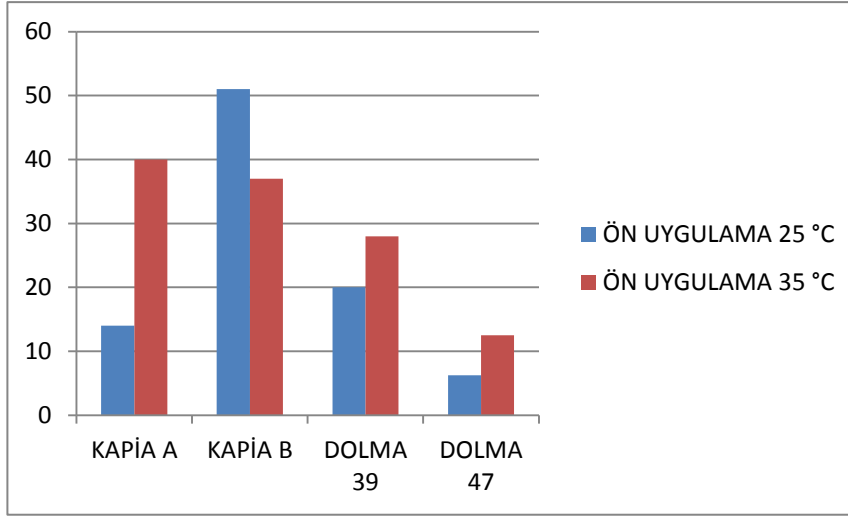


Şekil 4.2. Çeşitlerin Ortamlara göre kallus oranları.

Ön uygulamalara bağlı olarak çeşitlerin kallus oluşum oranları farklılık göstermiştir. Kallus oluşum oranı en yüksek Kapia B çeşidinin 25 °C ön uygulamasından elde edilmiş, bunu Kapia A çeşidinin 35 °C ön uygulaması takip etmiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.3).

Çizelge 4.4. Çeşitlerin ön uygulamalara göre kallus oranları

ÇEŞİT	ÖN UYGULAMA	
	25 °C	35 °C
<b>KAPİA A</b>	14,0 ef	40,0 b
<b>KAPİA B</b>	51,0 a	37,0 bc
<b>DOLMA 39</b>	20,0 de	28,0 cd
<b>DOLMA 47</b>	06,25 f	12,5 ef

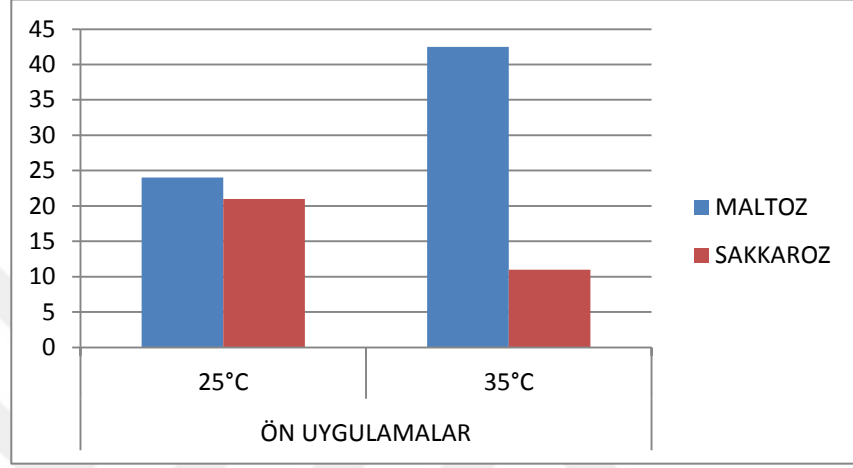


Şekil 4.3. Çeşitlerin ön uygulamalara göre kallus oranları.

Genotiplere bakmaksızın, besi ortamındaki karbon hidrat kaynağı ve ön uygulamalar bağlı olarak, kallus oluşum oranları incelendiğinde en iyi uygulamanın 35 °C ön uygulama+maltöz besi ortamı olduğu, en kötü uygulamanın ise 35 °C ön uygulama+sakkaröz besi ortamı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.5, Şekil 4.4).

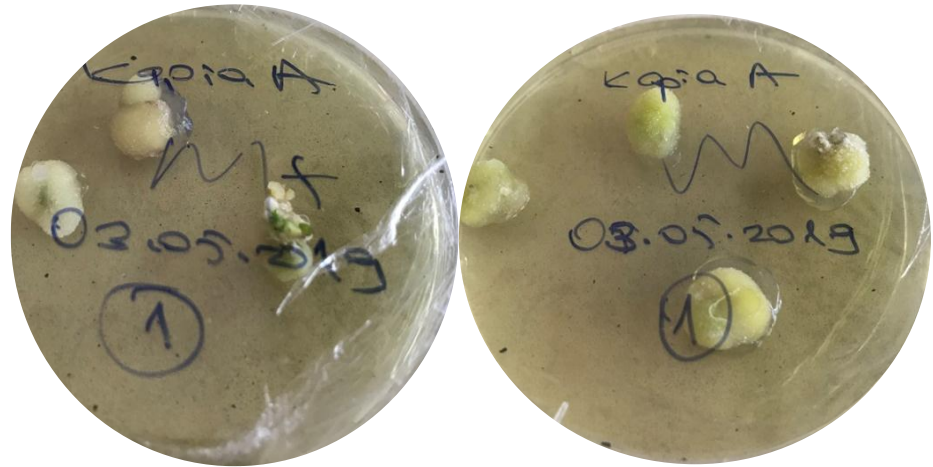
Çizelge 4.5. Karbonhidrat içeriği ve ön uygulamalara göre kallus oranları

ORTAMLAR	ÖN UYGULAMALAR	
	25°C	35°C
MALTOZ	24,0 b	42,5 a
SAKKAROZ	21,0 b	11,0 c

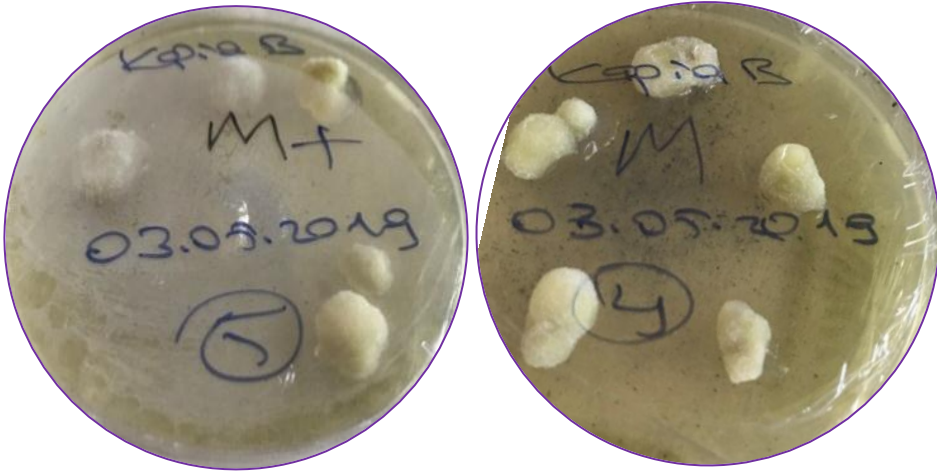


Şekil 4.4. Karbonhidrat kaynağı ve ön uygulamaların kallus oluşumu üzerine etkileri.

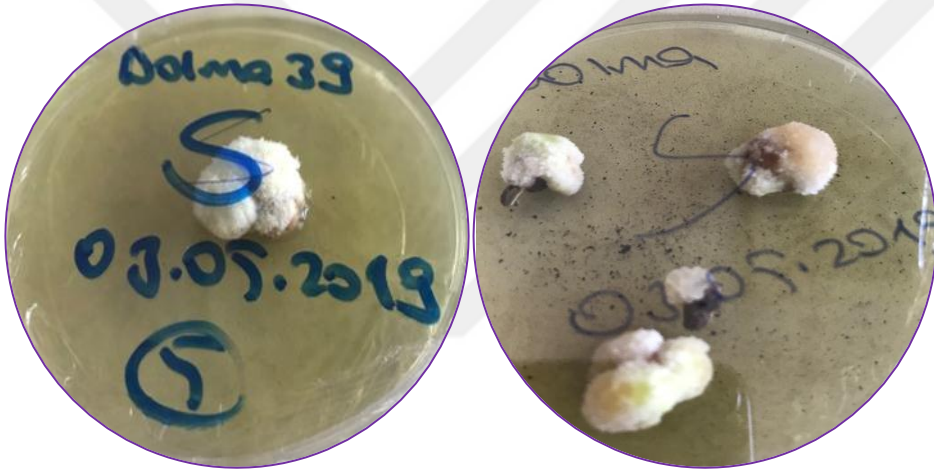
Kullanılan ortam kombinasyonları göz önüne alındığında her genotipte kallus oluşumu gözlenirken, bazı genotiplerde sürgün ve kök benzeri yapılar elde edilebilmiş (Şekil 4.5) ancak bazı genotiplerde sadece kallus oluşumu gözlenebilmiştir (Şekil 4.8). Ortamlar arasında, genotiplere bağlı olarak kallus oluşumu bakımından önemli farklılıklar saptanmıştır.



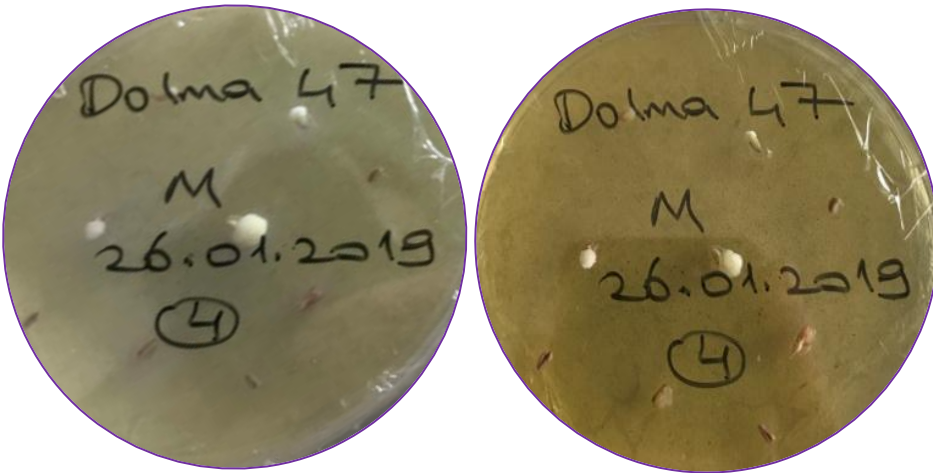
Şekil 4.5. Kopia A çeşidi kallus oluşumu görseli.



Şekil 4.6. Kapia B çeşidi kallus oluşumu görseli.



Şekil 4.7. Dolma 39 çeşidi kallus oluşumu görseli.



Şekil 4.8. Dolma 47 çeşidi kallus oluşumu görseli.

## 5.TARTIŞMA

Anter kültürü uygulamalarında haploid bitki eldesindeki başarı; anter kültürü tekniği, kullanılan ortamdan ve anterin alındığı genotipe kadar pek çok faktöre bağlıdır. Bu çalışmada kapyra ve dolma tipi farklı biber çeşitlerinin anter kültürü tekniğinde iki farklı ön uygulama sıcaklığı (25 °C ve 35°C) ve iki farklı şeker (maltoz ve sakkoroz) içerikli MS besin ortamının, kallus oluşum oranlarına etkileri araştırılmıştır.

Çalışmalar sonucunda elde edilen kallus yapıları kompakt yapıda, sert beyazımsı, beyaz ya da saydam olarak gözlemlenmiş ve bu yapıların embriyo uyartımı sağlayabilecek yapıda olmadıkları embriyo uyartımına pozitif yanıt veren kallus yapısının daha yumuşak olması gerektiği bilinmektedir.

Çalışmada en yüksek kallus oluşum oranı %62,5 ile Kapia A çeşidinde ve 35 °C de 6 gün (karanlık koşullarda) bekletildikten sonra maltoz besi ortamından elde edilmiştir. Bu sonuçlar Çömlekçioğlu vd. (1999), yerel biber popülasyonları üzerinde (Şanlıurfa ve Kahramanmaraş) yürüttükleri doku kültürü çalışmalarında alınan sonuçlarla benzerlik göstermektedir; bu çalışmada ön uygulama olarak 35°C sıcaklıkta 8 gün boyunca bekletme uygulamasından fazlaca haploid embriyo elde etmişlerdir. Ancak bu çalışma Ellialtıoğlu ve ark., (2000)'nın biberde yaptıkları çalışmalarla farklı sonuçlar göstermiştir araştırmacılar 25°C sıcaklıkta 7 gün tutma, 35°C sıcaklıkta 7 gün karanlıkta tutma, 25°C sıcaklıkta 16 saat aydınlık/8 saat karanlıkta tutmak şeklinde planlamışlar ve sonuç olarak 25 °C'de 1 hafta bekletmeden daha başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Bu farklılıkların genotip etkisinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

Dolma biber tiplerinde de anterlerden en yüksek kallus oluşumu yine 35°C'de ön uygulama sonrası maltoz besi ortamında elde edilmiştir. Kallus oluşum oranlarında genotiplere bağlı olarak başarı oranı değişmekle beraber, tüm genotipler 35°C'deki ön uygulamada en yüksek kallus oluşumunu göstermiştir. Nitekim biberde anter kültüründe 35 °C'de karanlıkta bekletme ön uygulamasının başarıyı arttırdığını belirlemişlerdir (Barany et al., 2005; Kim et al., 2004)

Genotipin anter kültürü başarısını doğrudan kontrol eden en önemli etken olduğu pekçok araştırmacı tarafından onaylanmıştır. Ochoa-Alejo et. al., (2001) ve Berljak, (1999), çalışmalarında biberde genotip ve bazı morfolojik özellikler nedeniyle diğer *Solanaceae* grubu sebzeleri kadar yüksek başarı sağlanamadığı ortaya konmuştur. Bu çalışma kapsamında kullanılan 4 genotip, kallus oluşumu bakımından değerlendirildiğinde en fazla kallus oluşumu Kapia B çeşidinden %44 elde edilmiş, bunu sırasıyla Kapia A (% 27), Dolma 39 (% 24) ve Dolma 47 (%15) çeşitleri izlemiştir.

Sayılr ve Özzambak (2005) ve Niklas-Nowak et al. (2012) gerçekleştirdikleri anter kültürü çalışmalarında biberde başarının *Capsicum* cinsinin içindeki türlerde, kültüre alınan bitkiler arasında ya da hibrit formlarına göre değil aynı kültür çeşidi içerisinde bireysel bitkilere göre bile değişebileceğini belirtmektedir.

Biberde anter kültürü çalışmalarında Murashige and Skoog (1969) ve Dumas de Vault et al. (1981) en çok kullanılan temel besin ortamlarıdır. Bu iki ortamın haploid biber üretiminde daha başarılı olduğu kabul görmüştür (Ellialtıoğlu vd., 2001; Özkum ve Tıprıdamaz, 2002; Irikova and Rodeva 2004). Ayrıca biberde anter kültürü çalışmalarında pek çok farklı bitki büyüme düzenleyicileri kullanılsa da en yüksek başarının 4 mg/l NAA + 0.1 mg/l BAP + 2,5 mg/l aktif karbon kullanılan MS temel besin ortamından alındığı araştırmacılar tarafından kabul edilmiştir (Chunling, 1994; Çömlekçioğlu, 2001; Alremi, 2013).

Karbonhidrat kaynağı olarak biber anter kültüründe sıklıkla sakkaroz kullanılırken (Morrison et al., 1986; Binzel et al., 1996; Supena et al., 2006), bazı araştırmacılar ise maltoz kullanmışlardır (Dolcet-Sanjuan et al., 1997; Gemesne et al., 2000; Gyulai et al., 2000; Supena et al., 2006).

Bu çalışmada da genotiplere bakılmaksızın, ön uygulamaların karbonhidrat kaynağına bağlı kallus oluşturma oranları incelendiğinde; en başarılı sonuç her iki ön uygulamada da maltoz içeren besi ortamından elde edilmiştir. Kallus oluşturma oranları her iki uygulamada da sakkaroz içeren besi ortamında olmuştur. Nitekim, maltozun embriyo oluşumunu uyarıcı etkisini açıklayarak glikoza dönüşümünü engellediğinden dolayı diğer şekerlerin mikrospor gelişimindeki engelleyici etkisini ortadan kaldırdığını belirtmektedir (Dolcet-Sanjuan et al., 1997).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemizde ve dünyada büyük ekonomik önemi olan ve aynı oranda yetiştiriciliğinde önem kazanan biberde ıslah çalışmalarının çok daha hızlı yürütülmesi ve sonuçlandırılması ve bunun sonucunda yeni çeşitlerin geliştirilmesi son derece önemli bir konudur. Dihaploid hatların elde edilmesinde *in vitro* anter kültürü tekniğinden yararlanılması genotiplerin saflaştırılması aşamasında zaman tasarrufu sağlaması nedeniyle bu teknik uygulamaların biberde yüksek başarı kapasitesine ulaştırılması bu çalışmanın temel amacını oluşturmuştur. Dört ayrı biber çeşidinin kullanıldığı farklı sıcaklık ön uygulamaları ve karbonhidrat kaynağı olarak maltoz ve sakkarozun tercih edildiği, aktif kömür ve büyüme düzenleyicileri ile zenginleştirilmiş MS temel besi ortamları anter kültürü uygulamaları için kıyaslanmıştır.

Farklı genetik yapıdaki 4 biber çeşidi için en uygun anter kültürü çalışmasının yürütülebileceği besin ortamı kombinasyonunun belirlenmesini amaçlayan bu tez çalışmasında literatürlerden elde edilen verilere de dayanarak androgenesis performansını etkileyen en önemli parametrenin genotip olduğu sonucuna varılmış ve her genotipin farklı kallus oluşum başarısı gösterdiği belirlenmiştir. Çeşit x ortam interaksiyonları sonucunda 35 °C’de 6 gün bekletilen maltoz ilaveli ortamlarda Kapia B genotipinden her kombinasyonda yüksek başarı alınmıştır.

Karbonhidrat kaynağı olarak maltoz kullanımının katı ortamda da olumlu sonuçlar verdiği ve bundan sonra yapılacak biber anter kültürü çalışmalarında başarının arttırılmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anter kültüründe başarının pek çok faktör tarafından etkilendiği belirtilmiştir. Bu bilgiler ışığında çalışmadan daha yüksek başarı elde etmek amacıyla her faktör detaylı bir şekilde denenmeli ve sonuçlar değerlendirilmelidir. Tez çalışmamda kullandığım anterlerin alındığı bitkiler güz döneminde yetiştirilmiştir. Bitkilerin yetiştirilme dönemi fizyolojik gelişimlerini etkileyeceğinden bitkiler güz ve bahar dönemi, açık tarla ve sera koşullarında ayrı

ayrı değerlendirilerek yetiştirme koşulları birer faktör olarak bundan sonraki çalışmalarda incelenmelidir.

Bu çalışmada iki farklı ön uygulamanın (6 gün +35 °C'de ve 6 gün 25 °C bekletme) anter kültüründe kallus oluşumuna etkileri incelenmiştir. Yüksek sıcaklıkta daha kısa ya da uzun bekletmek, düşük sıcaklık şoku uygulaması gibi farklı ön uygulamaların literatürlerde androgenesis başarısını pozitif yönde etkileyeceği bildirilmiştir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda farklı ön uygulamaların da değerlendirmeye alınması önerilebilir.



## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abak, K.**, 1983, Biberde (*Capsicum annuum* L.) anter kültürü yoluyla haploid bitki elde etme üzerinde araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı. Cilt: 33, Fasikül 1-2-3-4'den ayrı basım, 155-163.
- Akgün, İ., Tosun, M. ve Sağsöz S.**, 1996. Biyoteknoloji ve bitki ıslahındaki kullanım alanları. Atatürk Ü. Zir. Fak. Der. 27 (2). 312-323.
- Alremi, F.**, 2013, Biberde (*Capsicum annuum* L.) Anter Kültüründe Genotip ve Besin Ortamının Etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 89s.
- Alremi, F., Taşkın, H., Sönmez, K., Büyükalaca, S. ve Ellialtıoğlu, Ş.**, 2014, Biber (*Capsicum annuum* L.)'de Genotip ve Besin Ortamının Anter Kültürüne Etkileri. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi 1(2): 108–116,
- Andrews, J.**, 1985, Peppers. The Domesticated Capsicum. University. of Texas Pres, Box 7819 Austin, Texas 78713.
- Andrews, J.**, 1999, The Pepper Trail: History and Recipes from Around the World.
- Anonim**, (<http://infernochili.net/?page=vi.llichilit>) (Erişim tarihi: 30 Haziran 2015)
- Anonim**, (<https://www.uoguelph.ca/p.lant/research/biotech/haploid/anther.htm>) (Erişim tarihi: 30 Haziran 2015)
- Anonim**, 2017a, The State of Food and Agriculture 2016. FAO, Rome.
- Anonim**, 2017b, TÜİK, İstatistiklerle Türkiye, 2017. Türkiye İstatistik Kurumu, Yayın no: 3352, Ankara.
- Arı, E.**, 2006, Türkiye'de doğal olarak yetişen *Anemone coronaria* var. *coccinea*'da anter kültürü çalışmaları. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Doktora Tez
- Arı, E., Yıldırım, T., Mutlu, N., Büyükalaca, S., Gökmen, Ü. and Akman, E.**, 2016, Comparison of different androgenesis protocols for doubled haploid plant production in ornamental pepper (*Capsicum annuum* L.). Turkish Journal of Biology, Turk J Biol 40:944-954 TÜBİTAK doi:10.3906/biy-1509-36.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ata, A.**, 2011, Biberlerde (*Capsicum annuum* L.) anter kültüründe mevsim etkisi ve mikrospor gelişimi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 89.
- Aybak, H.Ç.**, 2002, Biber Yetiştiriciliği. Hasad Yayıncılık 155 s
- Babaoğlu, M. ve Özcan, S.**, 2002, Haploid Bitki. Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S. (Ed.) Bitki Biyoteknolojisi I. Selçuk Üniv. Vakfı Yay. ss. 89-136.
- Barany, I., Gonzalez-Melendi, P., Fadon, B., Mityko, J., Risueno, M.C. and Testillano, P.S.**, 2005. Microspore-derived embryogenesis in pepper (*Capsicum annuum* L.): subcellular rearrangements through development. Biol. Cell 97, 709–722.
- Berljak, J.**, 1999, In vitro Plant Regeneration from Pepper (*Capsicum annuum* L. cv. 'Soroksari') Seedling Explants By Pierik, R.L.M., 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 344p.
- Bhojwani, S.S. and Razdan, M.K.**, 1996, Haploid Production. *Studies in Plant Science*, 5. Plant Tissue Culture: Theory and Practice, A Revised Edition. Elsevier. Amsterdam
- Blakeslee, A.F., Belling, J., Farnham, M.E. and Bergner, A.D.**, 1922, A haploid mutant in the Jimson weed, *Datura Stramonium* Science, 55, 646–647.
- Bourgin J.P. and NITSCH. P.**, 1967, Obtention de *Nicotiana* haploides a partir d'etamines cultivees *in vitro*. Ann. Phys. Veg., 9: 337-382.
- Bullock, WP., Baenziger, PS., Schaffer, GW. and Bottino, PJ.**, 1982, Anther culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) F1's and their reciprocal crosses. Theor. Appl. Genet., 62: 155-159.
- Büyükalaca, S., Çömlekçiöğlü, N., Abak, K., Ekbiç, 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

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chunling, L.**, 1992, Successful development of new sweet (hot) pepper cultivars by anther culture, Asia-Pasific Conference on Agricultural Biotechnology (APAB), August 20- 24 Beijing, China.
- Chunling, L. and Jiang, Z.R.**, 1990, A new sweet pepper cultivars, haihua 3, developed by anther culture. ACTA- Horticulturae-Sinici (China) 1990 17:1, 39-44
- Çömlekçiöğlü, N.**, 2001, Güneydoğu Anadolu biber popülasyonlarının dihaploidizasyon yöntemi ile ıslahı ve geleneksel yöntemlerle karşılaştırılması. Çukurove Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Bölümü, Doktora Tezi.
- Çömlekçiöğlü, N., Büyükalaca, S. and Abak, K.**, 2001, Effect of silver nitrate on haploid embryo induction by anther culture in pepper (*Capsicum annuum*). XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of *Capsicum* & Eggplant, 2001, Antalya-Turkey.
- Çömlekçiöğlü, N., Büyükalaca, S. ve Abak, K.**, 1999, Şanlıurfa ve Kahramanmaraş biber popülasyonlarında anter kültürü yöntemiyle haploid bitki elde etme olanakları. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ankara, 897-900.
- Dolcet-Sanjuan, R., Claveira, E. and Huerta, A.**, 1997, Androgenesis in *Capsicum annuum* L.-effects of carbohydrate and carbondioxide enrichment. J. Am. Soc Hort Sci 122:468-475 Dordrecht, Boston, Lanchaster, 344 p.
- Dumas De Vault, R., Chambonnet, D. and Sibi, M.**, 1981, Culture *in vitro* d'antheres de piment (*Capsicum annuum* L.): amelioration des taux d'obtention de plantes chez differents genotypes par de traitements A+35°C. Agronomie, 11: 859.
- Ellialtıoğlü, Ş.**, 1999, Androgenezis Yoluyla Haploid Bitki Rejenerasyonunda Başarıyı Etkileyen Faktörler. Biyoteknoloji (Kükem) Dergisi, Cilt:24, Sayı:1, 11-22 s.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Elliältiođlu, Ő., BaŐay, S. ve KuŐvuran, Ő.,** 2012, Patlıcanda Polen Dimorfizmi ve Anter Kđltđrđ İliŐkisinin İncelenmesi. Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi 5 (1): 149-152. ISSN: 1308-3945
- Elliältiođlu, Ő., Kaplan, F. and Abak, K.,** 2001, The effect of carrot extract and activated charcoal on the androgenesis of pepper. XIth EUCARPIA Meeting on Genetic and Breeding of Capsicum and Eggplant, Antalya-Turkey, 142-145.
- Elliältiođlu, Ő., Sarı, N. ve Abak, K.,** 2000, Haploid Bitki Őretimi. (Bitki Biyoteknolojisi Cilt:I, Ed: Babaoğlu, M., Gđrel,E., Özcan, S.) s: 138-189.,SelÇuk Őniversitesi Vakfı Yayınları, Konya.
- Ercan, N., ve Őensoy, F.,** 2011, Androgenik responses of different pepper cultivars.Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi 4 (2): 59-61
- Gemesne Juhasz, A., Petus, M., Venczel, H., Sagi, Z.S. and Zatyko, L.,** 2001, Colchicine, an efficient genome doubling agent for anther derived haploid paprika (*Capsicum annuum* L.) plants. XIth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum&Eggplant, Antalya, 146.
- Gemesne, J.A., Gyulai, G., Petus, M., Venczel, G., Sagi, Z. and Zatyko, L.,** 2000, DH breeding of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). Biotechnological approaches for utilization of gametic cells COST 824 final meeting, Bled, Slovenia, 1–5 July, 157-159 pp.
- George, L. and Narayanaswamy, S.,** 1973, Haploid *Capsicum* through experimental androgenesis. Protoplasma, 78: 467-470.
- GđnđŐŐen, N.,** 1987. Bitki doku kđltđrleri ve uygulama alanları. T.C. Tarım Orman ve Kđy İŐleri Bakanlığı, Ege Tarımsal Araştırma Enstitđsđ Mđdđrlđđđ, Yayın no: 78, Menemen, İzmird, 137 ss.
- GđnđŐŐen, N.,** 1998,. Bitki Doku Kđltđrđ Yđntemleri ve Uygulama Alanları. T.C. Tarım Orman ve KđyİŐleri Bakanlığı Ege Tarımsal Araştırma Enst. Mđd. Yayın No:78, 116s.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Greenleaf, W.H.**, 1986, Pepper Breeding. In: Breeding Vegetable Crops, Bassett, M.J. (Ed.). AVI Publ. Co., Connecticut, USA., ISBN-13: 9780870554995, 67-134 pp.
- Guha, S. and Maheshwari, S.C.**, 1964, In vitro production of embryos from anthers of *Datura*. - Nature 204: 497.
- Gyulai, G., Gemesne Juhasz, A., Sagi, Z., Zatyko, L., Heszky, L. and Venczel, G.**, 2000, Doubled haploid development and PCR-analysis of F1 hybrid derived DH R2 paprika (*Capsicum annuum* L.) lines. J Plant Physiol 156:168–174
- 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. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Genel Yayın No: 190. Ders Kitapları Yayın No: A-58.
- Heidari-Zefreh, A.A., Shariatpanahi, M.E., Mousavi, A. and Kalatejari,S.**, 2018, Enhancement of microspore embryogenesis induction and plantlet regeneratin of sweet pepper(*Capsicum annuum* L.) using putrescine and ascorbic acid .Protoplazma(2019) 256:13-24 <https://doi.org/10.1007/s00709-018-1268-3>.
- Horner, M., Mccomb, J.A. and Street, H.E.**, 1977, Ethylene production and plantlet formation by *Nicotiana* anthers cultured in the presence and absence of charcoal. J Exp Bot 28: 1365-1372.
- Irikova, T. and Rodeva, V.**, 2004, Anther culture of pepper (*Capsicum annuum* L.): The effect of nutrient media. Capsicum Eggplant Newsl 23:101-10.
- Joshi, S. and Sankhla, D.**, 1996, Induction of direct somatic embryogenesis and plant regeneration in pepper (*Capsicum annuum* L.). Plant Cell Rep 15:536–540.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kim, M., Jang, I.C., Kim, J.A., Park, E.J., Yoon, M. and Lee, Y.,** 2008, Embryogenesis and plant regeneration of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) through isolated microspore culture. *Plant Cell Rep* 27:425-434.
- Kim, M., Kim, J., Yoon, M., Choi, D. and Lee, K.,** 2004, Origin of multicellular pollen and pollen embryos in cultured anthers of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 77, 63-72.
- Kim, M., Park, E.J., An, D. and Lee, Y.,** 2013, High-quality embryo production and plant regeneration using a two-step culture system in isolated microspore cultures of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTO)*. Volume 112, Issue 2, 191-201 pp.
- McLeod, M.J., Guttman, S.I., Eshbaugh, W.H. and Rayle, R.E.,** 1983, An electrophoretic study of the evolution in capsicum (Solanaceae). *Evolution* 37:562-574.
- 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.A., Koning, E.R. and Evans, D.A.,** 1986, Anther culture of an interspecific hybrid of Capsicum. *J Plant Physiol* 126:1-9 Binzel ML, Sankhla N,
- 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., Kisiała, A. and Nowaczyk, P.,** 2014, Study of individual plant responsiveness in anther cultures of selected pepper (*Capsicum spp.*) genotypes. Department of Genetics and Plant Biotechnology University of Technology and Life Sciences Prof. S. Kaliskiego 7, 85-789 Bydgoszcz, Poland.
- Novak, F.J.,** 1974, Induction of a haploid callus in anther cultures of *Capsicum* sp., *Z. Pflanzenphysiol*, 68: 97-114.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ochoa-Alejo, N. and Ramirez-Malagon, R.,** 2001, In vitro chili pepper biotechnology. In Vitro Cellular Developmental Biology-Plant. 37:701-729.
- Özalp, R.,** 2010, Ülkemizde biber üretimi ve örtüaltı biber yetiştiriciliği. Tarım Türk Dergisi. 24(5): 29-32.
- Özsan, T. and Onus, A.N.,** 2017, In vitro pepper(*Capsicum annuum* L. Anther Culture: Can be Affected Vitamins B? Biotechnology Journal International, Article no.BJI.37102 ISSN:2456-7051.
- Park, S.G., Ubaidillah, M. and Kim, K.M.,** 2013, Effect of Maltose Concentration on Plant Regeneration of Anther Culture with Different Genotypes in Rice (*Oryza sativa* L.) American Journal of Plant Sciences, 4, 2265-2270.
- Parra-Vega, V., Gonzalez-Garcia, B. and Segui-Simarro, J.,** 2013, Morphological markers to correlate bud and anther development with microsporogenesis and microgametogenesis in pepper ( *Capsicum annum* L.) Acta Physiol Plant 35:627-633.
- Pierik, R.L.M.,** 1989, *In vitro* culture of higher plants, Marthinus Nijhoff Publ.
- Reynolds, T.L.,** 1997, Pollen Embryogenesis (Review). Plant Molecular Biology. 33: 1-10p.
- Rohami, M., Mohammadi, A., Khosroshahhli, M.i Ahmadi, H. and Darandeh, N.,** 2010, Karyotype Analysis of several Ecotypes of *Capsicum annum* L. in Iran, Not. Bot. Hort. Agrobot Cluj 38 (3)177-180 pp.
- Saccardo, F., and Devreux, M.,** 1974, *In vitro* production of plantlets from anther culture of *Capsicum annum* L. Proc. of Eucarpia: Genet. Breeding of Capsicum. Budapest, 45-49 pp.
- Sibi, M., Dumas de Vault, R. and Chambonnet, D.,** 1980, Androgenese in vitro chez le Piment *Capsicum annum* L.: Impact des pretraitements sur le taux de plantes regenerees. In: Reunion CR (ed) EUCARPIA application de la culture in vitro a l'Amelioration des Plantes Potageres, Versailles, 16-18 April, 143-149 pp.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sibi, M., Vaulx, D.R. and Chambonnet, B.,** 1979, Obtention de plantes haploides par androgenése *in vitro* chez le Piment (*Capsicum annuum* L.). Ann Amel Plantes, 29: 583-606.
- Supena, E.D., Suharsono, S., Jacobsen, E. and Custers, J.B.,** 2006, Successful development of a shed-microspore culture protocol for doubled haploid production in Indonesian hot pepper (*Capsicum annuum* L.). Plant Cell Rep 25:1-10.
- Şeniz, V.,** 1992, Domates biber ve patlıcan yetiştiriciliği. Tarımsal araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı (TAV) Yayınları. No:26, Yalova, 174 s.
- Taskın, H.,** 2005, Bazı biber genotiplerinde anter kültürü ile haploid embriyo uyartımında embriyo kalitesinin artırılmasına yönelik bazı uygulamalar. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 79.
- 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. III. Sebze Tarımı Sempozyumu, 11-13 Eylül, Isparta, 233-238.
- Tuberosa, R., Sanguinetti, MC. and Conti, S.,** 1987, Anther culture of Eggplant (*Solanum melongena* L.). Lines and Hybrids Genetica Agraria, 41: 267-274.
- Vural, H., Eşiyok, D. ve Duman, İ.** 2000, Kültür sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Bornova-İZMİR.
- Wang, Y.Y., Sun, C.S., Wang, C.C. and Chien, N.J.,** 1973, The induction of polen plantlets of Triticale and *Capsicum annuum* from anther culture. Sci. Sin 16: 147-151.
- Wenzel, G. and Foroughi-Wehr, B.,**1984, Anther culture in cereal and grasses. In: Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants. Vasil IK (ed) Academic Press Inc. 311-327 pp.

## TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi aşamasında başlayarak yürütülmesi ve sonuçlandırılması aşamasına kadar bütün süreçlerde benden desteğini esirgemeyen kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Hülya İLBI'ye sonsuz teşekkürü bir bolç bilirim.

Çalışmamın her aşamasında bana değerli bilgileriyle ışık tutan Damla KANTÜRER'e, istatistiksel analizler konusunda büyük emek vererek benden desteğini esirgemeyen sayın Dr. Adem GÖKÇÖL'e ve Tolga İZGÜ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda kullanmak üzere ihtiyaç duyduğum bitkisel materyal temin etmemde bana yardımcı olan AD-Rossen firmasına ve sayın Dr. Aydın ATASAYAR'a ve çalışmalarımın en etkili şekilde yürütülmesi için bana bütün imkanlarını sunan Tohum Teknolojileri Uygulama ve Araştırma Merkezi yönetimine ve tüm çalışanlarına, teşekkürü bir borç bilirim.

10 / 09 / 2019



Musa KURT

## ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Amasya'nın Göynücek ilçesinde doğdu. İlköğretimini Göynücek Yatılı İlk Öğretim Bölge Okulu'nda, lise eğitimin ise Amasya Atatürk Lisesi Fen Bölümü'nde tamamladı. 2006 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği bölümünde lisans eğitimine başladı ve 2011'de Bahçe Bitkileri alt programından mezun oldu. 2011- 2016 yılları arasında Monsanto Gıda ve Tarım Ticaret Şirketinde, 2016-2018 yılları arasında da ATA Tohumculuk işletmesinde hibrit mısır tohumluk üretimi ve AR&GE alanlarında çalıştı. 2014 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tohumluk Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda Çeşit Geliştirme alanında lisansüstü eğitime başladı.