

T.C
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİBERDE (*Capsicum annuum* L.) GENOTİP, BİTKİ YAŞI VE MEVSİMİN
HAPLOİD BİTKİ ELDESİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Funda AYAR ŞENSOY

DOKTORA TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ANTALYA

2011

**BİBERDE (*Capsicum annuum* L.) GENOTİP, BİTKİ YAŞI VE MEVSİMİN
HAPLOİD BİTKİ ELDESİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Funda AYAR ŞENSOY

DOKTORA TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**Bu tez 2007.03.0121.010 no'lu proje olarak Akdeniz Üniversitesi Bilimsel
Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.**

2011

2011
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİBERDE (*Capsicum annuum* L.) GENOTİP, BİTKİ YAŞI VE MEVSİMİN
HAPLOİD BİTKİ ELDESİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Funda AYAR ŞENSOY

DOKTORA TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 21.12.2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nurgül ERCAN (Danışman)



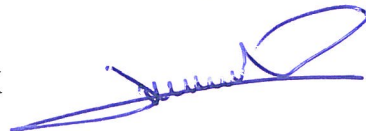
Prof. Dr. Kenan TURGUT



Prof. Dr. A. Naci ONUS



Prof. Dr. Dursun EŞİYOK



Doç. Dr. Ersin POLAT



ÖZET

BİBERDE (*Capsicum annuum* L.) GENOTİP, BİTKİ YAŞI VE MEVSİMİN HAPLOİD BİTKİ ELDESİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Funda AYAR ŞENSOY

Doktora Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nurgül ERCAN

Aralık 2011, 143 Sayfa

Bu çalışmada 3 farklı (yağlık, dolmalık ve sivri) biber tipi kullanılarak haploid bitki eldesinde genotip ve bitki yaşının etkisi araştırılmıştır. Araştırmanın bitki yetiştirme aşaması Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Arazisinde, doku kültürü çalışmaları ise Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Doku Kültürü Laboratuvarında 2007-2010 yılları arasında yürütülmüştür.

Çalışmada mevsime uygun olarak (yazın 6, kışın 6) 3 tip ve 12 farklı biber çeşidi kullanılmıştır. Uygun polen aşamasının belirlenmesi için tomurcuklar her mevsimde gruplandırılmışlar ve ethidium bromid ile boyanmışlardır. Bitki yaşının etkisi aylık olarak incelenmiştir. Donör bitkiler yazın açıkta, kışın serada yetiştirilmiştir. Çalışma 2 yıl tekrarlamalı olarak yapılmıştır.

Kış mevsiminde %0,69'luk ve yaz mevsiminde %0,68'lik embriyo oluşum oranları mevsimler arasında farklılık olmadığını göstermektedir. Mevsime uygun çeşitlerle çalışmanın olumlu etkisi görülmektedir. Tiplere göre değerlendirildiğinde mevsimsel farklılık saptanmıştır. Yaz döneminde tipler arasında %1,53 embriyo oluşum oranı ile dolmalık tipler en iyi sonucu verirken, sivri tiplerde bu değerler %0,25 yağlık tiplerde ise %0,13 olmuştur. Kış döneminde tipler arasında %1,01 embriyo oluşum oranı ile sivri tip biberler en yüksek sonucu verirken, dolmalık tiplerde bu değerler %0,93, yağlık tiplerde ise %0,17 olmuştur.

Çalışmanın genelinde mevsim ve kültüre alınan aya göre değişmekle beraber genç bitkilerin daha iyi sonuçlar verdiği söylenebilir. Kış mevsiminde aralık ayında kültüre alınan dolmalık tip Balo çeşidinin 1 aylık bitkilerinden %6,67 oranında embriyo oluşmuştur. Yaz mevsiminde ise mayıs ayında kültüre alınan dolmalık tip Ergenekon çeşidinin 1 aylık bitkilerinden %15,45 oranında embriyo oluşmuştur. Sonuçlar kültüre alınma zamanına ve çeşide bakılmaksızın bitki yaşı arttıkça embriyo oluşum oranının her iki mevsimde de azaldığını göstermektedir.

Çalışmada genotipin etkisi oldukça açıktır. 12 farklı çeşit kullanılmış ve sonuçlar %0-%1,95 arasında değişmiştir. En yüksek embriyo oluşum oranı dolmalık tip Ergenekon çeşidinden elde edilirken, sivri tip biber olan Delta çeşidi embriyo oluşturmamıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: Biber, haploidi, anter kültürü, bitki yaşı, genotip, mevsim

JÜRİ: Prof. Dr. Nurgül ERCAN (Danışman)

Prof. Dr. Kenan TURGUT

Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Dursun EŞİYOK

Doç. Dr. Ersin POLAT

ABSTRACT

THE EFFECTS OF DONOR PLANTS AGE, GENOTYPE AND SEASON TO OBTAIN HAPLOID PLANTS IN PEPPER (*Capsicum annuum* L.)

Funda AYAR ŞENSOY

Ph. D. Thesis in Department of Horticultural Science

Supervisor: Prof. Dr. Nurgül ERCAN

December 2011, 143 Pages

This study was conducted to reveal the effects of genotype and plant age on obtaining haploid pepper cultivars of three different pepper type (bell, wax and long). Plants were grown at the experimental field of Agricultural Faculty at Akdeniz University and the experiments were conducted in tissue culture laboratory of Department of Horticulture at Akdeniz University between 2007 and 2010.

In this research, 3 different pepper types and 12 cultivars (Alcapi, Kappy, Balo, Punto, Kekova, Amazon for winter season, T-304, Atris, Ergenekon, Punto, Bafra, Delta for summer season) were used. Buds were classified for their size to each season and optimum microspore stage for anther culture in these classes were determined by staining method with ethidium bromide. Effects of plants' age were investigated with monthly intervals. Donor plants were grown at open field in summer season and in greenhouse in winter season. The study was repeated in two successive years.

Embryo formation rates were 0,69% in winter and 0,68% in summer. This result reveal that there isn't any difference between the seasons if it used suitable cultivars to season. On the other hand, seasonal difference was determined among the pepper types. Bell type had the highest embryo formation ratio with 1,53% in summer. It is followed by long (0,25%) and wax (0,13%) types. In winter season, long pepper types gave the

best result among the types used with the 1,01% embryo formation ratio, and followed by bell (0,93 %) and wax (0,17%) types. It is possible to say that anthers derived from young donor plants had high embryogenic capacity depending on season and month. In winter season, embryo formation ratio of anthers taken from one month-old Balo plants which planted in December, was 6,67%. In summer, when 1 month old plants of Ergenekon cultivar were cultivated in May, the percentage of embryo formation rate was 15,45%. It can be clearly seen that there was a negative relationship between donor plant age and embryo formation ratio, when the months and cultivars were disregarded.

In this study, effect of genotype on embryogenic response of anthers was very clear. Embryo formation ratio of 12 different cultivar used in study showed variance among from 0% to 1,95%. While Ergenekon (bell type) cultivar gave the highest percentage of embryo formation with 1,95%, no embryo formation was obtained in Delta (long type) cultivar.

KEY WORDS: Pepper, anther culture, haploidy, plant age, genotype, season

COMMITTEE: Prof. Dr. Nurgül ERCAN (supervisor)

Prof. Dr. Kenan TURGUT

Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Dursun EŞİYOK

Assoc. Prof. Dr. Ersin POLAT

ÖNSÖZ

Biber bitkisi ekonomik önemi bakımından ülkemizde ve yetiştiriliş alanları açısından bölgemizde oldukça önemli bir yere sahiptir. Özellikle serada yetiştiriciliğinin yaygın olması ve sebze yetiştiriciliğinde F₁ tohum kullanımı ve sebze ıslahının ön plana çıkması doğal olarak biber ıslahının da popüler bir konu olmasına sebep olmuştur. Biber ıslahında genel olarak klasik ıslah çalışmaları ile yeni çeşit eldesine gidilmekte, ekonomik alanda ve zaman kullanımında büyük faydası olan biyoteknolojik yöntemlerin kullanımı pahalı ve teknik bilgi eksikliği sebebi ile birkaç firma dışında tercih edilmemektedir. Ülkemizde sebze yetiştiriciliğinde kullanılan birçok türün tohumu yurt dışından temin edilmektedir. Her geçen gün çeşitli üstün özelliklere sahip birçok yeni çeşit piyasa sunulmakta ve fiyatları yüksek rakamlarla ifade edilmektedir. Özellikle F₁ tohum tercihleri dayanımı olan ve kaliteli çeşitlerden yana olmakta, bu çeşitlerin birçoğu yurt dışı ortaklı ya da yurt dışındaki firmalardan temin edilmektedir. Hızlı ve yeterli düzeyde olmayan ıslah çalışmaları nedeniyle tohumda hala yurt dışına bağımlı olduğumuz bir gerçektir.

Islah konusunda donanımlı mühendis ve ekonomik anlamda yeterli firmalarımız olmakla beraber yeni gelişmelerin takip edilmemesi durumunda uluslararası ya da uluslararası ortaklı olan şirketlerin hakimiyeti devam edecektir. Islah programlarında biyoteknolojik yöntemlerin kullanılması artık bir lüks değil gereklilik durumundadır. Moleküler çalışmalar ve haploidi teknikleri klasik ıslah ile beraber kullanıldığında çok daha etkili olacaktır. Haploid bitki eldesinde bazı familyalarda rutin olarak kullanılan bir yöntem olan anter kültürü henüz biber ıslahında etkin kullanılmamaktadır. Biber bitkisinin dahil olduğu *Solanaceae* familyasında haploid bitki eldesinde en başarılı teknik olsa da düşük oranlarda embriyo oluşumu ve oluşan embriyoların bitkiye dönüşmesinde problemler yaşanması tekniğin biber ıslahında rutin kullanımını kısıtlamaktadır. Embriyo oluşum frekansının yükseltilmesi ile bu tekniğin biber ıslahında kullanımı kaçınılmazdır. Biber anter kültüründe hala çalışan bir yöntem belirlenememesi ve konusunda uzman personel olmaması yapılan çalışmalarda bu tekniği optimize etmeye odaklanmayı beraberinde getirmektedir.

Bu çalışmanın amacı anter kültürü yöntemi ile haploid bitki eldesinde bitki yaşı ve genotipin etkisinin araştırılmasıdır. Araştırmanın bitki yetiştirme aşaması Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Uygulama ve Araştırma Arazisi'nde yazın açıkta, kışın cam serada gerçekleştirilmiştir. Tomurcukların içerdiği anterlerdeki mikrosporların uygun aşamasını belirlemek için boyanıp, floresan mikroskobu altında görüntülenmesi, Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Hocalarından Prof. Dr. Bülent KAYA'nın sorumluluğundaki sistemde, anterlerin kültüre alınma işlemi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Doku Kültürü Laboratuvarı'nda tamamlanmıştır.

Çalışmamın her aşamasında tecrübe ve deneyimleri ile beni yönlendirerek araştırmamızın doğru yönde ilerlemesini sağlayan, her hareketimde arkamda durarak beni sonuna kadar destekleyen, sadece bilimsel olarak değil hayatımın her anında kendisine danışma lüksünü bana sunan, beni kendi evladı gibi sevdiğini ve önemsedğini bildiğim tezime ve kişiliğime kattıkları anlatılmayacak kadar fazla olan değerli Danışman Hocam Prof. Dr. Nurgül ERCAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışma boyunca bölüm imkanlarından yararlanmamı sağlayan Bahçe Bitkileri Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. İbrahim UZUN'a, tez süresince zamanlarından ayırarak belirli aralıklarla toplanıp değerli fikirleri ile olumlu yönde yol gösteren Tez İzleme Komitesi Üyeleri Sayın Prof. Dr. Kenan TURGUT ve Sayın Prof. Dr. A. Naci ONUS'a, çalışmalarımda yardımlarını gördüğüm Dr. Arzu BAYIR'a, Dr. Işıl YILDIRIM'a, Ziraat Yüksek Mühendisi Çağrı SEFEROĞLU'na, Ziraat Yüksek Mühendisi Görkem OĞUL'a, Arş. Gör. Gizem ŞAHİN'e, Uzman Hakan ER'e, Arş. Gör. Eşref DEMİR'e, Dr. Ayşe Gül İNCE'ye ve diğer çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim. Fidelerin teslimatı konusunda gösterdiği çabaları ile her ay yapılan dikimlerin aynı aralıklarla olmasını sağlayan Zir. Müh. H.Barış DOĞAN ve Fidesan Firmasına ayrıca teşekkür ederim.

Bu çalışmayı başarıyla gerçekleştirmem için gerekli malzemelerin alınmasını maddi yönde destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmam sırasında sabır ve özveri ile beni destekleyen başta Annem Şaziye AYAR olmak üzere tüm aile bireylerime ve büyük fedakarlıklarla bu seviyeye gelmemi sağlayan, bulunduğu yerden beni her zaman gördüğünü ve benimle gurur duyduğunu bildiğim merhum babam Raşit AYAR'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, dünyaya gelişi ile bana bambaşka bir hayat veren, gülüşü ile tüm yorgunluğumu alan, tezimi yapmak için zamanından çok çaldığım biricik kızım Doğa'ma, tez çalışmam süresince gerek yabancı ot mücadelesinde, gerek laboratuvar çalışmalarında gerekse mesleki fikirleri ile beni destekleyen meslektaşım, değerli eşim Ziraat Yüksek Mühendisi Ahmet Sırrı ŞENSOY'a hep yanımda oldukları ve olacakları için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI.....	10
3. MATERYAL VE METOT.....	30
3.1. Materyal.....	30
3.2. Metot.....	35
3.2.1.Çalışma planı.....	35
3.2.2. Bitkilerin yetiştirilmesi.....	38
3.2.3.Polenlerin taramalı elektron mikroskopunda (Scanning Electron Mikroskopy-SEM) incelenmesi.....	38
3.2.4.Floresans mikroskobu (Fluorescence Microscope) ile polenlerin çekirdek aşamalarının incelenmesi.....	39
3.2.5. Kültürde kullanılan besi ortamı.....	40
3.2.6. Tomurcukların ön soğuk uygulaması.....	42
3.2.7. Kültür sırasında kullanılan malzemeler.....	42
3.2.8. Çiçek tomurcuklarının yüzey sterilizasyonu.....	42
3.2.9. Anterlerin kültüre alınması.....	42
3.2.10. Kültür sonrası uygulamalar ve inkübasyon koşulları.....	43
3.2.11. Embriyoların çimlenme ortamına alınması.....	44
3.2.12. Elde edilen bitkiciklerin ploidi seviyelerinin belirlenmesi.....	44
3.2.13. Sonuçların değerlendirilmesi.....	45
3.2.14. Meteorolojik veriler.....	45
4.BULGULAR ve TARTIŞMA.....	48
4.1.Polen İle İlgili Sitolojik Araştırmalar.....	48
4.1.1.Taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscopy-SEM) incelemeleri.....	48
4.1.2. Floresans mikroskobu (Fluorescence Microscope) incelemeleri.....	52

4.2. Anter Kùltürü Yöntemi Araştırmaları.....	66
4.2.1.Yağlık ve dolmalık tip biberler için ortam belirleme ön denemesi sonuçları.....	66
4.2.2.Yıllara göre çeşitlerden alınan sonuçlar.....	70
4.2.3.Biberde anter kùltürü yöntemi ile haploid embriyo ve bitki oluşumu üzerine mevsimin etkisi.....	104
4.2.4.Biberde anter kùltürü yöntemi ile haploid embriyo ve bitki oluşumu üzerine yaşın etkisi.....	109
4.2.5.Biberde anter kùltürü yöntemi ile haploid embriyo ve bitki oluşumu üzerine genotipin etkisi.....	128
5. SONUÇ.....	133
6. KAYNAKLAR.....	136
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C.....	: Santigrad derece
mm.....	: milimetre
cm.....	: santimetre
cm ²	: santimetre kare
g.....	: gram
mg.....	: miligram
kg.....	: kilogram
ml.....	: mililitre
l.....	: litre
%.....	: yüzde
dk.....	: dakika
ha.....	: hektar

Kısaltmalar

AgNO ₃	: Gümüş Nitrat
BA:.....	: Benzil Adenin
BAP.....	: Benzil Amino Pürin
NAA.....	: Naftalen Asetik Asit
2,4-D.....	: 2,4 Diklorafenoksi Asetik Asit
KIN.....	: Kinetin
HCl.....	: Hidroklorik Asit
NaOH.....	: Sodyum Hidroksit
MS.....	: Murashige ve Skoog
N.....	: Nitsch
DH.....	: Double haploid
F ₁	: Filial Generation 1
F ₂	: Filial Generation 2

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Kappy F ₁ (a) ve Alkapi F ₁ (b) çeşitlerinden bir görünüm.....	31
Şekil 3.2. T-304 F ₁ (a) ve Atris F ₁ (b) çeşitlerinden bir görünüm.....	31
Şekil 3.3. Kekova F ₁ (a) ve Amazon F ₁ (b) çeşitlerinden bir görünüm.....	32
Şekil 3.4. Bafra F ₁ (a) ve Delta (b) çeşitlerinden bir görünüm.....	32
Şekil 3.5. Punto F ₁ (a) ve Balo F ₁ (b) çeşitlerinden bir görünüm.....	33
Şekil 3.6. Ergenekon F ₁ çeşidinden bir görünüm.....	33
Şekil 3.7. Dolmalık tip Kandil (a) ve Yağlık tip yağlık (b) biber çeşitlerinden bir görünüm.....	34
Şekil 3.8. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında sera minimum, maksimum ve ortalama sıcaklık değerlerinin aylık değişimleri (°C).....	46
Şekil 3.9. Kış dönemi denemelerinin ikinci yılında sera minimum, maksimum ve ortalama sıcaklık değerlerinin aylık değişimleri (°C).....	46
Şekil 3.10. Yaz dönemi denemelerinin birinci yılında minimum, maksimum ve ortalama sıcaklık değerlerinin aylık değişimleri (°C).....	47
Şekil 3.11. Yaz dönemi denemelerinin ikinci yılında minimum, maksimum ve ortalama sıcaklık değerlerinin aylık değişimleri (°C).....	47
Şekil 4.1. Çalışmada kullanılan dolmalık tip biber polenin tek (a) ve toplu (b) olarak Scanning Elektron Mikroskobu'nda (SEM) görünümü... ..	49
Şekil 4.2. Çalışmada kullanılan yağlık tip biber polenin tek (a) ve toplu (b) olarak Scanning Elektron Mikroskobu'nda (SEM) görünümü.....	50
Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan sivri tip biber polenin tek (a) ve toplu (b) olarak Scanning Elektron Mikroskobu'nda (SEM) görünümü.....	51
Şekil 4.4. Mikrospor aşamalarının incelenmesi için kış döneminde gruplandırılmış dolmalık biber tomurcukları (a; 1.grup, b; 2.grup, c; 3.grup, d; 4.grup).....	52
Şekil 4.5. Kış döneminde dolmalık biber tipinde tek ve çift çekirdekli polenlerin floresan mikroskobu altındaki görüntüleri (10x4, 10x10).....	53
Şekil 4.6. Mikrospor aşamalarının incelenmesi için kış döneminde gruplandırılmış yağlık biber tomurcukları (a; 1.grup, b; 2.grup, c; 3.grup, d; 4.grup).....	54

Şekil 4.7. Kış döneminde yağlık biber tipinde tek ve çift çekirdekli polenlerin floresan mikroskobu altındaki görüntüleri (10x4, 10x10)55
Şekil 4.8. Mikrospor aşamalarının incelenmesi için kış döneminde gruplandırılmış sivri biber tomurcukları (a; 1.grup, b; 2.grup, c; 3.grup, d; 4.grup).....	56
Şekil 4.9. Kış döneminde sivri biber tipinde tek ve çift çekirdekli polenlerin floresan mikroskobu altındaki görüntüleri (10x4, 10x10).....	57
Şekil 4.10. Mikrospor aşamalarının incelenmesi için yaz döneminde gruplandırılmış dolmalık biber tomurcukları (a; 1.grup, b; 2.grup, c; 3.grup, d; 4.grup).....	58
Şekil 4.11. Yaz döneminde dolmalık biber tipinde tek ve çift çekirdekli polenlerin floresan mikroskobu altındaki görüntüleri (10x4, 10x10)59
Şekil 4.12. Mikrospor aşamalarının incelenmesi için yaz döneminde gruplandırılmış yağlık biber tomurcukları (a; 1.grup, b; 2.grup, c; 3.grup, d; 4.grup).....	60
Şekil 4.13. Yaz döneminde yağlık biber tipinde tek ve çift çekirdekli polenlerin floresan mikroskobu altındaki görüntüleri (10x4, 10x10)61
Şekil 4.14. Mikrospor aşamalarının incelenmesi için yaz döneminde gruplandırılmış sivri biber tomurcukları (a; 1.grup, b; 2.grup, c; 3.grup, d; 4.grup).....	62
Şekil 4.15. Yaz döneminde sivri biber tipinde tek ve çift çekirdekli polenlerin floresan mikroskobu altındaki görüntüleri (10x4, 10x10)63
Şekil 4.16. Ortam denemesinde anterlerden oluşan embriyolar.....	69
Şekil 4.17. Ortam denemesi çalışmalarında kullanılan donör bitkiler.....	69
Şekil 4.18. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında (a) ve ikinci yılında (b) seradaki bitkilerden bir görünüm.....	70
Şekil 4.19. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Alcapı çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a) ve gelişen bitkicikler (b).....	72
Şekil 4.20. Kış dönemi denemelerinin ikinci yılında Alcapı çeşidine ait anterden oluşan embriyo (a) ve gelişmeyen kallus oluşturan anterler (b).....	72
Şekil 4.21. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Kappy çeşidine ait anterden oluşan embriyo.....	74

Şekil 4.22. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Balo çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a, b) (10x2,5), embriyolardan gelişen bitkicikler (c, d), gelişmiş bitkicikler (e), gelişmeyen embriyolar (f).....	77
Şekil 4.23. Kış dönemi denemelerinin ikinci yılında Balo çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar.....	77
Şekil 4.24. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Punto çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a, b), embriyolardan gelişen bitkicik ve gelişmeyen embriyo (c), gelişmiş bitkicik (d).....	79
Şekil 4.25. Kış dönemi denemelerinin ikinci yılında Punto çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar.....	80
Şekil 4.26. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Kekova çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (10x4).....	82
Şekil 4.27. Kış dönemi denemelerinin ikinci yılında Kekova çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a, b, c, d, e,) embriyolardan gelişen bitkicik (f).....	82
Şekil 4.28. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Amazon çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (b,c;10x2).....	84
Şekil 4.29. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Amazon çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolardan gelişen bitkicikler.....	85
Şekil 4.30. Kış dönemi denemelerinin ikinci yılında Amazon çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a, b, c, d, e) (f; 10x1,5).....	86
Şekil 4.31. Yaz dönemi denemelerinin ilk yılında (a) ve ikinci yılında (b) bitkilerin yetiştirildiği açık alandan bir görünüm.....	87
Şekil 4.32. Yaz dönemi denemelerinde T-304 çeşidine ait anterlerden denemenin ilk yılında (a) ve ikinci yılında (b) (10x2) oluşan embriyolar.....	89
Şekil 4.33. Yaz dönemi denemelerinin ilk yılında Atris çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar.....	91
Şekil 4.34. Yaz dönemi denemelerinin ikinci yılında Atris çeşidine ait anterden oluşan embriyo (10x2).....	91
Şekil 4.35. Yaz dönemi denemelerinin ilk yılında Ergenekon çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a, b, c, d, e, f) (10x2), embriyolardan gelişen bitkicikler ve gelişmeyen embriyolar (g).....	94

Şekil 4.36. Yaz dönemi denemelerinin ikinci yılında Ergenekon çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a), (b, c, d; 10x2) ve bitkicikler (e, f, g).....	95
Şekil 4.37. Yaz dönemi denemelerinin ilk yılında Punto çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (10x2).....	97
Şekil 4.38. Yaz dönemi denemelerinin ikinci yılında Punto çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a, b, c, d), embriyolardan gelişen bitkicikler (e,f).....	98
Şekil 4.39. Yaz dönemi denemelerinin ilk yılında Befra çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (10x3).....	100
Şekil 4.40. Yaz dönemi denemelerinin ikinci yılında Bafra F ₁ çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a, b, c) (10x2), embriyodan gelişen bitkicik (d).....	101
Şekil 4.41 a; Haploid (12) ve b; diploid (24) sayıdaki biber kromozomları (10x100).....	103
Şekil 4.42. Mevsimlere göre biber tiplerinden oluşan embriyo ve bitki sayısı miktarı (adet).....	106
Şekil 4.43. Mevsimlere göre biber tiplerinden oluşan embriyo ve bitki sayısı miktarı (%).....	106
Şekil 4.44. Kış dönemi denemelerinin her iki yıldaki sera minimum, maksimum ve ortalama sıcaklık değerlerinin aylık değişimlerinin ortalaması (°C).....	108
Şekil 4.45. Yaz dönemi denemelerinin her iki yıldaki minimum, maksimum ve ortalama sıcaklık değerlerinin aylık değişimlerinin ortalaması (°C).....	108
Şekil 4.46. Farklı bitki yaşlarının mevsimlere göre oluşturduğu embriyo ve bitki sayısı (adet).....	127
Şekil 4.47. Farklı bitki yaşlarının mevsimlere göre oluşturduğu embriyo ve bitki oranı (%).....	127
Şekil 4.48. Biber genotiplerinin embriyo ve bitki oluşum miktarlarının değişimi (adet).....	130

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Kış mevsimine ait çalışma planı.....	36
Çizelge 3.2. Yaz mevsimine ait çalışma planı.....	37
Çizelge 3.3. Murashige ve Skoog temel besi ortamının içeriği (Murashige ve Skoog, 1962).....	41
Çizelge 4.1. Mikrospor aşaması incelemek amacıyla kış döneminde dolmalık tip biberde yapılan gruplandırmalar.....	52
Çizelge 4.2. Mikrospor aşaması incelemek amacıyla kış döneminde yağlık tip biberde yapılan gruplandırmalar.....	54
Çizelge 4.3. Mikrospor aşaması incelemek amacıyla kış döneminde sivri tip biberde yapılan gruplandırmalar.....	55
Çizelge 4.4. Mikrospor aşaması incelemek amacıyla yaz döneminde dolmalık tip biberde yapılan gruplandırmalar.....	57
Çizelge 4.5. Mikrospor aşaması incelemek amacıyla yaz döneminde yağlık tip biberde yapılan gruplandırmalar.....	59
Çizelge 4.6. Mikrospor aşaması incelemek amacıyla yaz döneminde sivri tip biberde yapılan gruplandırmalar.....	61
Çizelge 4.7. Biber tiplerinin tomurcuklarında yapılan gruplandırmalar ve özellikleri.....	64
Çizelge 4.8. Kandil dolmalık ve yağlık biber çeşitlerinin farklı ortamlardaki embriyogenik yanıtları.....	68
Çizelge 4.9. Kış dönemi denemelerinde Alcapı çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar.....	71
Çizelge 4.10. Kış dönemi denemelerinde Kappy çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar.....	73
Çizelge 4.11. Kış dönemi denemelerinde Balo çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar.....	75
Çizelge 4.12. Kış dönemi denemelerinde Punto çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar.....	78
Çizelge 4.13. Kış dönemi denemelerinde Kekova çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar.....	81
Çizelge 4.14. Kış dönemi denemelerinde Amazon çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar.....	83

Çizelge 4.15.Yaz dönemi denemelerinde T-304 çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar.....	88
Çizelge 4.16.Yaz dönemi denemelerinde Atris çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar.....	90
Çizelge 4.17.Yaz dönemi denemelerinde Ergenekon çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar.....	92
Çizelge 4.18. Yaz dönemi denemelerinde Punto çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar.....	96
Çizelge 4.19. Yaz dönemi denemelerinde Bafra çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar.....	99
Çizelge 4.20. Yaz dönemi denemelerinde Delta çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar.....	102
Çizelge 4.21. Mevsimlere göre çeşitlere bakılmaksızın biber bitkilerinin kültüre verdikleri yanıtlar.....	104
Çizelge 4.22. Kış döneminde tüm çeşitlerde 1 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar.....	109
Çizelge 4.23. Kış döneminde 1 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar.....	110
Çizelge 4.24. Kış döneminde tüm çeşitlerde 2 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar.....	111
Çizelge 4.25. Kış döneminde 2 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar.....	112
Çizelge 4.26. Kış döneminde tüm çeşitlerde 3 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar.....	113
Çizelge 4.27. Kış döneminde 3 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar.....	113
Çizelge 4.28. Kış döneminde tüm çeşitlerde 4 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar.....	114
Çizelge 4.29. Kış döneminde 4 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar.....	115
Çizelge 4.30. Kış döneminde tüm çeşitlerde 5 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar.....	115

Çizelge 4.31. Kış döneminde 5 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar.....	116
Çizelge 4.32. Kış döneminde tüm çeşitlerde 6 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar.....	116
Çizelge 4.33. Kış döneminde 6 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar.....	116
Çizelge 4.34. Yaz döneminde tüm çeşitlerde 1 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar.....	118
Çizelge 4.35. Yaz döneminde 1 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar.....	119
Çizelge 4.36. Yaz döneminde tüm çeşitlerde 2 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar.....	120
Çizelge 4.37. Yaz döneminde 2 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar.....	121
Çizelge 4.38. Yaz döneminde 3 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar.....	121
Çizelge 4.39. Yaz döneminde tüm çeşitlerde 3 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar.....	122
Çizelge 4.40. Yaz döneminde tüm çeşitlerde 4 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar.....	123
Çizelge 4.41. Yaz döneminde 4 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar.....	123
Çizelge 4.42. Yaz döneminde tüm çeşitlerde 5 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar.....	124
Çizelge 4.43. Yaz döneminde 5 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar.....	124
Çizelge 4.44. Yaz döneminde tüm çeşitlerde 6 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar.....	125
Çizelge 4.45. Yaz döneminde 6 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar.....	125
Çizelge 4.46. Biber genotiplerinin anter kültürüne verdikleri yanıtlar.....	129

1. GİRİŞ

Biber (*Capsicum annuum* L.) *Solanaceae* familyasına ait bir sebze türüdür. Biber sofralarımızda taze olarak tüketildiği gibi etli ve zeytinyağlı yemeklerde, salçalık biberlerden yapılan biber salçalarında, turşularda kullanılarak değerlendirilmektedir. Araştırmacılar bu sebzenin orijininin tropikal Amerika olduğunu ve Amerika'nın keşfedilmesiyle dünyaya buradan yayıldığını kabul etmektedirler. Ilık iklimlerde tek yıllık, tropik iklimlerde ise çok yıllık olarak yetiştirilebilmektedir.

Biber bitkisinin köklerinin %70'i toprağın 10-30 cm derinliğine inmekte, kendi haline bırakıldığında 2-4 adet yan dal veren bitki gövdesi, ilk dönemlerde otsu, daha sonra kısmen odunsu bir yapı kazanmaktadır. Gövde üzeri parlak ve tüysüz olup, bazen de üzerinde antosiyanin oluşumu gözlenebilir. Yaprakların kenarları düz, üstü kaygan ve parlaktır. Yabani türlerde tüylülük görülebilir. Yapraklarda büyüklük çeşide ve türe göre farklılık göstermekte, renk ise yeşilin her tonu arasında değişmekte, antosiyanin birikimi ile mor renk görülebilmektedir. Erselik yapıdaki çiçeklerinde, 5 adet çanak, 5 adet taç yaprak, 5 adet erkek organ ve 1 adet dişi organ bulunur. Çiçek tozlarının çiçek açılmadan önce döllenme olgunluğunda olması ve dişi organında döllenme olgunluğuna daha geç girmesi ile biberlerde yaklaşık %3-30 arasında yabancı döllenmeye rastlanmaktadır. Biberlerde capsaicin ($C_{18}H_{28}NO_3$) alkaloidi bulunmakta ve acı tadı bu madde vermektedir. Meyveleri C vitamini açısından da oldukça zengindir (Vural vd. 2000).

Açıkta ve örtüaltında yetiştirilme olanağına sahip olması nedeniyle, ülkemizde ve dünyada ekonomik açıdan önemli bir yere sahip bulunmaktadır. Seracılığın geliştiği yerlerde taze tüketim ve ihracat amacıyla yetiştirilirken, sanayi bölgelerinde salça ya da konserve amaçlı açıkta yetiştiricilik yapılmakta, ayrıca Doğu Anadolu ve Güney Anadolu Bölgelerimizde yaygın bir işleme yolu olan toz biber halinde üretimi yapılarak pazara sunulmaktadır.

Ülkemizde Akdeniz Bölgesi kıyılarında ve özellikle Antalya'da seracılık yaygındır. Yetiştirilen türler ise genellikle domates, hıyar ve biberdir. Dünyadaki sebze üretimi

FAO'nun 2009 verilerine göre 1.528.819.382 ton olup, Türkiye 26.732.756 ton ile Çin, Hindistan ve ABD'den sonra 4. sırada yer almaktadır (Anonim, 2009a). Antalya ili ise 3.535.850 ton sebze üretimi ile Türkiye sebze üretiminde %14'lük bir paya sahiptir (Anonim, 2009b).

206.619 da alan (Cam sera, Plastik sera, Yüksek ve Alçak tünel) ile Antalya 567.180 da'lık Türkiye örtü alanının %36'sını oluşturmaktadır. Türkiye'deki cam seraların %83'ü, plastik seraların ise %51'i Antalya'da bulunmaktadır (Anonim, 2009b). 2.722.264 ton örtüaltı üretimi ile Antalya ili ülke tarımında önemli bir yere sahiptir. Üretim miktarı yönünden değerlendirildiğinde Kumluca İlçesi ilk sırada yer almakta, Kumluca'yı ikinci sırada Serik ve üçüncü sırada Aksu İlçesi izlemektedir (Anonim, 2009c).

İlde örtüaltı sebzeçiliği üretim miktarı verilerine göre domates, %67'lik payla ilk sırada yer alırken, hıyar %17 ile ikinci sırada, biber %7'lik bir payla üçüncü sırada yer almaktadır. Biberi patlıcan ve kabak izlemektedir. (Anonim, 2009c). 2008 yılında kişi başı biber tüketimi 19,86 kg olarak belirlenmiştir (Anonim, 2010a). Domates ve hıyarın tüketimde kullanım alanının fazla olması, daha yüksek maddi kazanç sağlamaları, iklim gibi bazı sebeplerden dolayı üretimde biber tercihini geriye itmiştir. 28.483.822 ton'luk dünya biber üretiminde Türkiye 1,8 milyon ton ile Çin ve Hindistan'ın ardından %6,4'lük pay ile 3. sırada yer almıştır (Anonim, 2009a). Tük'in 2010 verilerine göre toplamda 1.837.003 ton olan Türkiye biber üretiminin 700.038 ton'u salçalık biber, 384.273 ton'u dolmalık biber ve 752.692 ton'u sivri biberdir (Anonim, 2010a).

Türkiye'deki 345.032 ton'luk örtüaltı toplam biber üretimi içerisinde Antalya ili örtüaltı biber üretimi 193.385 ton'dur (Anonim, 2010a). 2010 yılında 61.157.825 ton ile 69.372.312 ABD \$ değerinde biber ihracatı gerçekleştirilmiştir (Anonim, 2010b).

Tarımın ve kaliteli üretimin önemli olduğu ülkemizde yeni üretim tekniklerinin ve farklı teknolojilerin kullanılması ile önemli aşamalar kaydettiğimiz açıktır. Ülkemiz tarımında verim ve kaliteyi etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Üreticinin bilgi durumu, kullanılan teknoloji, iklim şartları, yetiştirme teknikleri gibi çok sayıda etken

mevcutken, ürünün verimini ve kalitesini doğrudan etkileyen faktörlerden en önemlisi çeşit seçimidir. Yetiştiricilik yapılacak arazinin mevcut durumu, iklim koşulları ve bölgeye ya da türe özgü problem olan belli başlı hastalık ve zararlıların durumu gibi kriterler göz önüne alınarak uygun çeşit kullanılmalıdır. Bunun içinde her duruma uygun çeşitler geliştirilmelidir. Burada tohum ıslahının ve ıslah tekniklerinin önemi ortaya çıkmaktadır.

F₁ hibrid tohumlarının üstün özellik gösterdiği düşünüldüğünde, tohum seçiminin ne denli önemli olduğu görülmektedir. Zaten başlamış ve belirli bir seviyeye gelmiş ıslah çalışmalarımızın teknolojik yeniliklerde kullanılarak hızlandırılmasını gerektirmektedir. Bu tekniklerden faydalanmak, yavaş ilerleyen ıslah çalışmalarını hızlandıracak ve aramızda teknolojik fark bulunan diğer ülkelerle olan açığı kapatma imkanı yaratacaktır.

Islah çalışmalarında saf hat eldesi kendileme ile 6-7 generasyonda gerçekleşmektedir. Senede 1 kez döl alınan bitki türlerinde saflaşma süresi 6-7 sene, senede 2 kez döl alınabilen bitki türlerinde ise bu süre 3-4 senedir. 6-7 generasyonda ulaşılabilecek homozigot hatlara, haploidi tekniği ile tek bir generasyonda ulaşılabilmektedir. Elde edilmiş olan haploidlere kolhisin uygulaması ile kromozom sayılara ikiye katlanarak, %100 saf hatlar oluşturulabilmekte ve F₁ tohum ıslahı çalışmalarında kullanılabilir.

Bitki doku kültürü; bitkilerin çeşitli kısımlarından alınan hücre, doku ve organların sterilize edildikten sonra çeşitli besin maddeleri içeren steril ortamlarda ve uygun çevre koşullarında kültüre alınması ve büyütülmesi işlemidir (Gönülşen 1987). Bu alanlardan biri olan haploidi çalışmaları kullanıldığı ilk günden bu yana ıslah çalışmalarında bir çığır açmıştır. Somatik hücrelerindeki kromozom sayısı, ait oldukları bitki türünün gamet hücrelerinde bulunan kromozom sayısı kadar olan bitkilere haploid bitkiler adı verilmektedir (Ellialtıoğlu vd 2001a).

Haploid bitki *in vivo*'da kendiliğinden oluşabilmekle beraber, ortaya çıkış sıklığı çok düşüktür. Ve oluşan bu haploidler genellikle ıslah programlarına yetecek miktarda değildir. Bazı türlerde hiç ortaya çıkmazken, bazılarında rastlanabilmekte, rastlanan

türlerde ise genotiplere bağılı olarak frekansları da çok değişik olabilmektedir (Gürsöz 1990).

Bu açıdan bakıldığında haploid bitki eldesi teoride, ıslahçılara büyük zaman ve emek tasarrufu sağlayan bir yöntem olmasına karşın, uygulamada embriyo oluşum frekansının ve oluşan embriyoların bitkiye dönüşüm oranının düşük olması rutin kullanımı sınırlayan en önemli faktördür.

Haploid bitkilerin; genetik, moleküler biyoloji, fizyoloji gibi temel bilimler veya bitki yetiştirme ve ıslahı gibi uygulamalı bilimlerle ilgili konularda sağlamış oldukları avantajları Ellialtıoğlu vd (2001a), aşığıdaki gibi gruplandırmışlardır.

1. Haploidleri kullanmanın en başta gelen avantajı, tam bir homozigotluğu çok kısa bir sürede elde etme olanağını sunmasıdır. Dihaploid hatların kullanılmasıyla genetik ve ıslah çalışmalarını yapmak kolaylaşmakta ve sonuca daha çabuk ulaşılabilmektedir. Yabancı döllenmiş türlerde heterozigoti oranı çok yüksek olduğundan bunlarda homozigot hatların elde edilmesi için 10-12 generasyon boyunca kendilemeler yapmak gerekmekte; kendine dölenen türlerde bile aynı amaçla 5-7 generasyon kendileme işlemine gereksinim duyulmaktadır. Dihaploidizasyon yöntemi devreye girdiğinde homozigot hatlara bir generasyonda ulaşmak olasıdır.

2. Dioik türlerde veya kendileme depresyonu nedeniyle klasik yöntemlerle homozigotluğa ulaşmanın zor olduğuna lahana ve çilek gibi türlerde, dihaploidizasyon yöntemi kullanılarak bu sorun bir generasyonda çözülebilir.

3. Çok yıllık meyve ağaçları ve orman bitkileri gibi tohumdan çiçeklenmeye kadar oldukça uzun bir gençlik kısırlığı olan türlerde kendilemeler mümkün olsa bile homozigotluğun elde edilmesi oldukça uzun bir sürede gerçekleşmektedir.

4. F₁ hibrid çeşitlerin geliştirilmesinde homozigot hatlar arasında üstün kombinasyon yeteneği verenlerin belirlenmesi yöntemi kullanıldığından, haploidinin hibrid çeşit ıslahında özel bir önemi bulunmaktadır. Dihaploid bitkilerden elde edilen saf hatlar F₁ hibrit çeşit ıslahında ebeveyn olarak kullanılabilirler.

5. Kombinasyon ıslahında da sonuca çok kısa sürede ulaşmayı sağlayan haploidi sayesinde, F_1 kademesindeki melez bitkilerden haploid çekerek; farklı genotiplerde bulunan ve tek bir genotipte toplanması arzu edilen özelliklere sahip bitkiler kazanmak mümkündür.

6. Haploidizasyon, resesif mutasyonların açığa çıkartılmasında başvurulan en etkin yöntemdir. Haploid bitkilerde resesif genler, dominant genler tarafından örtülemeyeceğinden, mutlak homozigotiye sahip olan dihaploid hatlarda genetik açılımı izlemek basit bir işlem haline gelmektedir.

7. Haploid bitkiler, somatik hibridizasyon işleminin diploid protoplastlara göre daha kolay yapılabilmesine olanak tanımaktadır. Ayrıca iki haploid protoplastın birleşmesinin sonucu “diploid” olacağından; protoplast kültürü kullanılarak yapılan somatik hibridizasyon tekniğinin bilinen dezavantajlarının büyük bir kısmı böylece ortadan kalkacaktır.

8. Haploidler ve bunların katlanması ile oluşan dihaploidler sitolojik, fizyolojik, genetik açıdan önemli deneysel materyallerdir.

9. İslah etkinliğinin artırılması, haploidizasyonun sağladığı önemli avantajlar arasındadır.

10. Yonca ve patates gibi tetraploidlerin bulunduğu türlerde haploidizasyon, diploid bitkilerin üretiminde kullanılabilir. Elde edilen diploidler ticari olarak ilginç olabileceği gibi bu yolla bazı tetraploid ürünlerde; yabancı türler ile kültür çeşitleri arasında diploid seviyede melezleme yaparak kombinasyon yoluna gidilebilmektedir.

11. Kendilemenin olanaksız olduğu bazı dioik türlerde haploid uyartımı ve bunu takip eden kromozom katlamasıyla saf erkek bitkiler elde etmek mümkündür. Kuşkonmaz (*Asparagus officinalis* L. var. *altilis*) bu uygulama için iyi bir örnektir. Kuşkonmaz bitkisinde, erkek bireyler dişi bireylerden daha erkenci ve daha yüksek verimlidirler. Dişi (XX) ve erkek (XY) bitkiler melezlendiğinde %50 dişi, %50 erkek kuşkonmaz bitkileri elde edilir. Erkek kuşkonmazların anterlerinden çekilen haploidlerde (X ve Y) kromozom katlanması sonucu süper erkek (YY) bitkiler elde edilir ve bunlar vejetatif

olarak çoğaltılabilir. Dişi bitkiler (XX) süper erkek bitkilerle melezlendiğinde de sadece erkek bitkiler (XY) oluşur.

12. Haploid bitkiler, farklı patojenler ve patojenlerin fizyolojik ırklarına karşı *in vitro* koşullarda seçime olanak vermekte, hastalıklara dayanıklılık çalışmalarında zaman, yer ve maddi kazanç sağlamaktadır.

13. Dihaploid hatların güncel uygulamalarından biri de gen haritalarının çıkartılmasında kullanımlarıdır. Dihaploid hatlardan oluşan bir populasyonda; heterozigoti nedeniyle ortaya çıkan intermediyer açılımlara rastlanmaz. Bu nedenle de fenotipik işaretleyicilerin (marker) tanımlanması çok daha etkin olabilmektedir. DH hatlarda herhangi bir gen, ister bitki isterse marker seviyesinde olsun (genellikle RFLP ile belirlenmektedir) 1:1 oranında açılacaktır. Bu durum, özellikle poligenik olarak kontrol edilen bir karakterin haritası çıkartılıyorsa önem taşımakta ve kolaylık sağlamaktadır.

Haploid bitkiler, diploid bitkilerden daha küçük ve zayıftır. Haploid bitkilerde kromozom katlaması olmadığı takdirde bu bitkilerin üremeleri mümkün değildir. Çünkü bu bitkiler fertil değildir (Demir 1990, Hatipoğlu 1999). Bitkilerde haploid oluşumu doğada değişik yollarla oluşabileceği gibi, *in vitro* koşullarda gynogenesis ve androgenesis ile de elde edilebilir (Emiroğlu 1982). Haploid bitki eldesi, zigot oluşmadan haploid yumurta hücresinde partenogenetik (ovül ve ovaryum kültürleri) veya çiçek tozundan da androgenetik (anter ve polen kültürleri) olarak yapılabilmektedir. Haploid bitkilerin partenogenetik ya da androgenetik yoldan elde edilmesi tamamen çalışılan bitkiye bağlıdır (Demir 1990).

Gynogenesis: Döllenenmemiş ovul ya da ovarı kültürü bir çok farklı bitki türünde denenmiştir. Fakat çoğundaki büyüme kallus aşamasında durmuş ve sadece bir kısmından yeşil haploid bitki gelişimi oluşmuştur (Foroughi ve Wenzel 1993).

Döllenenmemiş ovul-ovari elde etmenin birçok yöntemi vardır. Türler arası melezlemeler, çeşitli kimyasal uygulamalar, yumurtalığı fırça ile uyararak ya da tozlamadan önce polenleri gama ışınının Co⁶⁰ kaynağına tabi tutarak tozlama yoluyla dişi organ uyarılıyor ve n yapısındaki bu tohum taslaklarından haploid bitki elde

edilebiliyor. Bu tekniğin *Cucurbitaceae*, *Liliaceae* (özellikle soğan bitkisi), *Compositae* familyasında ve ayrıca dişi bitkiler ve erkek steril bitkilerde başarılı olduğu bildirilmektedir (Metwally vd 1998).

Androgenesis: Erkek bireyin n sayıda kromozoma sahip yapılarından haploid bitkicik oluşmasına androgenesis adı verilir. *Gramineae* ve *Brassicaceae* familyalarına dahil bitki türlerinde çok önemli ilerlemeler gerçekleşmiştir (Foroughi ve Wenzel 1993).

Androgenesisde iki yöntem kullanılır. Anterlerden izole edilmiş mikrosporların kültürü yoluyla haploid bitki eldesi “mikrospor kültürü”olarak, belirli bir gelişme safhasında mikrospor içeren anterlerin, henüz açmamış çiçek tomurcuklarından çıkarılarak uygun besi ortamına ekilmesi ve mikrosporların sürekli bir bölünmeye uğratılması ile haploid bitki eldesi de “anter kültürü”olarak adlandırılır (Er ve Canpolat 1992). Mikrospor kültürü anter kültürüne göre daha karmaşık besi ortamına gereksinim duymaktadır ve kullanımı daha azdır (Hatipoğlu 1999). Anter kültürünün en büyük avantajı ise, içerisinde çok sayıda mikrospor bulundurması ve uygun koşullarda bir anterden çok sayıda haploid bitki elde edilebilmesidir (Abak 1983a). 1950’lerden beri anter kültüründe çok sayıda çalışma yapılmaktadır. İlk haploid bitki Guho ve Maheswari tarafından 1964 yılında *Datura innoxia* anterlerinde yapılan çalışmada meydana gelmiştir. Çalışmalar 1967de Bourgin ve Nitsch isimli araştırmacılar tarafından *Nicotiana tabacum*’da, 1968’de Niizeki ve Oono isimli araştırmacılarında *Oryza sativa*’da haploid bitki elde etmişlerdir. 1974 yılına kadar birçok türde in vitro da haploid bitki oluşumu sağlanmışır (Hermsen ve Ramanna 1981).

Anterlerden haploid bitki oluşumu başlıca iki yolla olabilmektedir (Kalloo 1986).

1. Direk olarak; Polen tanesinden yani mikrospordan bir embriyo farklılaşması oluşmaktadır (embriyogenesis).
2. Indirek olarak; İlk önceleri polen tanesinden bir kallus gelişimi olmakta ve sonra embriyo ya da sürgün rejenerasyonu gerçekleşmektedir (organogenesis).

Gönülşen (1987), polenden haploid bitkilerin oluşumunun üç farklı yolla olabildiğini ifade etmektedir.

1. Polen tanesinden çekirdek bölünmesi ile büyük bir vejetatif çekirdek ve küçük bir generatif çekirdek oluşmakta, oluşan generatif çekirdek dejenere olmakta veya dormant duruma geçmektedir. Vejetatif çekirdek bölünmeye devam etmekte ve haploid bitkiyi meydana getirmektedir. Genellikle polenden haploid bitki oluşumu bu yolla gerçekleşmektedir.

2. Bazen vejetatif çekirdek dejenere olmakta veya dormant duruma geçmektedir. Bu durumda generatif çekirdek bölünerek haploid bitkiyi oluşturmada fakat bu şekilde haploid bitki oluşumu çok yaygın olmamaktadır.

3. Bazı durumlarda polen tanesindeki çekirdek, mitoz bölünme ile eşit büyüklükte iki özdeş çekirdek oluşturamamaktadır. Bu iki simetrik çekirdeğin ya ikisi de bölünerek haploid bitkiyi oluşturmada veya iki çekirdek birleşerek diploid bir çekirdek oluşturmaktadır. Bu çekirdeğin bölünmesi ile de diploid homozigot bitkiler oluşmaktadır.

Nitsch ve Nitsch (1969), oluşan haploid embriyoların da normal embriyo gelişiminde olduğu gibi globüler, yürek, torpedo ve kotiledon aşamalarını geçirdiğini bildirmişlerdir.

Anter kültüründe polen tanesinden oluşan bitkilerin normal olarak haploid kromozom sayısına sahip olmaları gerekmektedir. Ancak bazı durumlarda kültür sırasında haploid hücrelerde kromozom katlaması ortaya çıkmakta ve oluşan bitkiler diploid olmaktadır.

Sebzelerde anter kültürü ile ilgili birçok başarılı çalışma yapılmıştır. *Solanaceae* familyasında yer alan biber bitkisi de birçok anter kültürü çalışmasına konu olmuştur. Bu çalışmalardan ortaya çıkan ortak görüş ise, anter kültüründe başarıyı etkileyen birçok faktör olduğudur. Bu faktörlerin her koşul ve her bitki için araştırılması ve optimize edilmesi gerektiği de belirtilmektedir (Bajaj 1990).

Bitki türlerinin tümü incelendiğinde, anter kültüründe, genotiplerin yanıtları arasında önemli farklılıklar ortaya çıkmış, Dunwell (1981) tarafından her bir genotip için kültür koşullarının en uygun hale getirilebileceği önerilmiştir. Ayrıca bugüne kadar yapılan

birçok araştırmaya bakıldığında polen gelişme dönemi, anterlere ön soğuk uygulaması, besi ortamı bileşimi, kültür koşulları, verici bitkinin fizyolojik durumu ve yaşı gibi faktörlerin anter kültüründe başarıyı direk olarak etkiledikleri görülmektedir.

Biberde anter kültürü üzerine etkili olan genotip, inkübasyon koşulları, mikrospor aşaması, ortam bileşimi gibi faktörler üzerinde çok sayıda araştırma yapılmasına karşın, (Ouyang vd. 1987, Tiainen 1992, Mityko vd. 1995, Dolcet-Sanjuan vd. 1997, Çömlekçioğlu vd. 1999, Terzioğlu vd. 2000, Biner vd. 2001, Ercan vd. 2001, Ellialtıoğlu vd. 2001b, Çiner ve Tıprıdamaz 2002), bitki yaşı ve bitkinin yetiştirildiği çevre koşullarının androgenik tepki üzerine etkisi konusunda sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır (Takahata vd. 1991, Kristiansen ve Andersen 1993, Ercan vd. 2006).

Yetiştirilen ve ihraç edilen ürünler bakımından üst sıralarda yer alması, ıslah çalışmalarında üzerinde yoğun çalışmaların yapılması biber bitkisini; biber bitkisinin haploidi tekniklerine hala düşük oranlarda cevap vermesi, yapılan çalışmalarda alınan sonuçların istenilen düzeyde olmaması ve ıslah çalışmalarında rutin olarak henüz bu teknikten faydalanılmıyor olması, biberde anter kültürü tekniğini önemli kılmaktadır. Bu yüzden biberde anter kültürü tekniğini geliştirmek ve embriyo oluşum ve sağlıklı bitkiye dönüşüm frekanslarını yükseltme olanakları yoğun olarak çalışılmaktadır.

Planlanmış bu araştırma ile Türkiye’de ve özellikle Antalya’da ekonomik öneme sahip biber bitkisinin ıslahında çalışmaları kolaylaştırmak amaçlanmış, ıslahçılara çalışmalarında yol göstermeye çalışılmıştır. Daha önceki çalışmamızdan elde edilen sonuçlarda (Ercan vd. 2006), kış ve yaz mevsiminde genotiplere bağlı olarak androgenesis başarısının değiştiği belirlenmiştir. Yazın açıkta, kışın serada yetiştirilmeye uygun çeşitlerle çalışmanın anter kültüründe başarıyı arttırdığı görülmüştür. Sonuçları sunulan bu çalışmada biber anter kültüründe kış ve yaz mevsiminde farklı tipler ve farklı çeşitler kullanılarak, aylık olarak bitki yaşının, genotipin ve mevsimin androgenesis üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

Bitki ıslahı kavramı, belirli bir bitkisel materyalden hareket ederek, üreme yeteneği olan ve daha üstün bazı özellikler taşıyan yeni bitki grupları yaratmak amacıyla yapılan tüm işlemleri içine alır. Genelde “doku kültürü” olarak adlandırılan “*in vitro*” yetiştirme teknikleri, geleneksel ıslah yöntemlerinde karşılaşılan sorunların bir kısmının çözümünde önemli kolaylıklar sağlamakta, uzun ıslah sürecini kısaltmakta ve zaman tasarrufu sağlamaktadır. Bitki doku kültürleri konusunda Dünya’da ki ilk çalışmalar 19. yüzyılın sonunda başlamış, 20. yüzyılın yarısından itibaren de tarımda uygulanabilir hale gelmiştir (Abak 1988).

Son yıllarda biber ve haploidi ile ilgili çalışmalara bakıldığında biber mikrospor kültürü denemelerinin arttığını (Bal vd. 2003, Supena vd. 2006a, Supena vd. 2006b, Kim vd. 2008, Lantos 2009, Lantos vd. 2009,) ya da biber anter kültürünün bir kısım çalışmada ana araştırma konusu olmaktan çok materyal metot içerisinde (Caranta vd. 1996, Hwang vd. 1998, Yoo vd. 2003, Gudeva vd. 2007, Channappagoudar 2007) yer aldığı görülmektedir. Bu araştırmaların çoğunda ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere anter kültürü yöntemi ile elde edilmiş hatlar üzerinde bazı denemeler kurulmaktadır.

Mikrospor kültürü anter kültürüne göre daha karmaşık besi ortamına gereksinim duymaktadır ve kullanımı daha azdır (Hatipoğlu 1999). Anter kültürünün en büyük avantajı ise, içerisinde çok sayıda mikrospor bulundurması ve uygun koşullarda bir anterden çok sayıda haploid bitki elde edilebilmesidir (Abak 1983a). Reynolds (1997) ise her iki tekniğin avantajlarını, embriyogenesis için önindüksiyon isteklerinin olmaması, kültür ortamının belirli olması, anterin dışında gelişimin meydana gelmesi bu nedenle müdahalenin kolaylığı ve %70 den fazla mikrosporum embriyogenesisine uğrayabilmesi olarak 4 maddede toplamıştır.

Embriyogenesis üzerine, ortam içeriği, ortamın katı yada sıvı olması, mikrospor aşamaları, inkübasyon koşulları ve kültüre alınan materyalin genotipik özelliği bitki yaşı ve bitkinin yetiştirildiği ortam koşullarının etkili olduğu bildirilmektedir (Bajaj 1990).

Abak (1983b), Yolo Wonder, İnce Sivri ve İnce Sivri ile PM 217 melezini kullanmış, Dumas de Vaulx'e göre kültüre aldığı anterlerde besi ortamını 5 mg/l Kinetin, 5 mg/l 2,4-D ekleyerek modifiye etmiş, şekerin 4 farklı dozu ile 2 farklı demir oranını denemiştir. Elde edilen embriyoların 90 g/l ve 120 g/l şeker dozlarında görüldüğü, iki kat demir ilavesinin başarı oranını yükselttiği bildirilmektedir. Yine aynı çalışmada kullanılan 3 farklı biber çeşidinden sadece Yolo Wonder çeşidinin kültüre yanıt verdiği ve embriyo oluşturduğu saptanmıştır.

Abak (1986), biberde partenogenetik haploid oluşum oranının genelde %0,05 olmakla birlikte genotiplere göre değiştiğine, bazı çeşitlerde sıfıra yaklaşırken, bazı diğer çeşitlerde %0,1'e kadar çıkabildiğine dikkat çekmiştir. Ayrıca tohumun alındığı bitkinin içinde yetiştiği ortam koşullarının da haploid oluşum oranını etkilediğine değinmiş, bu durumun partenogenetik haploidlerin biber ıslahında kullanımını güçleştirdiğini bildirmiştir. Araştırmacıya göre *in vitro* androgenetik yolla haploid bitki oluşum oranı oldukça yüksektir ve her 100 anterden ortalama 5-10 arasında haploid bitki elde edilebilmektedir.

Karakullukçu ve Abak (1992), patlıcanda anter kültürü denemelerinde, farklı sıcaklık soklarını denediklerini ve bu uygulamaların anter kültüründe başarıyı etkileyen faktörler arasında yer aldığını belirtmişlerdir. Anterler, en uygun aşama olarak belirlenen, taç yaprakların çanak yapraklar hizasına ulaştığı aşamada izole edilmişler ve Chambonnet tarafından önerilen besin ortamlarında kültüre alınmışlardır. Araştırmada, dikimi yapılan petri kaplarının bir kısmı 25°C'ye, bir kısmı 30°C'ye veya 35°C'ye ayarlanan karanlık etüvlere konulmuşlar, bu sıcaklıklarda 4 ya da 8 gün süreyle bekletilmiş ve anterlerin tepkileri incelenmiştir. Nisan ayında yapılan denemede 8, Haziran ayında yapılan denemede ise 4 çeşidin kullanıldığı araştırmada, tüm çeşitlerde sıcaklık derecesi ve süresi arttıkça anter gelişme oranları da artmış, 35°C'de karanlıkta 8 gün süre ile tutulan anterlerdeki gelişme oranının diğer uygulamalara göre en yüksek değerleri verdiği bildirilmiştir. Ayrıca diğer bir sonuç olarakta, verici bitkilerin yetiştirilme koşullarının anter kültürü üzerinde etkili olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar, patlıcanda kısa gün ve düşük sıcaklık koşullarında yetiştirilen bitkilerden alınan anterlerin hem

gelişme oranlarını yaz periyodunda yetiştirilenden daha düşük bulduklarını, hem de embriyo elde edemediklerini belirtmektedirler.

Matsubara vd, (1992), anter kültürü yöntemi ile patlıcan ve biber de polen embriyo ve kallus oluşumunu araştırdıkları çalışmalarında patlıcan çeşidi olarak Wase Shinkura, biber çeşidi olarak C.Wonder çeşidini kullanmışlardır. Her iki türde de polenin tek çekirdekli aşamada olduğu 2 mm uzunluğunda petalleri olan tomurcukları kültüre alan araştırmacılar, modifiye edilmiş MS temel besin ortamında yaptıkları anter kültüründe biberde en yüksek embriyo oranını 0,02 mg/l KIN içeren ortamda %21, 0.1 mg/l KIN ve 0,004 mg/l 2,4-D içeren ortamda %27 olarak elde etmişlerdir. Patlıcanda genel olarak 35⁰C’de 24 saat ve 48 saat bekletmenin etkili olduğunu bildirmişler, 0,1 mg/l 2,4-D ve KIN içeren ortam ile 35⁰C’de 24 saat bekletilen uygulamada %4,9 ile en yüksek oranı saptamışlardır. Patlıcandan elde edilen embriyoların kallusdan gelişen embriyolar olduğunu, kök ucu kromozom sayımı ile bunların 35 tanesinin haploid diğerlerinin diploid ve anöploid olduklarını, biberde elde edilen embriyolardan gelişen bitkilerin %90’nın haploid olduğunu belirlemişlerdir.

Karakullukçu ve Abak (1993a)’ın patlıcanda uygun tomurcuk aşamasını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, 4 farklı çeşidin, 8 farklı büyüklük ve gelişme devresindeki anterler ile sitolojik incelemeler yapmışlardır. En elverişli gelişme dönemi olan birinci polen mitozundan hemen önceki devrede, tomurcuklarda taç yaprakların seviyesinin çanak yaprakların birleşme noktasında bulunduğu, anter renginin ise yeşilden yeşilimsi sarı renge dönüştüğü saptanmıştır. Bu devrede tomurcuk uzunluklarının çeşitlere bağlı olarak 22,4-24,7 mm, tomurcuk çaplarının ise 10,8-12,5 mm olduğu belirlenmiştir. Bu denemede belirlenen tomurcuk büyüklüğü esas alınarak yapılan çalışmada kullanılan 4 çeşitten sadece Baluori F₁ çeşidinden embriyo ve bitkicikler elde edildiği rapor edilmiştir. Araştırmacılar bu çalışmada tomurcuk büyüklüğü ve morfolojik görünümün yanında anter renginin de elverişli dönemin belirlenmesinde önemli bir kriter olduğunu ifade etmişlerdir. *In vitro* kültüre alındığında hacimce genişleyip gelişme gösteren anterlerin, yeşilimsi sarı renkte oldukları; yeşil renkli anterlerin erken, sarı ve koyu sarı renkteki anterlerin ise geç dönemde buldukları belirlenmiştir.

Karakullukçu ve Abak (1993b)'ın uygun tomurcuk aşamasını belirledikleri çalışmalarının devamı olan araştırmada, şeker ve büyüme düzenleyicilerinin etkileri araştırılmıştır. Araştırmacılar ilk 12 gün boyunca %12 sakkaroz uygulamasının diğerlerinden daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Aktif karbonun embriyo oluşumuna olumlu bir etkisinin gözlenmediği çalışmada, kinetin+2,4-D kombinasyonlarının, diğer hormon kombinasyonlarına göre daha iyi cevap verdiği belirtilmiştir. Çalışmanın değişik aşamalarında 5 mg/l kinetin + 5 mg/l 2,4-D ve %12 sakkaroz kullanılan ortamlarda %12,1 (Baluroi) F₁ cv.), %1,5 (Kemer cv.) ve %3,8 (Halep Karası cv.) oranlarında embriyo elde edildiği bildirilmektedir. Ayrıca araştırmacılar, direk embriyogenesis sonucu embriyoların meydana geldiği anterlerde kallus oluşmadığını göz önüne alarak kallus oluşumunun direk embriyogenesisi engellediği sonucu çıkartılabileceğini bildirmektedirler. İlk dikim ortamında sitokinin veya oksin miktarının tek yönlü olarak artmasının kallus oluşum oranını arttırdığı, dengede olmaları halinde kallusların nispeten daha az oluştuğu gözlenmiştir.

Qin ve Rotino (1995), farklı tatlı ve acı biber genotiplerinde yaptıkları çalışmalarında, korollanın kaliksi biraz geçtiği aşamada topladıkları tomurcukları C ortamı üzerinde Dumas de Vaulx'e göre kültüre almışlar, 35⁰C'de 8 gün beklettikleri anterleri sonrasında büyüme odasına almışlardır. 17 genotipin kullanıldığı çalışmada ikisi dışında tüm genotiplerin iyi yanıt verdiğini söyleyen araştırmacılar, KIN ve BAP'ın konsantrasyonlarına göre elde edilen embriyo oluşum oranlarının %1,2 ile %20,0 arasında değiştiğini bildirmektedirler. 2 genotipin sadece BAP içeren ortamlarda kültüre alındığında embriyo oluşturduğu saptanan çalışmada KIN içeren ortamlarda oluşan embriyolardan gelişen bitkilerin yaklaşık %49,6'sının, BAP içeren ortamlardan oluşan embriyolardan gelişen bitkilerin ise yaklaşık %44,4'ünün haploid olduğu belirlenmiştir.

Mityko ve Fari (1997) çalışmalarında, farklı orijinlere sahip 500 den fazla genotipte yaptıkları anter kültürü çalışmalarında Dumas de Vaulx vd. (1981)'e göre metotlarını oluşturan araştırmacılar, farklı genotipler ve onların androgenik cevapları arasında korelasyon tespit etmişlerdir. Çalışmada dolmalık biberlerin yüksek androgenik cevabı olmasına rağmen baharatlık biberlerde cevabın çok düşük olduğunu, Macar tip dolmalık biber olan Fherezön çeşidinin en yüksek cevabı verdiği (%48,5) ve bitki oluşumu

bakımından da yine aynı çeşitte en iyi sonucu (75,8) aldıklarını bildiren araştırmacılar *in vitro* kolhisin uygulaması ile %75 oranında katlama elde ettiklerini söylemektedirler. Ayrıca Macar tipi dolmalık biberlerin anter kültürü ile DH bitki eldesinde rutin olarak kullanılabilceğini ve mikrospor kültürü denemelerinin de yapıldığı çalışmada, mikrospor kültürünün bitki rejenerasyonundan uzak görüldüğünü fakat düşük oranlarda yanıt veren genotiplerde alternatif bir yöntem olarak kullanılabilceğini eklemektedirler.

Çömlekçioğlu vd (1999), Kahramanmaraş ve Şanlıurfa yerel biber populasyonlarında yaptıkları çalışmada, 4 farklı ortam içeriğinin embriyo oluşumu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Denemede çanak ve taç yapraklarının aynı boyda olduğu veya taç yaprakların çanak yapraklardan biraz daha büyük olduğu tomurcukların kullanıldığı belirtilmektedir. Bu aşamada olan anterlerde yaklaşık yarı boyuna kadar antosiyan oluşumunun görüldüğü ve bu dönemin anter kültürü için en uygun dönem olduğu bildirilmektedir. Tomurcuklara kültüre alınmadan önce 2 gün süre ile +4°C'de veya anterlere kültürün ilk 8 günü 35°C'de olmak üzere iki sıcaklık ön uygulaması yapılmış, 35°C'de ki sıcaklık ön uygulamasının daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir. 4 mg/l Kinetin, 1 mg/l NAA, 30 g/l sakkaroz ve %0,25 aktif kömür içeren besi ortamı ile, 4 mg/l NAA, 0,1 mg/l BAP ve 30 g/l sakkaroz içeren besi ortamından embriyo oluşumunda başarılı sonuçlar alındığını saptayan araştırmacılar, farklı genotiplerin her ortam için ayrı cevaplar verdiğini bildirmektedirler. Gelişme koşullarının optimize edilmesinin genotip etkisini tamamen ortadan kaldırmadığını, polen gelişim dönemi, kültür ortamı, ön uygulamalar, genotip ve verici bitkinin yetiştirildiği çevre koşulları gibi birçok etmenin *in vitro* androgenesis etkilediğini belirtmektedirler.

Terzioğlu vd 2000 yılında Kahramanmaraş'ın yerel populasyondan seçilen ve iki generasyon kendilenen bitkilerini kullandıkları çalışmalarında, daha önce başarılı bulunan 4 mg/l NAA ve 1 mg/l BA kombinasyonlarının resiprokal kullanımının etkisini görmek, ortama ilave edilen aktif kömürün etkisini ortaya koymak ve 2 farklı inkübasyon rejiminin androgenik etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Uygun tomurcuk aşamasını belirlemek için asetokarmin ile boyanarak hazırlanan ezme preparatlarda tek çekirdekli mikrosporların 5-7 mm uzunluktaki petallerin sepaller içinden henüz çıkmadığı, hafifçe görülmeye başladığı tomurcuklarda bulunduğunu belirlemişler,

Haziran sonu-Ağustos başı dönemde bu büyüklükteki tomurcuklarla çalışmışlardır. En yüksek embriyo oluşumu (%4,8) 4 mg/l NAA ve 1 mg/l BA ilave edilen ve %0,25 oranında aktif kömür içeren besin ortamında kültüre alınarak 29⁰C'de sürekli ışıklandırılan koşullarda kültüre alınan anterlerden elde edilmiştir. Aynı hormon kombinasyonu ve inkübasyon koşullarında aktif kömür ilave edilmemiş ortamda kültüre alınan anterlerde %3,3 oranında embriyo oluşumu göstermiştir. Araştırmacılar çalışmalarında 4 mg/l NAA ve 1 mg/l BA hormon kombinasyonunun 1 mg/l NAA ve 4 mg/l BA kombinasyonuna göre daha başarılı olduğunu, besin ortamına %0,25 dozunda aktif kömür ilavesinin embriyo oluşum oranını arttırdığını, 29⁰C ve 2000 lux şiddetinde sürekli aydınlık koşullarda inkübasyonun, 35⁰C'lik sıcaklık rejimini uygulamasından daha üstün bulunduğunu saptamışlardır.

Çömlekçioğlu vd (2001), Şanlıurfa ve Kahramanmaraş yerel biber, popülasyonunda AgNO₃'ın embriyo oluşumuna etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar bitki doku kültüründe eksplantların, kesimi esnasında strese girmesi ile ve kültür ortamı içerisinde oksinin bulunışundan dolayı etilen üretimi olduğunu, etilenin somatik embriyogenesi ve sürgün rejenerasyonu ile kallus gelişimine karşı engelleyici olduğunu ifade etmekte; AgNO₃'ın etilen etkisine karşı inhibitör etki yarattığını bildirmektedirler. Çalışmada korollanın kalikse eşit olduğu ya da bir parça geçtiği aşamada alınan anterlerde, hemen hemen anterlerin yarısında renk oluşumu olduğu ve bu aşamanın uygun bir aşama olduğu rapor edilmektedir. MS temel besi ortamına 4 mg/l NAA, 0,1 mg/l BAP, %0,25 aktif kömür ve 30 g/l sukroz ilave edilmiş, AgNO₃'ın etkisinin araştırılması amacıyla da, ayrıca bu ortama 10 mg/l AgNO₃ eklenmiştir. Kahramanmaraş ve Şanlıurfa çeşitlerinin kullanıldığı araştırmada, AgNO₃ eklenmemiş ortamda embriyo oluşumu gözleyemediklerini belirten araştırmacılar, yaptıkları bir sonraki denemede sadece AgNO₃'lı ortam kullanmış ve genotiplerin verdikleri cevaplar arasındaki farklılıkların daha belirgin ortaya çıktığını ifade etmişlerdir. Şanlıurfa yerel çeşidinin %51,6 oranında embriyo oluşumu gösterdiği, Kahramanmaraş yerel çeşidinin ise %35,7 oranında embriyo oluşumu gösterdiği çalışmada, AgNO₃'ün biberde anter kültüründe haploid frekansını arttırdığını ve farklı genotiplerde farklı AgNO₃'ün dozlarının denenmesinin gerektiği bildirilmektedir.

Juhasz vd (2001a)'nin biberde yaptıkları araştırmada, genotipe bağlı olarak test edilen rejeneratların %70'inin haploid olduğu rapor edilmiş ve bu rejeneratlarda değişik sürelerde kolhisin uygulamaları ile kromozom sayılarındaki değişimler incelenmiştir. Flow sitometri ile ploidi seviyeleri belirlenen haploid bitkilerin, bir aylık olduklarında, %0.04 kolhisin içeren ortamlara aktarıldıktan sonra bu ortamlarda 2, 4 ve 6 gün süre ile tutulduğunu ifade eden araştırmacılar, her uygulamada da bitkilerde kromozom katlaması olduğunu fakat en yüksek oranı %75,8 ile 6 gün bekletmenin verdiğini bildirmişlerdir. Çalışmanın sonunda muamele edilmiş bitkilerde canlılık oranının %90'dan fazla olduğu ve rejeneratlarda fertilité ile ilgili bir problem olmadığı ifade edilmiştir.

Juhasz vd. (2001b), Dumas de Vaulx vd. (1981) ortamında yaptıkları biber anter kültürü çalışmalarında farklı hatlardan tek çekirdekli aşamada aldıkları anterlerden oluşan embriyolarda flow sitometri ile ploidi seviyelerini belirlemişlerdir. Haploid bitkilerde 50-400 mg/l kolhisin içeren ortamda 4-6 gün süre bekleterek double haploidler elde eden araştırmacılar, bu bitkilerden aldıkları tohumlardan gelişen bitkilerde PCR analizi yaptıkları çalışmalarında, ortalama %18 oranında globüler embriyo elde ettiklerini oluşan bitkilerin %68,5'nin haploid, %29,8'nin diploid olduklarını saptamışlardır. 6 gün süre ile 400 mg/l kolhisin uygulamanın katlamada başarıyı arttırdığını, elde ettikleri haploid bitkilerin kolhisin uygulamaları ile %50-95 oranında diploid hale geldiklerini belirlemişlerdir.

Ercan vd (2001), ikisi hibrit (Sirena, Amazon) ve üçü standart (Demre sivrisi, Yalova Çarliston, Çarliston) olmak üzere 5 biber çeşidinde yaptıkları çalışmalarında farklı biber ortamlarının biberde anter kültürü yoluyla haploid bitki eldesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. En yüksek embriyo oluşumunu Sirena ve Çarliston çeşidinden elde eden araştırmacılar, embriyoları sadece aktif kömür içeren ve 35⁰C'de 8 gün karanlıkta bekletme uygulamasının ardından büyüme odasına alınmasından elde etmişlerdir. 2,4 D+KIN+Aktif kömür ilave edilmiş N, MS ve C*R ortamlarında embriyo gözlemlenmişlerdir.

Biner vd (2001), anter kültürü yoluyla haploid bitki eldesi üzerine farklı sıcaklık ve ışık uygulamalarının etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, Sirena ve Amazon

çeşitlerinde +4⁰C’de 24 saat ve 48 saat bekleterek ön soğuk uygulamalarının etkisini hiçbir ön uygulama yapılmayan kontrol grubu ile karşılaştırırken, aynı zamanda da tüm kültür boyunca 25⁰C’de 16/8 saat aydınlık/karanlıkta bekletme, 25⁰C’de 1 hafta süre ile karanlıkta, 35⁰C’de 1 hafta süre ile karanlıkta bekletme uygulamalarını denemişlerdir. Sirena çeşidinde tüm uygulamalarda embriyo oluşumu gözlenmiş, +4⁰C’de 24 saat ön uygulaması yapılan anterleri 25⁰C’de 1 hafta süre ile karanlıkta beklettikten sonra büyüme odasına alınmasının en yüksek embriyo oranını (%6,18) gerçekleştirdiğini belirlemişlerdir. Embriyo ve bitki oluşum oranları Sirena çeşidinden daha düşük olsada, tüm uygulamalarda embriyo oluşumu gözlenen Amazon çeşidinde, 25⁰C’de 1 hafta süre ile karanlıkta bekletmenin en iyi embriyo oranını (%3,03) verdiğini bildirmektedirler.

Ellialtıoğlu vd (2001b), yerel biber genotipinde yaptıkları çalışmalarında 5,0 mg/l 2,4-D ve 5 mg/l KIN ilave edilmiş Dumas de Vault (1981)’un belirlediği C ortamı ile, 4,0 mg/l NAA ve 1,0 mg/l BA ilave edilmiş MS temel besin ortamlarını sadece aktif kömürlü, %1 aktif kömür+200 ml/l havuç ekstraktı ve her ikisinin de ilave edilmediği kontrol uygulamalarını oluşturmuşlar, kültürlerin yarısını 35⁰C’de 8 gün karanlıkta, ardından 4 gün 25⁰C’de bekleterek 0,1 mg/l KIN içeren R ortamına alınmışlardır. Kültürlerin diğer yarısı ise 29⁰C’de sürekli ışıkta bekleterek tüm uygulamaları embriyo oluşum ve bitkiye dönüşüm oranları bakımından karşılaştırmışlardır. MS temel besin ortamında aktif kömürün tek başına ya da havuç ekstraktı ile beraber kullanıldığında hiç embriyo oluşumu gözlenmezken, aktif kömür ya da havuç ekstraktı içermeyen MS ortamının her iki inkübasyon rejiminde iyi sonucu verdiğini (%2,82, %0,82) buna karşın, 29⁰C’de sürekli ışıkta tutulan tüm DDV ortamlarında düşüğe olsa embriyo oluşumu gözlendiği fakat aktif kömür ve havuç ekstraktı katkılı elde edilen embriyoların bitkiye dönüştürülmesinde sorun yaşandığı ifade edilmiştir. Ayrıca 29⁰C’de sürekli ışıklandırma uygulamasının, 35⁰C’de 8 gün karanlıkta bekledikten sonra 25⁰C’ye alınmalarından daha iyi sonuç verdiğini saptanmıştır.

Çiner ve Tıprıdamaz (2002), açık tarla koşullarında yetiştirilen Malatya bölgesine özgü yerel bir biber popülasyonu üzerindeki çalışmalarında invitro androgenesis üzerine aktif kömür ve soğuk uygulamasının etkilerini araştırmışlardır. 4 mg/l NAA+1 mg/l BA ve 1 mg/l NAA+4 mg/l BA ilave edilerek farklılaştırılmış iki MS temel besin

ortamını %0,25 aktif kömür ilave edilmiş ya da ilave edilmemiş olarak kullandıkları araştırmalarında, soğuk uygulaması olarak ta tomurcukları +4°C’de, 48 ve 96 saat süre ile bekletmenin embriyo oluşumuna etkilerini incelemişlerdir. Araştışıcılar sitolojik incelemeler ile çapı 5 mm, uzunluğu 7 mm olan korolla seviyesinin kaliks ile aynı veya biraz daha uzun olduğu gelişme dönemindeki tomurcukların en uygun aşama olduğunu belirlemişler, bu aşamada anterlerin, tek çekirdekli ve 1.polen mitozu aşamasındaki polenleri içerdiğini saptamışlardır. Bundan küçük ya da büyük tomurcukların uygun aşamada mikrospor içermeyen anterler bulunduğunu belirtmektedirler. En yüksek embriyo oluşumunu (%12,5); 4 mg/l NAA+1 mg/l BA ve aktif kömür içeren besi ortamında ve hiçbir ön uygulama yapılmadan kültüre alınan embriyolardan elde etmişlerdir. 48 ve 96 saat süre ile 4°C’de bekletilen tomurcuklarda düşük anter cevabı ve düşük embriyo gelişim oranları elde etmişlerdir. Ön soğuk uygulaması yapılmayan anterlerin istatistiki olarak önemli derecede diğer uygulamalardan farklı olduğunu saptayan araştışıcılar, aktif kömür ile beraber büyüme düzenleyicilerin embriyo gelişim frekansı üzerine ön soğuk uygulamasından daha etkili olduğunu söylemektedirler.

Sayılır, 2002 yılında sunduğu doktora tezinde değişik biber genotiplerinde *in vitro* androgenesis ve haploid bitki oluşumunu uyarıcı bazı etmenleri araştırmış, uygun tomurcuk büyüklüğünü ve hormon kombinasyonunu belirlemeye yönelik toplamda 20 çeşitte farklı zamanlarda değişik uygulamalar yapmıştır. Asetokarmin yöntemi ile gruplandırığı tomurcuklardaki polen aşamalarını inceleyen araştışıcı, 4-6 mm uzunluğundaki grubun tek çekirdekli mikrosporları içerdiğini, bazılarında ise 1.polen mitozu safhalarını gözlediğini söylemektedir. Ayrıca 4-6 mm uzunlukta tomurcuk ifadesinin genel bir ölçü olduğunu yuvarlak ve konik domates biberi gibi basık biberlerde bu değerlerin 4 mm, uzun meyvelilerde ise 6 mm olduğunu belirtmektedir. Besi ortamı denemelerinde ise 7 çeşitte yaptığı 6 farklı uygulamada 4 mg/l NAA ve 0,1 mg/l BA ilaveli MS ortamının en iyisi olduğunu saptamıştır. eşit x uygulama interaksiyonun da önemli farklılığa rastlamayan araştışıcı arliston bağcı çeşidinin bu ortamda 9,33 embriyo oluşum oranı ile en iyi sonucu veren çeşit olduğunu belirlemiştir. Araştışıcı ayrıca sonraki yıl yaptığı denemelerde başarılı bulduğu ortama 200 ml/l havuç ekstaktını eklemiş ve 0, 25, 50, 75, 100 saat +4 °C’de ön soğuk uygulamaların androgenesise etkisini araştırmıştır. Ön soğuk uygulaması yapılmayan kültürde 2

embriyo, 25 saat ön soğuklama yapılan kültürde 1 embriyo elde eden Sayılır, ön soğuk uygulamalarında sürenin uzatılmasının embriyo oluşumu üzerine olumlu bir etki yaratmadığını fakat anter ve kallus gelişimini arttırdığını belirtmektedir. 500 mg Caseinhydrolysat ve 8 mg glutamine eklenmiş ortamda 3 biber çeşidini (Tatlı sivri kıl, Charleston Yalova, Yellow Wonder) kullanarak +35⁰C’de farklı sürelerde sıcaklık uygulamalarını da 8, 10, 12, 14, 16 gün) deneyen araştırmacı, amino asit ilavesiz ortamın daha düşük androgenesis gösterdiğini, inkübasyon süresinin arttırılmasının olumlu etki yaptığını, Charleston Yalova çeşidinin daha yüksek sonuçlar verdiğini söylemektedir. Birkaç farklı uygulama daha yapılan ve sonuçları sunulan doktora tezinde Sayılır, genotiplerin androgenesis üzerine etkili olduğunu, kış aylarında serada yetiştirilen bitkilerden sonuç alınmadığını, bilinenin aksine genç bitkilerden çok yaşlı bitkilerden başarı elde ettiklerini, şeker dozunun artmasının, aktif kömür, amin asit ve havuç ekstraktı ilavesinin olumlu sonuç vermediğini, Hindistan cevizi ilavesinin farklılık göstermediğini, rejenere ortamına ilave ettikleri mısır ekstraktından olumlu yanıt aldıklarını, gümüş nitrat ilavesinin 5 mg dozunda ve kontrol ortamında 3’er embriyo elde ettiklerini belirtmektedir.

Supena ve Custers (2002), katı ve sıvı ortamın bir arada bulunduğu iki katmanlı ortam üzerinde yaptıkları anter kültürü çalışmalarında, 6 acı, 4 kıvrık Endonezya biber genotipinin ve bunlarla karşılaştırmak için 2 dolmalık biber genotipinin geç tek çekirdekli aşamada polen içeren anterlerini kültüre almışlar, kültürleri 1 hafta 9⁰C’de bekletildikten sonra 28⁰C’de sürekli karanlık ortama aktarmışlar, oluşan embriyoları da çimlenme ortamına (1/2 MS + 20 g/l sukroz + 0.1 µM BA + 8 g/l agar) transfer etmişlerdir. Kültürden 1-2 hafta sonra anterlerin açılarak mikrosporların ortam üzerine yayılmasını sağlayan araştırmacılar bu yönteme shed-mikrospor sistemi adını vermiş, çalışmada tüm acı ve kıvrık biber genotiplerinden cevap aldıkları, acı biber genotiplerinin kıvrık tiplere göre daha üstün performans sergilediklerini bildirmektedirler. Toplamda 34 embriyo elde ettikleri yerel acı ‘Galaxy’ genotipinden 12 tanesinin normal embriyo olduğunu ve acı tip genotiplerin dolmalıklarda daha iyi sonuçlar verdiğini söyleyen araştırmacılar, haploidi tekniğini Endonezya’da acı biber ıslahı ve araştırmalarında kullanımı başlattıkları gibi, bu sistemi de (shed-mikrospor

sistemi) ıslah programlarında kullanabilecek şekilde adapte edeceklerini belirtmektedirler.

Çağlar vd (2004), Kahramanmaraş kırmızı biberlerinde androgenesis yoluyla *in vitro* haploid embriyo oluşturma üzerine farklı oksin ve sitokinin kombinasyonlarının etkisi araştırdıkları çalışmalarında, kaliks ve korollanın aynı seviyede yada korollanın kaliksdan 1-2 mm uzun olduğu safhadaki tomurcukları kullanmışlardır. 100 mg/l myo-inositol eklenmiş, aktif kömürlü MS temel besin ortamına oksinlerden NAA (2,0, 4,0, 6,0 mg/l) ve 2,4-D (1,0-2,0-3,0-4,0 mg/l), sitokinlerden BAP (0,1-1,0,-2,0-3,0 mg/l) ve Kinetin (0,1-1,0-5,0 mg/l)'nin farklı miktarlardaki kombinasyonları eklenerek uygulamalar oluşturulmuştur. Çalışmalarında hormon kombinasyonlarının doğrudan embriyogenesiste başarı sağlayamadıklarını gözlemişler, denemelerine farklı miktarlardaki hormon kombinasyonları ve uygulamalar ile devam eden araştırmacılar, MS temel besin ortamına 0,1 mg/l BAP+4 mg/l NAA+%0,2 aktif karbon+10 mg AgNO₃'den oluşan ortamlarında %2,8 oranında embriyo oluşumu elde edebilmişlerdir. Birçok uygulama yapılmasına rağmen tek bir hormon kombinasyonunda embriyo oluşumu elde eden araştırmacılar genotipin etkisinin androgenesiste başarıyı doğrudan etkilediğini, çalışılan genotipin yapılan önceki çalışmalarda da düşük oranlarda embriyo oluşumu gösterdiğini belirterek ekonomik açıdan yerel olarak önemli olan bu genotip üzerinde embriyo oluşum oranını arttırmaya yönelik çalışmaların devam etmesi gerektiğini belirtmektedirler.

Kim vd (2004), biber anter kültürü sırasında farklı aşamalarda anterlerin içerdiği mikrosporların gelişim aşamalarını araştırmışlardır. Yapılan gözlemlerle, farklı gelişim aşamalarındaki anterlerden embriyo gelişimi için uygun aşamada olanı belirlenmiştir. 0,1 mg/l NAA ve KIN içeren MS temel besin ortamında kültüre alınan anterler 25⁰C'de karanlık inkübe koşullarına alınmadan önce 3 gün 31⁰C'de sıcaklık uygulamasına tabi tutulmuşlardır. Anterler mor pigmentasyonuna göre şu şekilde 4 gruba ayrılmışlardır: 1) 1/4'ü mor renk almış anterler, 2) 2/4'ü mor renk almış anterler. 3) 3/4'ü mor renk almış anterler, 4) tümü mor renk almış anterler. Kültürün 0, 2, 4, 7, 9 ve 14. gününde her bir aşamadaki anter grubundan 10'ar anter fikse edilip, DAPI ile boyanmıştır. Kültür süresi arttıkça deforme olmuş polen oranının arttığını belirleyen araştırmacılar, kültürün farklı

günlerinde aldıkları farklı aşamalardaki anterlerin içerdiği mikrosporların farklı aşamalarda olduğunu elde etiklerini belirtmişler ve tablo halinde bu sonuçları sunmuşlardır. 1, 2, 3, ve 4. aşamalardaki gözlemler sırasıyla embriyo oluşturan anter yüzdesi oranları bakımından; %1,5, %11,5, %18,6 ve %6,0 olurken, 100 anter için embriyo oluşum oranı bakımından %3,0, %34,3, %57,8 ve %12,6 olmuştur. Araştırmacılar, çoğunlukla (>%75) erken-çift çekirdekli aşamada polen içeren 3/4'ü mor renk almış olan anterlerin en başarılı yanıtlar verdiğini bildirmektedirler.

Elliältioğlu vd. (2006), haploid patlıcanların katlanması amacıyla *in vitro* ve *in vivo*da kolhisin uygulamalarını karşılaştırdıkları çalışmalarında anter kültüründen elde ettikleri 20 haploid bitkiyi kullanmışlar, materyali arttırmak amacıyla öncelikle haploid bitkiler mikroçelikleme yöntemi (tek boğum eksplantlarına ayırma) ile 100 adete kadar çoğaltılmıştır. *In vitro* uygulamalarında %0,5'lik ve %1'lik kolhisin çözeltisinde tüm sürgünler 1 ve 2 saat bekletilip tekrar taze ortama aktarılmışlar, *in vivo* uygulamalarında ise yine aynı dozdaki kolhisin çözeltileri pamuklara emdirilmiş ve boğumlarda 1 ve 2 saat süre ile bekletilmişlerdir. Her uygulamada 10'ar adet haploid bitki ile çalışılan araştırmada, *in vitro* uygulamalarda %0,5'lik kolhisinin her iki süresi de %70 oranında dihaploidizasyon sağlarken, %1'lik dozda 1 saat %30, 2 saat bekletme ise %20 oranında dihaploidizasyon sağlamıştır. *In vivo* uygulamalarında %0,5 kolhisin solusyonu ve 2 saat boğumda bekletme ile, %1 kolhisin çözeltisi ve 1 saat boğumda bekletme %100 dihaploidizasyon sağlamıştır. %1'lik çözeltide 2 saat boğumda bekletme %70, %0,5'lik çözeltide 1 saat bekletme %60 oranında diploid bitki oluşturmuştur. Araştırmacılar, uygulama kolaylığı ve erken çiçeklenme yönünde *in vitro* kolhisin uygulamasını avantajlı bulurken, katlanma oranının yüksekliği ve uygulama yapılan bitkilerin tümünden uygun doz ve sürede yanıt alınabilmesi bakımından *in vivo* kolhisin uygulamalarını elverişli bulmuşlardır.

Nowaczyk ve Kisiala (2006), Polonya biber genotiplerinden ATZ1 ve PO hatlarını ve bu ikisinin melezlerini kullandıkları çalışmalarında donör bitkilerini ısıtmasız plastik serada ve Polonya iklim koşullarında yetiştirmişlerdir. Yaz ayında yaptıkları denemelerinde 2 farklı morfolojik kriterlere göre tomurcukları toplamışlardır. Corollanın, kaliksle aynı boyda ya da biraz geçtiği aşama ve corollanın kaliksin yaklaşık

iki kat büyüklüğünde olduğu aşama Dumas de Vault vd.(1981)'e göre yaptıklarını söyledikleri anter kültüründe kullandıkları CP indüksiyon ortamına 5 mg/l AgNO₃ eklemişlerdir. Ayrıca her uygulamada anterlerin yarısını 0,5 g/l ilave edilmiş aktif karbonlu ortama ekmişlerdir. 0,1 ya da 0.2 mg/l Kinetin eklenmiş R1 ortamını rejenerasyon ortamı olarak kullanmışlardır. Kaliks ve korollanın aynı boyda yada korollanın biraz daha uzun olduğu aşamadaki tomurcukların ATZ1 hattında %4,0, PO hattında %3,0 ve bu iki hattın melezinde (ATZ1xPO) %1,5 oranında (embriyo/anter) embriyo oluştuğunu ve bunların yine sırasıyla %1,7, %1,5 ve %0,3 oranlarında (mikrobikti/anter) bitki oluşumu gösterdiğini belirlemişlerdir. Anterler indüksiyon ortamından 12 gün sonra 0,2 mg/l KIN ilaveli regenerasyon ortamına alındığında, 3 genotipte toplam 17 embriyo oluşurken, 14 gün sonra 0,1 mg/l KIN ilaveli ortama alındığında 11 embriyo oluştuğunu bildirdikleri çalışmalarında aktif kömürlü ortamlarda 12 gün sonra 0,2 mg/l KIN'li ortamda embriyo oluşumunun yüksek olduğunu saptamışlardır.

Prayantini (2006), 3 ıslah hattı ve 5 F₁ biber hibrit kombinasyonunu donör bitki olarak kullandıkları çalışmalarında, uygun mikrospor aşamasını belirlemek amacıyla asetokarmin yönteminden faydalanmışlar, anter kültürü için uygun aşama olan çoğunlukla geç-tek çekirdekli ve yaklaşık %10 oranında çift çekirdekli mikrosporların, kaliks ve korollanın aynı boyda olduğu ya da kaliksin corollayı bir parça geçtiği büyüklükteki tomurcuklardaki anterlerde bulunduğunu saptamışlardır. Her bir genotip için 16 petri üzerinde kurduğu denemede, sadece 3 ıslah hattından toplamda 13 embriyo eden araştırmacı, çiçek tomurcuklarının gelişiminde donör bitkilerin yetiştirme koşullarının etkili olduğunu, donör bitkilerin en uygun koşullarda yetiştirilmesini, hastalık ve zararlılardan uzak, yeterince gübrenilmiş ve 25-28 °C'ler arasında yetiştirilmesinin uygun olacağını söylemektedir.

Nowacyzk vd. (2009), çalışmalarında *Capsicum* türünde, F₂ hibritlerinin anter kültürüne verdikleri yanıtları incelemişlerdir. Çalışma materyali olarak ATZI x PO, ATZI x CDT (*Capsicum annuum* L.), *C.frutescens* L. x *C.annuum* L. ve *C. frutescens* L. x *C. chinense* J. kullanılmıştır. Modifiye edilmiş Dumas de Vault ortamını kullandıkları çalışmalarında, kullanacakları anterleri morfolojik karakterlerini gözlemledikleri 19

bitkiden (her hibrit için) kullanmışlardır. Donör bitkiler ısıtılmayan bir ortamda yetiştirilmişler, kültürde her bir petriye anterlerin iç yüzeyleri ortama degecek şekilde 2 tomurcuğun anterlerini yerleştirmişlerdir. 4 ay süren denemede tüm çeşitler test edilmiştir, 0,01 mg/dm³ 2,4 D ve 0,01 mg/ dm³ KIN içeren Cp ortamında kültüre alınan anterler 14 gün sonra 0,1 mg/dm³ KIN içeren R₁ besi ortamına alınmışlardır. Araştırmacılar *Capsicum* türlerinin ve hibritlerinin *C.annuum* kadar iyi sonuç vermedikleri ve androgenik tepki farklılığı sadece türler arasında değil aynı çeşidin farklı bitkileri arasında bile görüldüğü için bu çalışmalarında genotipin eklemeli etkisini belirleyebilmek için F2 generasyonu bitkilerinin androgenik cevaplarını incelediklerini belirtmişlerdir. *C.annuum* hibritlerinin hemen hemen tüm bitkilerinden yanıt alırken interspesifik hibritlerin çok az bitkisinden embriyo elde edebildiklerini söylemektedirler. ATZI X PO, ATZI X CDT, *C.frutescens* x *C.annuum* ve *C.frutescens* x *C.chinense* melezlerinin 19'ar bitkilerinden alınan embriyo oluşum oranları sırasıyla; %7,29, %2,59, %0,23 ve %0,59 olmuştur. *C. annum* melezlerinin denemede kullanılan hemen hemen bütün bitkilerinde embriyo oluşumu gözlenirken, türler arası melezlerden *C.frutescens* x *C.annuum*'de 4 bitkiden 6 embriyo, *C.frutescens* x *C. chinense*'de ise 2 bitkiden 19 embriyo oluşumu saptayan araştırmacılara göre bu sonuçlar biber androgenesis etkinliğinde genotipin ne kadar önemli olduğunu bir kez daha göstermektedir.

Ercan ve Şensoy (2011), 11 farklı biber genotipinde yaptıkları anter kültürü çalışmasında embriyo oluşum oranlarının %0-7,69 arasında değiştiğini, en yüksek değerin Demre Sivrisinden aldıklarını bildirmektedirler. Yalova çarliston ile Kandil Dolmalık tip biberlerin embriyo oluşturmadığı çalışmada, diğer tüm genotipler embriyo oluşturmuşlardır. Çalışmadaki diğer dolmalık tip Odesa çeşidi %3,01 embriyo oluşum oranı göstermiştir. Atris yağlık çeşidi %0,33, Sera Demre 8 %2,26, Kekova çeşidi %1,5 oranında embriyo oluşturmuşlardır.

Irikova vd (2011), bugüne kadarki biber üzerinde yapılmış çalışmalardan derledikleri makalelerinde çalışmalarını donör bitkilerin yaşı ve yetiştirilme koşulları, donör bitki genotipi, mikrospor gelişme aşaması, kültür ortamı, bitki büyüme düzenleyicileri, kültür ortamının ekleri, sıcaklık stresi uygulamaları başlıkları altında toplamışlar ve

incelemişlerdir. Androgenesis sırasında rejenerasyon etkinliğini arttırmanın anahtarının büyük ölçüde mikrospor hücre bölünmesinin indüksiyonunun ve mikrosporların embriyogenik yönde teşvik edilmesini kontrol etmeye bağlı olduğu sonucuna varmışlardır. Mikrospor embriyogenesis indüksiyonu ve embriyo gelişiminin hücrel ve moleküler bileşenleri hakkındaki bilgiler şekilde artmasına rağmen, gametofikten embriyogenik yönde değişimin arkasındaki mekanizma hakkında hala çok az şey bilinmekte olduğunu, bundan sonraki çalışmaların embriyo gelişimini iyileştirici koşullara ve polen gelişimi ile ilgili araştırmalara yoğunlaşması gerektiğini bildirmektedirler.

Biberde anter kültürü çalışmalarında genotip, besi ortamı, uygun aşamada mikrospor içeren tomurcuk boyutu, ön soğuk uygulamaları, sıcak uygulamaları gibi birçok faktörün tek başına ya da bir kaçının beraber denendiği birçok çalışma olmasına karşın, donör bitkinin yaşı ile ilgili ve farklı tiplerin aynı şartlarda denenmesi ile alakalı çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Farklı türlerde bitki yaşı ile ilgili çalışmalara rastlansada biberde yapılan araştırma sayısı oldukça düşüktür.

Björnstad vd (1988), 2 buğday genotipini 4 değişik büyüme koşulunda (tarlada, serada 2 farklı ışık ortamında, büyüme odasında) kültüre almışlardır. Genotiplerin tarlada yetiştirildiğinde en kötü sonuçların alındığı çalışmada, araştırmacılar aynı genotipleri 8/16 saat ışıklanma ve 15/12 °C sıcaklık da serada yetiştirildiklerinde en iyi sonuçları aldıklarını belirtmişlerdir. 8/16 saat ışıklanma ve 21/25 °C sıcaklık da serada yetiştirilmesi ile büyüme odasında yetiştirilmelerinde de iyi sonuçlar aldıklarını saptamışlardır.

Takahata vd (1991), *Brassica napus*'da yaptıkları çalışmada, verici bitki yaşı ve çiçek durumu yaşının embriyogenesis indüksiyonu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çiçek durumu olarak iki farklı kriter kullandıklarını belirtmişlerdir. Çiçek sapı üzerinde çiçekler henüz açmaya başladığı durumu (1) ve çiçek sapı üzerinde 15-20 tane açmış çiçek bulunduran çiçek durumunu da (2) olarak adlandırmışlardır. Bitki yaşının etkisini araştırırken de tohum ekiminden sonraki 2, 3, 4 ve 7. aylarda anterleri kültüre alarak iki farklı çiçek durumu ile beraber değerlendirmişlerdir. Yaşlı bitkilerdeki embriyogenesis

hızının, genellikle genç bitkilerden yüksek olduğunu saptamışlardır. Ortalama embriyogenesis oranını 7 aylık bitkilerde %5,67, 2 ve 3 aylık bitkilerde %3,68 ve %3,44 olarak belirlemişlerdir. Yüksek embriyogenik cevabın 7 aylık 1 numaralı çiçek durumundan ve 4 aylık 2 numaralı çiçek durumundan aldıklarını belirten araştırmacılar, yaşlı bitkilerden ve yaşlı çiçek durumundan optimum gelişme zamanında alınan tomurcukların, embriyogenesis ve bitki rejenerasyonu yeteneği bakımından yeterli olacağını belirtmektedirler.

Tiainen (1992), patatesten yapmış olduğu anter kültürü çalışmasında, tomurcukların Ağustos ayından bir sonraki sene Temmuz ayına kadar her ay toplandığını bildirmektedir. Araştırmacı tomurcukların +6°C ve 30°C ön sıcaklık uygulamalarına tabi tutularak besi ortamına ekildiğini belirtmektedir. Çalışmada hiçbir ön uygulamanın yapılmadığı kontrol grubu ve +6°C'lik ön uygulamanın en iyi sonuç verdiği belirlenmiştir. Sonuçları aylar bazında değerlendirdiğinde araştırmacı, aylar arasında önemli farklılıklar görüldüğünü, Eylül ve Ekim aylarında yüksek sonuçlar elde edildiğini (%15-20) saptamıştır. Ancak bu embriyolardan sadece %6-8 oranında bitkiye dönüşüm gözlediğini vurgulamaktadır. Çalışmada Şubat-Mayıs arasındaki aylarda alınan anterlerde embriyo oluşumunun %1-3 oranında olduğu saptanmıştır. Anterden embriyo oluşumuna bitki yaşının, ön uygulamaların, besi ortamının etkili olduğu ve çeşitlerin kültüre verdikleri yanıtlar arasında farklılıklar olabileceği belirtilmiştir. Mevsimsel farklılıklarında anter kültürüne yanıtı önemli ölçüde etkilediği bildirilmiştir.

Dunwell vd (1985), kışlık kolzada yaptıkları çalışmada 11 F₁ hibrid çeşidi kullanmışlar, bu bitkilerin yarısını 16 saatlik fotoperiyotta ve 15°C'de, diğer yarısını ise, 16 saatlik fotoperiyotta ve 20°C'de yetiştirmişlerdir. Her iki bitki grubundan da eşit sayıda alınan tomurcukların yarısı, +4°C'de 14 saat ön soğuk uygulamasına tabi tutulduktan sonra kültüre alınmışlardır. Diğer yarısında ise hiçbir ön uygulama yapılmayarak direk kültüre alınmışlardır. Ayrıca kültüre alınan anterler, 35°C'de 1, 2 ve 3 gün tutularak 30°C'de büyüme odalarına aktarılmışlar ve hiçbir ön sıcaklık uygulamasına tabi tutulmadan büyüme odasına alınan anterlerle karşılaştırılmışlardır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, verici bitki yetiştirme sıcaklığının 15°C olması durumunda daha iyi sonuç alındığı, +4°C'de ön soğuk uygulamasının olumsuz etki

yaptığı ve taze anterlerin kültüre alınmasının embriyo dönüşüm oranı bakımından daha yüksek değerler verdiği görülmektedir. Araştırmacılar 35°C'lik sıcaklık uygulamasının mutlaka yapılmasını ve 2 gün bu sıcaklıkta bekletmenin en iyi yanıtı verdiğini saptamışlardır. Ayrıca anterlerden embriyo oluşumu ile bu embriyolardan bitkiye dönüşüm frekanslarının değişiklik gösterdiğini belirtmektedirler.

Ouyang vd (1987), farklı koşullarda (tarla ve sera) yetiştirdikleri buğday çeşitlerinde yaptıkları çalışmada, 5 farklı çeşit kullanmışlardır. Çalışmalarında yüksek embriyogenesis oranı için farklı genotiplerin ayrı kültür sıcaklıklarına ihtiyaç duyduklarını belirten araştırmacılar, aynı genotiplerin de değişik yetiştirme koşullarında farklı sonuçlar verdiklerini belirtmişlerdir. Sonuçlar yetiştirme koşulları bakımından değerlendirildiğinde ise, anterlerin sera koşullarında, tarlada yetiştirildikleri kadar iyi sonuç vermediği görülmektedir. Polen tanesinin tek çekirdekli olduğu devrenin açıkta 2,5-3 mm olurken serada 2-2,5 mm olduğunu da araştırmacılar çalışmalarının sonucuna eklemişlerdir.

Lu vd (1991), buğdayda 22 kültür ve ıslah hattında çalışmışlar, donör bitkileri tarlada, serada ve büyüme odalarında olmak üzere 3 farklı ortamda yetiştirmişlerdir. Başaklar +4°C'de 0-7 gün karanlıkta muhafaza edilmiş, kullanılan besi ortamına 2 mg/l 2,4-D, 1 mg/l Kinetin, 100 g/l sukroz ve 8 g/l agar ilave edilmiştir. Oluşumu gözlenen 1-2 mm çapındaki kallusların modifiye edilmiş MS ortamına aktarıldığı küçük sürgün yada bitkinin 28 gün sonra oluştuğu belirtilmiştir. Genotiplerin, kültüre verdikleri cevapların çok değişken olduğu araştırmada, 9 tane yeşil 1 tane albino bitki elde edilebilmiştir. Elde edilen 10 bitkinin 8 tanesinin diploid, 2 tanesinin haploid olduğu kök ucunda feulgen boyama yöntemi ile kromozom sayımlarının belirlendiği bildirilmiştir. Tarlada yetiştirilen verici bitkilerin kültüre, serada ve büyüme odasında yetiştirilenlerden çok daha iyi yanıt verdiği belirtilmiş, tarlada yetiştirilen bir genotipte yapılan çalışmada, yağışlı yılların kurak geçen yıllara oranla daha başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Ayrıca araştırmadan çıkartılan bir diğer sonucunda, anterlerin ortama temas eden lokuluslarından oluşan kallusların embriyo oluşturabilecek yapıda olanlar olduğu ifade edilmektedir. Anteri yukarı pozisyonunda ortama yerleştirmenin başarıyı arttırabileceği belirtilmiştir.

Doğramacı vd (2001) buğdayda yaptıkları çalışmada 10 farklı genotip ve 4 farklı embriyo teşvik ortamı kullanmışlardır. Verici bitkiler tarlada, serada ve özel büyüme odalarında yetiştirilmişlerdir. %1'lik asetokarmin ile uygun tomurcuk aşaması belirlenerek toplanan başaklar, 7 gün +4°C'de soğuk uygulamasına tabi tutularak kültüre alınmışlardır. Çalışmada, kullanılan genotiplerden sadece 3 tanesinden yeşil bitki elde edildiği, 7 genotipte de albino bitki oluşumu gözlemlendiği rapor edilmektedir. Tarlada yetiştirilen bitkilerden alınan tomurcukların anter cevabının ve kallus oluşumunun daha yüksek olduğu, elde edilen yeşil bitkilerin ise, tarlada daha fazla olmakla beraber serada ve tarlada yetiştirilen materyalden elde edildiği belirtilmektedir. Yeşil bitki elde edilmesinde kullanılan ortamlar arasında farklılık gözlenmediği, genotiplerin her bir ortam için farklı cevaplar verdiği bildirilmektedir.

Çiçeklenme periyodunun başlangıcında genç bitkilerden alınan anterlerin büyüme periyodunun daha geç dönemlerinde alınan anterlerden daha olumlu sonuçlar verdiği genel bir kabul olarak bildirilmektedir. (Bajaj 1990, Powel 1990). Biber haploid eldesinde direk etkili olduğu kabul edilen bitki yaşı ile ilgili yapılmış ve ulaşılabilen çalışmalar aşağıdakiler ile sınırlıdır.

Kristiansen ve Andersen (1993), biberde yaptıkları anter kültürü çalışmalarında, verici bitki yaşı, ışıklandırması ve sıcaklığın etkisini araştırmışlardır. Üç farklı fotoperiyodun (11, 15 ve 19 saat), üç farklı bitki yetiştirme sıcaklığının (22 °C, 26 °C ve 30 °C) ve 3 farklı hibrid çeşidin denendiği çalışmada, yapılan istatistiksel analizlerde, fotoperiyodun önemsiz olduğu saptanmıştır. Verici bitkilerin yetiştirilmesi sırasında farklı sıcaklık uygulamalarının yapıldığı, sıcaklığın artması ile embriyo gelişiminin arttığı belirtilmektedir. Optimal gelişimin olduğu 26 °C'de maksimum (%2 embriyo) embriyo gelişimi gözlemlendiği ifade edilmektedir. Çalışmada verici bitkilerin yetiştirildiği ortam sıcaklığı biber için optimum yetiştirme sıcaklığı olan 26°C civarında olduğundan embriyo oluşum oranının arttığı bildirilmiştir. Düşük sıcaklıkta (16°C) yetiştirilen verici bitkilerden anterlerin kültüre alınması ile %0,2 embriyo elde edilmişken, 26°C'de yetiştirilen verici bitkilerden alınan anterlerden yaklaşık %2 embriyo elde edilmiştir. Çalışmada verici bitkiler için en uygun ortalama sıcaklığın 26°C olduğunu ifade

etmişlerdir. Araştırmacılar, verici bitki yaşının etkisini belirlemek nedeniyle haftalık olarak kültüre aldıkları anterlerden elde edilen sonuçlar doğrultusunda, bitki yaşı ilerledikçe embriyogenesisin azaldığını, genç bitkilerden alınan anterlerden %2-3 oranında embriyo oluştuğunu saptamışlardır. Buna karşın 12-14 haftalık bitkilerden alınan anterlerden ise hiç embriyo oluşmadığını bildirmişlerdir.

Vagera (1990) biberde, vejetasyon periyodu içerisinde tarla koşullarında yetiştirilen sağlıklı verici bitkilerden anter kültüründe çok iyi sonuçlar alındığını bildirmiştir.

Mityko vd (1995), biberde 4 ıslah hattı, 7 kültür çeşidi ve bunların melezleri ile çalışmışlar ve 2 kültür çeşidi dışındaki tüm genotiplerde bitkiye dönüşüm sağlamışlardır. Bitkiye dönüşüm oranları, kullanılan genotiplere göre değişmekle beraber, genotipin biberde androgenik tepki üzerine oldukça etkili olduğunu, en iyi sonucu Feherözön kültür çeşidinden elde ettiklerini bildirmişlerdir. Serada yetiştirilen verici bitkilerden kültüre alınan tomurcukları ilk 8 gün karanlıkta bekleten araştırmacılar, tomurcukları ise korolla ile kaliksin aynı uzunlukta ya da bir parça geçtiği aşamada toplamışlardır. Çalışmada, anterlerin kültüre alınmasından 30-40 gün sonra embriyo oluşumları gözlenmiş, aylık alt kültür yapıldığı takdirde, 4 ay sonra bile embriyo görülebildiği belirtilmiştir. Flow sitometri ile ploidi seviyeleri belirlenen androgenik bitkilerde, haploid ve spontan double haploid bitkilerin 1:1 oranında elde edildiği bildirilmiştir.

Taşkın (2005), üç defa kendilenmiş düşük sıcaklığa tolerant olarak belirlenen A71, A269, A313 numaralı, orta derecede tolerant olarak belirlenen A109 numaralı ve duyarlı olarak belirlenen A74 numaralı genotipleri kullandığı araştırmasında, biber genotipleri arasında en yüksek embriyo verimini 184 adet embriyo ile soğuğa tolerant olarak belirlenmiş olan 269 nolu genotipinden, anter alma dönemlerinden ise en başarılı sonuçları Nisan ve Mayıs aylarından elde etmiştir. Çalışmada Nisan ayında oluşan 80 adet olgun embriyonun %8,52'si bitkiye dönüşebilirken, Mayıs ayında 54 adet olgun embriyonun %10,23'ü bitkiye dönüşebilmiştir. Haziran ayında ise 80 adet olgun embriyonun %8,63'ü bitkiye dönüşebilmiştir. Taşkın, çalışmasında elde edilen bulgulara dayanarak, denemede kullanılan genotiplerde haploid embriyo uyartımının

sağlanabilmesi ve embriyo kalitesinin artırılabilmesi için, her genotip için uygun besin ortamının ve dönemin saptanması sonucuna varmıştır.

Ercan vd (2006), Kekova ve Sera Demre-8 sivri tip biber çeşitlerinde yaptıkları çalışmalarında donör bitkilerin yaz ve kış mevsimlerinde farklı sonuçlar verdiklerini, bitki yaşı ile mevsim arasındaki interaksiyonun istatistiki açıdan önemli bulunduğunu, her mevsim için uygun çeşitlerle çalışılmasının anter kültüründe başarıyı arttıracığını belirtmektedirler. Mevsime göre yaşlı bitkilerin genç bitkiler kadar iyi sonuçlar verebileceğini gözlemleyen araştırmacılar, uygun mikrospor aşamasında polen içeren anterlerle çalışıldığında yaşlı bitkilerinde genç bitkiler kadar başarılı olabileceğini bildirmektedirler.

Chambonnet (1988), sebzelerde, çok sayıda haploid bitkinin, gamet hücrelerinden elde edilebileceğini belirtilmektedir. Araştırmacıya göre anter kültüründe embriyo teşviki için, ilk 17 gün sırasında karanlık koşullar ve ilk 2-3 gün 35°C'lik termal şok gerekmektedir. Embriyo gelişimi için ise ortalama 25°C ve ışıklandırılmalı bir ortam sağlanmalıdır. Haploid bitki eldesinde genotipin, verici bitkinin yetiştirilme koşullarının, verici bitki yaşının, mikrosporların aşamalarının, termal şokun, karanlığın ve besi ortamının etkili olduğu bildirilmektedir. Birçok araştırmada ilk çiçek tomurcuklarının ilerleyen dönemlerdeki çiçek tomurcuklarına göre daha yüksek oranda başarı gösterdiğini belirten araştırmacı, patlıcanda yaşlı bitkilerin ve sonbaharda yetiştirilme durumunda daha çok sayıda embriyo oluşturduğunu bildirmektedir. Verici bitki yetiştirme koşulları için biber bitkisinde açıkta yetiştiriciliğinin, sera yetiştiriciliğine oranla daha olumlu sonuçlar verdiğini açıklamıştır. Biberde, sepallerin petallerle aynı seviyede olduğu tomurcukların ya da çok az antosiyanin oluşmuş anterleri içeren çiçek tomurcuklarının en uygun aşama olduğunu ve her bitki çeşidi için besi ortamının optimize edilmesi gerektiğini bildirmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada 3 farklı biber tipi (sivri, dolmalık, yağlık) ve her tipten Antalya çevresinde yaygın olarak yetiştirilen 2'şer çeşit kullanılmıştır. Kış mevsimi denemelerinde yağlık tipte Alcapı F₁ ve Kappy F₁ biber çeşitleri, dolmalık tipte Balo ve Punto F₁ çeşitleri, sivri tipte Kekova F₁ ve Amazon F₁ çeşitleri kullanılmıştır. Yaz mevsimi denemelerinde ise yağlık tipte T-304 ve Atris F₁ biber çeşitleri, dolmalık tipte Ergenekon F₁ ve Punto F₁ çeşitleri, sivri tipte Bafra F₁ ve Delta çeşitleri kullanılmıştır. Dolmalık ve yağlık tip biberlerde kullanılacak ortamın belirlenmesi amacıyla yapılan ön çalışmada ise Kandil ve Yağlık biber çeşitleri kullanılmıştır.

- Kappy F₁ (Rito tohumculuk A.Ş.): Kappy'nin bitki yapısı orta güçtedir. Meyveler çok güzel, koyu kırmızı renkte ve şekli koniktir (Şekil 3.1). Meyveleri tatlı, kalın etli ve lezzetlidir. Yapraklar, meyveleri iyice örter. Kappy erkenci ve verimli yağlık bir çeşittir. Kış ve ilkbaharda örtüaltında yetiştiriciliği yapılır (Anonim 2011a).

- Alcapı F₁ (Su Tarım Ltd): Örtüaltı tek ekim ve açık tarlada yaz dönemi yetişebilen, yüksek verimli bir çeşittir (Şekil 3.1). Yeşil ya da kırmızı olgunluk döneminde pazara sunulabilen Antalya bölgesinde Demre'de seralarında yoğun olarak yetiştirilen yağlık bir biber çeşididir (Anonim, 2011b).

-T-304 F₁ (Semini Vegetable Seeds, Inc.): T-304 bitkisi dik gelişen orta uzun boylu, yaprakları uzun ve orta koyu yeşil renklidir. Oldukça erkenci gelişen meyveleri yaklaşık ortalama 18 cm uzunlukta, 6 cm çapında olup uca doğru hafif sivrileşen konik şekillidir (Şekil 3.2). Meyve üzeri tamamen düz ve hafif yassıdır. Meyveler olgunlaşmadan önce yeşil renkli olup, olgunlaşan meyve parlak kırmızı renge dönüşmektedir. Meyve eti oldukça kalın olup 3-4 mm'ye kadar çıkmaktadır. Meyve eti kalınlığı, iç ve dış rengi ile meyve sapı çukurunun az belirgin olması gibi özellikleri ile standart çeşitten hemen ayrılmaktadır. Bahsedilen özellikler T-304 F₁'in közleme biber, şerit ve kare kesim konserve ile soğuk şoklama da ön plana çıkarmaktadır (Anonim, 2011c).

-Atris F₁ (Nunhems Tohumculuk Ltd.Şti): Güçlü bitki yapısına sahip, tek ekim yetiştiriciliğine ve bahar-yaz dönemi yetiştiriciliğine uygun yüksek verimli bir çeşittir. 20-22 cm uzunluğundaki basık olmayan yuvarlak meyveleri koyu kırmızı renge sahiptir (Şekil 3.2). Temmuz'a kadar yetiştiriciliğin devam ettiği tek ekim için dikim tarihi 20 Ağustos-20 Eylül, aralık ayına kadar devam eden bahar yetiştiriciliği için mart ayı uygun dikim tarihidir (Anonim, 2011d).



Şekil 3.1. Kappy F₁ (a) ve Alkapi F₁ (b) çeşitlerinden bir görünüm



Şekil 3.2. T-304 F₁ (a) ve Atris F₁ (b) çeşitlerinden bir görünüm

- Kekova F₁ (Antalya Tarım A.Ş.): Tek mahsul ve bahar yetiştiriciliğine uygun, orta güçlü bitki yapısına sahip, çok yüksek verimli demre sivrisi tipi biber çeşididir. Kış aylarında takoz yapmaz. Ortalama meyve uzunluğu 22 cm 'dir. Meyve ağırlığı 30 g'dır (Şekil 3.3). Meyveleri tatlı, çok düzgün şekilli, körüksüz ve açık yeşil renklidir (Anonim, 2011f).

- Amazon F₁ (Seminis Vegetable Seeds, Inc.): Uzun Demre tipi olup, 20-22 cm. meyve uzunluğunda ve 2-2.5 cm çapındadır. Meyveleri ihracata uygun, koyu yeşil renkte, hafif körüklü ve yüksek albenilidir (Şekil 3.4). Erkençi ve yüksek verimlidir. Sezon boyu standart verim verir. Soğuk dönem performansı iyidir. Güçlü bitki yapısına sahip olup, hastalık dayanımı yüksektir (Anonim, 2011c).

-Bafra F₁ (Yüksel tohum A.Ş.): Çok güçlü bitki yapısına sahip açıkta yetiştiriciliğe uygun bir çeşittir. Erkençi ve yüksek verimli olup, iklim şartlarından kaynaklanan strese dayanıklıdır. Parlak koyu yeşil renkli 22-25 cm arasında boya sahip düzgün meyveleri (Şekil 3.3) yüksek kalitelidir (Anonim, 2011e).

- Delta (Palmiye Tohumculuk Ziraat San. ve Tic. Ltd.Şti): 2 cm çapında, 21-22 cm ortalama meyve uzunluğunda, koyu yeşil, sivri tip, acı biberdir (Şekil 3.4). Güz ve bahar dönemi örtüaltı ile açık alan yetiştiriciliğine uygundur (Anonim, 2011g).



Şekil 3.3. Kekova F₁ (a) ve Amazon F₁ (b) çeşitlerinden bir görünüm



Şekil 3.4. Bafra F₁ (a) ve Delta (b) çeşitlerinden bir görünüm

- Punto F₁ (Rito tohumculuk A.Ş.); ilkbaharda sera, alçak tünel ve özellikle açık alan yetiştiriciliği için uygundur. Punto'nun güçlü ve açık bitki yapısı vardır. Yan dallanması ve çiçeklenmesi iyi olduğundan verimi yüksektir. Yaprakları meyveleri örterek güneş yanıklığından korur (Şekil 3.5). Çok erkenci bir çeşit olup, meyveleri ince etli, kaliteli ve uzun raf ömrüne sahiptir (Anonim, 2011h).

- Balo F₁ (Rito tohumculuk A.Ş.); Balo RZ sonbahar, kış ve ilkbahar sera yetiştiriciliği için tavsiye edilir. Bu verimli çeşit erkencidir (Şekil 3.5). Şekli güzel ve uzun raf ömrü vardır. Meyve etinin ince olması dolma doldurmak için mükemmeldir (Anonim 2011h).

- Ergenekon F₁ (Bircan Tohum): Güçlü kök ve bitki yapısına sahiptir. Açık alanda yatmayan, adaptasyon yeteneği yüksek, istikrarlı ve yüksek verimli bir bitkidir. Meyveleri kapatan yaprak yapısı vardır (Şekil 3.6). Orta kalınlıkta meyve etine sahip, meyve zarı ince, ihracata uygun, uzun raf ömrü olan koyu yeşil ve parlak meyvelere sahiptir (Anonim 2011i).



Şekil 3.5. Punto F₁ (a) ve Balo F₁ (b) çeşitlerinden bir görünüm



Şekil 3.6. Ergenekon F₁ çeşidinden bir görünüm

- Kandil (Pinaper Tohumculuk): Orta erkenci bir çeşittir. Meyve uzunluğu 7-8 cm, çapı 5-7 cm, 3-4 lopludur. Meyve rengi yeşil, eti ince olup, tatlı, gevrek, dolmalık bir çeşittir. Meyvelerin bitki üzerindeki durumu sarkıktır (Şekil 3.7). Nakliyeye ve depolamaya dayanıklıdır (Anonim 2011j).

- Yağlık (Bursa Tohumculuk): İyi bakım şartlarında meyveleri 18-20 cm'e kadar uzayabilen, kalın etli, kırmızı, bol verimli açık tarla çeşididir (Şekil 3.7). (Anonim 2011k).



Şekil 3.7. Dolmalık tip Kandil (a) ve Yağlık tip Yağlık (b) biber çeşitlerinden bir görünüm

3.2. Metot

3.2.1. Çalışma planı

Çalışmada mevsimin etkisi yaz ve kış olmak üzere 2 ayrı dönemde incelenmiştir. Kış mevsiminde 6 ay serada, yaz mevsiminde 6 ay açıkta yetiştiricilik yapılmıştır. Genotipin etkisini belirlemek için 3 tip ve her tipte 2'şer çeşit olacak şekilde toplamda 12 çeşit ile çalışılmıştır. Her iki mevsimde de 6 farklı çeşit kullanılmış, çeşitleri belirlenirken mevsime uygun olmasına dikkat edilmiştir. Bitki yaşının etkisi ise aylık olarak değerlendirilmiştir. Her ay dikim yapılmış, daha önce dikilen bitki grupları sökülmeyerek mevsim sonuna kadar tüm dikim gruplarında anter kültürü çalışmaları devam etmiştir. Kış mevsiminde Kasım-Nisan ayları arasında (Çizelge 3.1); yaz mevsiminde ise Mayıs-Ekim ayları arasında (Çizelge 3.2) dikimler her çeşitten 15'er bitki olacak şekilde her ay yapılmıştır.

Bitki yaşının etkisinin önemli olduğu çalışmada hata payını azaltmak amacıyla fide dikimleri ilgili ayın ilk haftasında yapılmıştır. 2 yıl boyunca her ay Fidesan firmasından temin edilen fidelerin tohum ekiminde de aynı titizlik gösterilmiş, tohum ekiminden fide teslimine kadar geçen süre her seferinde eşit olmuştur. Tomurcukların kültüre alınma işlemleri ise denemenin tüm ayı kapsaması amacıyla 3. ve 4. haftalarda gerçekleştirilmiştir. Her iki haftada da her çeşitten 10'ar tomurcuk toplanarak denemenin aynı zamanlarda kurulması sağlanmıştır. Bu şekilde her bir bitki yaşı için tüm çeşitlerden aylık 20'şer adet tomurcuk kültüre alınmıştır. Uygun aşamada polen içeren tomurcukları belirlemek amacıyla her mevsimde bir kez yapılan sitolojik çalışmalar ise Kış mevsiminde Kasım ayının 3.haftasında, Yaz mevsimi içinde Mayıs ayının üçüncü haftasında yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre tüm çalışma boyunca mevsime göre belirlenen tomurcuk boyutu kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Kış mevsimine ait çalışma planı

Kış dikim zamanları		Tomurcukların kültüre alınma zamanı	Sonuçların aylık değerlendirilmesinde yer alacağı grup
1.dikim zamanı	Kasım 1.hafta	Kasım 3. ve 4. hafta	1 aylık bitki
		Aralık 3. ve 4. hafta	2 aylık bitki
		Ocak 3. ve 4. hafta	3 aylık bitki
		Şubat 3. ve 4. hafta	4 aylık bitki
		Mart 3. ve 4. hafta	5 aylık bitki
		Nisan 3. ve 4. hafta	6 aylık bitki
2.dikim zamanı	Aralık 1.hafta	Aralık 3. ve 4. hafta	1 aylık bitki
		Ocak 3. ve 4. hafta	2 aylık bitki
		Şubat 3. ve 4. hafta	3 aylık bitki
		Mart 3. ve 4. hafta	4 aylık bitki
		Nisan 3. ve 4. hafta	5 aylık bitki
3.dikim zamanı	Ocak 1.hafta	Ocak 3. ve 4. hafta	1 aylık bitki
		Şubat 3. ve 4. hafta	2 aylık bitki
		Mart 3. ve 4. hafta	3 aylık bitki
		Nisan 3. ve 4. hafta	4 aylık bitki
4.dikim zamanı	Şubat 1.hafta	Şubat 3. ve 4. hafta	1 aylık bitki
		Mart 3. ve 4. hafta	2 aylık bitki
		Nisan 3. ve 4. hafta	3 aylık bitki
5.dikim zamanı	Mart 1.hafta	Mart 3. ve 4. hafta	1 aylık bitki
		Nisan 3. ve 4. hafta	2 aylık bitki
6.dikim zamanı	Nisan 1.hafta	Nisan 3. ve 4. hafta	1 aylık bitki

Çizelge 3.2. Yaz mevsimine ait çalışma planı

Yaz dikim zamanları		Tomurcukların kültüre alınma zamanı	Sonuçların aylık değerlendirilmesinde yer alacağı grup
1.dikim zamanı	Mayıs 1.hafta	Mayıs 3. ve 4. hafta	1 aylık bitki
		Haziran 3. ve 4. hafta	2 aylık bitki
		Temmuz 3. ve 4. hafta	3 aylık bitki
		Ağustos 3. ve 4. hafta	4 aylık bitki
		Eylül 3. ve 4. hafta	5 aylık bitki
		Ekim 3. ve 4. hafta	6 aylık bitki
2.dikim zamanı	Haziran 1.hafta	Haziran 3. ve 4. hafta	1 aylık bitki
		Temmuz 3. ve 4. hafta	2 aylık bitki
		Ağustos 3. ve 4. hafta	3 aylık bitki
		Eylül 3. ve 4. hafta	4 aylık bitki
		Ekim 3. ve 4. hafta	5 aylık bitki
3.dikim zamanı	Temmuz 1.hafta	Temmuz 3. ve 4. hafta	1 aylık bitki
		Ağustos 3. ve 4. hafta	2 aylık bitki
		Eylül 3. ve 4. hafta	3 aylık bitki
		Ekim 3. ve 4. hafta	4 aylık bitki
4.dikim zamanı	Ağustos 1.hafta	Ağustos 3. ve 4. hafta	1 aylık bitki
		Eylül 3. ve 4. hafta	2 aylık bitki
		Ekim 3. ve 4. hafta	3 aylık bitki
5.dikim zamanı	Eylül 1.hafta	Eylül 3. ve 4. hafta	1 aylık bitki
		Ekim 3. ve 4. hafta	2 aylık bitki
6.dikim zamanı	Ekim 1.hafta	Ekim 3. ve 4. hafta	1 aylık bitki

2007 yılının Kasım ayı ile 2008 yılının Nisan ayları arasında Kış mevsimi (Kış-1) ile başlayan denemenin ilk yılı, 2008 yılının Mayıs-Ekim ayları arasında Yaz mevsimi (Yaz-1) dikimleri ve anter kültürü çalışmaları ile tamamlanmıştır. Ertesi yıl deneme tekrarlanmış; 2008 yılının Kasım ayı ile 2009 yılının Nisan aylarında Kış mevsiminin ikinci yıl denemeleri (Kış-2) yapılmış, 2009 yılının Mayıs-Ekim ayları arasında Yaz

mevsiminin ikinci yıl denemeleri (Yaz-2) tamamlanmıştır. Yaz-2 denemelerinde embriyo oluşum ve bitkiye dönüşüm sonuçları beklenmiş, denemenin arazi çalışmaları 2009 yılının Kasım ayında, embriyoların gözlenmesi çalışmaları ise 2010 yılının Mart ayında tamamlanmıştır.

3.2.2. Bitkilerin yetiştirilmesi

Kış dönemi kurulan denemede bitkiler sera içerisinde yetiştirilmişlerdir. Sulamanın damlama sulama yöntemi ile yapıldığı kışın serada yetiştiricilikte bitkiler 60 cm dar sıra arası, 100 cm geniş sıra arası ve 60 cm sıra üzeri mesafede çift sıralı olarak dikilmişlerdir. Soğuk günlerde de infrared sobalar ile ısıtılmışlardır. Bitkilerin yetiştirilmesi esnasında rutin ilaçlama, gübreleme, yabancı ot mücadelesi, meyvelerin büyümeden sürekli toplanması gibi bakım işlemleri hiç aksatılmadan gerçekleştirilmiştir.

Yaz döneminde ise bitkiler açık arazide yetiştirilmişlerdir. Sulamanın yine damlama sulama yöntemi ile yapıldığı arazide bitkiler 80 x 60 cm sıra arası-üzeri mesafede tek sıra dikilmişlerdir. Bitkilerin yetiştirilmesi esnasında rutin bakım işlemleri gerçekleştirilmiştir. Denemeler kış mevsiminde Kasım-Nisan aylarında, yaz mevsiminde ise Mayıs-Ekim ayları arasında yürütülmüştür.

3.2.3. Polenlerin taramalı elektron mikroskopunda (Scanning Electron Microscopy-SEM) incelenmesi

Çalışmada tipler arasında polen yapısı bakımından farklılıklar olup olmadığını saptamak amacıyla her biber tipinin polen yapıları mikroskop altında incelenmiştir. Bu amaçla Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde bulunan Mikroskop Ünitesindeki (TEMGA) Taramalı Elektron Mikroskopu (Scanning Electron Microscopy-SEM) kullanılmıştır. Polenlerin dış yüzeyleri, kaplama cihazı (sputter coater) ile yüksek vakum altında altın-paladyum ile kaplanarak, çok küçük bir alana odaklanan yüksek enerjili elektronlarla yüzeyin taranması prensibiyle çalışan Taramalı Elektron Mikroskopunda fotoğraflanmıştır.

Taze olarak toplanan polenler, içerisinde alkol bulunan ependorf tüpleri içerisinde konularak sürekli olarak nazikçe çalkalanmıştır. Laboratuvarına gelince ependorflar içerisinde polen içeren alkol, petriyer içerisinde boşaltılıp alkolün uçması sağlanmıştır. Alkol uçtuktan sonra kuruyan polenler çift taraflı bant yapıştırılmış staplarla toplanarak altınla kaplanmak amacıyla kaplama cihazına konulmuştur. Kaplanmış polenler başka bir uygulama yapılmadan aynı şekilde taramalı elektron mikroskobuna yerleştirilmiştir.

3.2.4. Floresans Mikroskobu (Fluorescence Microscope) ile polenlerin çekirdek aşamalarının incelenmesi

Uygun aşamada polen içeren çiçek tomurcuklarını belirlemek amacı ile yapılan denemenin bu kısmında yağlık, dolmalık ve sivri tiplerde tomurcuklar toplanarak 4 gruba ayrılmıştır. Bu gruplarda digital kumpas ile çiçek tablasının olduğu yerin çapı tomurcuk çapı; tomurcuğun en üst kısmından tomurcuk sapının başlangıcına kadar olan uzunluk ise tomurcuk boyu olarak ölçülmüştür. Ölçümleri tamamlanan tomurcuklardaki anterler üzerinde bir damla floresans özellikli boya solusyonu bulunan lam üzerine alınmışlardır. Anterlerin solusyon içerisinde parçalanmış, lamel ile kapatılan bu preparatlar mikroskop altında incelenmiştir. Polen çekirdeğinin boyanmasında Ethidium bromide yöntemi başarılı bir şekilde çalışmaktadır (Ercan vd 1998). Tek çekirdekli aşamada olduğu belirlenen polenleri içeren tomurcuklar saptanmış ve mevsim içerisindeki diğer anter kültürü çalışmalarında bu özellikteki tomurcuklar kullanılmıştır. Çalışmanın bu aşaması her iki mevsimde de tekrarlanmıştır.

Boyama amacıyla Ethidium bromide'in saf su ile hazırlanmış %0,1'lik stok solusyonu 10 kez sulandırılarak kullanılmıştır (Shivanna ve Rangaswamy 1974). Mikroskop incelemelerinde Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünde bulunan cisimlerin floresanlı maddelerle boyandığında yansıttıkları farklı renklerdeki ışıkları yansıtması prensibi ile çalışan ışık kaynağı olarak ultraviyole ışınları kullanan Floresans mikroskobundan yararlanılmış ve bilgisayarlı görüntü sistemi ile fotoğraflanmıştır.

3.2.5. Kùltürde kullanılan besi ortamı

Çalışmada sivri biber tipi için Ayar, (2003)'de başarılı olduğu saptanan besi ortamı 4 mg/l NAA ve 1 mg/l BA hormonları ilave edilmiş Murashige ve Skoog (1962)'un hazır besi ortamı, % 3 sukroz, % 0,8 agar, pH 5,7-5,8) kullanılmıştır. Dolmalık ve yağlık tipler için kaynak taramaları sonucu başarılı olduğu belirlenmiş farklı besi ortamlarından seçim yapabilmek için uygun besi ortamı kombinasyonu saptanmıştır. Bu amaçla başarılı olduğu belirlenmiş 9 farklı besi ortamı aktif kömür ilaveli ve aktif kömür ilavesiz olarak her iki biber tipinde denenmiş, embriyo oluşumları gözlenmiştir. pH'ı 5.7-5.8'e ayarlı % 3 sukroz ve % 0,8 agar ilave edilmiş Murashige ve Skoog (1962)'un hazır besi ortamına aşağıdaki hormon kombinasyonları ilavesi edilmiştir.

1 = 0,2 mg /l 2,4-D 0,1 mg /l KIN	1A =0,2 mg /l 2,4-D 0,1 mg /l KIN+Aktif kömür
2 = 0,5 mg /l BAP	2A = 0,5 mg /l BAP+Aktif kömür
3 = 4 mg /l NAA 1 mg /l BAP	3A = 4 mg /l NAA 1 mg /l BAP+Aktif kömür
4 = 5 mg /l KIN 5 mg /l 2,4 D	4A = 5 mg /l KIN 5 mg /l 2,4 D+Aktif kömür
5 = 0,5 mg /l 2,4 D 0,5 mg /l BAP	5A = 0,5 mg /l 2,4 D 0,5 mg /l BAP+Aktif kömür
6 = 1 mg /l NAA 4 mg /l BAP	6A = 1 mg /l NAA 4 mg /l BAP+Aktif kömür
7 = 4 mg /l KIN 1 mg /l NAA	7A =4 mg /l KIN 1 mg /l NAA+Aktif kömür
8 = 0,1 mg /l 2,4 D 0,1 mg /l NAA	8A = 0,1 mg /l 2,4 D 0,1 mg /l NAA+Aktif kömür
9 = 0,5 mg /l 2,4 D 0,5 mg /l BAP	9A = 0,5 mg /l 2,4 D 0,5 mg /l BAP+Aktif kömür

Genotip X bitki yaşı interaksiyonunun haploid bitki eldesi üzerine etkisini belirlemek için dolmalık ve yağlık tip biber çeşitlerinde bu ön denemede belirlenen ortamlar üzerinde deneme kurulmuştur. Murashige ve Skoog (1962) ortamının besin içeriği Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3. 3. Murashige ve Skoog temel besi ortamının içeriği (Murashige ve Skoog, 1962)

I) Makro Elementler	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
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.3
II) Mikro Elementler	mg/l
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3
H ₃ BO ₃	6.2
ZnSO ₄ .4H ₂ O	8.6
KI	0.83
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
III) Organik Bileşikler	mg/l
Myo-inositol	100
Thiamine-HCl	0.1
Nicotinic acid	0.5
Pyrodoxine-HCl	0.5

3.2.6. Tomurcukların ön soğuk uygulaması

Kültüre alınmadan bir gün önce uygun aşamada toplanarak kavanozlara konulan tomurcuklar, 24 saat süresince +4 °C'de bekletilerek ön soğuk uygulamaları yapılmıştır (Chambonnet 1988).

3.2.7. Kültür sırasında kullanılan malzemeler

Anter kültürü sırasında farklı kültür kapları kullanılmıştır. Anterlerin ilk konulduğu embriyo teşvik ortamları için 6 cm çapında, embriyo gelişimi için 9 cm çapında cam petriker tercih edilmiştir. Gelişen embriyoların bitkiye dönüşümü sırasında da 190 ml hacmindeki cam kavanozlar kullanılmıştır. Kullanılan petriker, pensler, bistüriler, saf su, kurutma kağıdı, boş kavanozlar gibi malzemelerin sterilizasyonu 121 °C sıcaklık ve 1,2 kg/cm² basınç altında 20 dk süre ile otoklavlanarak yapılmıştır. Steril kabin içerisinde kullanılması gereken fakat otoklavlanamayan streç film, asetat kalemi, tomurcukların olduğu kavanozlar gibi malzemelerde %70'lik alkol ile yüzey sterilizasyonları yapılmıştır. Kültür çalışmaları sırasında yukarıdan üfleli steril kabin kullanılmıştır.

3.2.8. Çiçek tomurcuklarının yüzey sterilizasyonu

Ön soğuk uygulaması yapılan çiçek tomurcuklarının yüzey sterilizasyonu, 100 ml'sine 1-2 damla Tween-20 damlatılmış %10'luk sodyum hipoklorit içerisinde 15 dk süre ile karıştırmak suretiyle yapılmıştır. 3 kez 5'er dk süre ile steril destile sudan geçirilerek petri içerisindeki kurutma kağıtları üzerinde bekletilmişlerdir. Bu şekilde tomurcuklar üzerinde biriken fazla suların süzülmesi sağlanmıştır. Her bir çeşit ve bitki yaşı uygulamalarının tomurcuklarının yüzey sterilizasyonu farklı kaplarda yapılmış, birbirlerine karışmaları engellenmiştir (Ayar 2003).

3.2.9. Anterlerin kültüre alınması

Kültüre alınmadan önce çiçek tomurcuklarının yüzey sterilizasyonu yapılmış, steril kabin içerisine alınarak fazla sularının alınması için kurutma kağıtları üzerinde

bekletilmişlerdir. İçerisinde kurutma kağı bulunan 9 cm çapındaki petrielerde, anterlerin tomurcuklarından çıkarılma işlemi yapılmıştır. Her tomurcuk işleme alındığında kurutma kağıtları değiştirilmiştir. Anterler petrieler içerisinde, bistüri ve pens yardımı ile diğer iek parçalarından ve filamentlerinden ayrılmışlardır. Bistüriler ve pensler %96'lık alkol ile alevde sterilize edilmişlerdir. Besi ortamı üzerine yerleştirirken bir iek tomurcuğundan çıkartılan anterlerin aynı petriye yerleştirilmiştir. Tüm anterlerin besi ortamına yerleştirilirken i kısımlarının yukarı bakmasına dikkat edilmiştir.

Petrielerin evresi, ortam içerisindeki suyun buharlaşarak kaybolmasını önlemek ve hava ile teması esnasında oluşabilecek kontaminasyonları engellemek amacıyla streç film ile 2-3 kat sarılmışlardır. İlerleyen aşamaların takibini kolaylaştırmak için üzerlerine çeşit ve kùltüre alınma tarihleri yazılmıştır. Her ay (ayda 2 kez kùltüre alma işlemi) her çeşit ve her dikim ayı için 20'şer tomurcuk kùltüre alınmış, iki mevsim için de 6 ay boyunca tüm aylarda bu işlem devam etmiştir. Mevsim sonunda büyüme odasına 720 petri yerleştirilmiştir.

3.2.10. Kùltür sonrası uygulamalar ve inkübasyon koşulları

Sterilizasyonu yapılan anterler, kùltüre alındıktan sonra, 8 gün boyunca 35°C'de karanlıkta bekletilmiştir. 8 gün sonunda, 25°C'de 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyotta ve 3000 lüks aydınlatmada olan kùltür odasına alınmışlardır. Rejenerasyon gerçekleşene kadar anterler bu koşullarda tutulmuşlardır. Yapılan günlük kontrollerde oluşumu gözlenen embriyolar hormonsuz ortama transfer edilmişlerdir. Tekrar aynı ortama alınan embriyoların gelişimleri gözlenmiş ve bitki gelişimine göre gerekirse daha büyük cam kùltür kaplarına alınmışlardır (Abak 1983b, Chambonnet 1988, Mitkyo vd. 1995, ömlekiođlu vd. 1999, Ercan vd. 2001). Embriyo oluşumları, çeşit ve dikim ayları temel alınarak kaydedilmişlerdir.

3.2.11. Embriyoların çimlenme ortamına alınması

Oluşan embriyoların gelişmeleri izlenerek, olgun aşamaya gelmiş ve kotiledonlarını oluşturmuş embriyolar belirlenmiştir. Belirlenen bu embriyolar zedelenmeden içinde embriyo çimlenme ortamı olan 9 cm'lik petrilere aktarılmışlardır. Embriyo çimlenme ortamı hormon ilave edilmemiş MS temel besi ortamı, %0,8 agar ve %3 sukrozdan oluşmuştur. Çimlenerek bitkiye dönüşen embriyolar, kök ve sürgün kısmı geliştiği aşamada içerisinde aynı ortam bulunan 190 ml hacimdeki kavanozlara alınmışlardır.

Burada gerçek yapraklarını oluşturarak sağlıklı görünüm kazanan bitkicikler de, dış ortama alıştırma işlemlerine tabi tutulmuşlardır.

3.2.12. Elde edilen bitkiciklerin ploidi seviyelerinin belirlenmesi

Gelişen bitkiciklerin Elçi (1982)'ye göre kök uçları boyanarak ploidi seviyeleri belirlenmiştir. Kök uçlarının boyanmasında şu aşamalar izlenmiştir.

- kökleri 2,5 cm olduğunda bitkiden ayırarak 16 saat süresince α -monobromonaftalin içerisinde bekletme,
- 1/2 saat glasiyal asetik asit içerisinde tutulup %70'lik alkol ile 3 defa yıkama (hemen sayım yapılamayacaksa %70'lik etil alkol içerisinde buzdolabında 1-2 aya kadar saklama),
- Boyama işlemine geçmeden alkolden çıkarılan kökler 3 defa sudan geçirilerek hidroliz için 1 N HCl içerisinde 60⁰C'de 10 dk kadar tutma,
- Suda yıkanan kökleri asetokarmin içerisine koyup boyama,
- Asetokarmin ile boyanmış kökleri kök ucu içinde kalacak şekilde 1,5-2 mm boyunda kesilmesi,
- 1 damla asetokarmin içinde bistüri ile küçük parçalara ayırıp üzerine lameli kapatma, asetokarminin kaynamamasına dikkat etmek şartı ile hafifçe ısıtarak mikroskopta incelemek üzere preparatın hazırlanması,
- Mikroskopta peraparatın incelenerek boyanmış kromozomların sayılması.

3.2.13. Sonuçların değerlendirilmesi

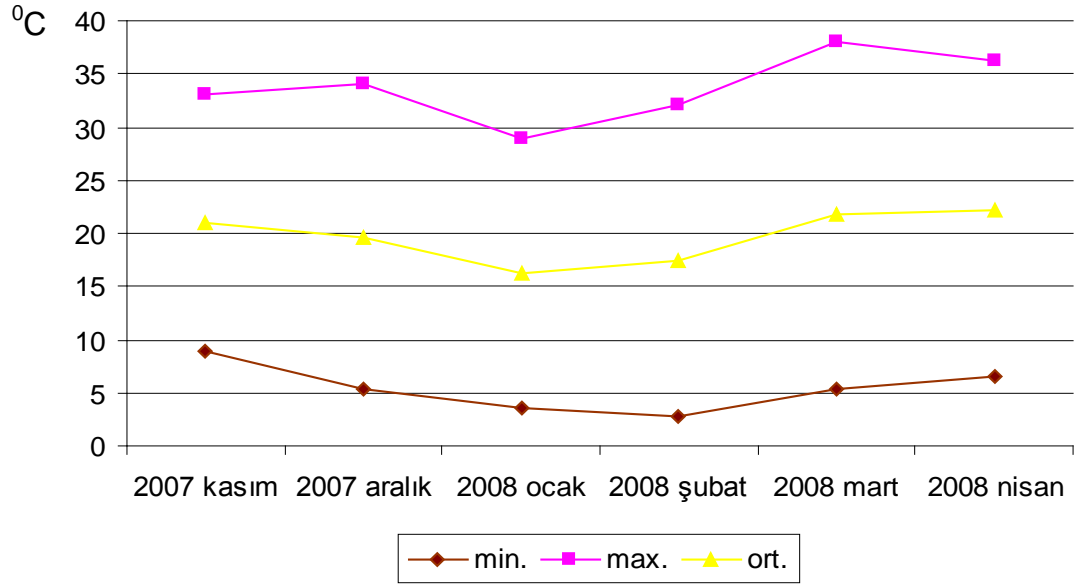
Haftalık olarak yapılmış olan gözlemler daha sonra aylık olarak düzenlenmiştir. Gözlemler; kültüre alınan petri sayısı (adet), kültüre alınan anter sayısı (adet), oluşan embriyo (adet), (%), oluşan bitki (adet), (%) ve kallus oluşumu (adet), (%) olarak kaydedilmiştir.

- Petri sayısı (adet): Anterlerin ekildiği petriler büyüme odasına alınmış, kontamine olan petriler var ise ortamdan uzaklaştırılmıştır. Çalışmada kontamine olmamış petriler değerlendirmeye alınmışlardır.
- Anter sayısı (adet): Petriler büyüme odasına alındıktan sonra anterler sürekli gözlenmişlerdir. Kültüre alınan anter sayıları kaydedilmiştir.
- Oluşan embriyo (adet), (%): Anterlerin kültüre alınmasından 1 ay sonra embriyoların oluşması başlamıştır. Aylık değerlendirmelerin daha doğru olması için kültüre alınan anterler her hafta, her çeşit ve her petri için izlenmiş ve daha sonra aylık olarak adet ve % olarak kaydedilmiştir.
- Oluşan bitki (adet), (%): Oluşan embriyoların gelişme ortamına alındıktan sonra bitkiye dönüşümleri gözlenmiş, sağlıklı gelişen bitkicikler değerlendirilmiş, aylık olarak toplanan veriler adet ve % olarak kaydedilmiştir.
- Kallus oluşumu (adet), (%): Değerlendirmeye alınan petrilerde kallus oluşturan anterler saptanmış, adet ve % olarak kaydedilmiştir.

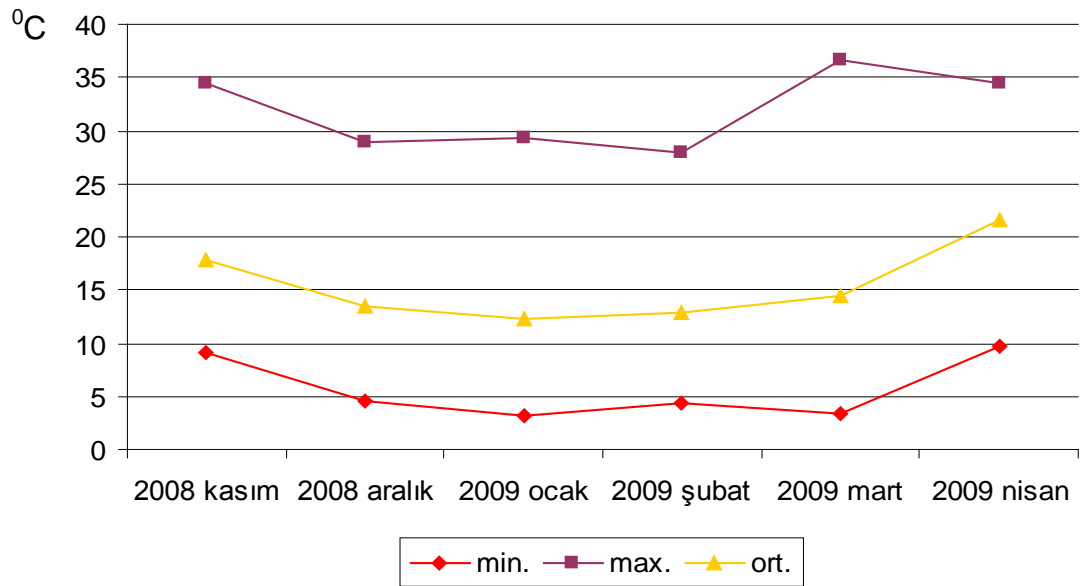
Çalışmada, donör bitkiler, tomurcuklar, bazı embriyo ve bitkicikler digital makine ile fotoğraflanmışlardır. Fotoğraflama işleminde f=6.3-63 mm, 1:3.5-3.7, 46 mm lens özelliklerine sahip 10x optical Fujifilm-FinePix S5800 marka fotoğraf makinesi kullanılmıştır. Binoküler mikroskop yardımı ile çekilen embriyo fotoğraflarında büyütme belirtilmiştir.

3.2.14. Meteorolojik veriler

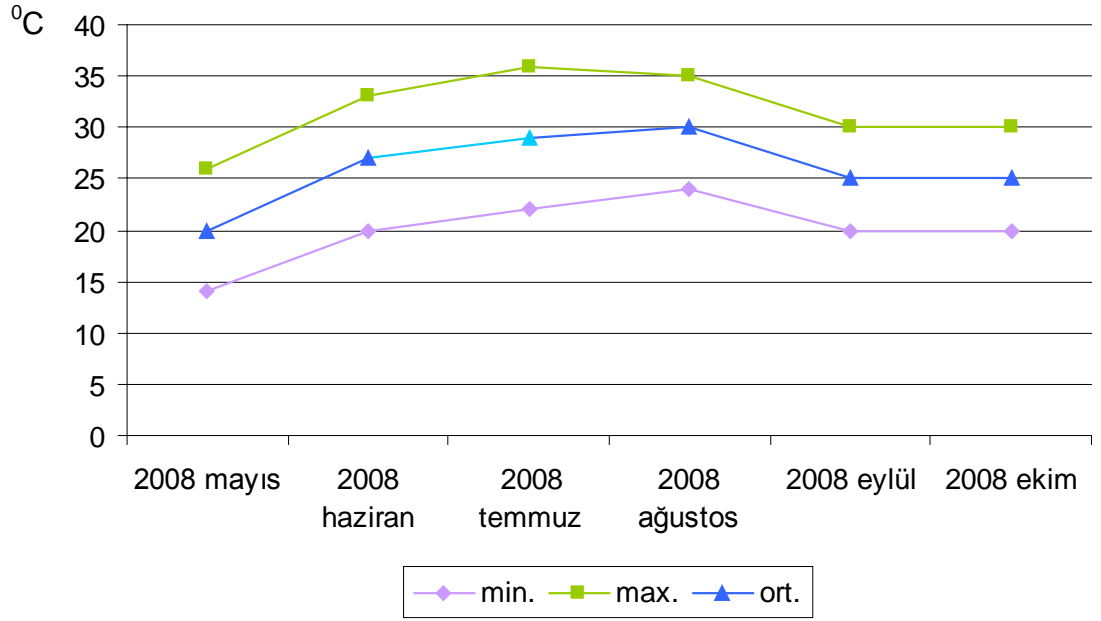
Kış mevsiminde donör bitkilerin serada yetiştirildiği dönemde kaydedilen sera içi sıcaklık değerleri Şekil 3.8 ve 3.9'da, donör bitkilerin açıkta yetiştirildiği yaz mevsiminde kaydedilen sıcaklık değerleri de Şekil 3.10 ve 3.11'de verilmiştir.



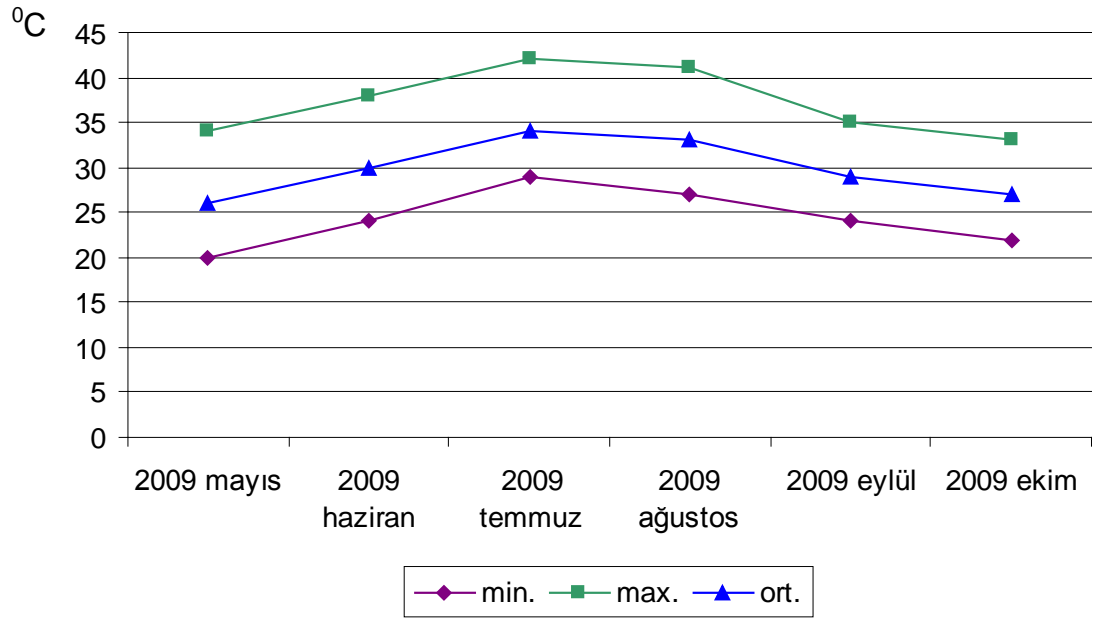
Şekil 3.8. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında sera minimum, maksimum ve ortalama sıcaklık değerlerinin aylık değişimleri (°C)



Şekil 3.9. Kış dönemi denemelerinin ikinci yılında sera minimum, maksimum ve ortalama sıcaklık değerlerinin aylık değişimleri (°C)



Şekil 3.10. Yaz dönemi denemelerinin birinci yılında minimum, maksimum ve ortalama sıcaklık değerlerinin aylık değişimleri (°C)



Şekil 3.11. Yaz dönemi denemelerinin ikinci yılında minimum, maksimum ve ortalama sıcaklık değerlerinin aylık değişimleri (°C)

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

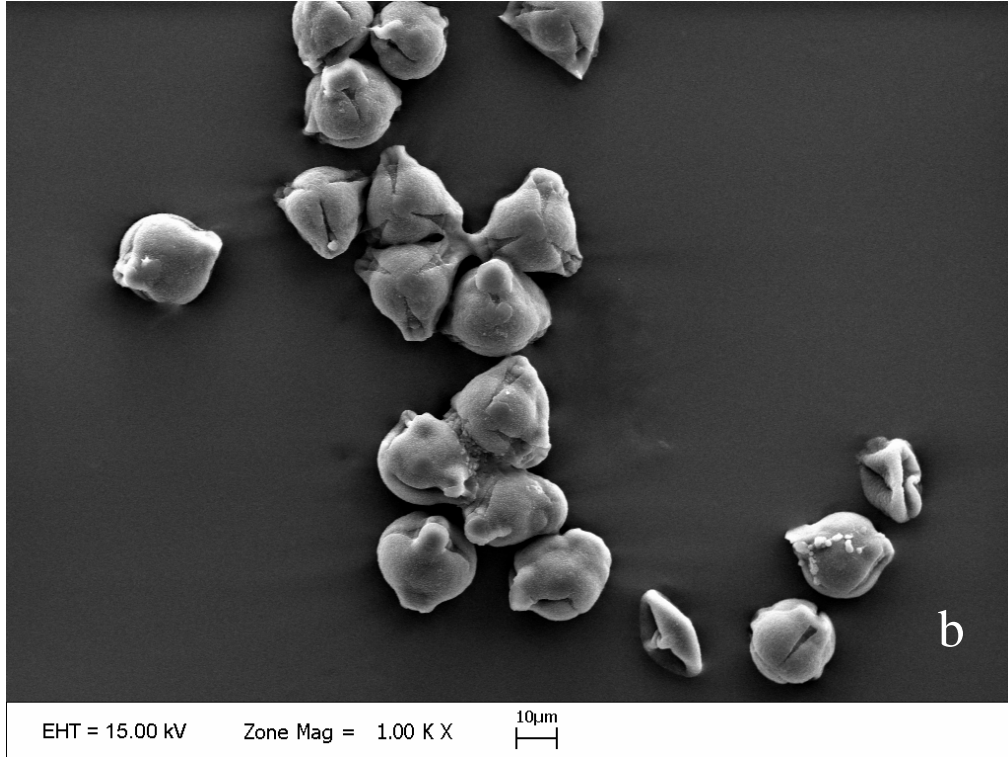
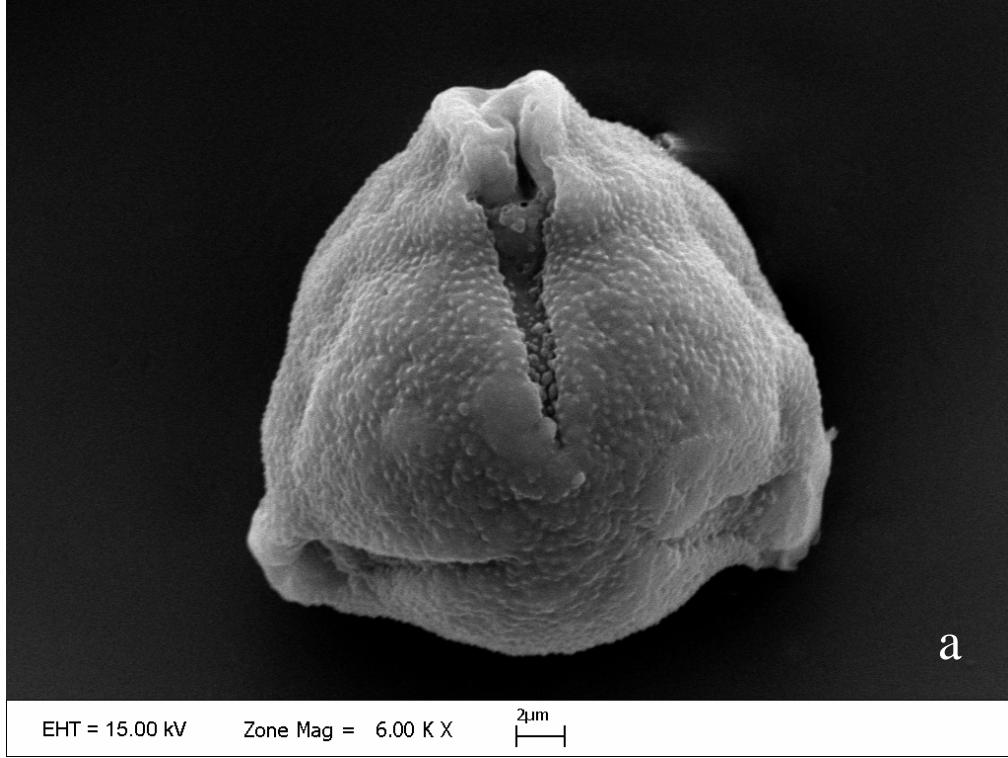
4.1. Polen İle İlgili Sitolojik Araştırmalar

4.1.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy-SEM) incelemeleri

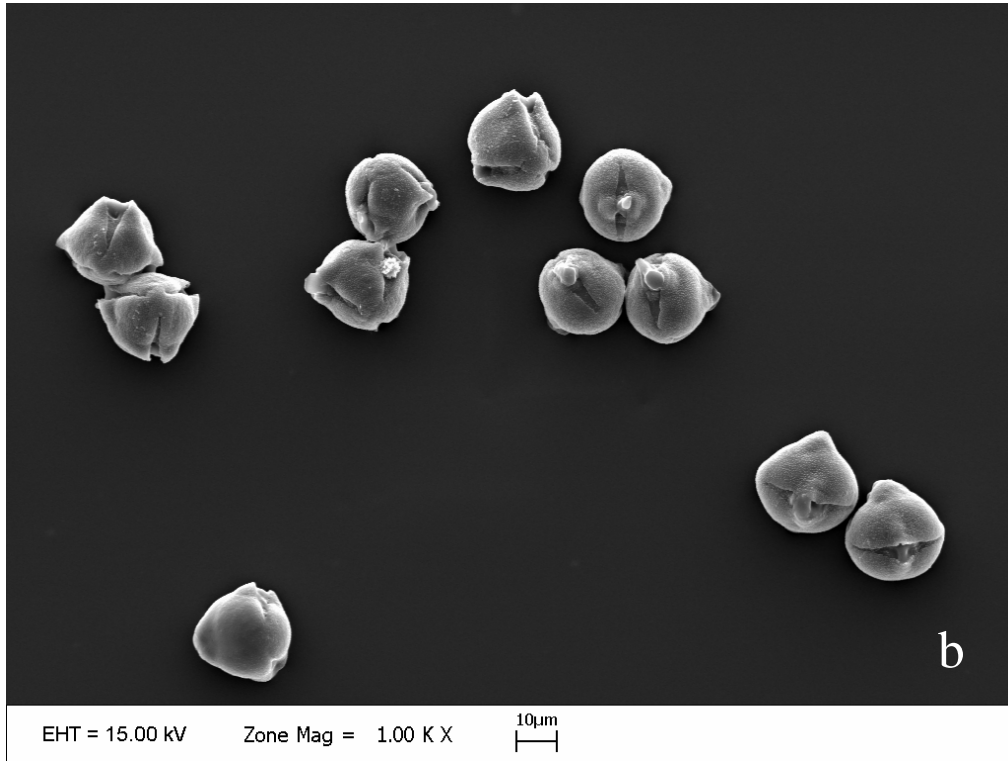
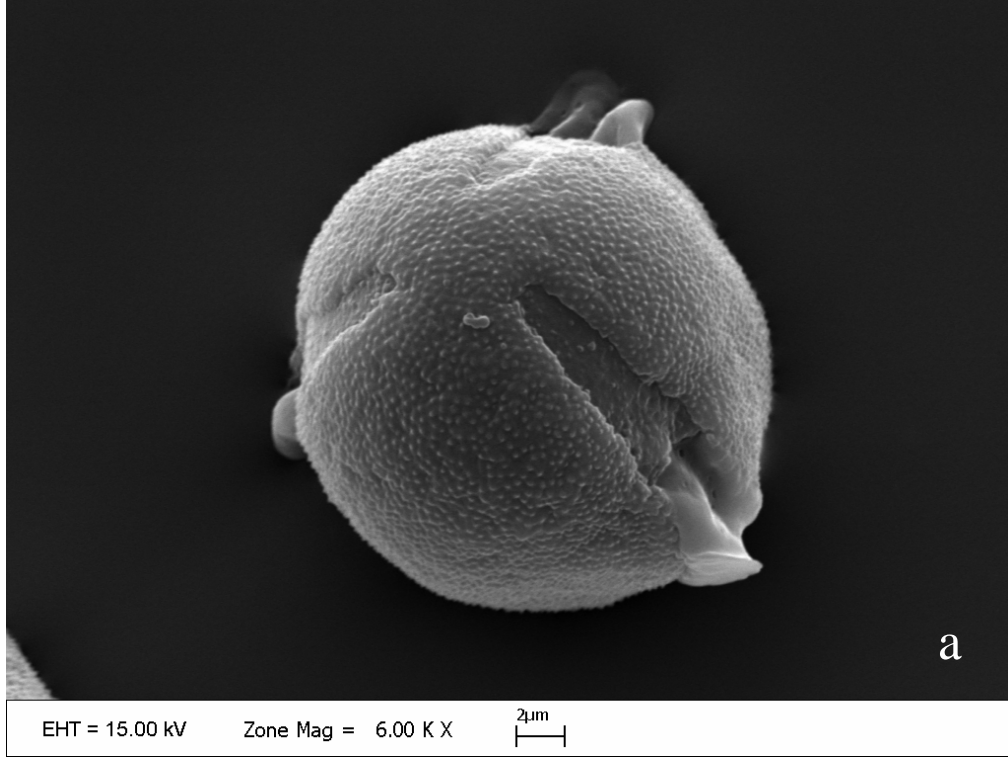
Çok küçük bir alana odaklanan yüksek enerjili elektronlarla yüzeyin taranması prensibiyle çalışan Taramalı Elektron Mikroskobu kullanılarak polen yapıları incelenmiştir.

Yapılan incelemelerde Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3’de de görüleceği gibi, yağlık, dolmalık ve sivri biber tiplerinin polenleri arasında şekilsel olarak belirgin farklılıklar görülmemiştir.

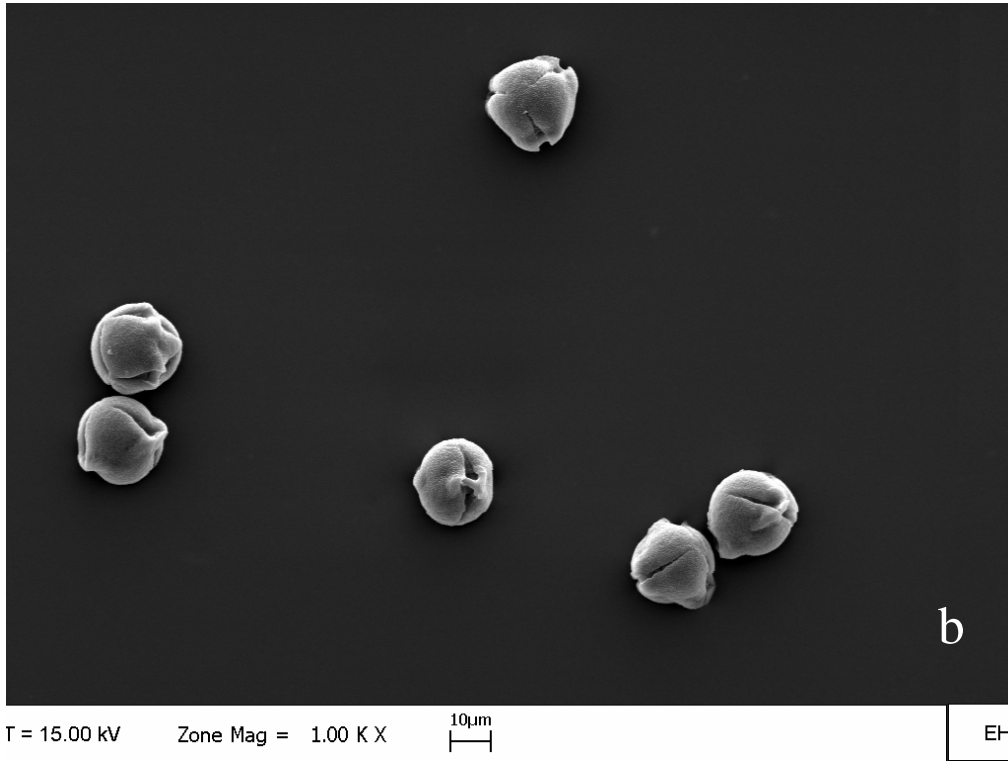
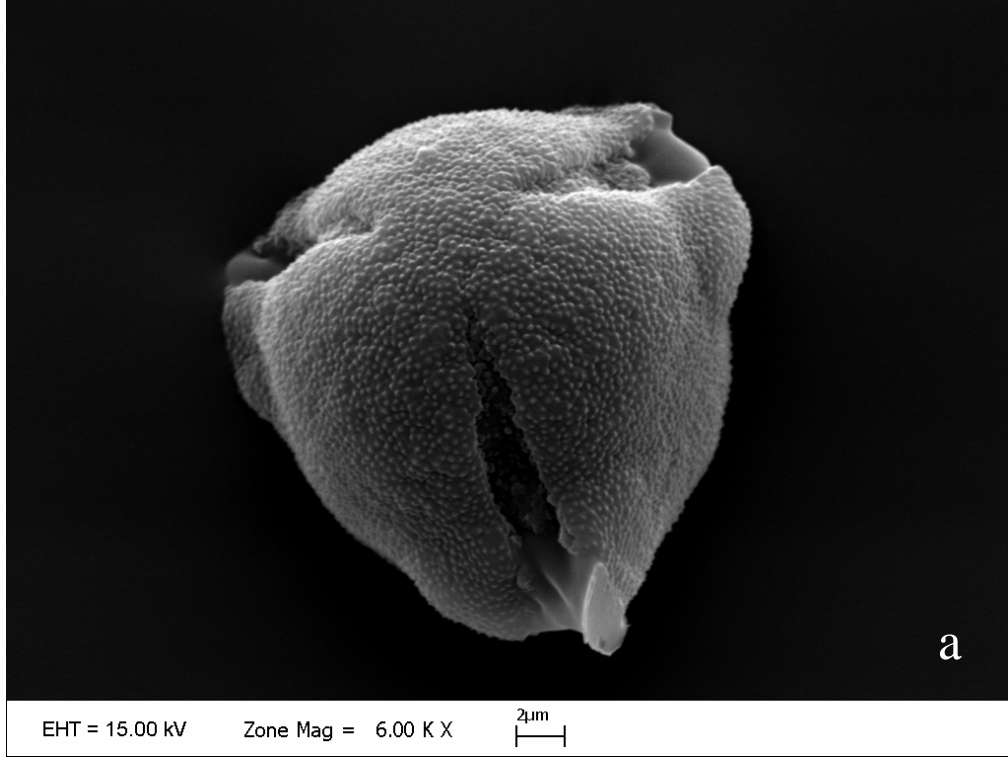
3 tipin polen morfolojik özelliklerine bakıldığında, polen tanesinin ekvatorial profilinin üç köşeli, bağlantı durumunun monad, simetri ekseninin izopolar, polen şeklinin obtuse-convex, apartür sayısının 3, apartür çeşidinin tricolporate olduğu, polen boyutunun ortalama 22-26 µm arasında değiştiği görülmektedir.



Şekil 4.1. Çalışmada kullanılan dolmalık tip biber polenin tek (a) ve toplu (b) olarak Scanning Elektron Mikroskobu'nda (SEM) görünümü



Şekil 4.2. Çalışmada kullanılan yağlık tip biber polenin tek (a) ve toplu (b) olarak Scanning Elektron Mikroskobu'nda (SEM) görünümü



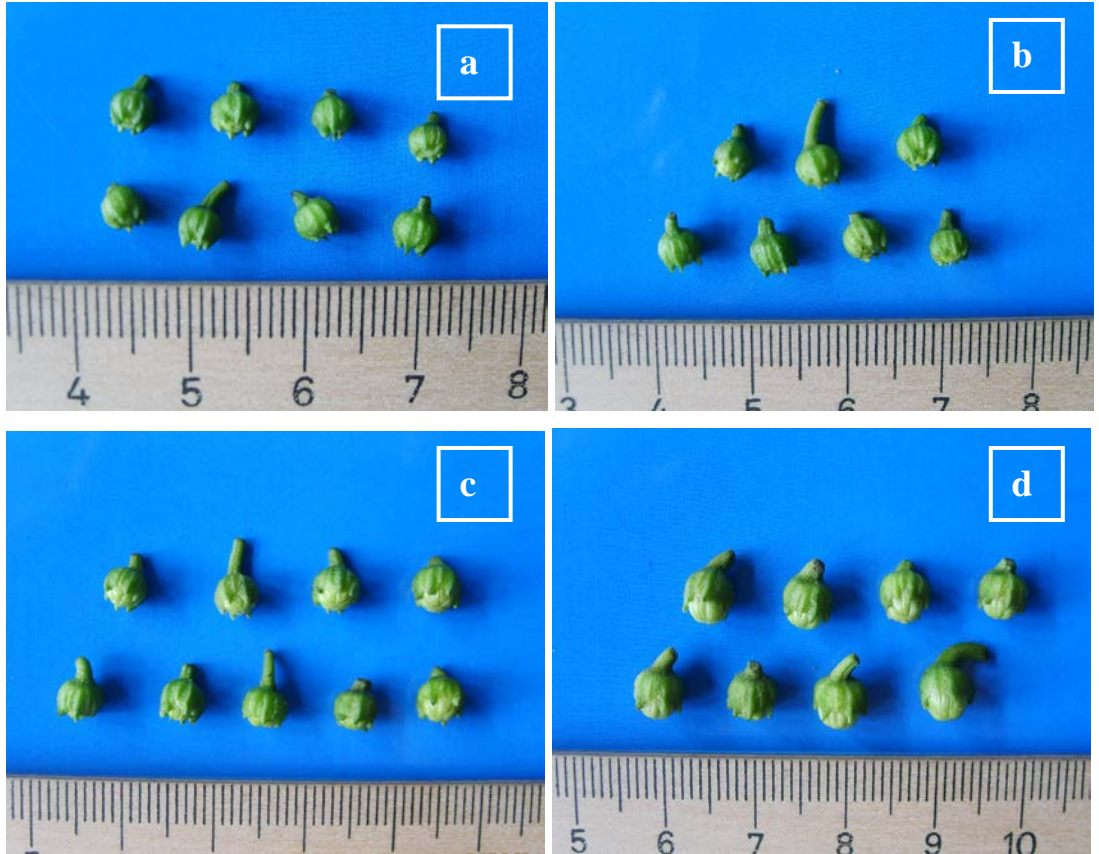
Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan sivri tip biber polenin tek (a) ve toplu (b) olarak Scanning Elektron Mikroskobu'nda (SEM) görünümü

4.1.2. Floresans Mikroskobu (Fluorescence Microscope) incelemeleri

Çalışmanın bu kısmında uygun aşamada polen içeren tomurcukların belirlenmesi her iki mevsim içinde ayrı ayrı yapılmıştır. Her tip için elde edilen sonuçlar aşağıda sırasıyla sunulmuştur. Kış mevsiminde dolmalık tip biber çeşitlerinde floresans mikroskobu incelemeleri için yapılan grupların Çizelge 4.1’de tomurcuk çap ve boy değerleri, Şekil 4.4’de ise bu tomurcukların görünüşleri yer almaktadır.

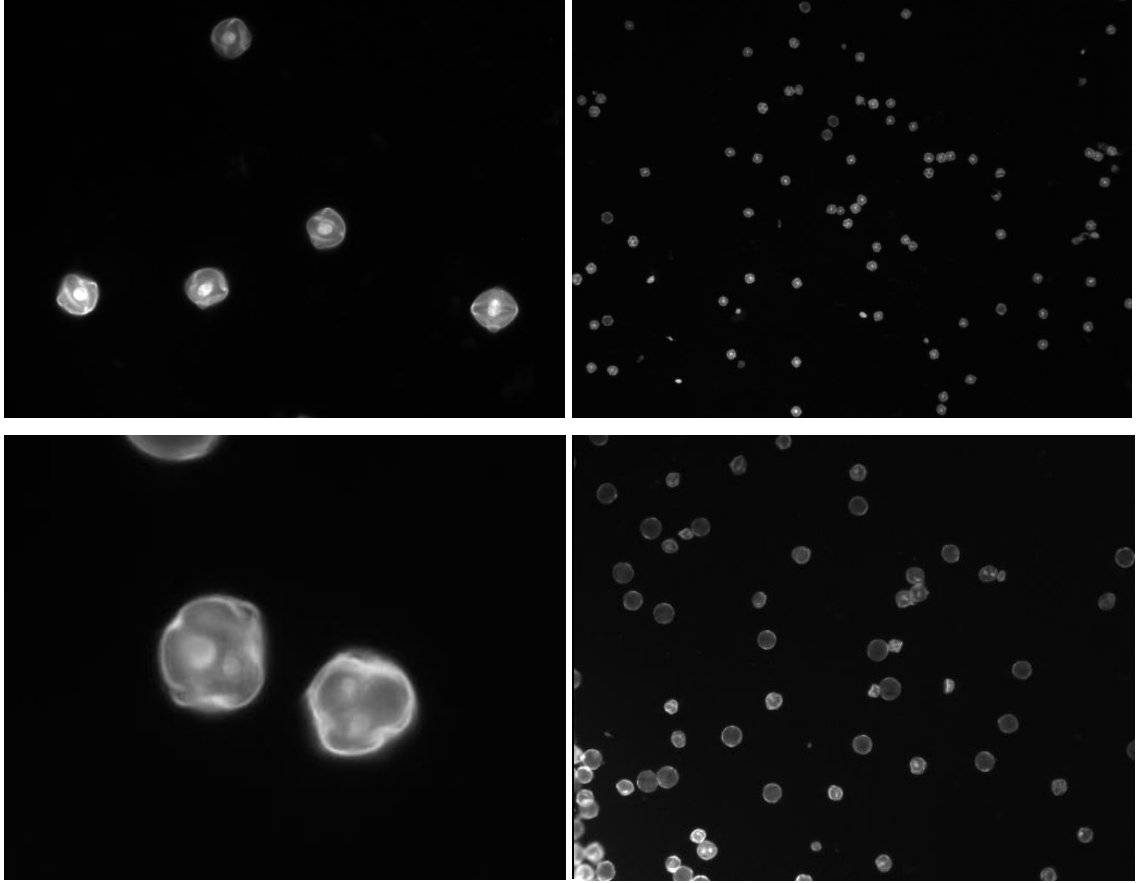
Çizelge 4.1. Mikrospor aşamalarını incelemek amacıyla kış döneminde dolmalık tip biberde yapılan gruplandırmalar

Biber tipleri	1.grup tomurcuk		2.grup tomurcuk		3.grup tomurcuk		4.grup tomurcuk	
	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)
dolmalık	3,8-4,4	3,2-4,0	4,2-4,8	3,7-4,4	4,9-5,4	4,5-5,0	5,3-5,6	4,9-6,0



Şekil 4.4. Mikrospor aşamalarının incelenmesi için kış döneminde gruplandırılmış dolmalık biber tomurcukları (a; 1. grup, b; 2. grup, c; 3. grup, d; 4. grup)

Dolmalık tipte, kış mevsiminde 1. ve 2. grubun tek çekirdekli mikrosporlar içerdiği, 3. grubun çoğunluğu tek olmak üzere tek ve çift çekirdekli mikrospor içerdiği, 4. grubun ise çift çekirdekli mikrosporlar içerdiği (Şekil 4.5) belirlenmiştir. Bu sonuçlar ışığında 3. grup tomurcukların anter kültürü çalışmaları kullanılmaya uygun olduğu söylenebilmektedir.

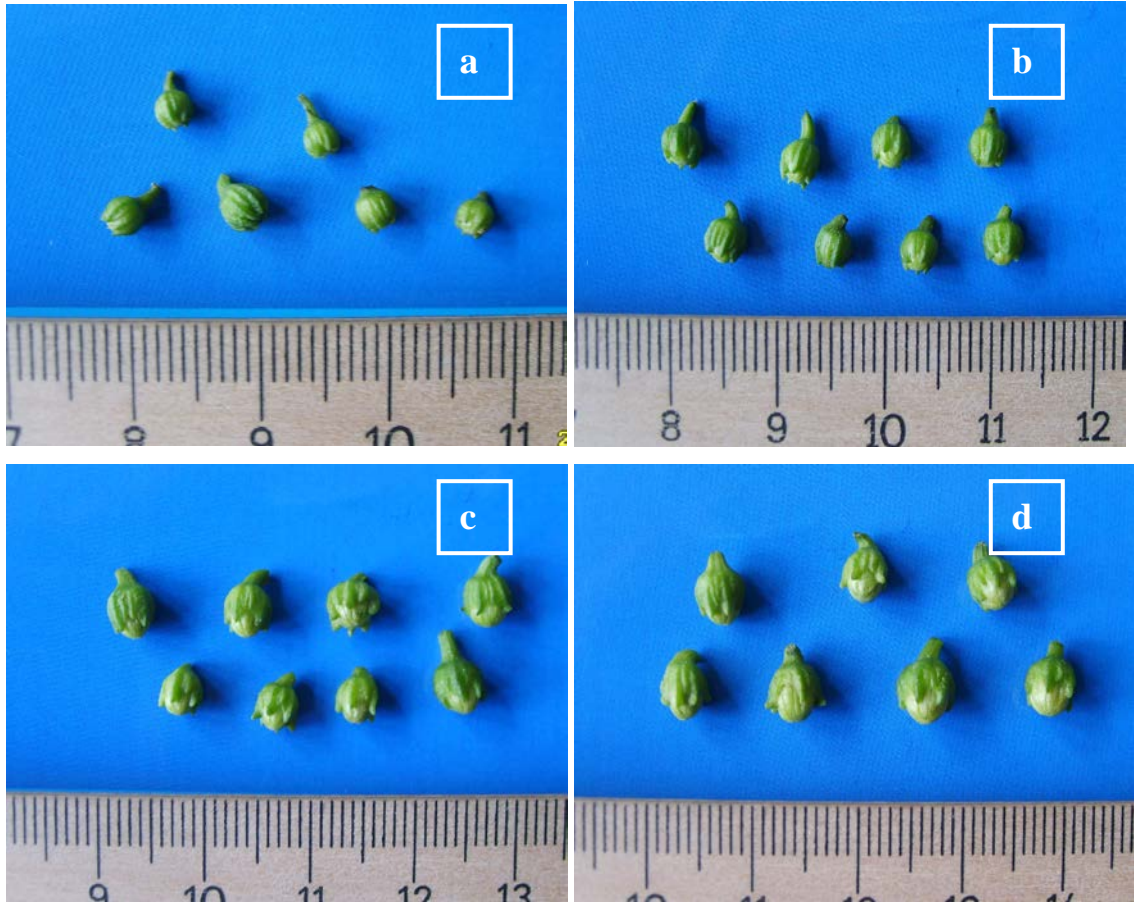


Şekil 4.5. Kış döneminde dolmalık biber tipinde tek ve çift çekirdekli polenlerin floresan mikroskobu altındaki görüntüleri (10x4, 10x10)

Kış mevsiminde yağlık tip biber çeşitlerinde floresans mikroskobu incelemeleri için yapılan grupların Çizelge 4.2’de tomurcuk çap ve boy değerleri, Şekil 4.6’da ise bu tomurcukların görünüşleri yer almaktadır.

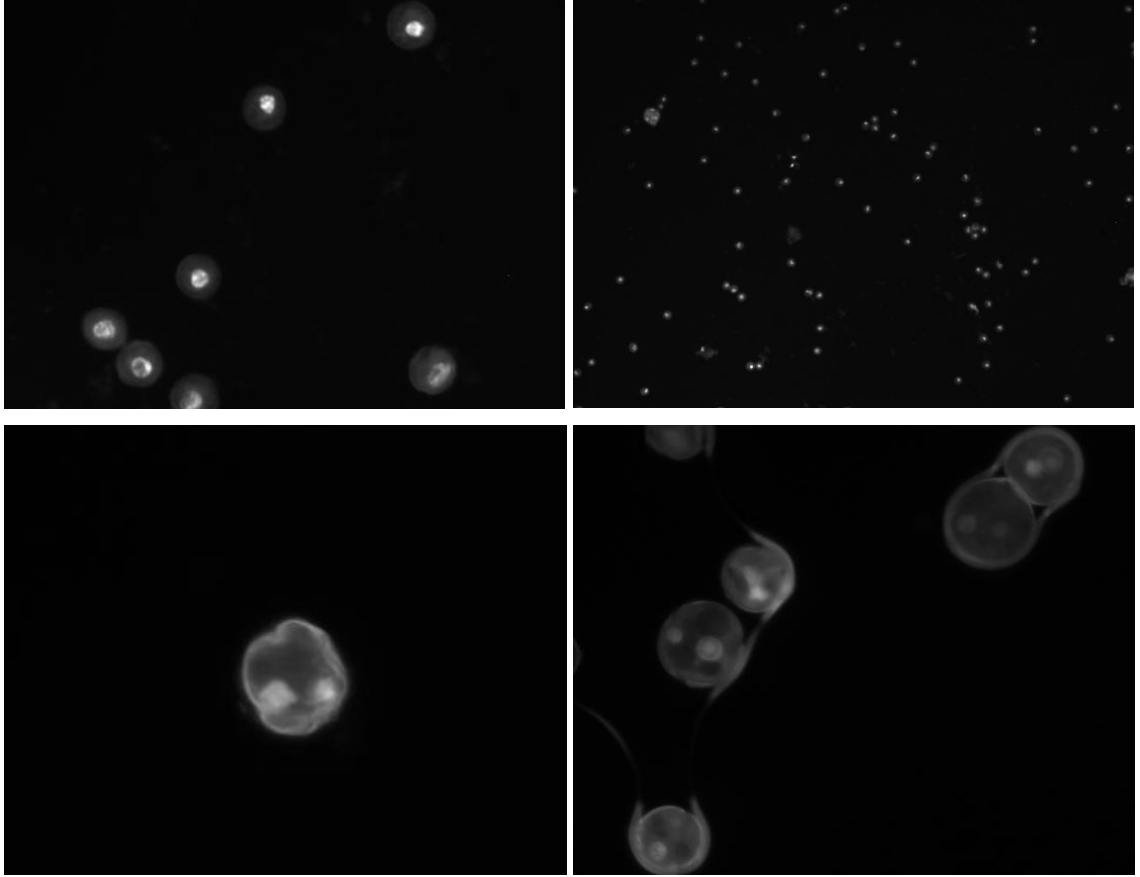
Çizelge 4.2. Mikrospor aşamalarını incelemek amacıyla kış döneminde yağlık tip biberde yapılan gruplandırmalar

Biber tipleri	1.grup tomurcuk		2.grup tomurcuk		3.grup tomurcuk		4.grup tomurcuk	
	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)
yağlık	2,9-3,3	3,1-3,8	3,6-4,0	4,0-4,4	4,3-5,0	4,7-5,7	4,4-5,4	5,4-6,1



Şekil 4.6. Mikrospor aşamalarının incelenmesi için kış döneminde gruplandırılmış yağlık biber tomurcukları (a; 1.grup, b; 2.grup, c; 3.grup, d; 4.grup)

Yağlık tip biber incelemelerinde; kış mevsiminde 1. ve 2. grubun tek çekirdekli mikrosporlar içerdiği, 3. grubun çoğunlukla çift olmak üzere tek ve çift çekirdekli mikrosporlar da içerdiği 4. grubun ise çift çekirdekli mikrosporlar içerdiği saptanmıştır (Şekil 4.7). Bu verilere göre 1.ve 2. grup tomurcukların anter kültürü çalışmalarında kullanılmaya uygun olduğu söylenebilmektedir.

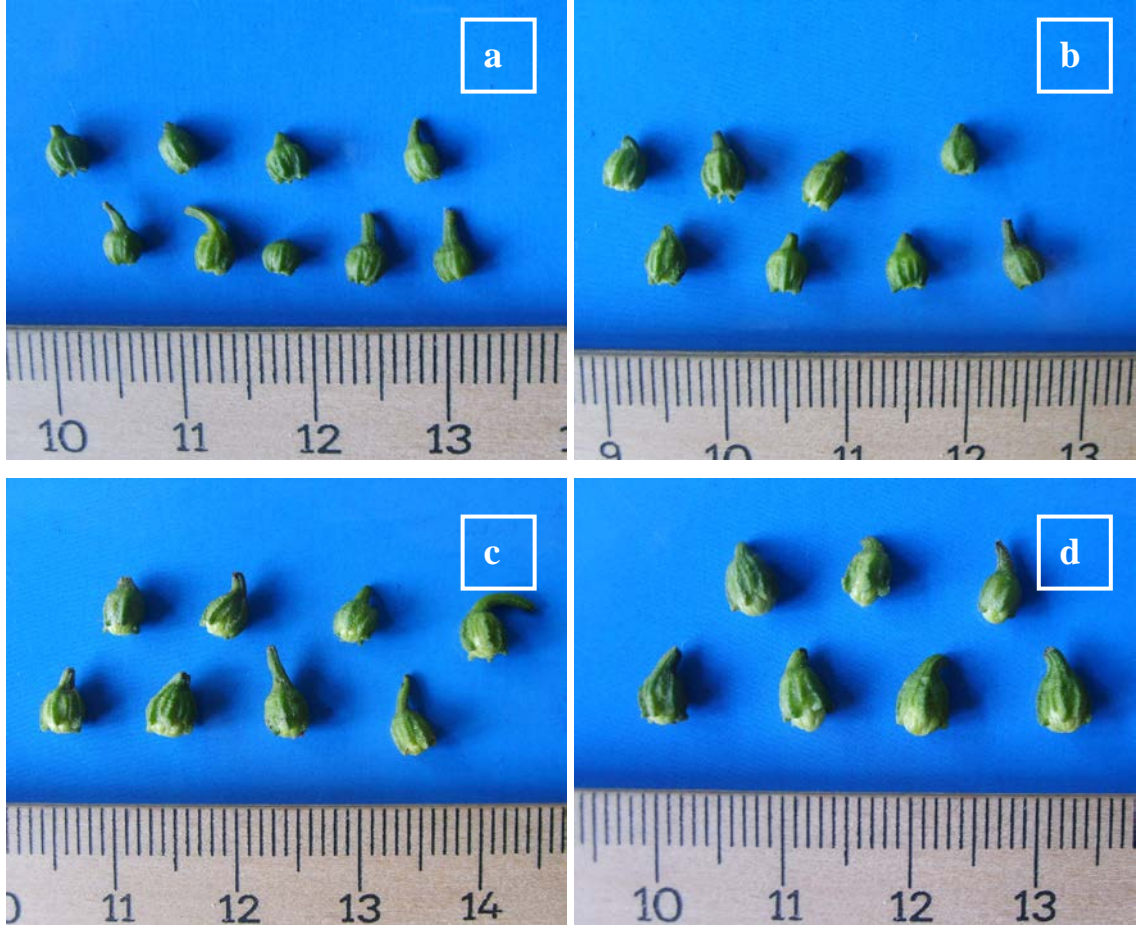


Şekil 4.7. Kış döneminde yağlık biber tipinde tek ve çift çekirdekli polenlerin floresan mikroskobu altındaki görüntüleri (10x4, 10x10)

Kış mevsiminde sivri tip biber çeşitlerinde floresans mikroskobu incelemeleri için yapılan grupların Çizelge 4.3’de tomurcuk çap ve boy değerleri, Şekil 4.8’de ise bu tomurcukların görünüşleri yer almaktadır.

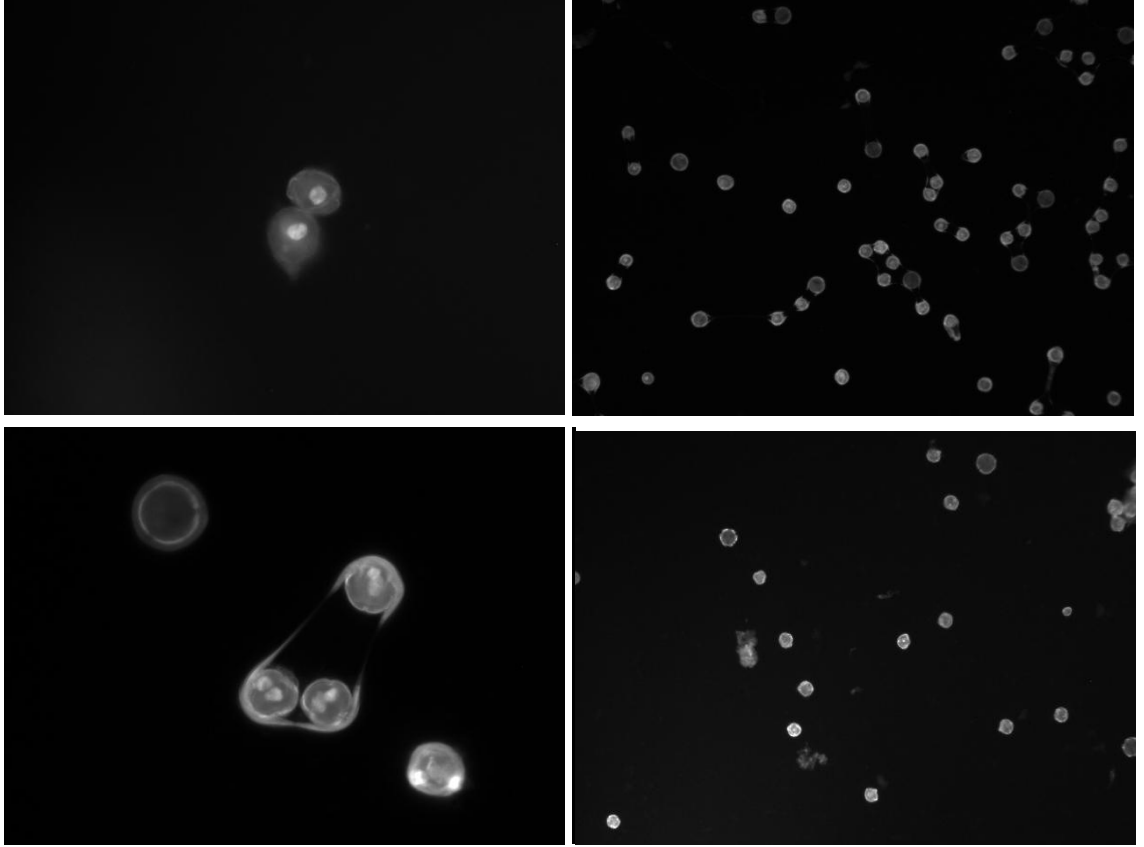
Çizelge 4.3. Mikrospor aşamalarını incelemek amacıyla kış döneminde sivri tip biberde yapılan gruplandırmalar

Biber tipleri	1.grup tomurcuk		2.grup tomurcuk		3.grup tomurcuk		4.grup tomurcuk	
	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)
sivri	2,9-3,3	3,0-3,6	3,2-3,6	3,4-4,5	3,4-3,9	4,3-4,9	3,8-4,3	4,9-5,4



Şekil 4.8. Mikrospor aşamalarının incelenmesi için kış döneminde gruplandırılmış sivri biber tomurcukları (a; 1.grup, b; 2.grup, c; 3.grup, d; 4.grup)

Sivri tip biber incelemelerinde; kış döneminde 1. ve 2. grubun tek çekirdekli mikrosporlar içerdiği, 3. ve 4. grubun çoğunlukla çift çekirdekli mikrosporlar içerdiği saptanmıştır (Şekil 4.9). Bu verilere göre 1.ve 2. grup tomurcukların anter kültürü çalışmalarında kullanılmaya uygun olduğu söylenebilmektedir.

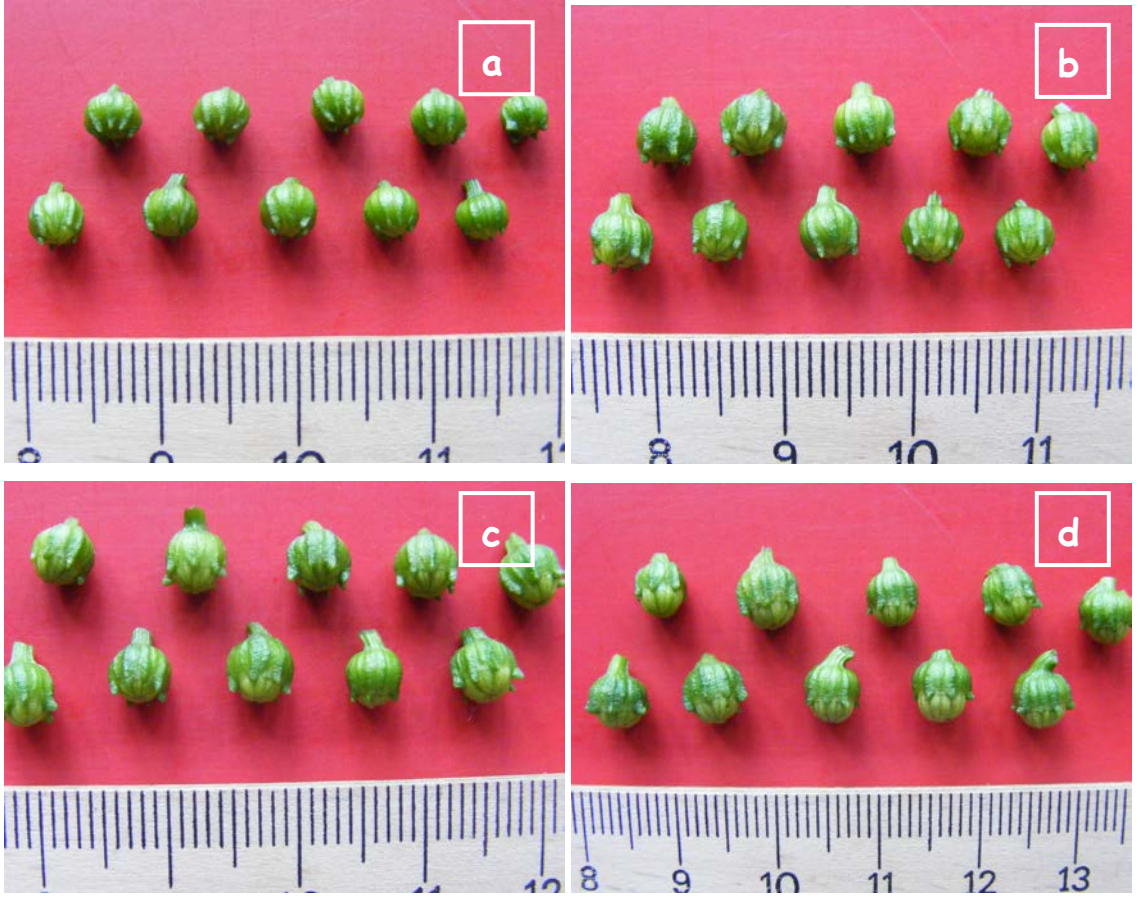


Şekil 4.9. Kış döneminde sivri biber tipinde tek ve çift çekirdekli polenlerin floresan mikroskobu altındaki görüntüleri (10x4, 10x10)

Yaz mevsiminde dolmalık tip biber çeşitlerinde floresans mikroskobu incelemeleri için yapılan grupların Çizelge 4.4’de tomurcuk çap ve boy değerleri, Şekil 4.10’da ise bu tomurcukların görünüşleri yer almaktadır.

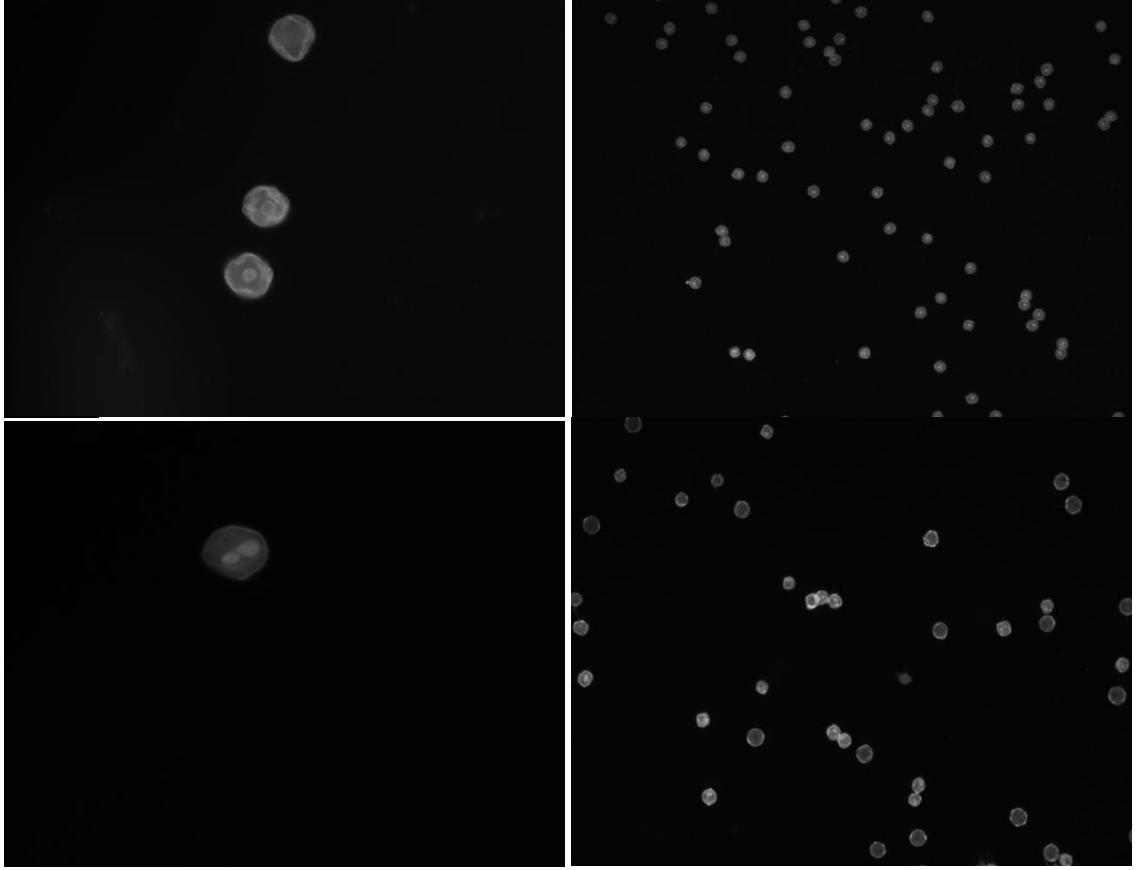
Çizelge 4.4. Mikrospor aşamalarını incelemek amacıyla yaz döneminde dolmalık tip biberde yapılan gruplandırmalar

Biber tipleri	1.grup tomurcuk		2.grup tomurcuk		3.grup tomurcuk		4.grup tomurcuk	
	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	Boy (mm)
dolmalık	3,8-4,5	3,6-4,0	4,4-4,8	4,2-4,8	4,5-5,1	4,4-5,2	4,8-5,6	5,1-6,0



Şekil 4.10. Mikrospor aşamalarının incelenmesi için yaz döneminde gruplandırılmış dolmalık biber tomurcukları (a; 1.grup, b; 2.grup, c; 3.grup, d; 4.grup)

Mikrospor incelemelerinde dolmalık tip biber çeşitlerinde yaz mevsiminde 1 ve 2. grup tomurcukların tek çekirdekli, 3. grup tomurcukların tek ve çift çekirdekli, 4. grup tomurcukların ise çift çekirdekli mikrosporlar içerdiği belirlenmiştir (Şekil 4.11). Bu sonuçlara göre dolmalık çeşitlerde 3. grup tomurcukların (çap; 4,5-5,1 mm, boy; 4,4-5,2 mm) anter kültürüne uygun tomurcuklar olduğu söylenebilir.

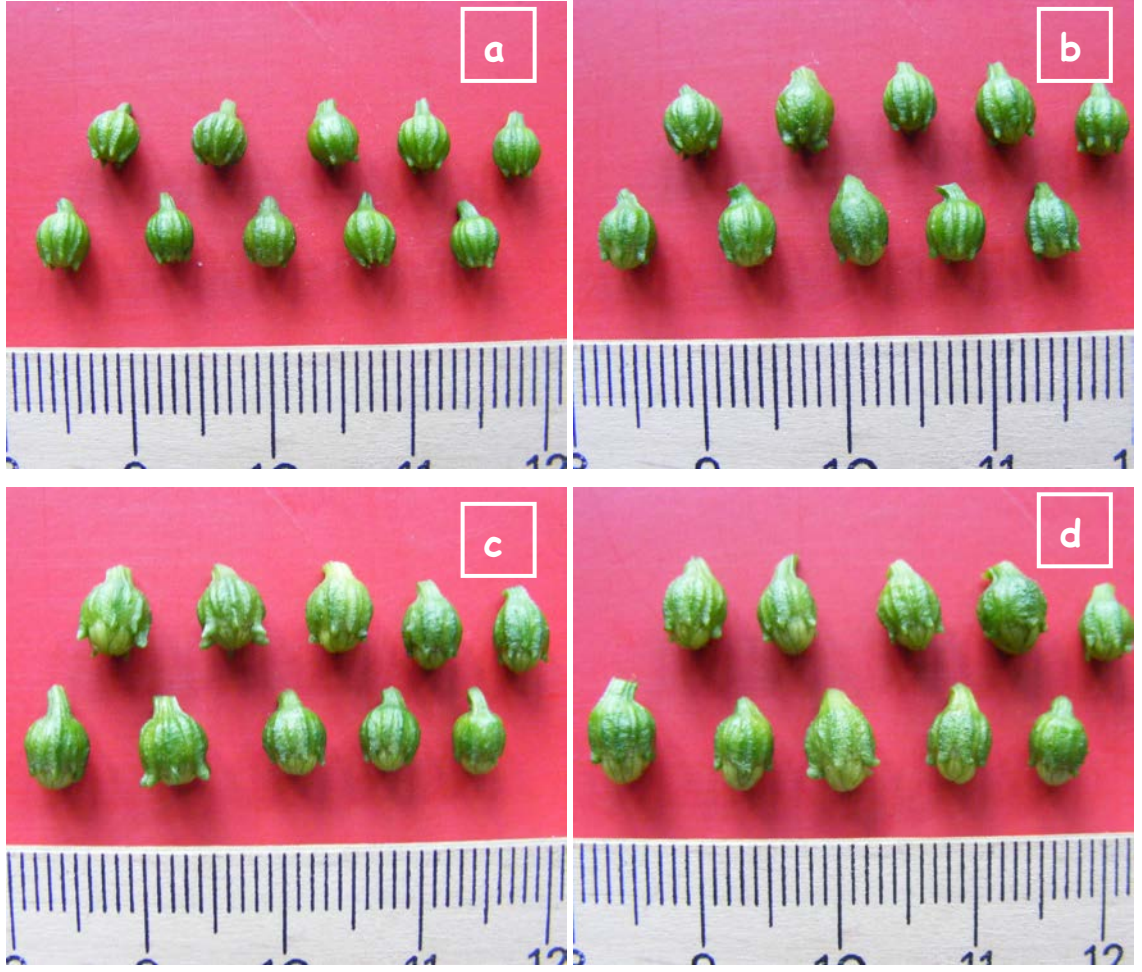


Şekil 4.11. Yaz döneminde dolmalık biber tipinde tek ve çift çekirdekli polenlerin floresan mikroskobu altındaki görüntüleri (10x4, 10x10)

Yaz mevsiminde yağlık tip biber çeşitlerinde floresans mikroskobu incelemeleri için yapılan grupların Çizelge 4.5’de tomurcuk çap ve boy değerleri, Şekil 4.12’de ise bu tomurcukların görünüşleri yer almaktadır.

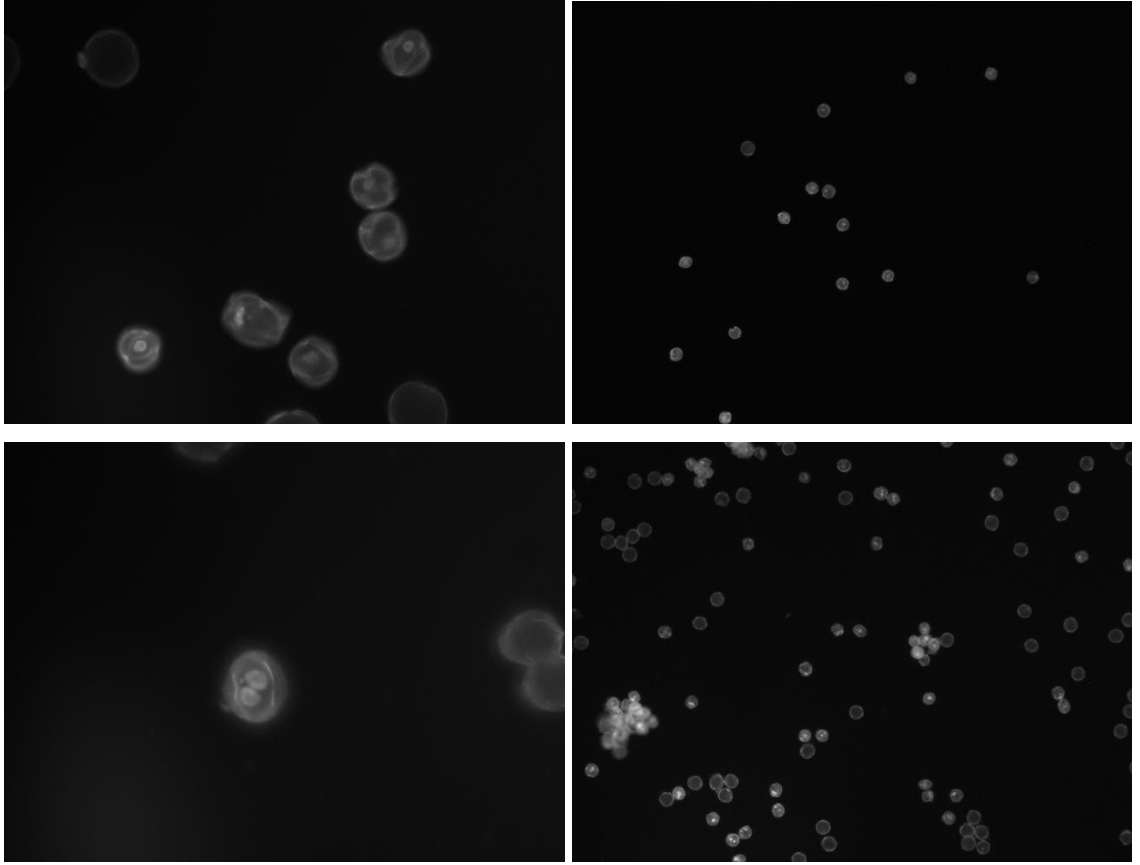
Çizelge 4.5. Mikrospor aşamalarını incelemek amacıyla yaz döneminde yağlık tip biberde yapılan gruplandırmalar

Biber tipi	1.grup tomurcuk		2.grup tomurcuk		3.grup tomurcuk		4.grup tomurcuk	
	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)
yağlık	3,5-3,9	3,9-4,3	3,7-4,2	4,2-4,8	4,2-4,8	4,8-5,1	4,3-5,1	5,5-6,0



Şekil 4.12. Mikrospor aşamalarının incelenmesi için yaz döneminde gruplandırılmış yağlık biber tomurcukları (a; 1.grup, b; 2.grup, c; 3.grup, d; 4.grup)

Mikroskop incelemelerinde yağlık tip biber çeşitlerinde yaz mevsiminde 1 ve 2.grup tomurcukların tek çekirdekli, 3.grup tomurcukların tek ve çift çekirdekli, 4.grup tomurcukların ise çoğunlukla çift çekirdekli mikrosporlar içerdiği gözlenmiştir (Şekil 4.13). Bu tip biberler için *3.grup tomurcuklar* anter kültürüne uygun tomurcuklardır.

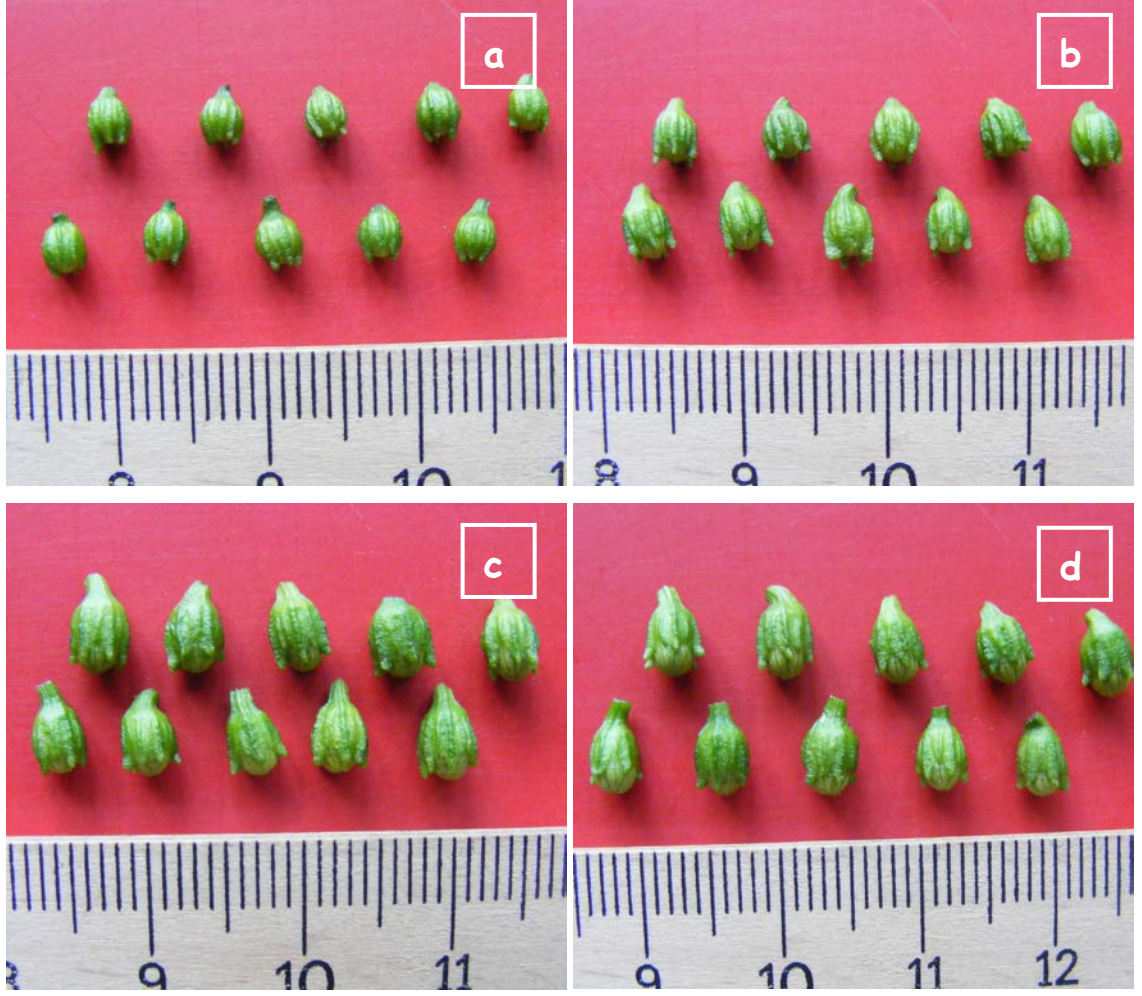


Şekil 4.13. Yaz döneminde yağlık biber tipinde tek ve çift çekirdekli polenlerin floresan mikroskobu altındaki görüntüleri (10x4, 10x10)

Yaz mevsiminde sivri tip biber çeşitlerinde floresans mikroskobu incelemeleri için yapılan grupların Çizelge 4.6’da tomurcuk çap ve boy değerleri, Şekil 4.14’de ise bu tomurcukların görünüşleri yer almaktadır.

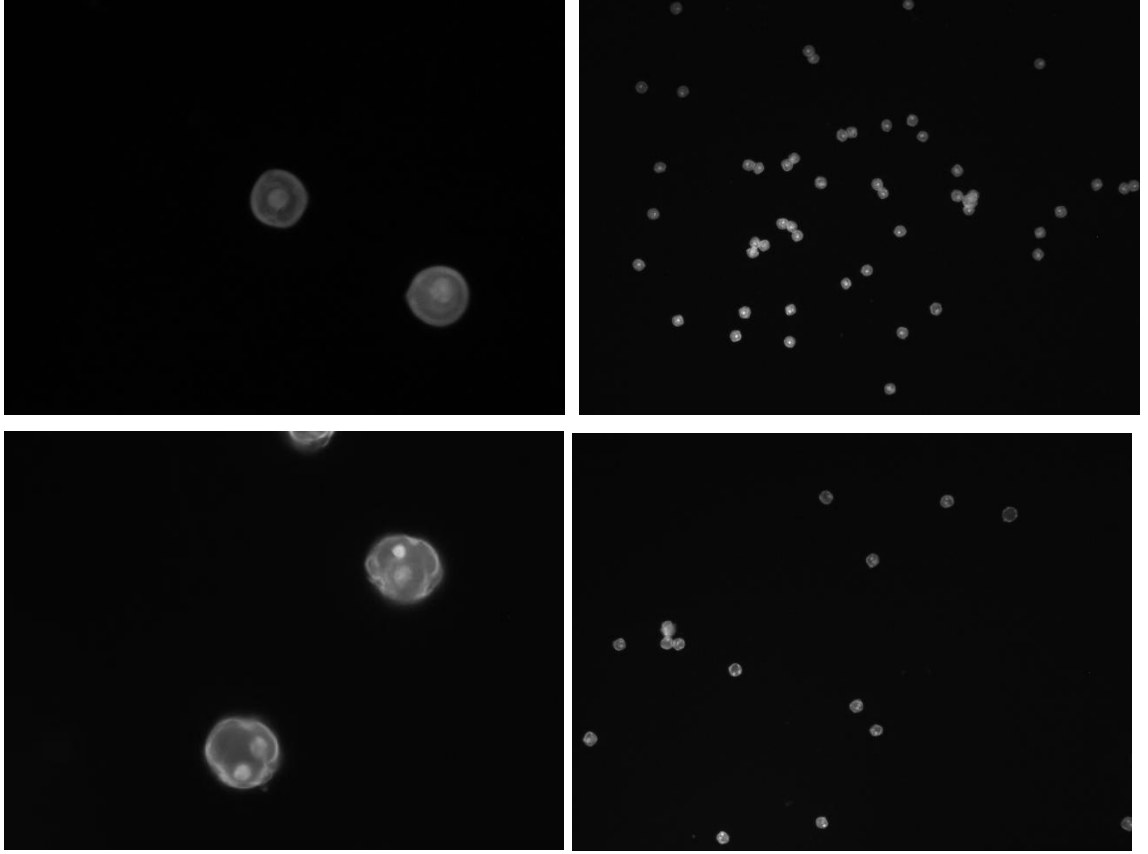
Çizelge 4.6. Mikrospor aşamalarını incelemek amacıyla yaz döneminde sivri tip biberde yapılan gruplandırmalar

Biber tipi	1.grup tomurcuk		2.grup tomurcuk		3.grup tomurcuk		4.grup tomurcuk	
	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)	çap (mm)	boy (mm)
sivri	2,7-2,9	3,3-3,6	3,2-3,4	3,6-4,4	3,2-3,9	4,2-4,9	3,1-3,9	4,8-5,4



Şekil 4.14. Mikrospor aşamalarının incelenmesi için yaz döneminde gruplandırılmış sivri biber tomurcukları (a; 1.grup, b; 2.grup, c; 3.grup, d; 4.grup)

Mikroskop incelemelerinde sivri tip biber çeşitlerinde yaz mevsiminde 1 ve 2. grup tomurcukların tek ve çift çekirdekli, 3. grup tomurcukların çoğunlukla çift çekirdekli ve 4. grup tomurcukların ise çift çekirdekli mikrosporlar içerdiği saptanmıştır (Şekil 4.15). Bu tip biber çeşitleri için 1 ve 2 grup tomurcukların anter kültürüne olumlu yanıt vereceği söylenebilir.



Şekil 4.15. Yaz döneminde sivri biber tipinde tek ve çift çekirdekli polenlerin floresan mikroskobu altındaki görüntüleri (10x4, 10x10)

Dolmalık çeşitlerde yapılan gruplandırmalarda tek çekirdekli aşamada olan mikrosporların her iki mevsimde de ortalama 3,8-4,5 mm çapında, 3,2-4,0 mm boyunda ki tomurcuklarda bulunduğu belirlenmiştir. Çift çekirdekli mikrosporların bulunduğu tomurcuklarda her iki mevsimde benzer büyüklükte dirler. Tek ve çift çekirdekli mikrosporların bulunduğu 3. grubun çap değerleri, yaz döneminde 4. grubun çap değerlerine benzerlik göstermektedir (Çizelge 4.7). Bu da morfolojik olarak benzer özellikle olsa da tomurcuklar farklı aşamada mikrospor içerebileceğini göstermektedir. Anter kültüründe sürekli önceden belirlenmiş kriterlerdeki tomurcuklarla çalışmak yanıltıcı olabilir.

Yağlık tip biber çeşitlerinde yapılan mikrospor incelemelerinde her iki mevsimde kendi içinde paralellik gösterdiği görülmektedir. 3 grup tomurcuklarda kışın çift çekirdekli polenlerin daha çoğunlukla bulunduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.7). Sivri tip

biberlerdeki mikrospor incelemelerinde ise yaz ve kış dönemindeki her iki gruplandırmalarında birbirlerinden farklı sonuçlar verdiği gözlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Biber tiplerinin tomurcuklarında yapılan gruplandırmalar ve özellikleri

		dolmalık		yağlık		sivri	
		yaz	kış	yaz	kış	yaz	kış
1.grup	T.Ç.	3,8-4,5	3,8-4,4	3,5-3,9	2,9-3,3	2,7-2,9	2,9-3,3
	T.B.	3,6-4,0	3,2-4,0	3,9-4,3	3,1-3,8	3,3-3,6	3,0-3,6
	Ç.A.	tek	tek	tek	tek	tek+çift	tek
2.grup	T.Ç.	4,4-4,8	4,2-4,8	3,7-4,2	3,6-4,0	3,2-3,4	3,2-3,6
	T.B.	4,2-4,8	3,7-4,4	4,2-4,8	4,0-4,4	3,6-4,4	3,4-4,5
	Ç.A.	tek	tek	tek	tek	tek+çift	tek
3.grup	T.Ç.	4,5-5,1	4,9-5,4	4,2-4,8	4,3-5,0	3,2-3,9	3,4-3,9
	T.B.	4,4-5,2	4,5-5,0	4,8-5,1	4,7-5,7	4,2-4,9	4,3-4,9
	Ç.A.	tek+çift	çoğun. tek+çift	tek+çift	çoğun. çift+tek	çoğun. çift+tek	çoğun. çift+tek
4.grup	T.Ç.	4,8-5,6	5,3-5,6	4,3-5,1	4,4-5,4	3,1-3,9	3,8-4,3
	T.B.	5,1-6,0	4,9-6,0	5,5-6,0	5,4-6,1	4,8-5,4	4,9-5,4
	Ç.A.	çift	çift	çift	çift	çift	çoğun. çift+tek

T.Ç.: tomurcuk çapı (mm)

T.B.: tomurcuk boyu (mm)

Ç.A.: çekirdek aşaması

Solanaceae familyasındaki birçok bitki türünde mikrospor çekirdeğinin mitoz bölünmeye başlamasından hemen önceki dönem, mitoz bölünme aşaması veya hemen bu aşamayı izleyen bölünme sonrası dönem anter kültürüne en iyi cevap veren dönemler olarak belirlenmiştir (Qin ve Rotino 1995, Vagera 1990, Kristiansen Andersen 1993).

Genel olarak bakıldığında tomurcuk büyüklüğü ile içerdiği mikrospor aşamasının her zaman paralellik göstermediği görülmektedir. Quyang vd. (1987) tarla ve sera koşullarında yetiştirdikleri buğday çeşitlerinde polen tanesinin tek çekirdekli olduğu evrenin açıkta yetiştiricilikte 2,5-3,0 mm olurken, serada 2,0-2,5 mm olduğunu belirtmişlerdir. Karakullukçu ve Abak (1993a) ise patlıcanda yaptıkları uygun tomurcuk aşaması çalışmalarında tomuruk büyüklüğü ve morfolojik görünümün yanında anter renginin de elverişli dönemi belirlemede önemli bir kriter olduğunu ifade etmektedirler.

Çarliston tip Sirena biber çeşidinde yaptıkları çalışmada Ercan ve Biner (2002), 6 farklı gruba ayırdıkları tomurcukları önce parafine gömmüşler, ardından kesitleri incelemek için fibrin boyama metodunu kullanmışlardır. 7,24 mm uzunluğunda, 4,53 mm çapında ki tomurcukların (anterlerin uzunluğu 5,13 mm) polen mitozu aşamasında olduğunu saptamışlardır. Yine Ercan vd. 1998 yılında patlıcan, domates ve biber türlerinde uygun tomurcuk aşamasının saptanmasında kullanılacak boya yöntemini belirlemek için yaptıkları çalışmada Amazon biber çeşidini kullanmışlar ve ethidium bromide kullandıkları çalışmalarında DNA florkromları ile boyamanın kolay ve hızlı olduğunu bildirmişlerdir.

Novak (1974), biber anter kültüründe 2,6-5.0 mm arasında ki büyüklükte ve açık yeşil renkli petallere sahip tomurcukların içerdiği anterlerin olgunlaşmamış tek çekirdekli mikrosporları içerdiğini ve bu anterleri kullanmanın olumlu sonuçlar verdiğini bildirmektedir. Çiner ve Tıpırdamaz (2002) yerel bir biber genotipini kullandıkları çalışmalarında anter kültürüne uygun aşamayı belirlemek için parafin ve ezme preparat yöntemlerini kullandıkları çalışmalarında, anter kültüründe uygun aşama olan tek çekirdekli veya 1. polen mitozu aşamasındaki tomurcukların 5 mm çapında ve 7 mm uzunluğunda ve bu tomurcukların içerisindeki anterlerin uçlarında mor renk olan yeşil renkli olduğunu açıklamışlardır. Sibi vd (1979), biberlerde sepal ve petal

boylarının biraz daha uzun olduğu dönemin polen mitozu ile aynı dönem olduğu ve anter kültürüne iyi yanıt verdiğini bildirmişlerdir.

Sayılr (2002), araştırmasında 4-6 mm uzunluğundaki biber tomurcuklarındaki anterlerin 1. polen mitozu aşamasında olduğunu bildirmiş, dolmalık biberlerde bu seviyenin 4 mm olurken sivri biberlerde 6 mm'ye kadar çıktığını belirtmişlerdir.

Her tip biber için tek çekirdekli mikrosporların farklı büyüklükteki tomurcuklarda bulunduğu, aynı tip biber için iki mevsimde de farklı tomurcuklarda ki mikrosporların farklı aşamalarda olduğu saptanmıştır. Anter kültüründe uygun aşama olarak kabul edilen tek çekirdekli aşamayı belli tomurcuk ölçü kriterleri ile belirlemek birçok çalışmada rastlanılan bir durumdur. Ancak anter kültürü çalışırken kullanılacak tomurcukların görsel olarak belli büyüklüklere göre seçilmesi çok yanlış bir tutum olmasa da, mikrospor aşamasının direk başarıyı etkileyen en önemli faktör olduğu düşünölmeli ve çekirdek boyaması ile uygun aşamanın mutlaka belirlenmesi gerekmektedir. Çekirdek boyamasında etkili olan Ethidium Bromide hızlı bir boyama tekniğidir. Bu özellikleri ile anter kültüründe etkin olarak kullanılmalıdır. Her kültür işleminde önce polenler boyanmalı ve uygun aşamada ki tomurcuklarla çalışılmalıdır. Böylelikle sıcaklık, bitki gelişimi gibi çevre faktörlerinde oluşabilecek tomurcuklardaki morfolojik farklılıkların araştırıcıyı yanıltması engellenebilir.

4.2. Anter Kültürü Yöntemi Araştırmaları

4.2.1. Yağlık ve dolmalık tip biberler için ortam belirleme ön denemesi sonuçları

Çalışmada sivri biber tipi için Ayar, (2003)'de başarılı olduğu saptanan besi ortamı 4 mg/l NAA ve 1 mg/l BA hormonları ilave edilmiş Murashige ve Skoog (1962)'un hazır besi ortamı, %3 sukroz, %0,8 agar, pH 5,7-5,8 kullanılmıştır. Dolmalık ve yağlık tipler de belirgin bir ortam içeriği bulunmadığı için, kaynak taramaları sonucu farklı çalışmalarda biberde başarılı olduğu belirtilen besi ortamlarıyla kurulan bir ön deneme ile araştırmada kullanılacak olan besi ortamı belirlenmiştir. Bu amaçla dolmalık tip biber olarak kandil çeşidi, yağlık tip biber olarak da yağlık çeşidinde başarılı olduğu

bildirilen 9 farklı besi ortamı aktif kömür ilaveli ve aktif kömür ilavesiz olarak denenmiş, embriyo oluşumları gözlenmiştir.

Murashige & Skoog (1962)'un hazır temel besi ortamına farklı hormonların ilave edildiği, pH'ları 5,7-5,8'e ayarlı %3 sukroz ve %0,8 agar ilave edilmiş ortamlar sayı ile bunların aktif kömür eklenmiş durumları da ortam numaralarına "A" harfi eklenerek ifade edilmiştir. Anterler içerisinde ortam bulunan petri üzerinde kültüre alındıktan sonra 35 °C'deki etüvde 8 gün karanlıkta bekletilmişlerdir. 8 günün sonunda 25°C'de 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık, 3000 lüks aydınlatmada olan kültür odasına alınmışlardır.

Yapılan gözlemler sonucunda, kandil dolmalık biber için %28 embriyo oluşum oranı ile 0,2 mg/l 2,4-D ve 0,1 mg/l KIN içeren ortamın en uygun ortam olduğu belirlenmiştir. Bu biber çeşidinin 0,2 mg /l 2,4-D+0,1 mg /l KIN +0,25 A.K., 0,5 mg /l BAP + %0,25 A.K., 0,5 mg /l 2,4 D+0,5 mg /l BAP + %0,25 A.K., 4 mg /l KIN+1 mg /l NAA ve 0,5 mg /l 2,4 D+0,5 mg /l BAP içeren ortamlar da embriyo oluşturduğu gözlenmiş fakat embriyolardan oluşan bitkicikler, kısa ömürlü ve düşük kaliteli gelişmiştir.

Yağlık biber için ise yapılan gözlemler yine 0,2 mg /l 2,4-D ve 0,1 mg /l KIN içeren ortamın en uygun ortam olduğunu göstermiştir. Denemede kullanılan farklı ortamlar ve çeşitlerin anter kültürüne verilen yanıtlar Çizelge 4.8'de sunulmuştur.

Genel olarak bakıldığında, yağlık biber çeşidinde embriyo oluşum oranı kandil dolmalık biber çeşidine göre daha düşük olmuştur. Bu ön çalışma ile dolmalık tip biberler ve yağlık biberler için aynı ortamın başarılı olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Kandil dolmalık ve yağlık biber çeşitlerinin farklı ortamlardaki embriyogenik yanıtları

Ortamlar	<i>Kandil Dolmalık Biber</i>				<i>Yağlık Biber</i>			
	<i>A.S</i>	<i>K.S</i>	<i>O.E</i>	<i>G.B</i>	<i>A.S</i>	<i>K.S</i>	<i>O.E</i>	<i>G.B</i>
0,2 mg /l 2,4-D+0,1 mg /l KIN	52	5	28	11	57	0	1	1
0,2 mg /l 2,4-D+0,1 mg /l KIN + %0,25 A.K.	44	0	4	1	41	0	0	0
0,5 mg /l BAP	54	9	0	0	45	6	0	0
0,5 mg /l BAP + %0,25 A.K.	45	0	1	1	48	0	0	0
4 mg /l NAA+1 mg /l BAP	57	0	0	0	39	4	1	0
4 mg /l NAA+1 mg /l BAP + %0,25 A.K.	55	0	0	0	46	0	0	0
5 mg /l KIN+5 mg /l 2,4 D	54	16	0	0	44	0	0	0
5 mg /l KIN+5 mg /l 2,4 D + %0,25 A.K.	48	5	0	0	36	0	0	0
0,5 mg /l 2,4 D+0,5 mg /l BAP	49	39	0	0	42	0	0	0
0,5 mg /l 2,4 D+0,5 mg /l BAP + %0,25 A.K.	58	3	2	1	41	0	0	0
1 mg /l NAA+4 mg /l BAP	52	41	0	0	45	1	0	0
1 mg /l NAA+4 mg /l BAP + %0,25 A.K.	42	0	0	0	42	0	0	0
4 mg /l KIN+1 mg /l NAA	56	8	6	2	42	1	0	0
4 mg /l KIN+1 mg /l NAA + %0,25 A.K.	47	0	0	0	37	2	0	0
0,1 mg /l 2,4 D+0,1 mg /l NAA	44	1	0	0	41	0	0	0
0,1 mg /l 2,4 D+0,1 mg /l NAA + %0,25 A.K.	47	0	0	0	43	4	0	0
0,5 mg /l 2,4 D+0,5 mg /l BAP	42	26	0	0	48	1	0	0
0,5 mg /l 2,4 D+0,5 mg /l BAP + %0,25 A.K.	40	1	0	0	41	7	0	0

A.K: Aktif kömür; A.S: Anter sayısı (adet); K.S: Kallus sayısı (adet); O.E: Oluşan embriyo (adet); G.E: Gelişen bitkicik (adet)

Sonuç olarak genotip, mevsim ve bitki yaşının haploid bitki eldesine olan etkisi araştırılırken dolmalık ve yağlık tip için; 0,2 mg /l 2,4-D ve 0,1 mg /l KIN içeren sivri tipler için; 4 mg/l NAA ve 1 mg/l BA içeren hazır MS temel besin ortamı kullanılmıştır. Şekil 4.16’da oluşan embriyolardan bir kısmı, Şekil 4.17’de ise ön denemede kullanılan donör bitkiler görülmektedir.



Şekil 4.16. Ortam denemesinde anterlerden oluşan embriyolar



Şekil 4. 17. Ortam denemesi çalışmalarında kullanılan donör bitkiler

4.2.2. Yıllara göre çeşitlerden alınan sonuçlar

Kış dönemi denemelerinde bitkiler serada yetiştirilmişler ve deneme iki yıl üst üste tekrarlanmıştır. Kış döneminde Alcapı, Kappy (yağlık tip), Balo, Punto (dolmalık tip), Kekova ve Amazon (sivri tip) çeşitlerinin her ay Fidesan Firmasından gelen fidelerle dikimleri gerçekleştirilmiş ve kültürel işlemleri aksatılmadan yapılmıştır. Bitkiler her iki yılda da aynı yer ve sırada dikilmiştir. Şekil 4.18’de kış dönemi denemelerinde farklı dikim aylarında olduğu boylarından ve gelişimlerinden belli olan bitkiler görülebilmektedir.



Şekil 4.18. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında (a) ve ikinci yılında (b) seradaki bitkilerden bir görünüm

Çizelge 4.9. Kış dönemi denemelerinde Alcapı çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar

Tomurcuk alma dönemi		Anter sayısı (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (adet)		Oluşan embriyo (adet)		Oluşan bitki (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (%)		Oluşan embriyo (%)		Oluşan bitki (%)	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Kasım	1A	88	109	10	0	0	0	0	0	11,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Aralık	1A	82	107	7	0	3	0	0	0	8,54	0,00	3,66	0,00	0,00	0,00
	2A	109	114	5	0	1	0	0	0	4,59	0,00	0,92	0,00	0,00	0,00
Ocak	1A	121	91	26	0	0	0	0	0	21,49	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	117	111	19	7	0	0	0	0	16,24	6,30	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	99	107	17	0	6	0	0	0	17,17	0,00	6,06	0,00	0,00	0,00
Şubat	1A	114	47	11	0	0	0	0	0	9,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	107	116	0	0	1	0	0	0	0,00	0,00	0,93	0,00	0,00	0,00
	3A	111	105	7	0	0	0	0	0	6,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	115	96	5	0	0	0	0	0	4,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mart	1A	115	106	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	106	109	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	117	108	15	0	0	0	0	0	12,82	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	132	106	35	0	0	0	0	0	26,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	118	109	9	1	0	0	0	0	7,63	0,92	0,00	0,00	0,00	0,00
Nisan	1A	110	107	0	0	1	0	0	0	0,00	0,00	0,91	0,00	0,00	0,00
	2A	119	113	6	0	0	0	0	0	5,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	118	114	12	0	1	0	1	0	10,17	0,00	0,85	0,00	100,0	0,00
	4A	111	114	7	0	0	0	0	0	6,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	118	112	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	6A	122	114	4	0	0	1	0	1	3,28	0,00	0,00	0,88	0,00	100,0

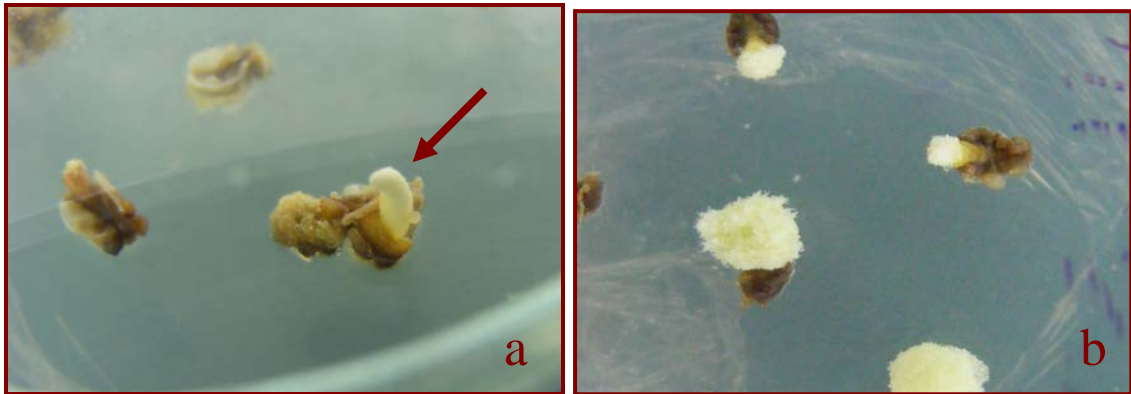
1A: 1 aylık, 2A: 2 aylık, 3A: 3 aylık, 4A:4 aylık, 5A: 5 aylık, 6A: 6 aylık bitkiler; I: ilk yıl, II: ikinci yıl verileri

Alcapi yağlık biber çeşidinin denemenin ilk yılında anter kültürüne verdiği cevaplar incelendiğinde, en yüksek embriyo oluşumunu %6,06'lık oranla Ocak ayında 3 aylık bitkilerden oluşturduğu görülmektedir. Ayrıca Aralık ayında 1 aylık bitkilerden 3, 2 aylık bitkilerden 1 adet, Şubat ve Nisan aylarında 1 aylık bitkilerden ve yine Nisan ayında 3 aylık bitkilerden 1'er adet embriyo oluşturduğu belirlenmiştir. Kasım ve Mart ayında yapılan kültürde hiç embriyo oluşmamıştır.

Kış döneminin ikinci yıl denemelerinden elde edilen sonuçlar incelendiğinde, Alcapi çeşidinde kültür boyunca sadece Nisan ayında 6 aylık bitkilerden tek bir embriyo oluşumu gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre Alcapi çeşidinde 1, 2 ve 3 aylık bitkilerin embriyo oluşturmada başarılı olduğu açıktır (Çizelge 4.9). Şekil 4.19'da Alcapi çeşidinin denemenin ilk yılında anter kültüründe oluşturduğu embriyolar ve embriyolardan gelişen bitkicikler, Şekil 4.20'de denemenin ikinci yılında Alcapi çeşidinden oluşan embriyo ve kallus oluşturan anterler yer almaktadır.



Şekil 4.19. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Alcapi çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar(a) ve gelişen bitkicikler (b)



Şekil 4.20. Kış dönemi denemelerinin ikinci yılında Alcapi çeşidine ait anterden oluşan embriyo (a), gelişmeyen kallus oluşturan anterler (b)

Çizelge 4.10. Kış dönemi denemelerinde Kappy çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar

Tomurcuk alma dönemi		Anter sayısı (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (adet)		Oluşan embriyo (adet)		Oluşan bitki (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (%)		Oluşan embriyo (%)		Oluşan bitki (%)	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Kasım	1A	88	106	12	0	0	0	0	0	13,64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Aralık	1A	110	110	40	0	0	0	0	0	36,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	90	107	5	0	0	0	0	0	5,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ocak	1A	104	102	20	0	0	0	0	0	19,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	121	101	26	19	0	0	0	0	21,49	18,81	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	102	107	36	0	0	0	0	0	35,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Şubat	1A	114	115	17	0	0	0	0	0	9,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	113	114	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	113	112	12	0	0	0	0	0	10,62	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	115	116	16	0	0	0	0	0	13,91	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mart	1A	111	112	4	0	0	0	0	0	3,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	131	116	0	12	0	0	0	0	0,00	10,34	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	117	107	41	0	0	0	0	0	35,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	124	114	0	20	0	0	0	0	0,00	17,54	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	109	102	51	19	0	0	0	0	46,79	18,63	0,00	0,00	0,00	0,00
Nisan	1A	113	110	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	42	114	4	0	0	0	0	0	9,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	119	110	20	0	2	0	0	0	16,81	0,00	1,68	0,00	0,00	0,00
	4A	118	107	27	24	0	0	0	0	22,88	22,42	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	122	110	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	6A	121	112	6	0	0	0	0	0	4,96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

1A: 1 aylık, 2A: 2 aylık, 3A: 3 aylık, 4A:4 aylık, 5A: 5 aylık, 6A: 6 aylık bitkiler; I: ilk yıl, II: ikinci yıl verileri

Kappy yağlık biber çeşidinin anter kültürüne verdiği cevaplar incelendiğinde, çeşidin ilk yıl sadece Nisan ayında 3 aylık bitkilerden %1,68 oranında embriyo oluşturduğu, ikinci yılında ise hiç embriyo oluşturmadığı gözlenmiştir (Çizelge 4.10). Şekil 4.21’de Kappy çeşidinden oluşan bir embriyo yer almaktadır.



Şekil 4.21. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Kappy çeşidine ait anterden oluşan embriyo

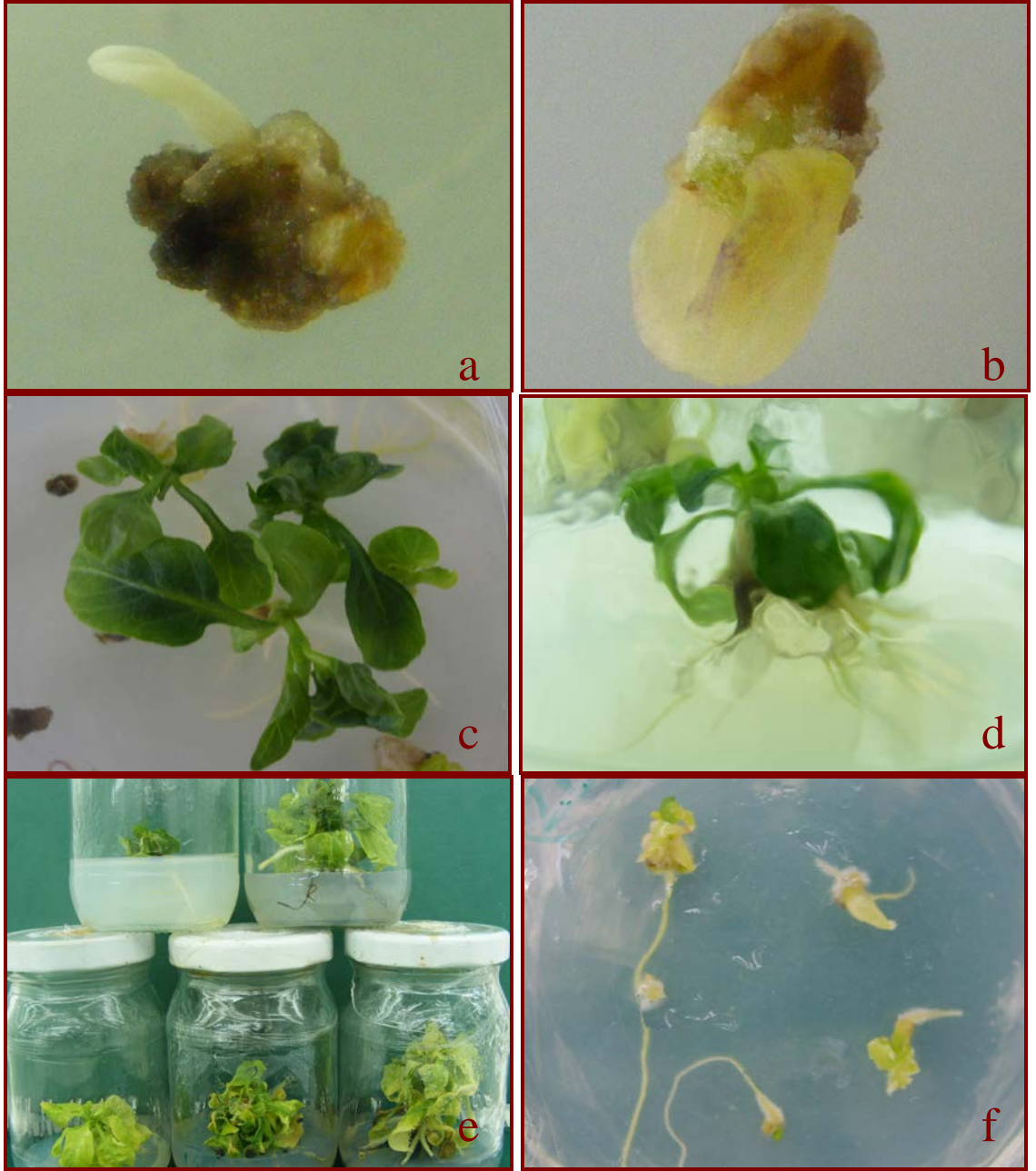
Çalışmada yağlık biber çeşitlerinde embriyo oluşumlarının Alcapı çeşidinde 1, 2 ve 3 aylık bitkilerde; Kappy çeşidinde ise 3 aylık bitkilerde gözlenmiştir. Sonuçlar yağlık biber çeşitlerinde kış dönemi yetiştiricilikte genç bitkilerin embriyo oluşturmada daha başarılı olduklarını göstermektedir.

Çizelge 4.11. Kış dönemi denemelerinde Balo çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar

Tomurcuk alma dönemi		Anter sayısı (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (adet)		Oluşan embriyo (adet)		Oluşan bitki (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (%)		Oluşan embriyo (%)		Oluşan bitki (%)	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Kasım	1A	93	119	64	0	0	0	0	0	68,82	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Aralık	1A	114	81	0	12	13	0	2	0	0,00	14,81	11,40	0,00	15,38	0,00
	2A	104	109	0	56	0	0	0	0	0,00	51,38	0,00	0,00	0,00	0,00
Ocak	1A	118	93	52	0	1	0	0	0	44,07	0,00	0,85	0,00	0,00	0,00
	2A	107	106	45	48	13	0	5	0	42,06	45,28	12,15	0,00	38,46	0,00
	3A	113	118	73	10	0	0	0	0	64,60	8,47	0,00	0,00	0,00	0,00
Şubat	1A	132	112	1	0	0	0	0	0	0,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	121	119	0	0	2	0	0	0	0,00	0,00	1,65	0,00	0,00	0,00
	3A	104	117	34	0	8	0	2	0	32,69	0,00	7,69	0,00	25,00	0,00
	4A	115	118	66	0	4	0	1	0	57,39	0,00	3,48	0,00	25,00	0,00
Mart	1A	117	123	12	0	1	0	1	0	10,26	0,00	0,85	0,00	100,00	0,00
	2A	138	109	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	138	114	26	55	0	0	0	0	18,84	48,24	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	124	116	75	0	0	0	0	0	60,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	117	120	7	32	0	0	0	0	5,98	26,67	0,00	0,00	0,00	0,00
Nisan	1A	115	98	0	0	1	0	0	0	0,00	0,00	0,87	0,00	0,00	0,00
	2A	112	113	29	9	2	0	0	0	25,89	7,96	1,79	0,00	0,00	0,00
	3A	122	120	37	0	2	2	1	1	30,33	0,00	1,64	1,66	50,00	50,00
	4A	127	122	55	65	3	0	0	0	43,31	53,27	2,36	0,00	0,00	0,00
	5A	133	123	0	0	0	1	0	0	0,00	0,00	0,00	0,81	0,00	0,00
	6A	140	126	5	55	0	1	0	0	3,57	43,65	0,00	0,75	0,00	0,00

1A: 1 aylık, 2A: 2 aylık, 3A: 3 aylık, 4A: 4 aylık, 5A: 5 aylık, 6A: 6 aylık bitkiler; I: ilk yıl, II: ikinci yıl verileri

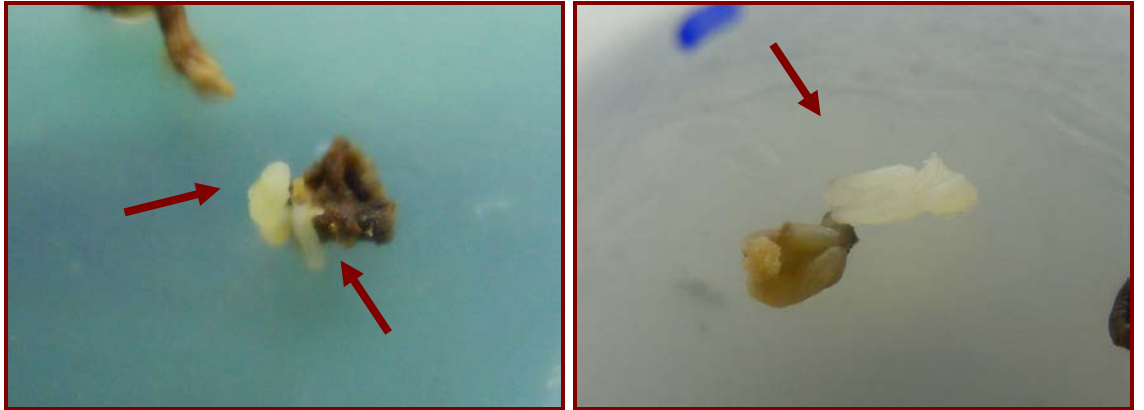
Balo dolmalık biber çeşidinin anter kültürüne verdiği cevaplar incelendiğinde, denemenin ilk yılında en yüksek embriyo oluşum oranının %12,15 ile Ocak ayında 2 aylık bitkilerden gerçekleştiği görülmektedir. Ocak ayında ayrıca 1 aylık bitkilerden de %0,85 oranında embriyo oluşumu gözlenmiştir. Aralık ayında ise 1 aylık bitkilerden %11,40 oranında embriyo oluşumu belirlenmiştir (Çizelge 4.11). Şekil 4.22’de denemenin ilk yılında Balo çeşidinden anter kültüründe oluşan embriyo ve bitkicikler yer almaktadır.



Şekil 4.22. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Balo çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a, b) (10x2,5), embriyolardan gelişen bitkicikler (c, d), gelişmiş bitkicikler (e), gelişmeyen embriyolar (f)

Oluşan embriyoların bitkiye dönüşümlerinde yine %38,46 oranı ile 2 aylık bitkiler başarılı görülmüşlerdir. Aralık ayında oluşan embriyolarda ise %15,38 oranında bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Balo çeşidinde Kasım ayı dışındaki diğer çalışma aylarının hepsinde embriyo oluşumu saptanmıştır. Şubat ayında 2, 3 ve 4 aylık bitkilerden, Mart ayında 1, 3, 4 ve 5 aylık bitkilerden, Nisan ayında ise 1, 2, 3 ve 4 aylık bitkilerden embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Oluşan embriyolardan farklı oranlarda bitkiye dönüşüm olmuştur, fakat 1 ve 2 aylık bitkiler çalışma aylarının birçoğunda embriyo oluşturmuşlardır. (Çizelge 4.11).

Denemenin ikinci yılında Balo çeşidinde embriyo oluşumu sadece Nisan ayında ve 3 aylık (%1,66), 5 aylık (%0,81), 6 aylık bitkilerde (%0,75) gerçekleşmiştir. Şekil 4.23'de denemenin ikinci yılında Balo çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar yer almaktadır.



Şekil 4.23. Kış dönemi denemelerinin ikinci yılında Balo çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar

Çizelge 4.12. Kış dönemi denemelerinde Punto çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar

Tomurcuk alma dönemi		Anter sayısı (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (adet)		Oluşan embriyo (adet)		Oluşan bitki (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (%)		Oluşan embriyo (%)		Oluşan bitki (%)	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Kasım	1A	54	114	38	0	0	0	0	0	70,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Aralık	1A	96	119	55	27	3	0	0	0	57,29	22,69	3,12	0,00	0,00	0,00
	2A	64	116	40	55	2	0	0	0	62,50	47,41	3,13	0,00	0,00	0,00
Ocak	1A	103	111	60	0	6	0	1	0	58,25	0,00	5,83	0,00	16,67	0,00
	2A	124	117	48	61	0	0	0	0	38,71	52,13	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	111	110	72	0	2	0	0	0	64,86	0,00	1,80	0,00	0,00	0,00
Şubat	1A	122	118	75	0	0	0	0	0	61,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	120	116	14	0	0	0	0	0	11,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	118	119	65	0	3	0	0	0	55,08	0,00	2,54	0,00	0,00	0,00
	4A	120	109	50	0	1	0	1	0	41,67	0,00	0,83	0,00	100,0	0,00
Mart	1A	118	120	3	45	0	3	0	1	2,54	37,50	0,00	2,50	0,00	33,33
	2A	134	114	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	132	117	19	31	1	0	0	0	14,39	26,47	0,76	0,00	0,00	0,00
	4A	120	111	83	51	2	0	0	0	69,17	45,95	1,67	0,00	0,00	0,00
	5A	123	115	81	0	1	0	0	0	65,85	0,00	0,81	0,00	0,00	0,00
Nisan	1A	114	108	2	17	0	0	0	0	1,75	15,74	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	121	115	55	0	4	0	0	0	45,45	0,00	3,31	0,00	0,00	0,00
	3A	121	114	28	65	3	0	1	0	23,14	57,00	2,48	0,00	33,33	0,00
	4A	131	122	43	66	1	0	0	0	32,82	54,09	2,33	0,00	0,00	0,00
	5A	125	123	0	65	0	1	0	1	0,00	52,84	0,00	0,81	0,00	100,0
	6A	122	130	6	39	0	3	0	1	4,92	30,00	0,00	2,31	0,00	33,33

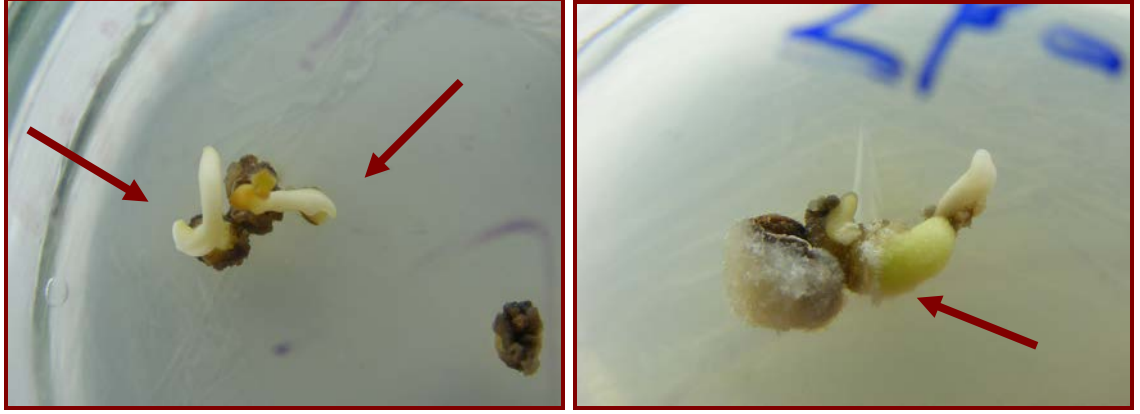
1A: 1 aylık, 2A: 2 aylık, 3A: 3 aylık, 4A:4 aylık, 5A: 5 aylık, 6A: 6 aylık bitkiler; I: ilk yıl, II: ikinci yıl verileri

Denemenin ilk yılında Punto dolmalık biber çeşidinin anter kültürüne verdiği cevaplar incelendiğinde, en yüksek embriyo oluşumu %5,83 ile Ocak ayında 1 aylık bitkilerde görülmüştür. Aynı ay içerisinde 3 aylık bitkilerde %1,80 oranında embriyo oluşumu göstermişlerdir. Punto çeşidinde de Balo çeşidinde olduğu gibi Kasım ayı dışındaki çalışma aylarında çeşitli oranlarda embriyo oluşumu gözlenmiştir. Şubat ve Mart aylarında 1 ve 2 aylık bitkilerde embriyo oluşumu gerçekleşmemişken, diğer yaşlardaki bitkilerde embriyo oluşumu gerçekleşmiştir (Çizelge 4.12). Şekil 4.24’de Punto dolmalık biber çeşidine ait embriyolar ve oluşan bitkicikler yer almaktadır.

Denemenin ikinci yılında Punto dolmalık tip biber çeşidinin Mart ayında 1 aylık bitkilerde %2,50 oranında, Nisan ayında 5 ve 6 aylık bitkilerde sırasıyla %0,81 ve %2,31 oranlarında embriyo oluşumu gözlenmiştir (Çizelge 4.12). Şekil 4.25’de Punto çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar yer almaktadır.



Şekil 4.24. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Punto çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a, b), embriyolardan gelişen bitkicik ve gelişmeyen embriyo (c), gelişmiş bitkicik (d)



Şekil 4.25. Kış dönemi denemelerinin ikinci yılında Punto çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar

Dolmalık biber çeşitlerine bakıldığında Balo çeşidinde genel olarak genç bitkilerde daha yüksek oranlarda embriyo oluşumu gözlenirken, Punto çeşidinde ise başarı aylara bağlı olarak değişmemiştir. 3 aylık bitkiler her ayda da embriyo oluşturduğu gözlenirken, 1 aylık bitkiler Şubat ayı dışında hiç embriyo oluşturmamıştır.

Denemenin ilk yılında Kekova sivri biber çeşidinin anter kültürüne verdiği cevaplar incelendiğinde (Çizelge 4.13), en yüksek embriyo oranının %12,09 ile Ocak ayında 2 aylık bitkilerde gerçekleştiği görülmektedir. Yine Ocak ayında 3 aylık bitkilerde %2,08 oranında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Ayrıca Aralık ve Mart aylarında 1'er aylık bitkilerden sırasıyla %2,0 ve %1,0 oranlarında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Çeşit Kasım, Şubat ve Nisan aylarında embriyo oluşumu göstermemiştir. Oluşan embriyolarda ise bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir.

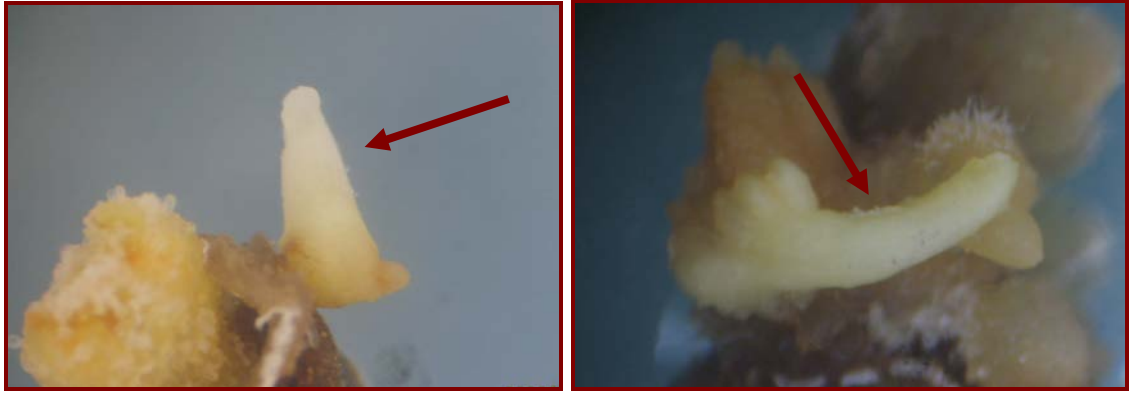
Denemenin ikinci yılında ise Kekova çeşidinin Kasım ayında 1 aylık bitkilerinde %5,88, Aralık ayında 2 aylık bitkilerinde %8,82 ve Mart ayında 3 aylık bitkilerinde %1,97 oranlarda embriyo oluşumu gözlenmiştir.

Denemenin ilk yılında Kekova çeşidinden oluşan embriyolar Şekil 4.26'da denemenin ikinci yılında Kekova çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar Şekil 4.27'de yer almaktadır.

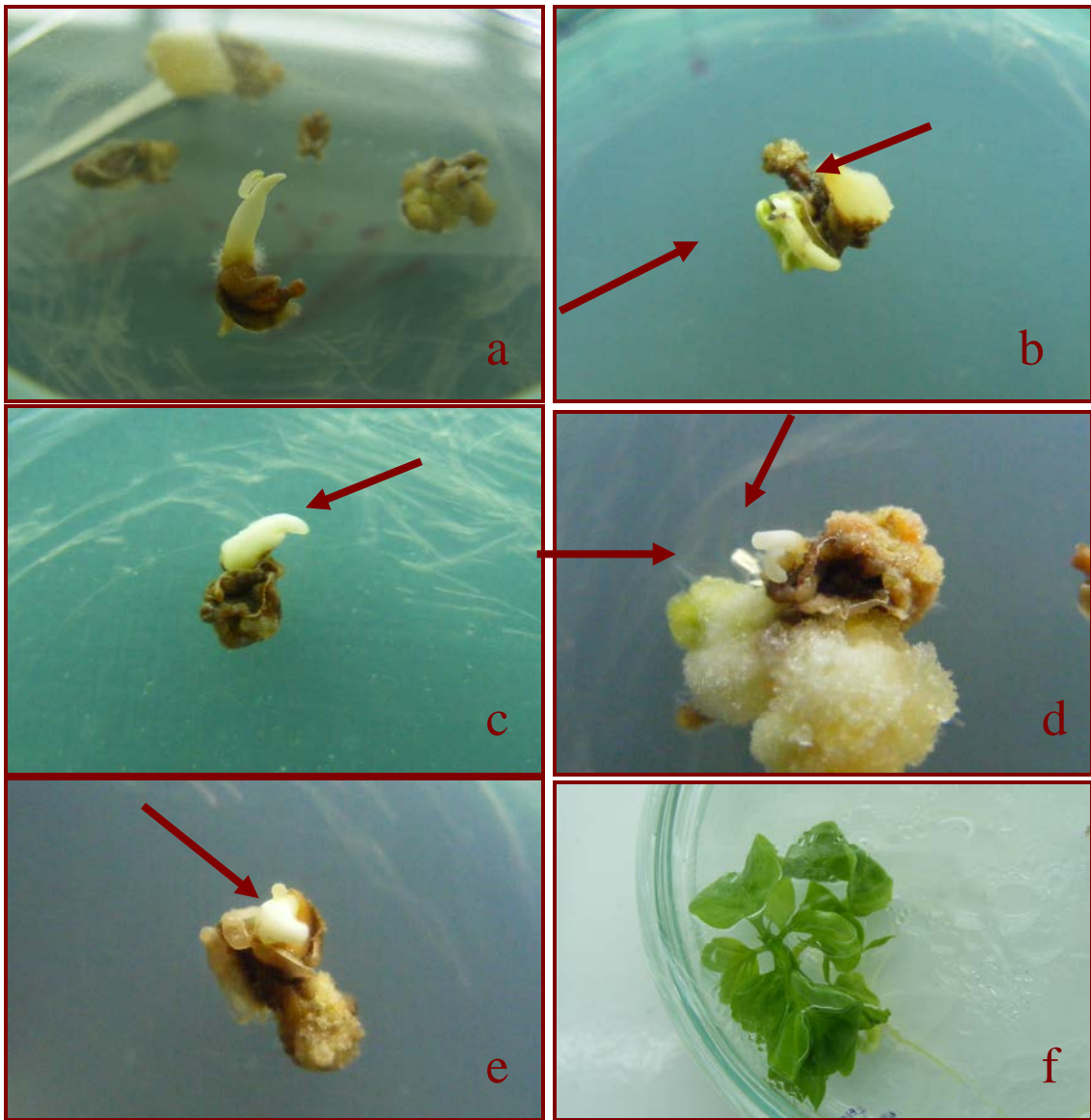
Çizelge 4.13. Kış dönemi denemelerinde Kekova çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar

Tomurcuk alma dönemi		Anter sayısı (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (adet)		Oluşan emb. (adet)		Oluş. bitki (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (%)		Oluşan embriyo (%)		Oluşan bitki (%)	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Kasım	1A	77	102	31	0	0	6	0	2	40,26	0,00	0,00	5,88	0,00	33,33
Aralık	1A	50	101	21	0	1	0	0	0	42,00	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00
	2A	101	102	9	0	0	9	0	4	8,91	0,00	0,00	8,82	0,00	44,44
Ocak	1A	57	99	4	0	0	0	0	0	7,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	91	94	59	12	11	0	0	0	64,84	12,76	12,09	0,00	0,00	0,00
	3A	96	102	31	0	2	0	0	0	32,29	0,00	2,08	0,00	0,00	0,00
Şubat	1A	105	105	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	106	102	20	0	0	0	0	0	18,87	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	104	99	43	0	0	0	0	0	41,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	96	102	28	0	0	0	0	0	29,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mart	1A	100	101	4	0	1	0	0	0	4,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00
	2A	102	95	4	0	0	2	0	1	3,92	0,00	0,00	2,10	0,00	50,00
	3A	108	103	8	0	0	2	0	1	7,41	0,00	0,00	1,97	0,00	50,00
	4A	104	101	9	0	0	0	0	0	8,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	109	93	2	0	0	0	0	0	1,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Nisan	1A	107	98	1	0	0	0	0	0	0,93	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	111	101	10	0	0	0	0	0	9,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	105	100	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	106	101	5	0	0	0	0	0	4,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	99	101	4	17	0	0	0	0	4,04	16,83	0,00	0,00	0,00	0,00
	6A	103	103	3	0	0	0	0	0	2,91	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

1A: 1 aylık, 2A: 2 aylık, 3A: 3 aylık, 4A:4 aylık, 5A: 5 aylık, 6A: 6 aylık bitkiler; I: ilk yıl, II: ikinci yıl verileri



Şekil 4.26. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Kekova çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (10x2)



Şekil 4.27. Kış dönemi denemelerinin ikinci yılında Kekova çeşidine ait anterden oluşan embriyolar (a, b, c, d, e), embriyolardan gelişen bitkicik (f)

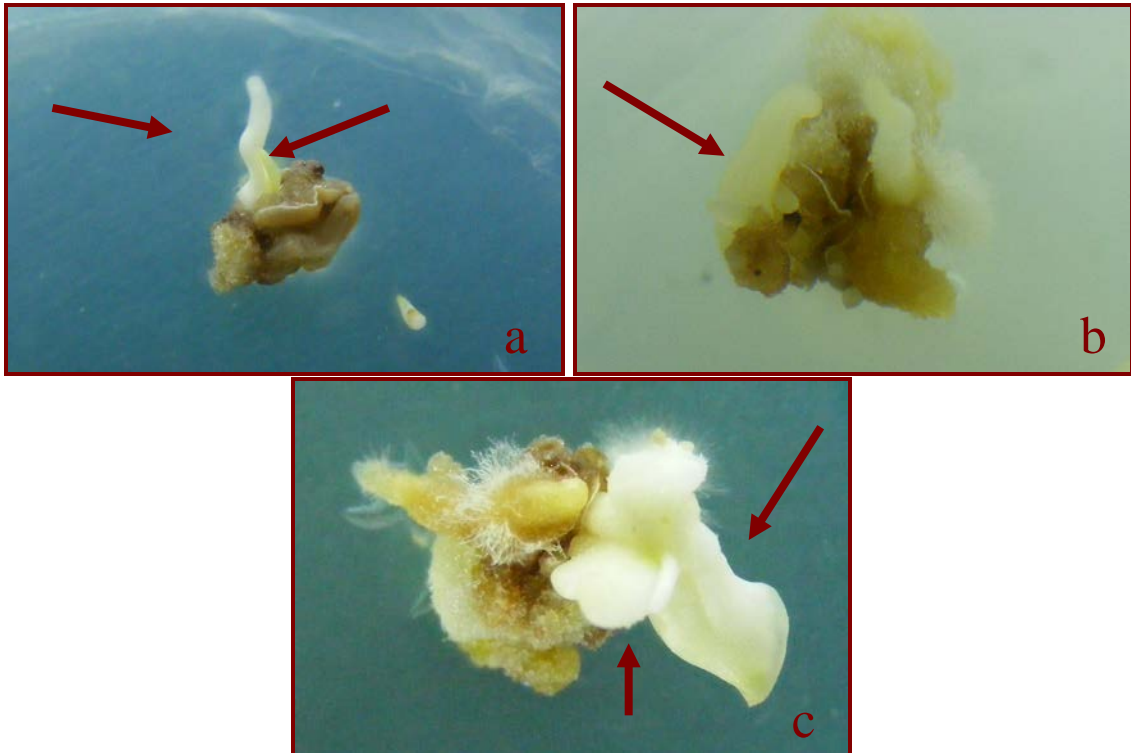
Çizelge 4.14. Kış dönemi denemelerinde Amazon çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar

Tomurcuk alma dönemi		Anter sayısı (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (adet)		Oluşan embriyo (adet)		Oluşan bitki (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (%)		Oluşan embriyo (%)		Oluşan bitki (%)	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Kasım	1A	90	105	0	0	4	0	1	0	0,00	0,00	4,44	0,00	25,00	0,00
Aralık	1A	94	105	0	0	0	7	0	2	0,00	0,00	0,00	6,67	0,00	28,57
	2A	101	102	77	34	0	0	0	0	76,24	33,33	0,00	0,00	0,00	0,00
Ocak	1A	92	101	26	0	3	0	0	0	28,26	0,00	3,26	0,00	0,00	0,00
	2A	95	106	39	76	6	0	1	0	41,05	71,69	6,32	0,00	16,67	0,00
	3A	76	97	48	0	6	0	1	0	63,16	0,00	7,89	0,00	16,67	0,00
Şubat	1A	106	95	21	0	0	0	0	0	19,81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	102	103	14	0	0	0	0	0	13,73	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	108	94	46	0	5	0	0	0	42,59	0,00	4,63	0,00	0,00	0,00
	4A	80	106	35	0	0	0	0	0	43,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mart	1A	105	100	5	10	0	0	0	0	4,76	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	111	116	1	0	0	0	0	0	0,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	78	104	0	12	0	3	0	1	0,00	11,53	0,00	2,88	0,00	33,33
	4A	109	100	5	10	1	0	0	0	4,59	10,00	0,92	0,00	0,00	0,00
	5A	109	93	1	0	0	0	0	0	0,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Nisan	1A	103	98	11	0	0	0	0	0	10,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	97	101	4	0	3	0	0	0	4,12	0,00	3,09	0,00	0,00	0,00
	3A	111	100	8	18	7	0	1	0	7,21	18,00	6,31	0,00	14,29	0,00
	4A	104	97	9	18	2	0	2	0	8,65	18,56	1,92	0,00	100,0	0,00
	5A	106	101	13	0	1	2	0	2	12,26	0,00	0,94	1,98	0,00	100,0
	6A	110	100	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

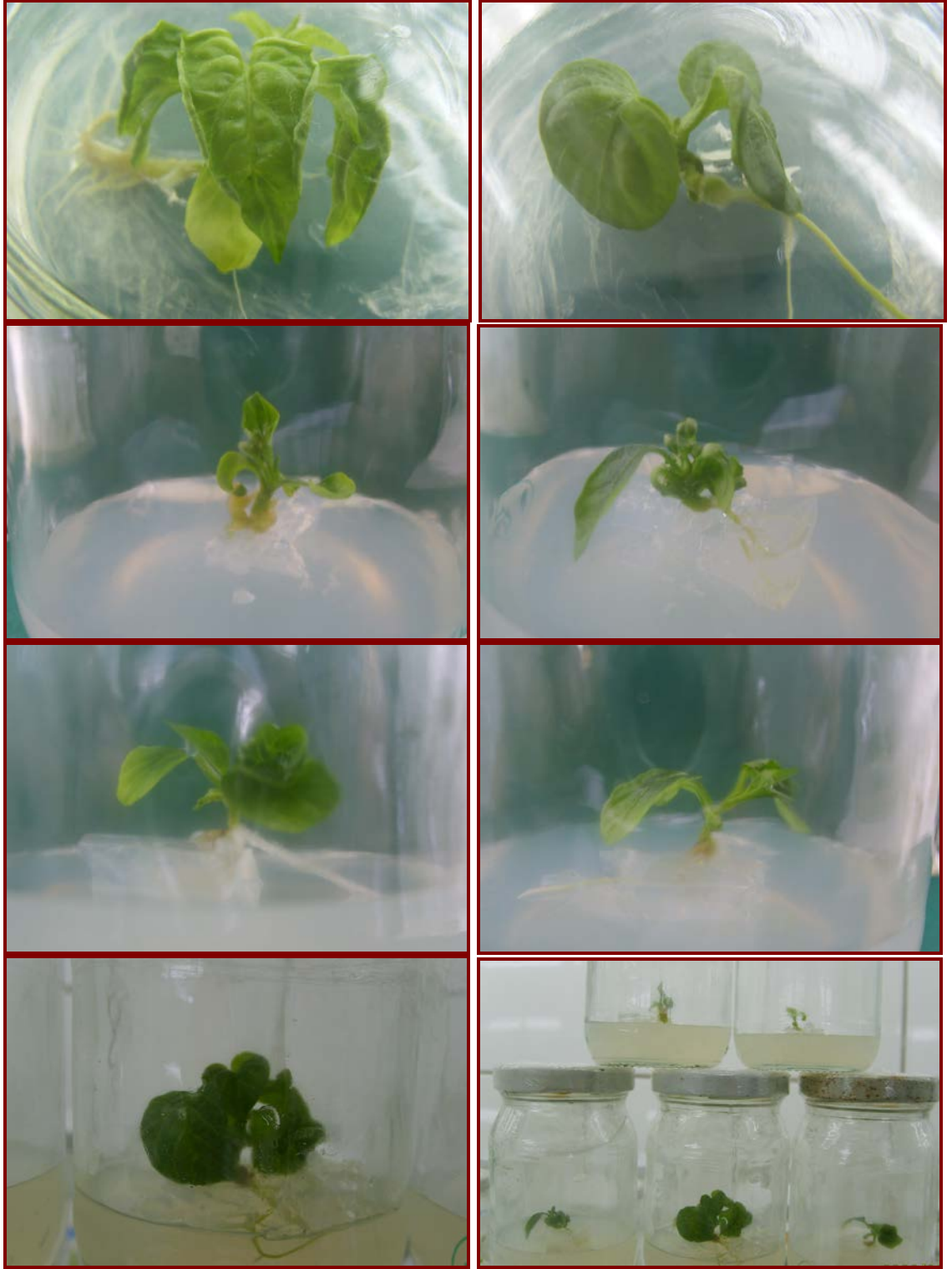
1A: 1 aylık, 2A: 2 aylık, 3A: 3 aylık, 4A: 4 aylık, 5A: 5 aylık, 6A: 6 aylık bitkiler; I: ilk yıl, II: ikinci yıl verileri

Denemenin ilk yılında Amazon sivri biber çeşidinin anter kültürüne verdiği sonuçlara göre, en yüksek embriyo oluşumu %7,89 oranı ile Ocak ayında 3 aylık bitkilerden elde edilmiştir. Bunu %6,32'lik oranla yine aynı ay içerisinde 2 aylık bitkiler, %3,26 oranla 1 aylık bitkiler takip etmiştir. Bu çeşit tüm çalışma aylarında embriyo oluşturmuş, Kasım ayında 1 aylık, Ocak ayında 3 aylık, Şubat ayında 3 aylık, Mart ayında 4 aylık, Nisan ayında ise 3 aylık bitkiler en yüksek bazen de tek embriyo oluşum değerlerini gerçekleştirmişlerdir (Çizelge 4.14). Amazon biber çeşidinin sonuçlarına bakıldığında embriyo oluşum oranı bakımından 2 ve 3 aylık bitkilerin başarılı olduğu görülürken, oluşan embriyoların bitkiye dönüşüm oranları açısından 3 ve 4 aylık bitkilerin daha başarılı oldukları görülmektedir.

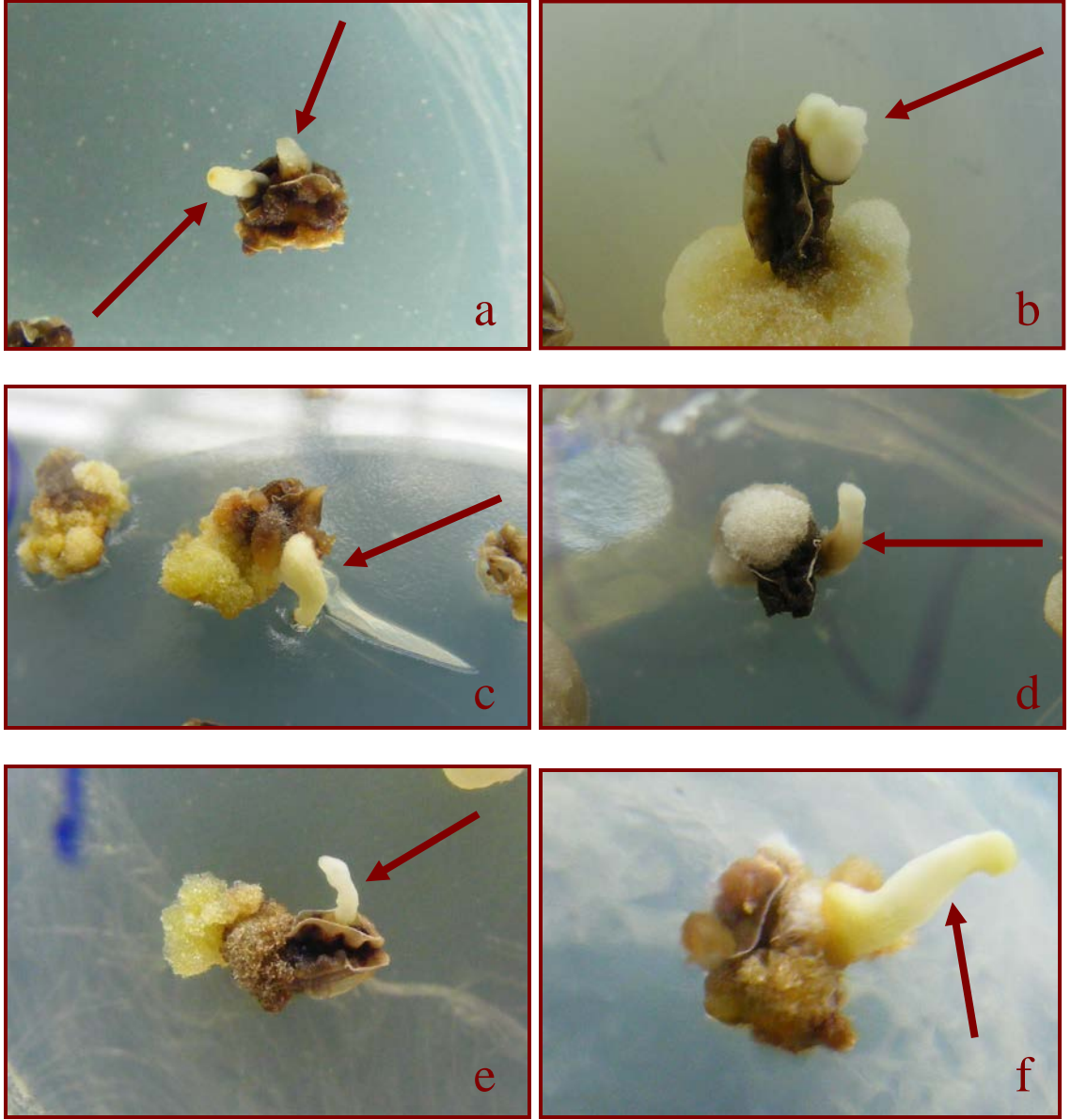
Denemenin ikinci yılında Amazon çeşidinde Aralık ayında 1 aylık bitkilerde %6,67, Mart ayında 3 aylık bitkilerde %2,88, Nisan ayında 5 aylık bitkilerde %1,98 oranlarında embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. Oluşan embriyolardan farklı oranlarda da olsa bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Denemenin ilk yılında Amazon çeşidinden oluşan embriyolar ve bitkicikler Şekil 4.28 ve Şekil 4.29'da, ikinci yıl oluşan embriyolar Şekil 4.30'da yer almaktadır.



Şekil 4.28. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Amazon çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (b, c; 10x2)



Şekil 4.29. Kış dönemi denemelerinin ilk yılında Amazon çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolardan gelişen bitkicikler



Şekil 4.30. Kış dönemi denemelerinin ikinci yılında Amazon çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a, b, c, d, e) (f ; 10x1,5)

Yaz dönemi denemelerinde bitkiler açıkta yetiştirilmişler ve deneme iki yıl üst üste tekrarlanmıştır. Yaz döneminde kullanılan T-304, Atris (yağlık tip), Ergenekon, Punto (dolmalık tip), Bafra F₁ ve Delta (sivri tip) çeşitlerinin kültüre verdikleri yanıtlar aşağıda sunulmuştur. Şekil 4.31’de yaz dönemi denemelerinin ilk yılında ve ikinci yılında açık arazideki bitkilerden bir görünüm yer almaktadır. Şekilde etiketlerle ayrılmış farklı çeşitler ve farklı dikim ayları rahatlıkla ayırt edilebilmektedir.



Şekil 4.31. Yaz dönemi denemelerinin ilk yılında (a) ve ikinci yılında (b) bitkilerin yetiştirildiği açık alandan bir görünüm

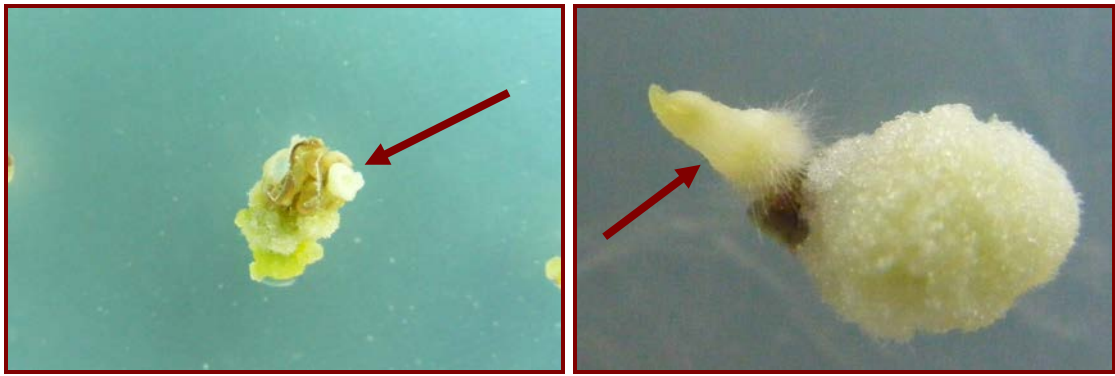
Çizelge 4.15. Yaz dönemi denemelerinde T-304 çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar

Tomurcuk alma dönemi		Anter sayısı (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (adet)		Oluşan embriyo (adet)		Oluşan bitki (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (%)		Oluşan embriyo (%)		Oluşan bitki (%)	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Mayıs	1A	103	109	11	12	0	0	0	0	10,68	11,09	0,00	0,00	0,00	0,00
Haziran	1A	103	116	5	0	0	1	0	0	4,85	0,00	0,00	0,86	0,00	0,00
	2A	126	106	3	0	0	0	0	0	2,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Temmuz	1A	113	108	7	0	0	0	0	0	6,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	109	115	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	112	112	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ağustos	1A	99	123	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	61	117	5	0	0	0	0	0	8,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	122	111	0	23	0	0	0	0	0,00	20,72	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	110	120	0	32	1	0	0	0	0,00	26,67	0,91	0,00	0,00	0,00
Eylül	1A	109	87	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	116	82	10	0	0	0	0	0	8,62	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	33	102	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	106	99	3	0	0	0	0	0	2,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	114	99	3	0	0	0	0	0	2,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ekim	1A	60	100	0	0	0	1	0	0	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
	2A	90	87	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	68	110	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	72	105	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	108	107	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	6A	73	101	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

1A: 1 aylık, 2A: 2 aylık, 3A: 3 aylık, 4A:4 aylık, 5A: 5 aylık, 6A: 6 aylık bitkiler; I: ilk yıl, II: ikinci yıl verileri

Denemenin ilk yılında T-304 yağlık biber çeşidinin anter kültürüne verdiği sonuçlar incelendiğinde Ağustos ayında 4 aylık bitkiler dışında embriyo oluşumu (%0,91) gözlenmemiştir. Bu çeşitte kallus oluşturma oranı da çok düşük gerçekleşmiştir.

Denemenin ikinci yılında ise, Haziran ve Ekim aylarında 1 aylık bitkilerden 1'er adet (sırasıyla %0,86 ve %1,00) embriyo oluşumu gözlenmiştir. Embriyolardan bitki eldesi gerçekleşmemiştir (Çizelge 4.15). Şekil 4.32'de denemenin ilk yılında ve ikinci yılında T-304 çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar yer almaktadır.



Şekil 4.32. Yaz dönemi denemelerinde T-304 çeşidine ait anterlerden denemenin ilk yılında (a) ve ikinci yılında (b) (10x2) oluşan embriyolar

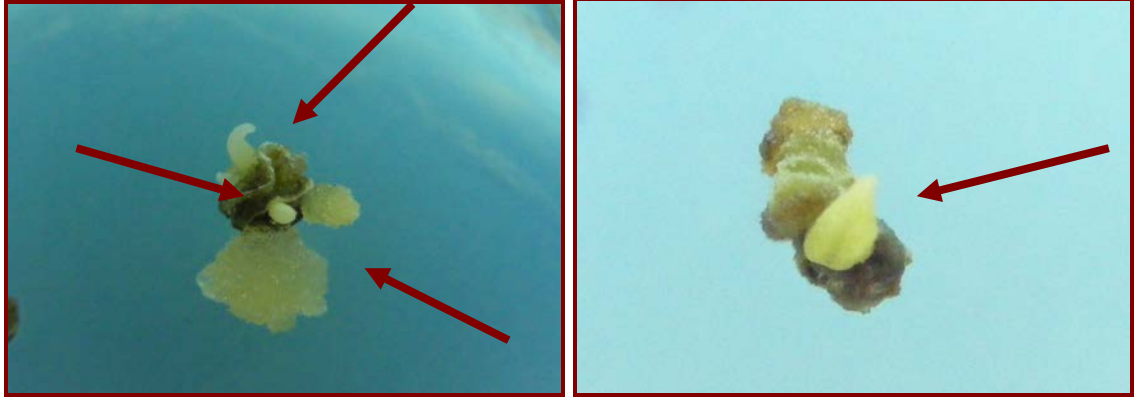
Denemenin ilk yılında Atris yağlık biber çeşidinin anter kültürüne verdiği sonuçlar incelendiğinde en yüksek embriyo oluşum oranı %4,27 ile 4 aylık bitkilerde Eylül ayında gerçekleşmiştir. Yine Eylül ayı içerisinde 2 aylık bitkiler %0,97 oranında, Mayıs ayında 1 aylık bitkiler %0,91 oranında embriyo oluşturmuş, çalışmanın diğer dönemlerinde embriyo oluşumu saptanmamıştır. Oluşan embriyolardan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir (Çizelge 4.16).

Denemenin ikinci yılında ise Atris yağlık tip biber çeşidinde deneme süresi boyunca sadece 1 embriyo (%1,0) elde edilmiştir. Bu embriyo Ekim ayında 1 aylık bitkilerin kültüre alınması ile oluşmuştur (Çizelge 4.16). Şekil 4.33'de denemenin ilk yılında, Şekil 4.34'de denemenin ikinci yılında Atris çeşidinden oluşan embriyolar yer almaktadır.

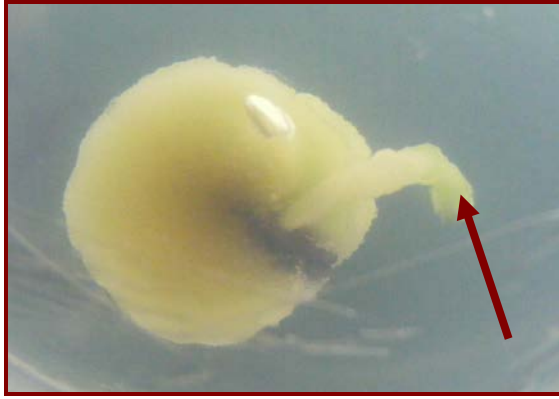
Çizelge 4.16. Yaz dönemi denemelerinde Atris çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar

Tomurcuk alma dönemi		Anter sayısı (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (adet)		Oluşan embriyo (adet)		Oluşan bitki (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (%)		Oluşan embriyo (%)		Oluşan bitki (%)	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Mayıs	1A	110	108	30	12	1	0	0	0	27,27	11,11	0,91	0,00	0,00	0,00
Haziran	1A	111	110	7	0	0	0	0	0	6,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	113	103	28	0	0	0	0	0	24,78	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Temmuz	1A	112	111	10	0	0	0	0	0	8,93	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	115	104	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	120	112	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ağustos	1A	75	107	3	0	0	0	0	0	4,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	111	121	9	0	0	0	0	0	8,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	114	119	0	36	0	0	0	0	0,00	30,25	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	118	117	4	40	0	0	0	0	3,39	34,19	0,00	0,00	0,00	0,00
Eylül	1A	108	94	6	0	0	0	0	0	5,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	103	107	0	0	1	0	0	0	0,00	0,00	0,97	0,00	0,00	0,00
	3A	23	85	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	107	103	1	0	5	0	0	0	0,85	0,00	4,27	0,00	0,00	0,00
	5A	113	74	8	0	0	0	0	0	7,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ekim	1A	40	100	0	25	0	1	0	0	0,00	25,00	0,00	1,00	0,00	0,00
	2A	78	110	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	65	115	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	76	111	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	102	100	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	6A	90	107	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

1A: 1 aylık, 2A: 2 aylık, 3A: 3 aylık, 4A:4 aylık, 5A: 5 aylık, 6A: 6 aylık bitkiler; I: ilk yıl, II: ikinci yıl verileri



Şekil 4.33. Yaz dönemi denemelerinin ilk yılında Atris çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar



Şekil 4.34. Yaz dönemi denemelerinin ikinci yılında Atris çeşidine ait anterden oluşan embriyo (10x2)

Yağlık tip biber çeşitlerinde embriyo oluşumunda değişiklik sonuçlar alınmış, aylara göre değişmekle beraber 1, 2, 3 ve 4 aylık bitkilerden embriyo oluşumu gerçekleşmiş, sonuçlar ışığında 4 aylık bitkilerin daha başarılı olduğu belirlenmiştir. Yağlık tip biber çeşitleri genel olarak değerlendirildiğinde 1 aylık bitkilerin başarılı sonuçlar gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.17. Yaz dönemi denemelerinde Ergenekon çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar

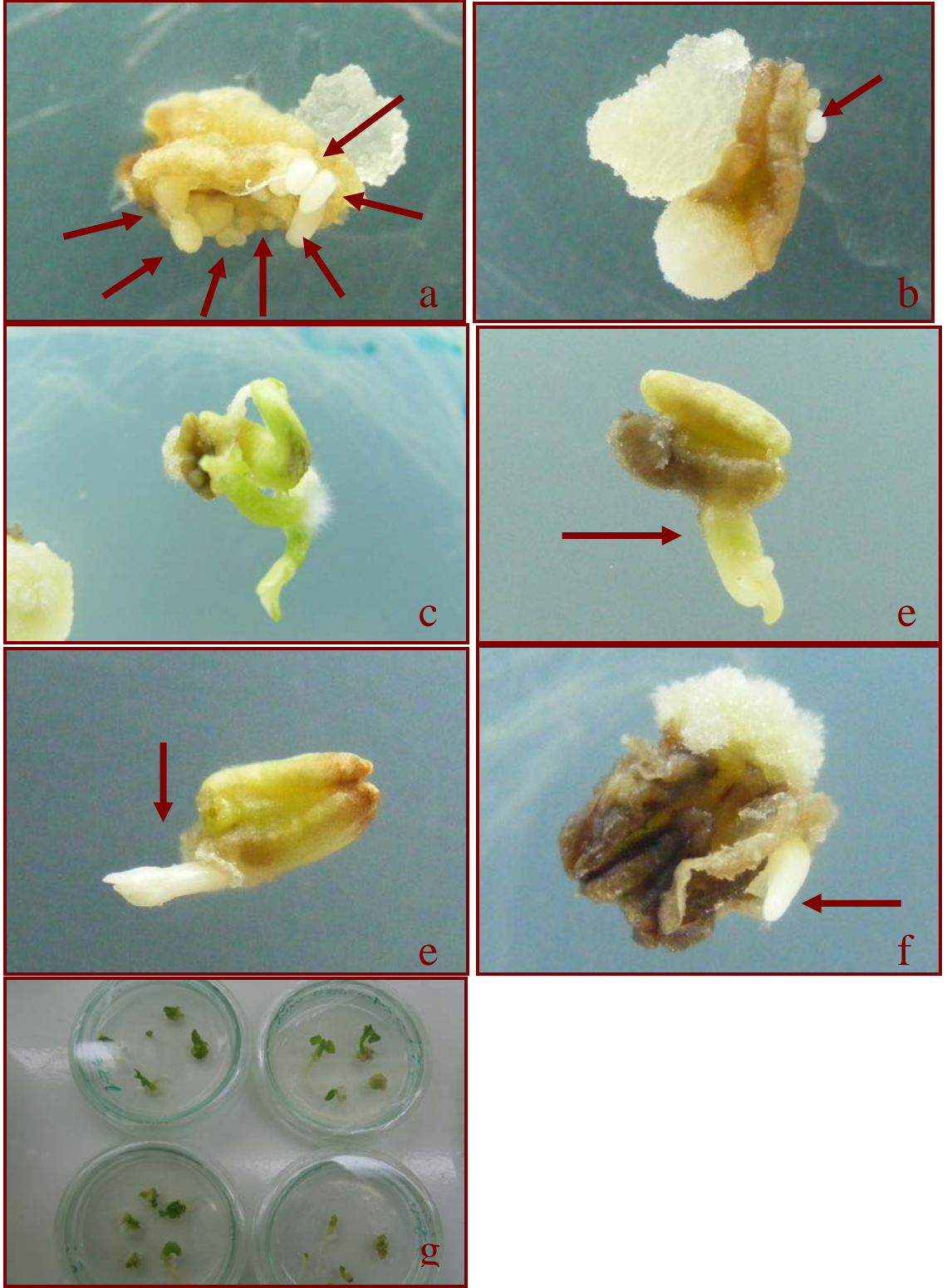
Tomurcuk alma dönemi		Anter sayısı (adet)		Kallus oluşt. anter sayısı (adet)		Oluşan embriyo (adet)		Oluşan bitki (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (%)		Oluşan embriyo (%)		Oluşan bitki (%)	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Mayıs	1A	112	121	57	49	28	8	4	2	50,89	40,49	25,00	6,61	14,29	25,0
Haziran	1A	116	120	25	0	0	0	0	0	21,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	119	124	26	0	7	1	0	0	21,85	0,00	5,88	0,81	0,00	0,00
Temmuz	1A	125	98	30	0	0	2	0	1	24,00	0,00	0,00	2,04	0,00	50,0
	2A	125	106	0	0	0	1	0	1	0,00	0,00	0,00	0,94	0,00	100,0
	3A	125	115	0	22	0	2	0	0	0,00	19,13	0,00	1,74	0,00	0,00
Ağustos	1A	88	122	0	0	1	0	0	0	0,00	0,00	1,14	0,00	0,00	0,00
	2A	105	128	0	0	2	1	1	1	0,00	0,00	1,90	0,78	50,00	100,0
	3A	106	135	6	0	2	3	0	1	5,66	0,00	1,89	2,22	0,00	33,33
	4A	116	130	0	0	1	9	0	2	0,00	0,00	0,86	6,92	0,00	22,22
Eylül	1A	116	112	5	0	0	4	0	1	4,31	0,00	0,00	3,57	0,00	25,00
	2A	115	130	6	0	7	0	2	0	5,22	0,00	6,09	0,00	28,57	0,00
	3A	114	136	21	0	0	0	0	0	18,42	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	128	115	11	0	5	0	1	0	8,59	0,00	3,91	0,00	20,00	0,00
	5A	124	127	22	0	3	0	0	0	17,74	0,00	2,42	0,00	0,00	0,00
Ekim	1A	86	108	0	0	0	6	0	1	0,00	0,00	0,00	5,56	0,00	16,67
	2A	79	95	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	87	105	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	98	121	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	102	115	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	6A	130	102	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

1A: 1 aylık, 2A: 2 aylık, 3A: 3 aylık, 4A:4 aylık, 5A: 5 aylık, 6A: 6 aylık bitkiler; I: ilk yıl, II: ikinci yıl verileri

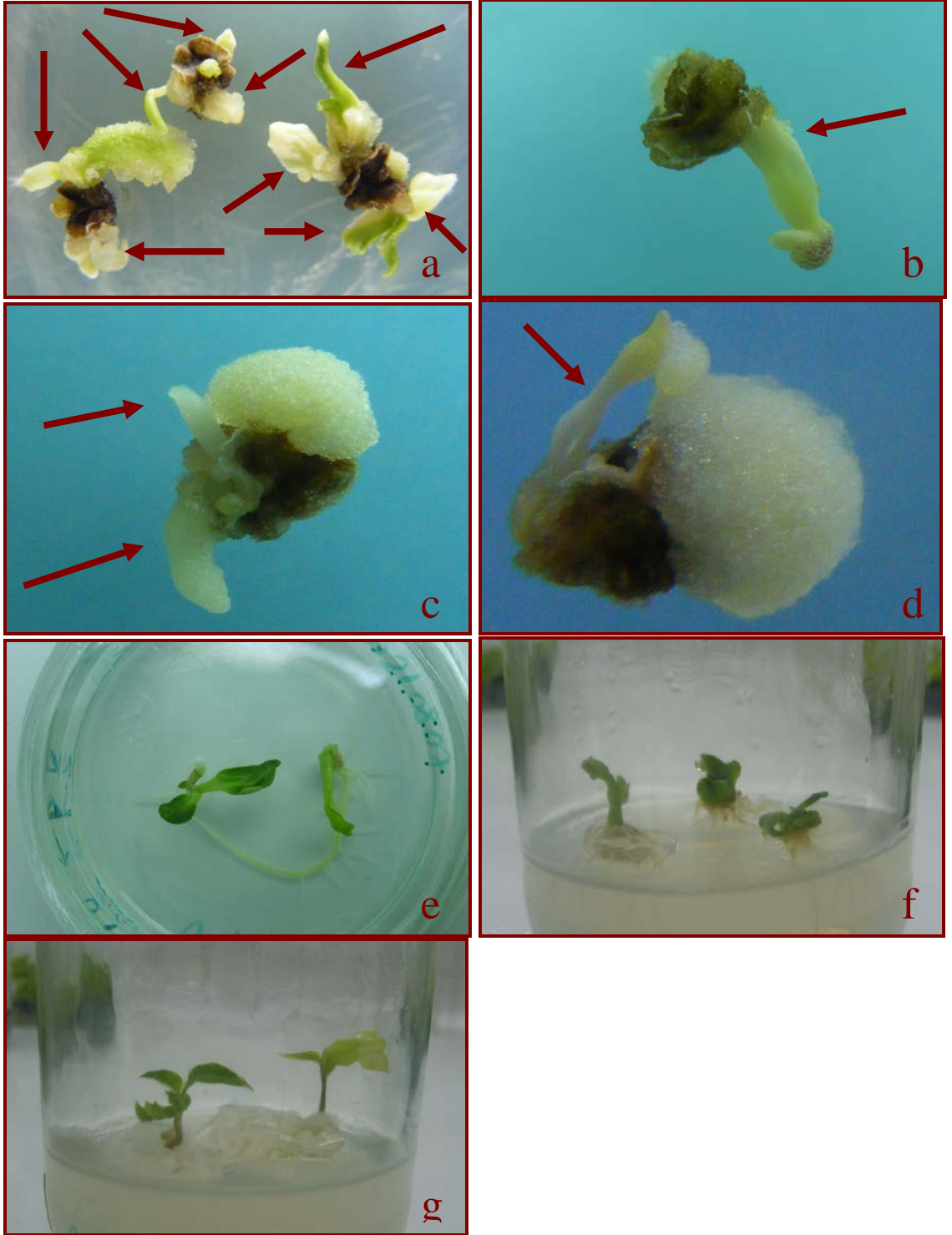
Ergenekon dolmalık biber çeşidinin anter kültürüne verdiği sonuçlar incelendiğinde en yüksek embriyo oluşum oranının 1 aylık bitkilerde %25,00 ile Mayıs ayında gerçekleştiği belirlenmiştir. 2 aylık bitkiler yine Eylül ayında %6,09, Haziran ayında %5,88 ve Ağustos ayında %1,90 oranında embriyo oluşumu göstermişlerdir. Ekim ve Temmuz ayında hiç embriyo oluşumu gözlenmemişken, 3, 4 ve 5 aylık bitkilerden de farklı dönemlerde embriyo oluşumu gözlenmiştir (Çizelge 4.17). Ergenekon çeşidinde genç bitkilerden 2 aylık bitkilerin embriyo oluşum oranı ve oluşan embriyoların bitkiye dönüşüm oranları bakımından başarılı olduğu açıkça görülmektedir.

Denemenin ikinci yılında ise, en yüksek embriyo oluşum oranını Ağustos ayında 4 aylık (%6,92), Mayıs ayında 1 aylık (%6,61) ve Ekim ayında 1 aylık (%5,56) bitkiler vermiştir (Çizelge 4.17).

Şekil 4.35’de denemenin ilk yılında Ergenekon çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar, bu embriyolardan gelişen bitkicikler ve gelişmeyen embriyolar yer almaktadır. Şekil 4.36’da ise denemenin ikinci yılında Ergenekon çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar ve embriyolardan gelişen bitkicikler yer almaktadır.



Şekil 4.35. Yaz dönemi denemelerinin ilk yılında Ergenekon çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a, b, c, d, e, f) (10x2), embriyolardan gelişen bitkicikler ve gelişmeyen embriyolar (g)



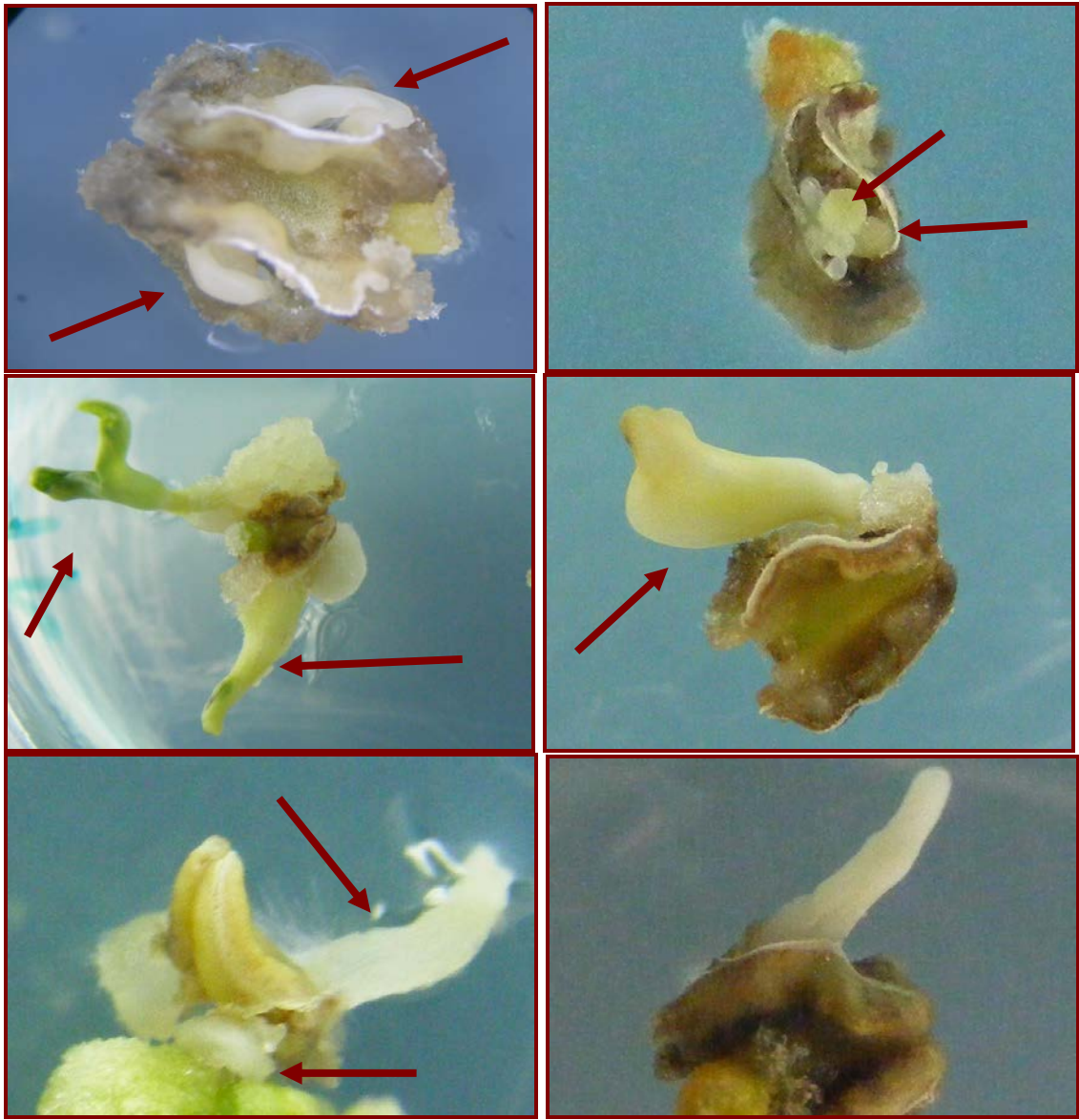
Şekil 4.36. Yaz dönemi denemelerinin ikinci yılında Ergenekon çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a), (b, c, d; 10x2) ve bitkicikler (e, f, g)

Çizelge 4.18. Yaz dönemi denemelerinde Punto çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar

Tomurcuk alma dönemi		Anter sayısı (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (adet)		Oluşan embriyo (adet)		Oluşan bitki (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (%)		Oluşan embriyo (%)		Oluşan bitki (%)	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Mayıs	1A	105	116	23	21	32	0	2	0	21,90	18,10	30,48	0,00	6,25	0,00
Haziran	1A	106	108	48	0	0	0	0	0	45,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	125	118	16	24	0	1	0	1	12,80	20,34	0,00	0,85	0,00	100,0
Temmuz	1A	111	112	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	123	117	0	12	0	0	0	0	0,00	10,26	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	124	119	0	0	0	4	0	1	0,00	0,00	0,00	3,36	0,00	25,00
Ağustos	1A	105	129	0	0	0	2	0	2	0,00	0,00	0,00	1,55	0,00	100,0
	2A	106	120	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	116	125	19	0	1	1	0	1	16,38	0,00	0,86	0,80	0,00	100,0
	4A	103	125	16	45	1	0	0	0	15,53	36,00	0,97	0,00	0,00	0,00
Eylül	1A	120	97	12	0	0	0	0	0	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	113	85	0	0	2	0	0	0	0,00	0,00	1,77	0,00	0,00	0,00
	3A	77	96	4	0	0	0	0	0	5,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	109	92	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	122	129	9	0	0	0	0	0	7,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ekim	1A	104	115	0	46	0	0	0	0	0,00	40	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	110	113	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	109	112	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	115	110	0	0	0	7	0	1	0,00	0,00	0,00	6,36	0,00	14,29
	5A	94	108	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	6A	84	97	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

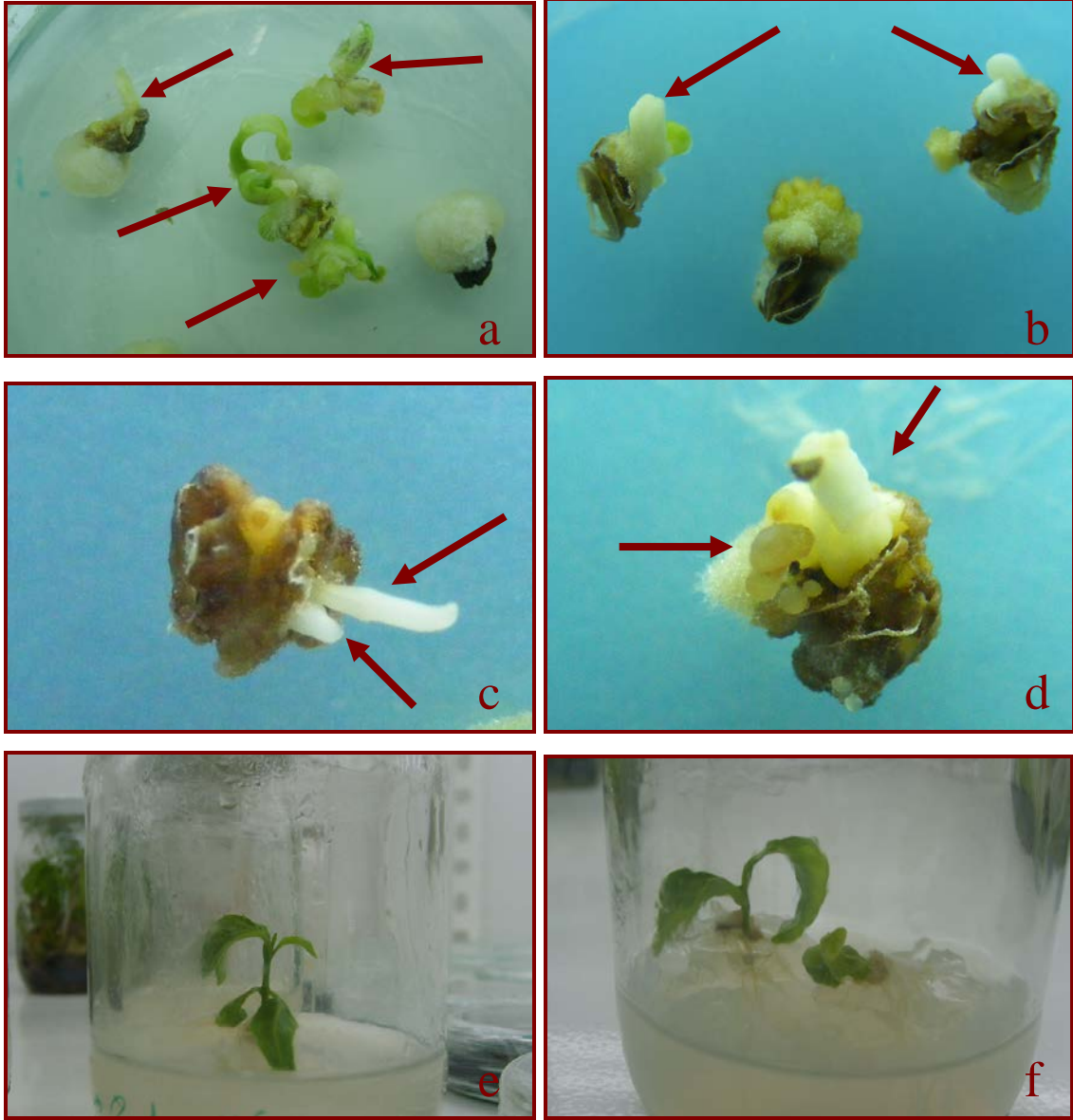
1A: 1 aylık, 2A: 2 aylık, 3A: 3 aylık, 4A:4 aylık, 5A: 5 aylık, 6A: 6 aylık bitkiler; I: ilk yıl, II: ikinci yıl verileri

Denemenin ilk yılında Punto dolmalık biber çeşidinin anter kültürüne verdiği sonuçlar incelendiğinde 1 aylık bitkilerin Mayıs ayında en yüksek embriyo oluşum oranı (%30,48) gösterdiği belirlenmiştir. 2 aylık bitkiler Eylül ayında % 1,77 oranında embriyo oluştururken, 3 aylık ve 4 aylık bitkiler Ağustos ayında sırasıyla %0,86 ve %0,97 oranında embriyo oluşumu göstermişlerdir. Oluşan embriyolardan sadece Mayıs ayında 2 aylık bitkilerden oluşan embriyolardan bitkiye dönüşüm (%6,25) gözlenmiştir. Temmuz ve Ekim ayında embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir (Çizelge 4.18). Şekil 4.37’de Punto çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar yer almaktadır.



Şekil 4.37. Yaz dönemi denemelerinin ilk yılında Punto çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (10x2)

Denemenin ikinci yılında ise Punto çeşidinde en yüksek embriyo oluşum oranını Ekim ayında 4 aylık bitkiler göstermiş, fakat diğer aylarda da 1, 2 ve 3 aylık bitkilerden embriyo elde edilmiştir (Çizelge 4.18). Şekil 4.38’de denemenin ikinci yılında Punto çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar ve gelişen bitkicikler yer almaktadır.



Şekil 4.38. Yaz dönemi denemelerinin ikinci yılında Punto çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a, b, c, d) ve embriyolardan gelişen bitkicikler (e, f)

Dolmalık tip biber çeşitlerinin sonuçlarına bakıldığında her iki çeşitte de 1 aylık bitkilerin en yüksek oranda embriyo oluşturduğu gözlenmişse de, Ergenekon çeşidinde 2 aylık bitkiler genel olarak bakıldığında daha başarılı olmuşlardır. Genç bitkilerin başarılı olduğu açıkça görülmektedir.

Çizelge 4.19. Yaz dönemi denemelerinde Bafra çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar

Tomurcuk alma dönemi		Anter sayısı (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (adet)		Oluşan embriyo (adet)		Oluşan bitki (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (%)		Oluşan embriyo (%)		Oluşan bitki (%)	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Mayıs	1A	100	100	29	0	1	1	0	1	28,71	0,00	1,00	1,00	0,00	100,0
Haziran	1A	104	94	3	0	0	0	0	0	2,88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	104	97	11	0	0	0	0	0	10,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Temmuz	1A	108	100	9	0	0	4	0	2	8,33	0,00	0,00	4,00	0,00	50,0
	2A	106	85	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	101	100	0	0	0	2	0	0	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00
Ağustos	1A	59	108	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	50	103	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	79	101	2	0	3	0	0	0	2,53	0,00	3,80	0,00	0,00	0,00
	4A	101	88	9	0	2	0	0	0	8,91	0,00	1,98	0,00	0,00	0,00
Eylül	1A	100	98	13	0	4	0	0	0	13,00	0,00	4,00	0,00	0,00	0,00
	2A	105	80	5	0	0	0	0	0	4,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	102	99	3	0	0	0	0	0	2,94	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	104	102	2	0	2	0	0	0	1,92	0,00	1,92	0,00	0,00	0,00
	5A	106	93	0	0	1	0	0	0	0,00	0,00	0,94	0,00	0,00	0,00
Ekim	1A	92	63	0	28	0	0	0	0	0,00	44,44	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	98	82	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	104	74	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	107	102	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	106	75	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	6A	86	96	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

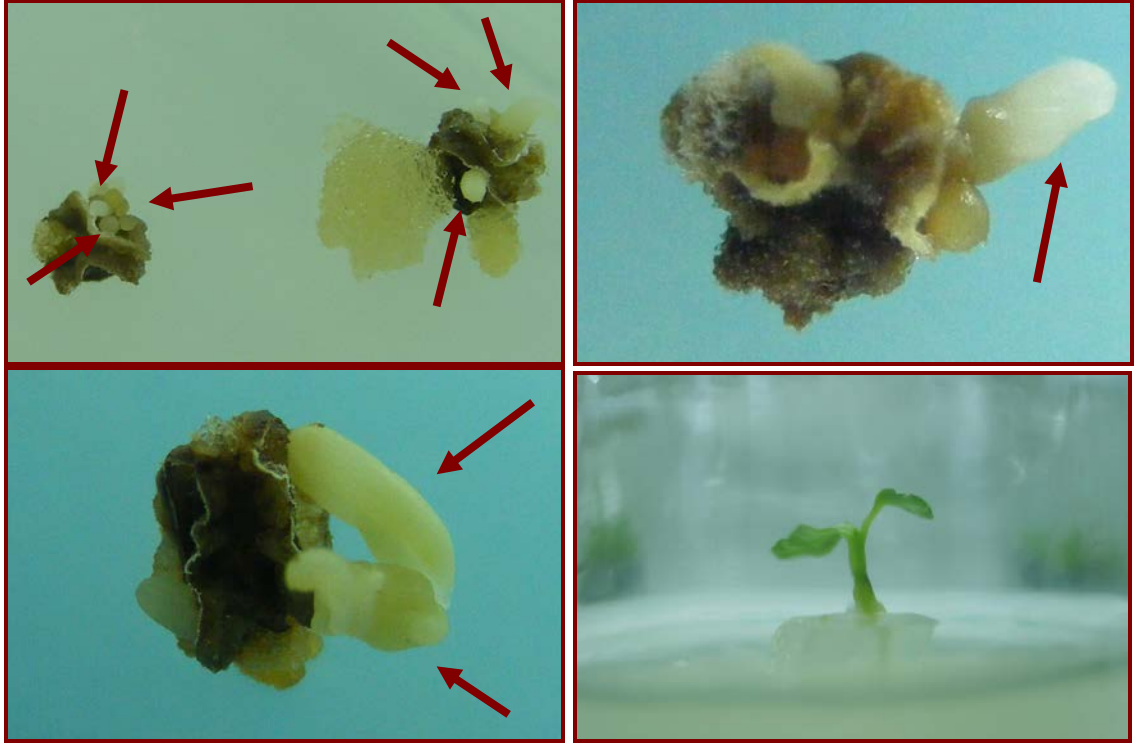
1A: 1 aylık, 2A: 2 aylık, 3A: 3 aylık, 4A:4 aylık, 5A: 5 aylık, 6A: 6 aylık bitkiler; I: ilk yıl, II: ikinci yıl verileri

Denemenin ilk yılında Bafra sivri tip biber çeşidinin anter kültürüne verdiği sonuçlar incelendiğinde en yüksek embriyo oluşumu 1 aylık bitkilerden %4,0 oranı ile Eylül ayında gerçekleşmiştir. 1 aylık bitkiler yine Mayıs ayında %1,0 ile embriyo oluşumu gerçekleştirmişlerdir. Ağustos ayında 3 aylık bitkiler %3,80 oranında ve 4 aylık bitkilerde %1,98 oranında embriyo oluşturmuşlardır (Çizelge 4.19). Embriyo oluşum oranı bakımından genç bitkilerin başarılı olduğu görülmektedir. Şekil 4.39'da denemenin ilk yılında Bafra çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar yer almaktadır.

Denemenin ikinci yılında Temmuz ayında 1 aylık bitkilerden elde edilen sonuçlar yine en yüksek (%4,0) olmuştur. Ayrıca yine Temmuz ayında 3 aylık bitkilerden) ve Mayıs ayında 1 aylık bitkilerden de sırasıyla %2,0 ve %1,0 oranında embriyo eldesi sağlanmıştır. Mayıs ayından elde edilen embriyolardan %100, Temmuz ayında elde edilen embriyolardan ise %50,0 oranında bitkiye dönüşüm gözlenmiştir (Çizelge 4.19). Şekil 4.40'da denemenin ikinci yılında Bafra çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar ve embriyolardan gelişen bitkiciklerden görünüşler yer almaktadır.



Şekil 4.39. Yaz dönemi denemelerinin ilk yılında Bafra çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (10x3)



Şekil 4.40. Yaz dönemi denemelerinin ikinci yılında Bafra çeşidine ait anterlerden oluşan embriyolar (a), (b), (c) (10x2) ve embriyodan gelişen bir bitkicik (d)

Çizelge 4.20. Yaz dönemi denemelerinde Delta çeşidinin kültüre verdiği yanıtlar

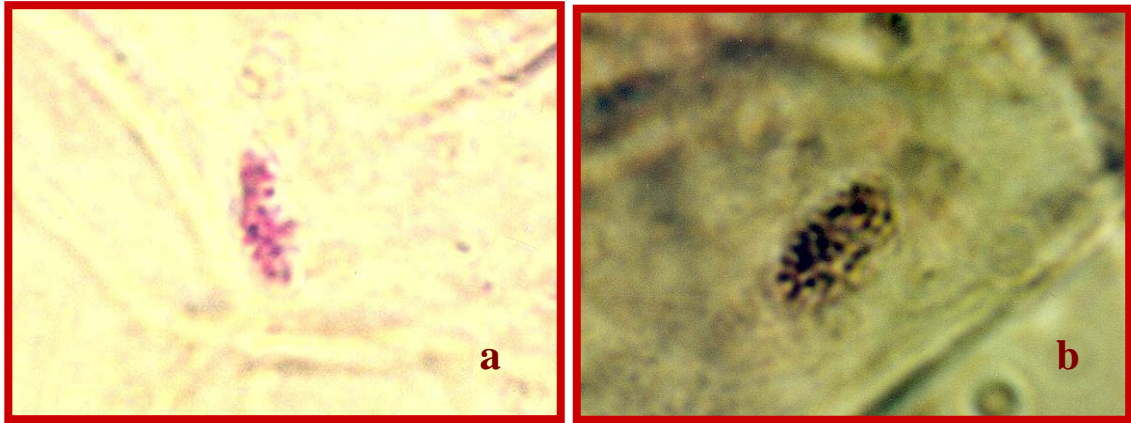
Tomurcuk alma dönemi		Anter sayısı (adet)		Kallus oluşt. anter sayısı (adet)		Oluşan embriyo (adet)		Oluşan bitki (adet)		Kallus oluşturan anter sayısı (%)		Oluşan embriyo (%)		Oluşan bitki (%)	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Mayıs	1A	101	102	7	0	0	0	0	0	6,93	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Haziran	1A	99	97	5	0	0	0	0	0	5,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	105	98	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Temmuz	1A	101	103	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	107	100	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	108	14	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ağustos	1A	52	107	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	76	105	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	76	103	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	110	109	1	0	0	0	0	0	0,91	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Eylül	1A	101	84	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	106	98	10	0	0	0	0	0	9,43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	94	95	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	102	106	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	90	106	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ekim	1A	79	97	0	15	0	0	0	0	0,00	15,46	0,00	0,00	0,00	0,00
	2A	101	104	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3A	95	100	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4A	82	82	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5A	91	60	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	6A	103	70	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

1A: 1 aylık, 2A: 2 aylık, 3A: 3 aylık, 4A:4 aylık, 5A: 5 aylık, 6A: 6 aylık bitkiler; I: ilk yıl, II: ikinci yıl verileri

Deneme süresince Delta çeşidinden embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir (Çizelge 4.20). Delta çeşidinde embriyo oluşturmadığı için Bafra çeşidine göre sivri tip biber çeşitlerinin anter kültürüne verdiği yanıtlar değerlendirildiğinde 1 ve 3 aylık bitkilerin yüksek oranlarda embriyo oluşturduğu gözlenmiştir. Genç bitkilerin başarılı olduğu görülmektedir.

Yaz döneminin 2 yıl verilerine ait sonuçlara genel olarak bakıldığında dolmalık tip biber tiplerinin biber anter kültürü yöntemi ile embriyo eldesinde ki başarısı açıkça görülmektedir. Bu başarıda yetiştiricilik sırasında sıcaklıklar da bitki gelişimi ve fizyolojisi bakımından etkilidir.

Yapılan kromozom sayımları sonucunda embriyodan gelişen bitkiciklerin haploid olduğu kromozom sayımlarında 12 kromozoma sahip oldukları belirlenmiştir. Tek düzlemde kromozomları görüntülemek mümkün olmamış, fakat mikroskopta mikro ayarlar yapıldığında 12 adet kromozom sayılmıştır. Şekil 4.41'de haploid ve diploid bitkiciklerin kök ucu kromozom sayımı yöntemi ile belirlenen hücre ve içerisindeki kromozomları görülmektedir.



Şekil 4.41 a; Haploid (12) ve b; diploid (24) sayıdaki biber kromozomları (10x100)

4.2.3. Biberde anter kültürü yöntemi ile haploid embriyo ve bitki oluşumu üzerine mevsimin etkisi

Donör bitkilerin yetiştirme koşulları ve iklim şartları anter kültüründe başarıyı etkileyen birçok faktörden bir tanesidir. Yapılan çalışmalar donör bitkilerin serada ya da açıkta yetiştirilmesinin anter kültüründe başarıyı etkilediğini göstermektedir. Tiainen (1992) patatestte yaptığı çalışmasında, yıl boyunca yetiştirdiği bitkilerin düzenli aralıklarla kültüre alındığında mevsimsel farklılığın anter kültürüne yanıtı önemli ölçüde etkilediğini söylemektedir. Buğday genotiplerinde çalışan Ouyang vd (1987), Lu vd (1991) ile Doğramacı vd (2001) tarlada yetiştirilen donör bitkilerin kültüre, serada yetiştirilenlerden çok daha iyi yanıt verdiği belirtirken, Björnstad vd (1988), bitkileri açık tarlada yetiştirdiklerinde en kötü sonuçları aldıklarını, aynı genotipleri serada yetiştirdiklerinde çok daha iyi sonuçlar elde ettiklerini bildirmişler. Karakullukçu ve Abak (1992) patlıcanda donör bitkilerin yetiştirilme koşullarının anter kültürü üzerinde etkili olduğunu, kısa gün ve düşük sıcaklık koşullarında yetiştirilen bitkilerden alınan anterlerin gelişme oranlarını yaz periyodunda yetiştirilenden daha düşük bulduklarını ve embriyo elde edemediklerini saptamışlardır.

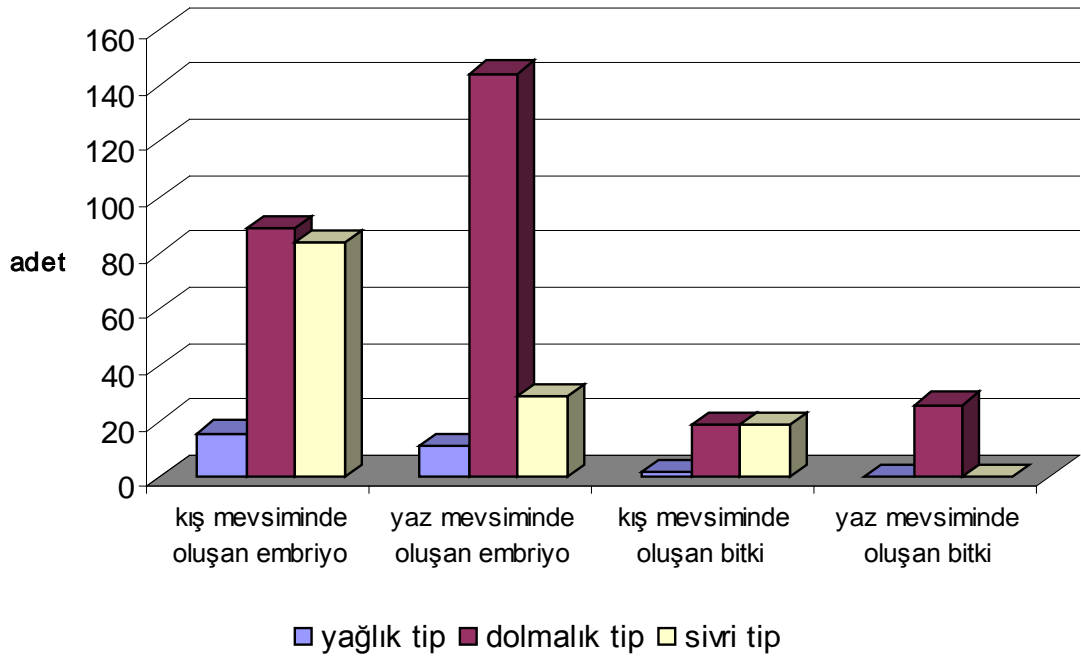
Deneme sonuçları kış ve yaz mevsimine göre değerlendirildiğinde birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Kış mevsiminde çeşit farkı gözetmeksizin toplamda 189, yaz mevsiminde 175 adet embriyo oluşmuştur. Benzer sonuçların alınması mevsime uygun çeşitlerle çalışmanın önemini bir kez daha vurgulamıştır. Elde edilen veriler her mevsim için belirlenen çeşitlerle çalışılmasının başarıyı olumlu yönde etkilediğini göstermiştir. Bu saptama diğer araştırmacılarla uyum içerisindedir (Büyükalaca vd, 2004; Ercan vd, 2006). Embriyoların kış mevsiminde 40 tanesi bitkicik oluştururken, yaz mevsiminde 26 tanesi bitkicik oluşturmuştur (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Mevsimlere göre çeşitlere bakılmaksızın biber bitkilerinin kültüre verdikleri yanıtlar

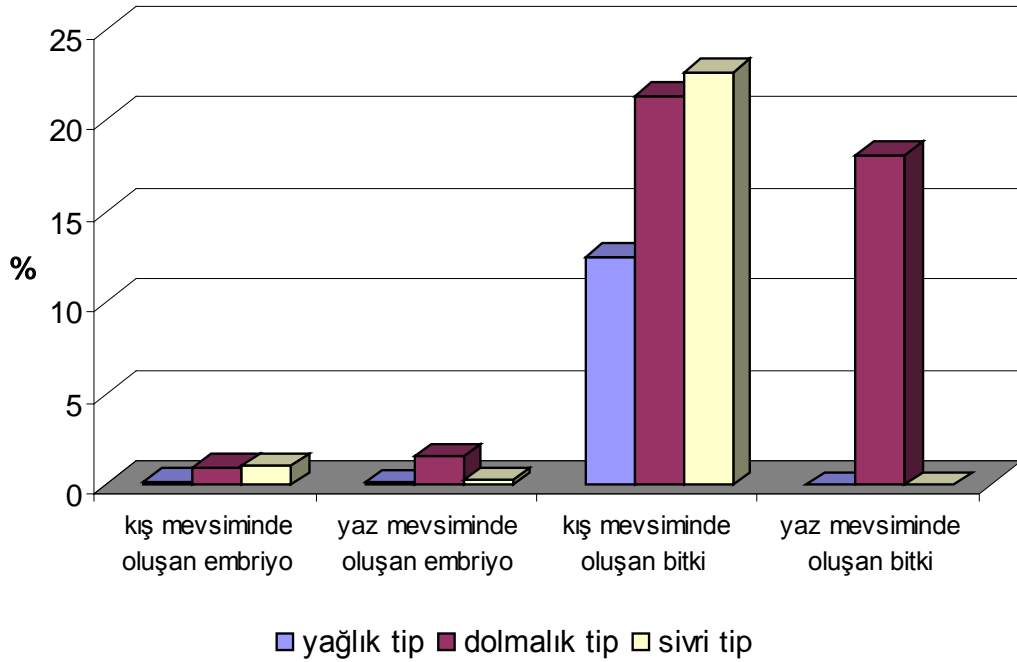
Mevsim	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Kış	27236	189	40	0,69	21,16
Yaz	25731	175	26	0,68	14,86

Kış ve yaz mevsiminde embriyo oluşum oranları sırasıyla %0,69 ve %0,68 gibi birbirine çok yakın olmakla beraber, tipler bakımından incelendiğinde farklı saptamalar yapmak mümkündür. Bu dönemde dolmalık ve sivri tip biberlerin oluşan embriyo sayıları sırasıyla 89 ve 84 adet olmuştur. Yaz döneminde ise dolmalık tip biberlerin (144 adet) sivri tip biberlerden (20 adet) 7 kat fazla embriyo oluşturduğu belirlenmiştir. Tipler bazında incelenen yanıtlar dolmalık biberlerin her iki mevsimde de en yüksek sonuçları verdiğini göstermektedir. Dolmalık tip biber çeşitleri kış mevsiminde %0,92 oranında embriyo oluştururken, yaz mevsiminde %1,53 oranında embriyo oluşturmuştur. Yaz mevsiminde kış mevsimi değerlerinin neredeyse iki katı oranında değerler gösteren dolmalık tipte yaz mevsiminin embriyo oluşumunda etkin olduğu açıktır. Aynı şekilde Chambonnet (1988), donör bitki yetiştirme koşulları için biber bitkisinde açıkta yetiştiriciliğinin, sera yetiştiriciliğine oranla daha olumlu sonuçlar verdiğini, Vagera (1990) biberde, vejetasyon periyodu içerisinde tarla koşullarında yetiştirilen sağlıklı verici bitkilerden anter kültüründe çok iyi sonuçlar alındığını belirtmektedirler.

Sivri tip biberler kışın %1,01 oranında embriyo oluşum oranı verirken, yazın bu değer %0,25'e kadar düşmüştür. Sivri tip biberlerde kışın serada yetiştirmenin daha iyi sonuçlar verdiği görülmektedir. Bu durum serada yetiştirilen biber bitkilerden alınan tomurcuklarda embriyo uyartımının açıkta yetiştirilenlere göre çok daha yüksek belirten Büyükalaca vd., (2004) ile uyum içerisindedir. Ayrıca Ercan vd (2006), sivri tip biberleri kullandıkları çalışmalarında yaz mevsiminde Kekova çeşidinin %4,97, Sera-Demre 8 çeşidinin %1,49 oranında embriyo oluşturduğunu, kış mevsiminde ise Sera-Demre 8 çeşidinin %4,26, Kekova çeşidinin de %2,69 oranında embriyo oluşturduğunu saptamışlardır. Donör bitkilerin yaz ve kış mevsimlerinde farklı sonuçlar verdiklerini ve her mevsim için uygun çeşitlerle çalışılmasının anter kültüründe başarıyı arttıracığını belirtmektedirler. Yağlık tip biberlerden yaz döneminde %0,13, kış döneminde %0,17 oranında embriyo oluşumu gözlenmiştir. Kış mevsiminde oluşan embriyoların bitkiye dönüşüm oranları yağlık, dolmalık ve sivri tip biberlerde sırasıyla %12,50, %21,35 ve %22,62 olurken, yaz döneminde sadece dolmalık tip biberden oluşan embriyolardan %18,06 oranında bitkiye dönüşüm gözlenmiştir (Şekil 4.42 ve 4.43).



Şekil 4.42 Mevsimlere göre biber tiplerinden oluşan embriyo ve bitki sayısı miktarı (adet)



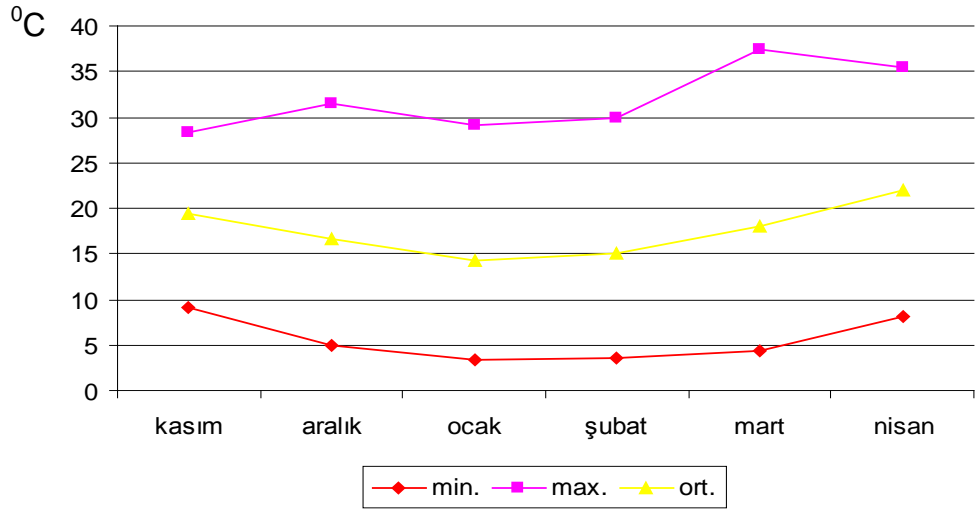
Şekil 4. 43. Mevsimlere göre biber tiplerinden oluşan embriyo ve bitki sayısı miktarı (%)

Dolmalık tip biberde yaz mevsimi kış mevsimine göre yüksek oranda embriyo oluştururken, bitkiye dönüşüm açısından kış mevsimi kadar başarılı olamamıştır. Yağlık ve sivri tip biberlerde ise embriyoların bitkiye dönüşümü gerçekleşmemiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak kışın serada, yazın açıkta mevsime uygun çeşitlerle yapılan çalışmamızda elde edilen veriler incelendiğinde mevsimin etkisi tipler bazında açıkça görülmektedir.

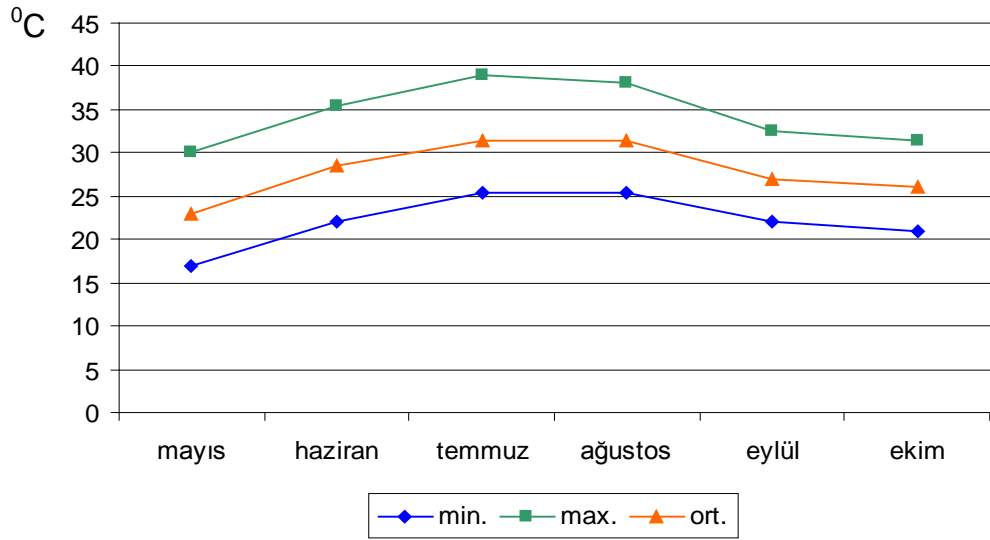
Mikrosporelerden *in vitro* koşullarda haploid embriyo uyartımını başarabilmenin, bu bitkinin yetiştirildiği çevresel koşullara (bitkilerin yetiştirildiği dönemdeki sıcaklık, ışık yoğunluğu ve günlük ışıklanma süresi, bitkinin beslenme koşulları gibi) bağlıdır. Mevsime uygun çeşitlerle çalışılsa da mevsimin anter kültüründe embriyo oluşumu üzerine tek başına etkili olmadığı, tiplerin yetiştirilme sırasında farklı istekleri (sıcaklık, ışıklanma vb.) ile kültür sırasındaki uygulamaların etkisi göz ardı edilmemelidir.

İki yıl tekrarlanan araştırmada yıllar arasında da fark olup, ikinci yıl alınan değerler ilk yıldan düşük olmuştur. Çevresel faktörlerin etkili olduğu burada bir kez daha görülmektedir. Çalışmada embriyo oluşumu üzerine tipler açısından mevsimin etkili olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde Ercan vd (2006), 2 farklı sivri biber çeşidinde yaptıkları çalışmalarında, çeşit x dönem interaksiyonunu istatistiki önemde bulmuşlar, mevsimin anter kültüründe başarıya etkili bir faktör olduğunu belirtmişlerdir.

Kışın serada, yazın açıkta ki sıcaklık değerlerinin minimum, maksimum ve ortalama değerleri Şekil 4.44 ve Şekil 4.45’de yer almaktadır. Kışın düşük sıcaklıklar, yazın yüksek sıcaklıklar bitkide verim ve kalite üzerine etkili faktörlerdir. Sera yetiştiriciliğinin açıkta yetiştiriciliğe oranla daha kontrollü olduğu düşünülse de, soğuk geçen gecelerde ısıtma yapılmadığında ya da bitki kalıcı zarar görmeyecek kadar ısıtma yapıldığında, gece-gündüz sıcaklık farkı bitkide stres yaratmakta ve polen gelişimi üzerine etkili olmaktadır.



Şekil 4.44. Kış dönemi denemelerinin her iki yıldaki sera minimum, maksimum ve ortalama sıcaklık değerlerinin aylık değişimlerinin ortalaması (°C)



Şekil 4.45. Yaz dönemi denemelerinin her iki yıldaki minimum, maksimum ve ortalama sıcaklık değerlerinin aylık değişimlerinin ortalaması (°C)

Gelişen bitkiciklerin kök ucu kromozom sayımı ile haploid oldukları belirlenmiş, fakat dışarıya alıştırılmalarında başarılı olunamamıştır. Mityko ve ark, (1995) çalışmalarında kullandıkları genotiplerden 2 adet kültür çeşidinde elde ettikleri embriyoların hiçbirinin bitkiye dönüşmediğini bildirmişlerdir. Biber anter kültüründe çalışan araştırmacılar oluşan embriyoların düşük oranlarda bitkiye dönüşmesinin önemli bir problem olduğunu kabul etmekte ve bu yönde çalışmaların artmasının gerektiğini söylemektedirler. Bu çalışmada da benzer sonuçlara varılması konunun önemini bir kez daha ortaya koymuştur.

4.2.4. Biberde anter kültürü yöntemi ile haploid embriyo ve bitki oluşumu üzerine yaşın etkisi

Çizelge 4.22. Kış döneminde tüm çeşitlerde 1 aylık bitkilerin kültüre verdiği yanıtlar

Kültüre alınma zamanı	Çeşitler	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Kasım	Alcapi	197	-	-	-	-
	Kappy	194	-	-	-	-
	Balo	212	-	-	-	-
	Punto	168	-	-	-	-
	Kekova	179	6	2	3,35	33,33
	Amazon	195	4	1	2,05	25,00
Aralık	Alcapi	189	3	-	1,59	-
	Kappy	220	-	-	-	-
	Balo	195	13	2	6,67	15,39
	Punto	215	3	-	1,40	-
	Kekova	151	1	-	0,66	-
	Amazon	199	7	2	3,52	28,57
Ocak	Alcapi	212	-	-	-	-
	Kappy	206	-	-	-	-
	Balo	211	1	-	0,47	-
	Punto	214	6	1	2,80	16,67
	Kekova	156	-	-	-	-
	Amazon	193	3	-	1,55	-
Şubat	Alcapi	161	-	-	-	-
	Kappy	229	-	-	-	-
	Balo	244	-	-	-	-
	Punto	240	-	-	-	-
	Kekova	210	-	-	-	-
	Amazon	201	-	-	-	-
Mart	Alcapi	221	-	-	-	-
	Kappy	223	-	-	-	-
	Balo	240	1	1	0,42	100,00
	Punto	238	3	1	1,26	33,33
	Kekova	201	1	-	0,50	-
	Amazon	205	-	-	-	-
Nisan	Alcapi	217	1	-	0,46	-
	Kappy	223	-	-	-	-
	Balo	213	1	-	0,47	-
	Punto	222	-	-	-	-
	Kekova	205	-	-	-	-
	Amazon	201	-	-	-	-

Çalışmada kış ve yaz mevsiminde bitkilerin aylara göre anter kültürüne verdikleri yanıtlar bitki yaşının embriyo oluşumuna direkt etkili faktörlerden olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca bitki yaşı ile beraber tomurcukların kültüre alındığı ayında etkili bir faktör olduğu açıkça görülmektedir. Kış mevsimindeki 1 aylık bitkiler aylara göre değişen değerler göstermiştir (Çizelge 4.22).

Balo dolmalık çeşidi Aralık ayında %6,67 ile en yüksek embriyo oluşum oranı verirken, Şubat ayında yapılan kültürlerde hiçbir çeşitten embriyo elde edilememiştir. 1 aylık yağlık tip biberlerden Aralık ve Nisan aylarında embriyo elde edilmiş, diğer aylar sonuç alınamamıştır. Dolmalık tip biberler ise Kasım ve Şubat ayları dışında her ay embriyo oluşumu gözlenmiştir. 1 aylık sivri tip biberlerde ise Şubat ve Nisan ayları dışındaki aylarda embriyo oluşu saptanmıştır. Çeşitlere bakmaksızın 1 aylık bitkilerin verdikleri yanıtlar Çizelge 4.23’de sunulmuştur.

Çizelge 4.23. Kış döneminde 1 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Kasım	1145	10	3	0,87	30,00
Aralık	1169	27	4	2,31	14,81
Ocak	1192	10	1	0,84	10,00
Şubat	1285	-	-	-	-
Mart	1328	5	5	0,38	100,00
Nisan	1281	2	-	0,16	-

1 aylık bitkilerden anter kültürü ile embriyo oluşum oranları Aralık ayında en yüksek olurken (%2,31) bitki ve tomurcuk gelişiminin soğuk döneme geldiği Şubat ayında embriyo oluşumu gözlenmemiş ve Mart ayında da düşük olmuştur. Antalya ve sera yetiştiriciliği şartları göz önüne alındığında bitkinin istediği sıcaklık ve ışıklanma süresinin yeterince karşılandığı dönemlerde oluşan tomurcukların yanıtlarının daha yüksek olması beklenen bir sonuçtur. Nisan ayı dışında oluşan embriyoların bitkiye dönüşümleri farklı oranlarda gerçekleşmiştir. En düşük embriyo oluşumu görülen Mart ayında bitkiye dönüşüm %100 oranında gerçekleşmiş, en yüksek embriyo oluşum oranı

görülen Aralık ayında ise bitkiye dönüşüm (%14,81) beklendiği kadar yüksek gözlenmemiştir. Buradan embriyo oluşum oranının bitkinin yetiştiği koşullardan etkilendiği, oluşan embriyoların bitkiye dönüşümünde ise kültür şartlarının etkili olacağı sonucu çıkarılabilmektedir. 2 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar Çizelge 4.24'te sunulmuştur.

Çizelge 4.24. Kış döneminde tüm çeşitlerde 2 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Çeşitler	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Aralık	Alcapi	223	1	-	0,45	-
	Kappy	197	-	-	-	-
	Balo	213	-	-	-	-
	Punto	180	2	-	1,11	-
	Kekova	203	9	4	4,43	44,44
	Amazon	203	-	-	-	-
Ocak	Alcapi	228	-	-	-	-
	Kappy	222	-	-	-	-
	Balo	213	13	5	6,10	38,46
	Punto	241	-	-	-	-
	Kekova	185	11	-	5,95	-
	Amazon	201	6	1	2,99	16,67
Şubat	Alcapi	223	1	-	0,45	-
	Kappy	227	-	-	-	-
	Balo	240	2	-	0,83	-
	Punto	236	-	-	-	-
	Kekova	208	-	-	-	-
	Amazon	205	-	-	-	-
Mart	Alcapi	215	-	-	-	-
	Kappy	247	-	-	-	-
	Balo	247	-	-	-	-
	Punto	248	-	-	-	-
	Kekova	197	2	1	1,02	50,00
	Amazon	227	-	-	-	-
Nisan	Alcapi	232	-	-	-	-
	Kappy	156	-	-	-	-
	Balo	225	2	-	0,89	-
	Punto	236	4	-	1,69	-
	Kekova	212	-	-	-	-
	Amazon	198	3	-	1,52	-

2 aylık yağlık bitkilerin kış döneminde Aralık ve Şubat aylarında 1'er olmak üzere toplamda 2 adet embriyo oluşturmuş, bitkiye dönüşümleri ise gerçekleşmemiştir. Dolmalık tip biberler Mart ayı dışında her dönem embriyo oluşturmuşlardır. Ocak ayında Balo çeşidi %6,10 oranı ile 2 aylık bitkiler içinde en yüksek embriyo oluşumu göstermiş, Sivri çeşitler ise Aralık ve Ocak aylarında yüksek oranlar göstermişlerdir.

Çeşitlere bakılmaksızın sonuçlar değerlendirildiğinde 2 aylık bitkiler bütün aylarda embriyo oluşumu göstermişlerdir. Ocak ayında %2,33 ile en yüksek embriyo oluşum oranını vermişlerdir (Çizelge 4.25). Şubat ve Mart ayında oluşan embriyolar bitkiye dönüşmemiştir.

Çizelge 4.25. Kış döneminde 2 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Aralık	1219	12	4	0,98	33,33
Ocak	1290	30	6	2,33	20,00
Şubat	1339	3	-	0,22	-
Mart	1382	2	1	0,15	50,00
Nisan	1268	9	-	0,71	-

3 aylık dolmalık ve sivri tip bitkilerde, 1 ve 2 aylık bitkilerin yanıt vermediği Şubat ayında embriyo oluşumu saptanmıştır. Şubat ayında %3,62 ile Balo ve Ocak ayında %3,47 ile Amazon çeşitleri en yüksek sonuçları vermişlerdir. Dolmalık ve sivri çeşitlerden tüm aylarda, yağlık çeşitler ise Ocak ve Nisan aylarında embriyo edilmiştir. 3 aylık Kappy çeşidinden Nisan ayı dışında embriyo elde edilememesi, 3 aylık Amazon çeşidinin her ay embriyo oluşturması, Kekova çeşidi dışındaki tüm çeşitlerden Nisan ayında embriyo elde edilmesi ulaşılan diğer sonuçlardır (Çizelge 4.26). Çeşitlere bakılmaksızın 3 aylık bitkilerden kültüre alındıkları her ay embriyo elde edilmiş, oluşan embriyolardan bitkiye dönüşüm gerçekleşmiş, embriyo oluşum oranları 1 ve 2 aylık bitkiler kadar yüksek olmasa da aylar arasında belirgin değişiklikler göstermemiştir (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.26. Kış döneminde tüm çeşitlerde 3 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Çeşitler	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Ocak	Alcapi	206	6	-	2,91	-
	Kappy	209	-	-	-	-
	Balo	191	-	-	-	-
	Punto	221	2	-	0,90	-
	Kekova	198	2	-	1,01	-
	Amazon	173	6	1	3,47	16,67
Şubat	Alcapi	216	-	-	-	-
	Kappy	225	-	-	-	-
	Balo	221	8	2	3,62	25,00
	Punto	237	3	-	1,27	-
	Kekova	203	-	-	-	-
	Amazon	202	5	-	2,48	-
Mart	Alcapi	225	-	-	-	-
	Kappy	224	-	-	-	-
	Balo	252	-	-	-	-
	Punto	249	1	-	0,40	-
	Kekova	211	2	1	0,95	50,00
	Amazon	182	3	1	1,65	33,33
Nisan	Alcapi	232	1	1	0,43	100,00
	Kappy	229	2	-	0,87	-
	Balo	242	4	2	1,65	50,00
	Punto	235	3	1	1,28	33,33
	Kekova	205	-	-	-	-
	Amazon	211	7	1	3,32	14,29

Çizelge 4.27. Kış döneminde 3 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Ocak	1198	16	1	1,34	6,25
Şubat	1304	16	2	1,23	12,5
Mart	1243	6	2	0,48	33,33
Nisan	1354	17	4	1,26	23,53

4 aylık bitkilerin sonuçları incelendiğinde, Alcapı ve Kappy yağlık çeşitlerinden embriyo gelişimi olmadığı belirlenmiştir. Genel olarak embriyo oluşum oranlarının diğer aylık bitkilerden daha düşük olduğu gözlenmiştir. Dolmalık tiplerden Punto çeşidi her kültür ayında da embriyo oluşumu gerçekleştirmiş, sivri tiplerden Kekova çeşidi kültüre yanıt vermemiştir En yüksek embriyo oluşum oranını Balo çeşidi %1,72 ile 1 ve 2 aylık bitkilerin hiç embriyo oluşturmadığı Şubat ayında göstermiştir (Çizelge 4.28).

Çizelge 4.28. Kış döneminde tüm çeşitlerde 4 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Çeşitler	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Şubat	Alcapı	211	-	-	-	-
	Kappy	231	-	-	-	-
	Balo	233	4	1	1,72	25,00
	Punto	229	1	1	0,44	100,00
	Kekova	198	-	-	-	-
	Amazon	186	-	-	-	-
Mart	Alcapı	238	-	-	-	-
	Kappy	238	-	-	-	-
	Balo	240	-	-	-	-
	Punto	231	2	-	0,87	-
	Kekova	205	-	-	-	-
	Amazon	209	1	-	-	-
Nisan	Alcapı	225	-	-	-	-
	Kappy	225	-	-	-	-
	Balo	249	3	-	1,20	-
	Punto	253	1	-	0,40	-
	Kekova	207	-	-	-	-
	Amazon	201	2	2	-	100,00

4 aylık bitkiler düşük oranlarda da olsa her kültür ayında da embriyo oluşumu gözlenmiş, Mart ayında oluşan embriyolardan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. Nisan ayında %0,44 ile en yüksek embriyo oluşumu elde edilmiştir. (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.29. Kış döneminde 4 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Şubat	1288	5	2	0,39	40,00
Mart	1361	3	-	0,22	-
Nisan	1360	6	2	0,44	33,33

5 aylık bitkiler de embriyo oluşum oranları düşük olmakla beraber yine dolmalık tiplerin kültüre verdikleri yanıtlar bakımından diğerlerinden daha etkili olduğu görülmektedir. Dolmalık tipler tüm kültür aylarında embriyo oluştururken, yağlık tiplerden Alcapı Mart ayında embriyo oluşturmuştur. Sivri tiplerden sadece Amazon çeşidinden embriyo elde edilmiş, çeşit Nisan ayında %1,45 ile en yüksek embriyo oluşum oranını göstermiştir (Çizelge 4.30). Çizelge 4.31’de çeşitlere bakılmaksızın 5 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar yer almaktadır.

Çizelge 4.30. Kış döneminde tüm çeşitlerde 5 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Çeşitler	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Mart	Alcapı	227	1	-	0,44	-
	Kappy	211	-	-	-	-
	Balo	237	-	-	-	-
	Punto	238	1	-	0,42	-
	Kekova	202	-	-	-	-
	Amazon	202	-	-	-	-
Nisan	Alcapı	230	-	-	-	-
	Kappy	232	-	-	-	-
	Balo	256	1	-	0,39	-
	Punto	248	1	1	0,40	100,00
	Kekova	200	-	-	-	-
	Amazon	207	3	2	1,45	66,67

Çizelge 4.31. Kış döneminde 5 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Mart	1317	2	-	0,15	-
Nisan	1383	5	3	0,36	60,00

6 aylık sivri tip çeşitlerden embriyo elde edilememiş, Punto %1,19 oranında embriyo oluşumu göstermiştir (Çizelge 4.32 ve Çizelge 4.33).

Çizelge 4.32. Kış döneminde tüm çeşitlerde 6 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Çeşitler	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Nisan	Alcapi	236	1	1	0,42	100,00
	Kappy	233	-	-	-	-
	Balo	266	1	-	0,38	-
	Punto	252	3	1	1,19	33,33
	Kekova	206	-	-	-	-
	Amazon	210	-	-	-	-

Çizelge 4.33. Kış döneminde 6 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Nisan	1403	5	2	0,36	40,00

Çiçeklenme periyodunun başlangıcında genç bitkilerden alınan anterlerin büyüme periyodunun daha geç dönemlerinde alınan anterlerden daha olumlu sonuçlar verdiği genel bir kabul olarak bildirilmekte (Bajaj 1990, Powel 1990) yapılan çalışmanın sonuçları bu kabul ile uyum içerisindedir. Ercan vd (2006) ise, sivri tip biberlerdeki çalışmalarında mevsime göre yaşlı bitkilerin genç bitkiler kadar iyi sonuçlar verebileceğini belirlemişler, uygun mikrospor aşamasında polen içeren anterlerle çalışıldığında yaşlı bitkilerinde genç bitkiler kadar başarılı olabileceğini

bildirmektedirler. Çalışmamızda genç bitkilerden daha yüksek oranlarda embriyo elde edilmiştir. Fakat kış dönemi denemelerinde bazı aylarda yaşlı bitkilerden de olumlu yanıtlar alınması durumu Ercan vd (2006) ile uyum içindedir. Ayrıca Chambonnet (1988) patlıcanda, Takahata (1991) hardalda yaşlı bitkilerin genç bitkilere kıyasla daha iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Sayılır (2002) ise kışın serada yetiştirdikleri bitkilerden hiçbir sonuç alamadıklarını belirtmektedir.

Ocak, Şubat gibi düşük ışıklanmanın olduğu, soğuk geçen aylarda genç bitkilerin beklenen başarıyı gösterememiş olması, tomurcukların ve haploid embriyo oluşturacak içerisindeki mikrosporların oluşma aşamasının sert iklim koşullarına denk gelmesinden kaynaklanacağı düşünülmektedir (Şekil 4.44). Yetiştiricilik sırasında genel olarak ortalama sıcaklık çok düşük olmasa da, minimum sıcaklıkların en düşük değerlerde olduğu aylar Ocak ve Şubat ayları olmuştur. Kışın düşük sıcaklıklar, yazın yüksek sıcaklıklar biberde bitki gelişiminde ve özellikle polen gelişimi ile canlılığı üzerine direkt etkili faktörlerdir. Bitkinin fizyolojik gelişme durumunun anter kültürüne verdiği yanıtlarda etkili olduğu açıktır. Belirli bir büyüme evresini geçirmiş yaşlı bitkilerin daha başarılı olduğu görülmekte, bu durum ise genç bitkilerin soğuk hava şartları gibi stres koşullarından etkilendiği ve belirli bir büyüme aşamasını geçirmiş bitkilerin sert koşullardan daha az etkilenmesi ile açıklanabilir.

Yaz döneminde 1 aylık bitkilerin kültüre verdiği yanıtlar Çizelge 4.34'de sunulmuştur. 1 aylık bitkiler Mayıs ayında yüksek oranlarda embriyo oluşum oranları oluşturmuşlar, dolmalık çeşitler Ergenekon ve Punto sırasıyla %15,45 ve %14,48 oranları ile en yüksek embriyo oluşum oranları göstermişlerdir. Haziran ayında sadece T-304 çeşidinden embriyo elde edilmiş, diğer çeşitlerden yanıt alınamamıştır. Yaz döneminde dolmalık tipler Punto ve özellikler Ergenekon çeşitlerinin 1 aylık bitkileri embriyo eldesi bakımından başarılı olmuşlardır. Elde edilen embriyoların bitki oluşturma oranları ise aylara göre değişiklik göstermiştir. Yağlık tipler Atris ve T-304 çeşitlerinden Temmuz, Ağustos aylarında embriyo oluşumu gözlenmemiştir.

Çizelge 4.34. Yaz döneminde tüm çeşitlerde 1 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Çeşitler	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Mayıs	T-304	212	-	-	-	-
	Atris	218	1	-	0,46	-
	Ergenekon	233	36	6	15,45	16,67
	Punto	221	32	2	14,48	6,25
	Bafra	200	2	1	1,00	50,00
	Delta	203	-	-	-	-
Haziran	T-304	219	1	-	0,46	-
	Atris	221	-	-	-	-
	Ergenekon	236	-	-	-	-
	Punto	214	-	-	-	-
	Bafra	198	-	-	-	-
	Delta	196	-	-	-	-
Temmuz	T-304	221	-	-	-	-
	Atris	223	-	-	-	-
	Ergenekon	223	2	1	0,90	50,00
	Punto	223	-	-	-	-
	Bafra	208	4	2	1,92	50,00
	Delta	204	-	-	-	-
Ağustos	T-304	222	-	-	-	-
	Atris	182	-	-	-	-
	Ergenekon	210	1	-	0,48	-
	Punto	234	2	2	0,85	100,00
	Bafra	167	-	-	-	-
	Delta	159	-	-	-	-
Eylül	T-304	196	-	-	-	-
	Atris	202	-	-	-	-
	Ergenekon	228	4	1	1,75	25,00
	Punto	217	-	-	-	-
	Bafra	198	4	-	2,02	-
	Delta	185	-	-	-	-
Ekim	T-304	160	1	-	0,63	-
	Atris	140	1	-	0,71	-
	Ergenekon	194	6	1	3,09	16,67
	Punto	219	-	-	-	-
	Bafra	155	-	-	-	-
	Delta	176	-	-	-	-

Çeşitlere bakmaksızın 1 aylık bitkilerin kültüre alınma aylarında verdikleri yanıtlar incelendiğinde, %5,52 oranı ile Mayıs ayında en yüksek oranda embriyo oluşumu saptanmıştır. 1 aylık bitkilerden elde edilen toplam 94 embriyonun 71 tanesinin bu ay içerisinde oluşması, açıkta yetiştiricilikte 1 aylık bitkilerle çalışıldığında Mayıs ayının anter kültüründe başarıyı arttırıcı etkisini açıkça göstermektedir. Diğer aylarda da embriyo oluşumu gözlenmiş en düşük Haziran ayında %0,08 oranında embriyo oluşum oranı elde edilmiştir. Haziran ayında elde edilen 1 adet embriyo dışında diğer aylarda oluşan embriyolardan değişik oranlarda bitkiye dönüşüm belirlenmiştir (Çizelge 4.35).

Çizelge 4.35. Yaz döneminde 1 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Mayıs	1287	71	9	5,52	12,68
Haziran	1284	1	-	0,08	-
Temmuz	1288	6	3	0,47	50,00
Ağustos	1174	3	2	0,26	66,67
Eylül	1226	5	1	0,41	20,00
Ekim	1044	8	1	0,77	12,50

Yağlık tiplerin 2 aylık bitkileri çalışmada sadece Eylül ayında (Atris çeşidi 1 adet) embriyo oluşturmuştur. Ergenekon çeşidi Haziran ve Eylül aylarında sırasıyla %3,29 ve %2,86 ile en yüksek embriyo oluşum oranlarını göstermiştir (Çizelge 4.36). Ekim ayında hiçbir çeşit embriyo oluşum ve bitki oluşumu kriterleri bakımından anter kültürüne yanıt vermemiştir. Bafra ve Delta çeşitlerinde ise 2 aylık bitkilerde embriyo oluşumu gözlenmemiştir.

Tiplere ve çeşitlere bakılmaksızın alınan sonuçlar 2 aylık bitkilerden Ekim ayı dışında ki diğer kültür aylarında embriyo elde edildiğini göstermektedir. Değerlerin kültüre alma ayına göre değiştiği, en yüksek embriyo oluşum oranının %0,81 oranı ile Eylül ayında, en düşük embriyo oluşum %0,08 oranı ile Temmuz ayında gözlendiği belirlenmiştir (Çizelge 4.37).

Çizelge 4.36. Yaz döneminde tüm çeşitlerde 2 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Çeşitler	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Haziran	T-304	232	-	-	-	-
	Atris	216	-	-	-	-
	Ergenekon	243	8	-	3,29	-
	Punto	243	1	1	0,41	100,00
	Bafra	201	-	-	-	-
	Delta	203	-	-	-	-
Temmuz	T-304	224	-	-	-	-
	Atris	219	-	-	-	-
	Ergenekon	231	1	1	0,43	100,00
	Punto	240	-	-	-	-
	Bafra	191	-	-	-	-
	Delta	207	-	-	-	-
Ağustos	T-304	178	-	-	-	-
	Atris	232	-	-	-	-
	Ergenekon	233	3	2	1,29	66,67
	Punto	226	-	-	-	-
	Bafra	153	-	-	-	-
	Delta	181	-	-	-	-
Eylül	T-304	198	-	-	-	-
	Atris	210	1	-	0,48	-
	Ergenekon	245	7	2	2,86	28,57
	Punto	198	2	-	1,01	-
	Bafra	185	-	-	-	-
	Delta	204	-	-	-	-
Ekim	T-304	177	-	-	-	-
	Atris	188	-	-	-	-
	Ergenekon	174	-	-	-	-
	Punto	223	-	-	-	-
	Bafra	180	-	-	-	-
	Delta	205	-	-	-	-

Çizelge 4.37. Yaz döneminde 2 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Haziran	1338	9	1	0,67	11,11
Temmuz	1312	1	1	0,08	100,00
Ağustos	1203	3	2	0,25	66,67
Eylül	1240	10	2	0,81	20,00
Ekim	1147	-	-	-	-

Çeşitlere ve tiplere bakılmaksızın 3 aylık bitkilerin aylara göre anter kültürüne verdikleri yanıtlar, Eylül ve Ekim aylarında embriyo eldesi gerçekleşmediğini göstermektedir. Temmuz ve Ağustos aylarında da birbirine yakın oranlarda embriyo oluşumu gözlenmiştir (Çizelge 4.38).

Çizelge 4.38. Yaz döneminde 3 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Temmuz	1352	8	1	0,59	12,50
Ağustos	1307	10	2	0,77	20,00
Eylül	1066	-	-	-	-
Ekim	1144	-	-	-	-

3 aylık bitkilerin Eylül ve Ekim aylarındaki kültür sonuçlarında embriyo oluşumu gözlenmemiştir. En yüksek embriyo oluşumu Ağustos ayında %2,07 ile Ergenekon çeşidinden gerçekleşmiştir. Temmuz ayında Punto, Ağustos ayında Bafra çeşitleri birbirlerine yakın oranlarda embriyo oluşumu göstermişlerdir. T-304 ve Atris çeşitlerinin 3 aylık bitkileri kültürün hiçbir ayında embriyo oluşturmamışlardır. Çizelge 4.39'da yaz döneminde 3 aylık bitkilerin aylara göre anter kültürüne verdikleri yanıtlar yer almaktadır.

Çizelge 4.39. Yaz döneminde tüm çeşitlerde 3 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Çeşitler	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Temmuz	T-304	224	-	-	-	-
	Atris	232	-	-	-	-
	Ergenekon	240	2	-	0,83	-
	Punto	243	4	1	1,65	25,00
	Bafra	201	2	-	1,00	-
	Delta	212	-	-	-	-
Ağustos	T-304	233	-	-	-	-
	Atris	233	-	-	-	-
	Ergenekon	241	5	1	2,07	20,00
	Punto	241	2	1	0,83	50,00
	Bafra	180	3	-	1,67	-
	Delta	179	-	-	-	-
Eylül	T-304	135	-	-	-	-
	Atris	108	-	-	-	-
	Ergenekon	250	-	-	-	-
	Punto	173	-	-	-	-
	Bafra	201	-	-	-	-
	Delta	189	-	-	-	-
Ekim	T-304	178	-	-	-	-
	Atris	180	-	-	-	-
	Ergenekon	192	-	-	-	-
	Punto	221	-	-	-	-
	Bafra	178	-	-	-	-
	Delta	195	-	-	-	-

4 aylık bitkilerde Ağustos ayı embriyo oluşumu bakımından en verimli ay olmuş, bu ayda Ergenekon çeşidi %4,07 ile en yüksek sonucu göstermiştir. Ekim ayında sadece Punto çeşidinden embriyo oluşumu gözlenmiş ve %3,11 ile en yüksek ikinci değeri oluşturmuştur. Eylül ayında Atris çeşidi %2,38 ile 4 aylık bitkilerin verdiği yanıtlar içerisinde yüksek sayılabilecek bir embriyo oluşum oranı vermiştir (Çizelge 4.40).

Çizelge 4.40. Yaz döneminde tüm çeşitlerde 4 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Çeşitler	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Ağustos	T-304	230	1	-	0,43	-
	Atris	235	-	-	-	-
	Ergenekon	246	10	2	4,07	20,00
	Punto	228	1	-	0,44	-
	Bafra	189	2	-	1,06	-
	Delta	219	-	-	-	-
Eylül	T-304	205	-	-	-	-
	Atris	210	5	-	2,38	-
	Ergenekon	243	5	1	2,06	-
	Punto	201	-	-	-	-
	Bafra	206	2	-	0,97	-
	Delta	208	-	-	-	-
Ekim	T-304	177	-	-	-	-
	Atris	187	-	-	-	-
	Ergenekon	219	-	-	-	-
	Punto	225	7	1	3,11	14,29
	Bafra	209	-	-	-	-
	Delta	164	-	-	-	-

Çeşitlere bakılmaksızın verdikleri yanıtlarda her kültür ayında da embriyo oluşumu gösteren 4 aylık biber bitkileri Ağustos ayında %1,04 ile en yüksek embriyo oluşum oranını vermiştir (Çizelge 4.41).

Çizelge 4.41. Yaz döneminde 4 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Ağustos	1347	14	2	1,04	14,29
Eylül	1273	12	1	0,94	8,33
Ekim	1181	7	1	0,59	14,29

5 aylık bitkilerde embriyo oluşumu sadece Eylül ayında gözlenmiş, oluşan embriyoların bitkiye dönüşümü ise gerçekleşmemiştir. Ergenekon çeşidi %1,20 oranında, Bafra çeşidi %0,50 oranında embriyo oluşumu göstermiştir (Çizelge 4.42). Sadece Eylül ayında yanıt alınan 5 aylık bitkilerde çeşit gözetmeksizin yapılan değerlendirmede %0,33 oranında embriyo oluşumu elde edildiği belirlenmiştir (Çizelge 4.43).

Çizelge 4.42. Yaz döneminde tüm çeşitlerde 5 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Çeşitler	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Eylül	T-304	213	-	-	-	-
	Atris	187	-	-	-	-
	Ergenekon	251	3	-	1,20	-
	Punto	251	-	-	-	-
	Bafra	199	1	-	0,50	-
	Delta	196	-	-	-	-
Ekim	T-304	215	-	-	-	-
	Atris	202	-	-	-	-
	Ergenekon	217	-	-	-	-
	Punto	202	-	-	-	-
	Bafra	181	-	-	-	-
	Delta	151	-	-	-	-

Çizelge 4.43. Yaz döneminde 5 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Eylül	1207	4	-	0,33	-
Ekim	1168	-	-	-	-

6 aylık bitkilerden yaz döneminde yapılan kültürlerden sonuç alınmamıştır (Çizelge 4.44 ve Çizelge 4.45).

Çizelge 4.44. Yaz döneminde tüm çeşitlerde 6 aylık bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Çeşit	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Ekim	T-304	174	-	-	-	-
	Atris	197	-	-	-	-
	Ergenekon	232	-	-	-	-
	Punto	181	-	-	-	-
	Bafra	182	-	-	-	-
	Delta	173	-	-	-	-

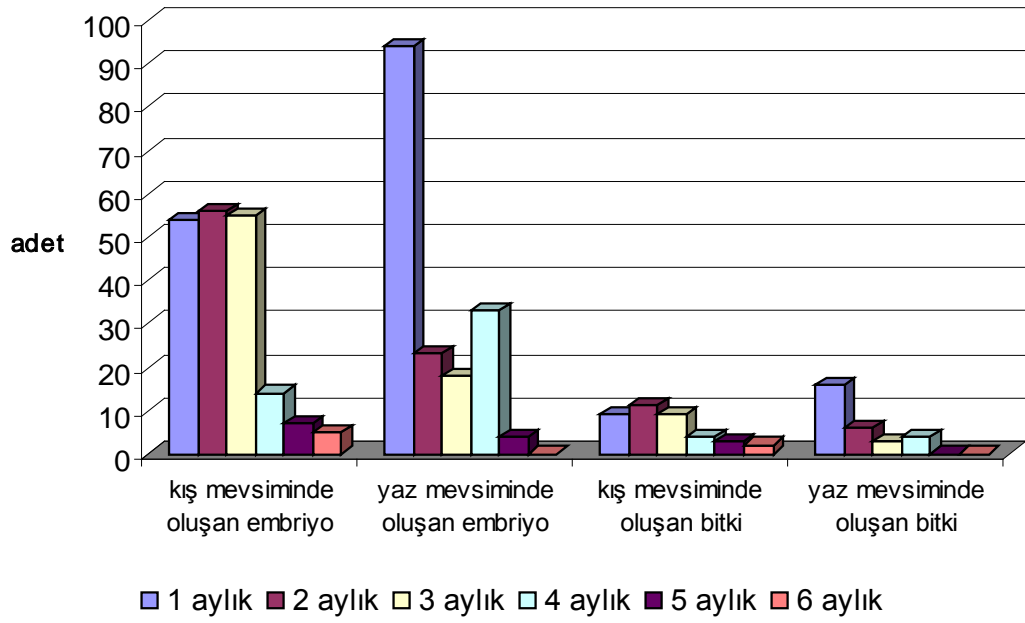
Çizelge 4.45. Yaz döneminde 6 aylık bitkilerin aylara göre kültüre verdikleri yanıtlar

Kültüre alınma zamanı (ay)	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
Ekim	1139	-	-	-	-

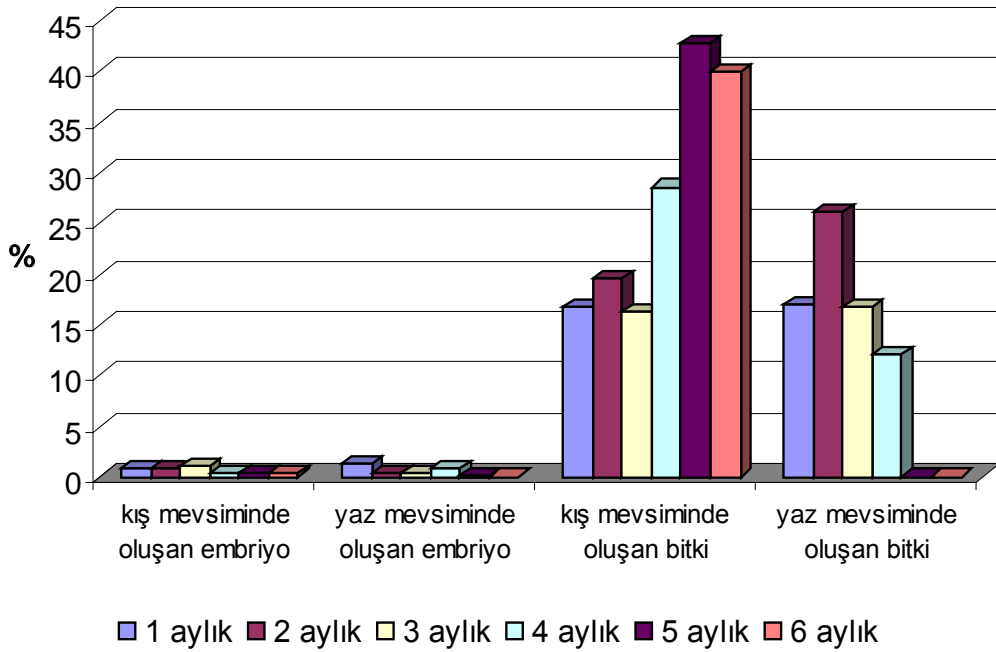
Yaz döneminde bitki yaşı ilerledikçe bitkilerin kültüre verdikleri yanıtlarda aylara bağlı olarak değişmiştir. Yaz ve kış mevsimlerinin birbirinden farklı sonuçlar verdiği bir önceki bölümde ayrıntılı bir şekilde incelenmişti. Yaz ve kış aylarında farklı oranlarda yanıtlar alınsa da kültüre alındıkları aylara göre farklı cevaplar veren genç bitkilerin çalışmanın genelinde embriyo oluşum ve bitkiye dönüşüm bakımından yüksek değerler oluşturduğu belirlenmiştir. Her iki yılın ortalama sıcaklık değerlerine bakıldığında Mayıs ayı değerlerinin biber için gerekli ideal sıcaklıklara sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.45). Bu ayda özellikle 1 aylık bitkilerin yüksek oranda embriyo oluşturmasını açıklamaktadır. Bitki yaşının etkisini birbirine yakın sıcaklıklarda olan Haziran ve Eylül aylarındaki değişik bitki yaşlarının farklı embriyogenik cevapları ile ortaya konulmaktadır. Temmuz, Ağustos aylarında sıcaklıkların yüksek olması bitkileri olumsuz yönde etkilemiş ve bitki yaşı ile beraber bu dönemden sonra oluşan embriyo oluşum oranlarındaki düşüşe etken olmuştur.

Ercan vd (2006), 2 sivri biber çeşidi kullandıkları çalışmalarında, bitki yaşının önemli olduğunu, yaz döneminde 2-3 aylık bitkilerin, kış döneminde de 4 aylık bitkilerin en iyi sonuçları verdiğini bildirmektedirler. Sayılır (2002) ise genotiplerin androgenesis üzerine mutlak etkili olduğunu ve bilinenin aksine genç bitkilerden çok yaşlı bitkilerden başarı elde ettiklerini belirtmektedir. Çeşitlere bakılmaksızın fakat kültüre alma ayları göz ardı edilmeden sonuçlar incelendiğinde en yüksek değerler kış mevsiminde sırasıyla %2,31, %2,22, %1,34, %0,44, %0,36, ve %0,36 olmuştur. Yaz mevsiminde ise %5,52, %0,81, %0,77, %1,04, %33, %0 olmuştur. Bitki yaşı arttıkça embriyo oluşum oranının azaldığı açıktır. Bu sonuçlar Kristiansen ve Andersen (1993)'nin sonuçları ile örtüşmektedir. Araştırmacılar verici bitki yaşının etkisini belirlemek nedeniyle haftalık olarak kültüre aldıkları anterlerden elde edilen sonuçlar doğrultusunda, bitki yaşı ilerledikçe embriyogenesisin azaldığını, genç bitkilerden alınan anterlerden %2-3 oranında embriyo oluştuğunu saptamışlardır. Buna karşın 12-14 haftalık bitkilerden alınan anterlerden ise hiç embriyo oluşmadığını bildirmişlerdir.

Kış döneminde kültüre alma ayına bakılmaksızın 3 aylık bitkiler %1,08 embriyo oluşum oranı ile en yüksek yanıtı vermişlerdir. 1 ve 2 aylık bitkilerin de en yüksek diğer iki değeri vermesi kış döneminde genç bitkilerin yaşlı bitkilerden daha iyi sonuçlar verdiğini göstermektedir. Yaz döneminde ise 1 aylık bitkiler %1,29 embriyo oluşum oranı ile en yüksek sonucu verirken kış döneminden farklı olarak 4 aylık bitkiler, 2 ve 3 aylık bitkilerden daha iyi sonuçlar vermişlerdir (Şekil 4.46 ve Şekil 4.47). Bu sonuçlar ışığında bitkilerin yetiştiği mevsim kadar bitki yaşının ve fizyolojik gelişme dönemlerinde başarıyı etkilediği söylenebilmektedir.



Şekil 4.46. Farklı bitki yaşlarının mevsimlere göre oluşturduğu embriyo ve bitki sayısı (adet)



Şekil 4.47. Farklı bitki yaşlarının mevsimlere göre oluşturduğu embriyo ve bitki oranı (%)

4.2.5. Biberde anter kültürü yöntemi ile haploid embriyo ve bitki oluşumu üzerine genotipin etkisi

Çalışmada her iki mevsim içinde 3 farklı tipte 6'şar çeşit kullanılmıştır. Toplamda 12 çeşitin değerlendirildiği sonuçlar Çizelge 4.46'da sunulmuştur. Dolmalık bir çeşit olan Ergenekon çeşidi %1,95 embriyo oluşum oranı ve elde edilen 93 adet embriyo ile çalışmada en yüksek yanıt alınan genotip olmuştur. İkinci en yüksek embriyo oluşum oranı %1,19 ile sivri tip biberlerden 50 adet embriyo oluşturan Amazon çeşidinden elde edilmiştir. Bunu çalışmadaki diğer 2 dolmalık çeşit Balo (54 adet embriyo) ve Punto (51 adet embriyo) %1,10 embriyo oluşum oranı ile takip etmiştir. 34 adet embriyo oluşturan Kekova'da embriyo oluşum oranı %0,82; 36 adet embriyo oluşturan kış döneminde yetiştirilen Punto'da embriyo oluşum oranı %0,75 olmuş ve diğer genotiplerin verdikleri yanıtlar %0,50-0,04 arasında değişiklik göstermiştir. Çalışmada sadece Delta genotipinden embriyo oluşumu gözlenememiştir.

Çalışmada dolmalık tip biberlerde en yüksek embriyo oluşumu elde edilmesi, sivri biber çeşitlerini de kullandığı çalışmasında sadece dolmalık çeşit olan Yolo Wonder'dan embriyo oluşumu elde ettiğini bildiren Abak (1983b) ile uyum içerisindedir. Sonuçlar yine benzer şekilde en yüksek embriyogenik cevabı 500'den fazla genotiple çalıştıkları çalışmalarında %48,5 ile Macar tipi bir dolmalık çeşitten elde ettiklerini belirten Mityko ve Fari (1997) ile örtüşmektedir. Mityko vd. (1995) başka bir çalışmalarında Feherözön dolmalık biber tipinde en %75,8 ile en yüksek sonuçları elde ettiklerini belirtmişlerdir. Buna karşın Supena ve Custers (2002) ise çalışmalarında acı tip genotiplerin dolmalıklarda daha iyi sonuçlar verdiğini söylemektedirler. Taşkın, 2005 yılında yaptığı çalışmada 3 defa kendilenmiş 5 farklı genotipi kullandığı çalışmasında, 269 numaralı süs tip biberin en yüksek sonuçları, 109 numaralı Kahramanmaraş tipi biberin ise en düşük sonuçları verdiğini bildirmiştir.

Çizelge 4.46. Biber genotiplerinin anter kültürüne verdikleri yanıtlar

Mevsim	Çeşitler	Anter sayısı (adet)	Oluşan embriyo (adet)	Oluşan bitki (adet)	Oluşan embriyo (%)	Oluşan bitki (%)
K I Ş	Alcapi	4561	14	2	0,30	14,29
	Kappy	4601	2	-	0,04	-
	Balo	4880	54	13	1,10	24,07
	Punto	4831	36	6	0,75	16,67
	Kekova	4142	34	8	0,82	23,53
	Amazon	4211	50	11	1,19	22,00
Y A Z	T-304	4223	3	-	0,07	-
	Atris	4222	8	-	0,19	-
	Ergenekon	4781	93	18	1,95	19,35
	Punto	4624	51	8	1,10	15,69
	Bafra	3962	20	3	0,50	15,00
	Delta	3919	-	-	-	-

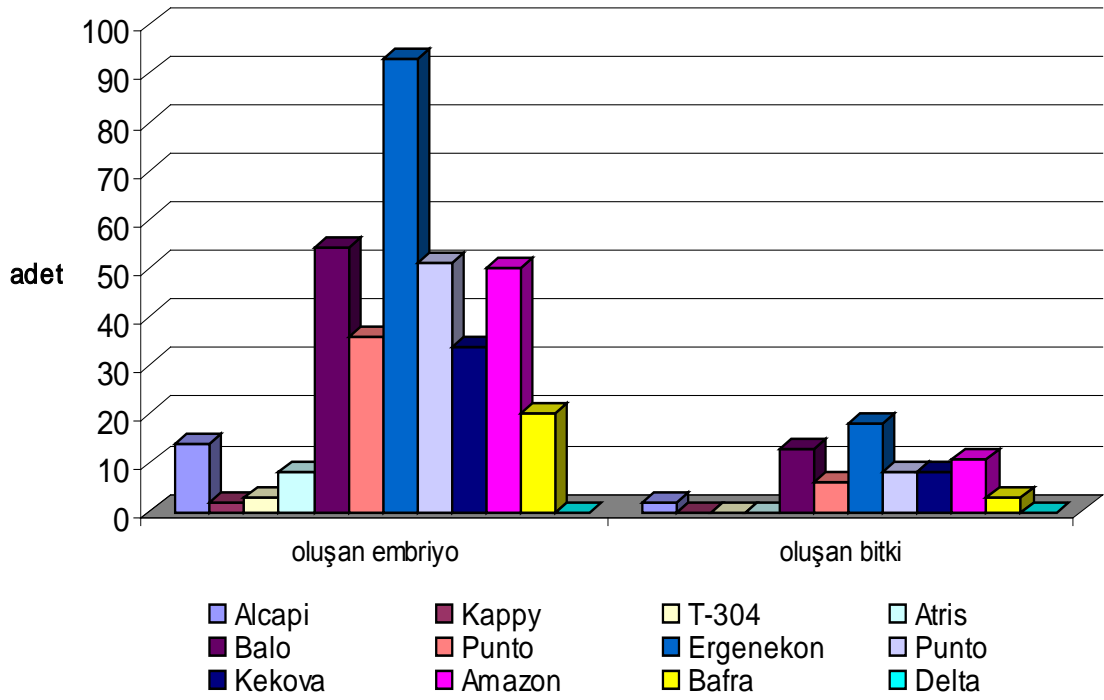
İkinci en yüksek sonuç %1,19 ile sivri tip Amazon çeşitinden alınmıştır. Bu olumlu sonuç Ercan ve Şensoy'un 2011 yılında yayınladıkları 11 farklı genotip kullandıkları çalışmaları ile benzerlik göstermektedir. Araştırmacılar sivri tip biber olan Demre sivrisinden en yüksek (%7,69) sonucu aldıklarını, diğer sivri tip biberlerin yanıtların da %1,30-2,26 arasında değiştiğini söylemektedirler. Sayılır (2002) birçok farklı tip ve çeşitte çalıştığı, Yalova çarliston çeşidinden en yüksek sonucu aldığı çalışmasında kullandığı farklı genotiplerin birçok uygulama yapılarak optimize edilen şartlar altında embriyo oluşturabileceğini belirtmiştir. Yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar gözlenmesi ve geçmişten günümüze genotip çalışmalarının hala devam etmesinin sebebi genotipin anter kültüründe çok etkili bir faktör olmasından kaynaklanmaktadır.

Denemeye başlamadan önce mikrospor aşamalarının incelendiği ve uygun aşamada tomurcukların kültürde kullanıldığı için Delta çeşidinden hiç embriyo elde edilmemesi beklenmeyen bir sonuç olmuştur. Bunun sebebi olarak yanlış dönemde yetiştirilmiş olabileceği, yetiştirilme sırasındaki bitki isteklerinde ya da kültür sırasındaki

uygulamalarda farklılık isteyebileceği düşünülmektedir. Buna benzer bir durumla çalışmalarında karşılaştıkları Ercan ve Şensoy (2011) ise dolmalık tip biber çeşitlerinin bir tanesinden yüksek sonuç alırken, diğerinden hiç sonuç alamadıklarını aynı durumu çarliston tipi biber tipinde de gözlediklerini bildirmektedirler. Aynı şekilde Prayantini (2006), 3 ıslah hattı ve 5 F₁ biber hibrit kombinasyonunu donör bitki olarak kullandığı çalışmada, sadece 3 ıslah hattından embriyo elde ettiklerini belirtmiştir.

Kış döneminde Kappy dışındaki diğer çeşitlerden elde edilen embriyolarda farklı oranlarda da olsa bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir. Yaz döneminde Punto, Ergenekon ve Bafra çeşitleri dışında oluşan embriyolardan bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. Oluşan embriyoların bitkiye dönüşüm oranı en yüksek %24,07 ile Balo çeşidinde olmuştur.

Genotiplerin embriyo ve bitki oluşum değerlerinin adet olarak değişimleri Şekil 4.48'de verilmiştir. Bu grafikte de genotiplerin anter kültürüne verdikleri yanıtların farklılığı açıkça görülebilmektedir.



Şekil 4. 48. Biber genotiplerinin embriyo ve bitki oluşum miktarlarının değişimi (adet)

Çalışmada kullanılan genotipler anter kültürüne farklı büyüklükte farklı yanıtlar vermişlerdir. Alcapı'de 1, 2, 3 ve 6 aylık bitkilerden embriyo oluşumu gerçekleşirken, Kappy'de sadece 3 aylık bitkilerden embriyo oluşumu gerçekleşmiştir. T-304 çeşidi 1 ve 4 aylık bitkilerinden embriyo oluşumu göstermiş diğer aylarda hiç başarı gösterememiştir. Diğer yağlık çeşit olan Atris ise sadece 1 ve 2 aylık bitkilerinden embriyo oluşturmuştur.

Balo her bitki yaşında embriyo oluşumu göstermiş 1 aylık bitkilerde düşük olan ortalama embriyo oranı diğer aylarda yükselmiştir. 4 ve 5 aylık bitkilerde ilk aya göre düşük rakamlarla devam eden embriyo oluşum başarısı 6 aylık bitkilerde biraz yükselse de ilk aylardaki kadar olmamıştır. Ergenekon çeşidi çalışmada en yüksek değerleri veren çeşitlerden olmuştur. İlk ayki yüksek embriyo oluşum oranı aylar ilerledikçe azalmış, 4 aylık bitkilerde biraz yükselmiş sonra azalmaya devam etmiştir. Her iki mevsime de uygun olduğu söylenen ve denemede her iki mevsimde de kullanılan Punto kış mevsiminde yaz mevsimine göre daha düşük embriyo oluşum oranı göstermiştir. Kış mevsiminde 1 ve 3 aylık bitkilerinde yüksek embriyo oluşumu göstermesine rağmen en yüksek değeri 6 aylık bitkilerde göstermiştir. Yaz mevsiminde ise değerler farklı olsa da Ergenekon'a benzer bir değişim grafiği göstermiştir. Ergenekon'dan farklı olarak 5 aylık bitkilerden embriyo oluşumu gözlenmemiştir.

Kekova da embriyo oluşumu ilk 3 ayda görülmüş en yüksek embriyo oluşum oranı 2 aylık bitkilerden alınan anterlerin kültüre alınması ile elde edilmiştir. Amazon çeşidinde 1, 2 ve 3 aylık bitkilerde embriyo oluşum oranı 4 ve 5 aylık bitkilerden yüksek olmuş ve 6 aylık bitkilerden ise hiç embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir. Bafra çeşidinde embriyo oluşum oranları 1 aylık bitkilerde en yüksek olmuştur. 2 aylık bitkilerde embriyo oluşumu görülmemiş, 3 ve 4 aylık bitkilerde oran azalsada ilk aya yakın değerlerde embriyo oluşumu gözlenmiştir. Embriyo oluşum oranı 5. ayda oldukça düşmüş, 6. ayda ise sonuç elde edilmemiştir. Delta çeşidinde deneme süresince embriyo oluşumu gözlenmemiştir.

Genotipin etkisinin anter kültürü tekniği ile haploid bitki eldesi üzerine etkisi elde edilmiş bu sonuçlar ile tekrar belirlenmiştir. Günümüzde genotipin anter kültürü

çalışmalarında etkili olduğu yaygın bir şekilde kabul edilmekteyken, bu faktörün etkisinin bu çalışma ile bir kez daha ortaya koyması beklentilerimizi haklı çıkarmıştır.

Çalışma sonuçları genotipin anter kültürü yöntemi ile haploid bitki ve embriyo oluşumu üzerine etkisi vurgulan birçok araştırma ile paralellik göstermektedir. (Ouyang vd. 1987, Lu vd. 1991, Mityko vd. 1995, Doğramacı vd. 2001, Sayılır 2002, Supena ve Custers 2002 Prayantini 2006, Nowacyzk vd. 2009, Ercan ve Şensoy 2011). Ayrıca biber bitkisinde de anter kültürü çalışmalarında genotipin ve tomurcuk büyüklüğünün başarıyı etkileyen ana faktörlerden olduğu birçok araştırmacı tarafından kabul edilmektedir (Gönülşen 1987, Chambonnet 1988, Bajaj 1990, Reynolds 1997, Ellialtıoğlu vd. 2001a, Kim vd. 2004). Hala bu sebze de anter kültürü çalışmalarının tam olarak rutine oturmamasının temel sebebi genotipin etkisidir. Tüm genotiplerde çalışan bir prosedür sunulmadığı için çalışılacak her genotipte optimizasyon çalışmaları yapılması gerekmektedir. Çömlekçioğlu vd (1999), Kahramanmaraş ve Şanlıurfa yerel biber populasyonlarında yaptıkları çalışmada, gelişme koşullarının optimize edilmesinin genotip etkisini tamamen ortadan kaldırmadığını, birçok etmenin *in vitro* androgenesisini etkilediğini belirtmektedirler.

Sonuçları sunulmuş olan bu çalışmada, biber anter kültüründe embriyo eldesinde genotipin, mevsimin ve bitki yaşının etkisi açıkça görülmektedir. Kültüre alınan tomurcukların uygun aşamada mikrospor içermesi ise başarıyı büyük ölçüde etkilemektedir. Genel bir çalışma ile belirlenerek yada morfoljik kriterlere bakılarak tüm çalışma boyunca aynı büyüklüğün kullanılması yanlış olmamakla beraber değişen çevre şartlarına bağlı olarak uygun aşamadaki tomurcuk boyutunun da değişmesi ihtimal dahilindedir. Bu amaçla çalışmada her mevsim denemenin ilk aylarında yapılan floresan mikroskopu ile çekirdek boyamaları bize farklı tomurcuk büyüklüklerinin içerdiği mikrosporların da farklı aşamalarda olduğunu göstermiştir.

Araştırma sonucunda genotipe uygun doğru mevsimde yetiştirilen, genç bitkilerden alınan, çeşide ve tipe uygun aşamada polen içeren anterlerin kültüre alınması ile embriyo oluşum frekansının yükseltilebileceği saptanmıştır.

5. SONUÇ

Polen morfolojik özelliklerine bakıldığında, üç tipin polen tanesinin de ekvatorial profilinin üç köşeli, bağlantı durumunun monad, simetri ekseninin izopolar, polen şeklinin obtuse-convex, apartür sayısının 3, apartür çeşidinin tricolporate olduğu, polen boyutunun ortalama 22-26 µm arasında değiştiği görülmektedir.

Uygun polen aşamasını belirlemek amacıyla yaz ve kış mevsiminde yapılan floresan mikroskobu incelemelerinde tipler arasında farklılıklar saptanmıştır. İncelemelerde farklı boyutlardaki tomurcukların çekirdek sayılarının değiştiği saptanmıştır. 4 farklı gruba ayrılan tomurcuklarda tek ve çift çekirdekli polen içerme durumunun mevsime ve tiplere göre değişebileceği belirlenmiştir. Yağlık ve dolmalık tiplerde 3. grup dışındaki diğer grup tomurcuklarda polen çekirdek sayıları her iki mevsimde de değişmemiştir. Sivri tip biberlerde ise gruplanan tomurcukların polen çekirdek sayıları yaz ve kış mevsiminde değişmiştir. Bu durum morfolojik kriterlerin uygun tomurcuk aşamasını belirlemede tek başına yeterli olmadığını göstermektedir. Donör bitkiler kontrollü ortamlarda yetiştirilmiyorsa yetiştirme koşullarının (iklim şartları, kültürel bakım işlemleri vb.) farklılaşması ile bitki gelişiminde etkileneceği ve polenlerin çekirdek durumunun değişebileceği göz ardı edilmemelidir. Çekirdek boyanmasında hızlı ve etkili bir yöntem olan Ethidium Bromide ile kültür öncesinde uygun mikrospor aşamasının belirlenmesi şüphesizki embriyo oluşumunu arttıracaktır.

Çalışmada anter kültürü yöntemi ile haploid bitki eldesinde mevsimler arasında belirgin farklılıklar görülmemiştir. Kış mevsiminde çeşitlere bakılmaksızın %0,69, yaz mevsiminde %0,68 oranında embriyo oluşumu sağlanmıştır. Genel ortalama da farklılık oluşmaması mevsime uygun çeşitlerle çalıştığı için beklenen bir durumdur. Tipler açısından değerlendirildiğinde mevsimin etkili bir faktör olduğu görülmektedir. Dolmalık tipler yaz mevsiminde (%1,53) kış mevsimine (%0,92) göre daha yüksek embriyo oluşumu gerçekleştirirken, sivri tipler kış mevsiminde (%1,01) yaz mevsimine (%0,25) göre daha yüksek embriyo oluşumu gerçekleştirmişlerdir. Kış mevsiminde iki tip arasında belirgin bir farklılık gözlenmemişken, yaz mevsiminde dolmalık çeşitlerin sivri çeşitlerden yaklaşık 7 katı oranında fazla embriyo oluşturduğu gözlenmiştir. Yağlık

tiplerde kış mevsiminde %0,17 oranında embriyo oluşumu elde edilirken, yaz mevsiminde embriyo oluşturmamıştır.

Anter kültürü yöntemi ile haploid bitki eldesinde bitki yaşının etkili olduğu belirlenmiştir. Bitki yaşının aylık olarak değerlendirildiği çalışmada genç bitkiler (1, 2 ve 3 aylık) kültüre alınma ayına göre değişen oranlarda yüksek embriyo oluşum oranı göstermişlerdir. Çeşitlere bakılmaksızın fakat kültüre alma ayları göz ardı edilmeden sonuçlar incelendiğinde en yüksek değerler kış mevsiminde sırasıyla %2,31 (1 aylık), %2,22 (2 aylık), %1,34 (3 aylık), %0,44 (4 aylık), %0,36 (5 aylık) ve %0,36 (6 aylık) olmuştur. Yaz mevsiminde ise %5,52 (1 aylık), %0,81 (2 aylık), %0,77 (3 aylık), %1,04 (4 aylık), %33 (5 aylık), %0 (6 aylık) olmuştur. Bitki yaşı ilerledikçe embriyo oluşum oranlarında azalma gözlenen bir sonuçtur. Denemenin en yüksek embriyo oluşum oranları her iki mevsimde de 1 aylık bitkilerden elde edilmiştir. Kış mevsiminde Aralık ayında kültüre alınan 1 aylık Balo çeşidi %6,67 oranında, yaz mevsiminde Mayıs ayında kültüre alınan 1 aylık Ergenekon çeşidinden %15,45 oranında embriyo oluşumları elde edilmiştir.

Anter kültürü yöntemi ile haploid bitki eldesinde genotipin etkisi belirgindir. 6 yaz mevsiminde, 6 kış mevsiminde olmak üzere toplamda 12 çeşit ile yapılan çalışmada çeşitlerin embriyo oluşum oranları %0-%1,95 oranları arasında değişmiştir. Kültüre alınma ayına ve bitki yaşına bakılmaksızın değerlendirilen sonuçlarda Ergenekon çeşiti %1,95 embriyo oluşumu ile en yüksek embriyo oluşumunu göstermiştir. Amazon %1,19 ile ikinci en yüksek oranı gösterirken, Balo ve kış mevsiminde yetiştirilen Punto %1,10 Amazonu takip etmişlerdir. Balo %24,07 oranı en yüksek bitkiye dönüşüm oranı göstermiştir. Diğer çeşitlerde bitki oluşum oranları %14,29-%23,53 arasında değişmiştir. Kappy, T-304 ve Atris çeşitlerinde oluşan embriyolarda bitki gelişimi gerçekleşmemiştir. İki yıl tekrarlamalı yapılan denemede iki yıl arasında belirgin farklılıklar gözlenmiştir. Örneğin kış mevsiminde ilk yıl Ocak ayında kültüre alınan Balo çeşidinin 2 aylık bitkileri %12,15 ile mevsimin en yüksek embriyo oluşum oranını gösterirken, ikinci yıl aynı koşullarda embriyo oluşumu gerçekleşmemiştir. Yine aynı çeşidin 1 aylık bitkileri Aralık ayında kültüre alındıklarında %11,40 oranında ikinci en iyi embriyo oluşum oranını gösterirken, ikinci yıl aynı koşullarda embriyo oluşumu

gerçekleşmemiştir. Yaz mevsiminde ilk yıl Mayıs ayında kültüre alınan Punto çeşidinin 1 aylık bitkileri %30,48 ile mevsimin en yüksek embriyo oluşum oranını gösterirken, ikinci yıl aynı koşullarda embriyo oluşumu sağlanamamıştır. Yaz mevsiminde Mayıs ayında kültüre alınan Ergenekon çeşidinin 1 aylık bitkileri %25,0 oranı ile ikinci en iyi embriyo oluşum oranı göstermişler, ikinci yıl ise %6,61 oranında embriyo oluşturmuşlardır. Her iki yıl sıcaklık değerleri göz önüne alındığında bu durum normal gözükmemektedir. Kış mevsiminde ortalama sıcaklık değerleri ilk yıl 15-20°C iken, ikinci yıl Aralık-Mart ayları arasında 10-15 °C'ye düşmüştür. Ayrıca minimum sıcaklıkların 5°C'nin altında kaydedildiği aylar Ocak ve Şubat ayları olurken, ikinci yıl bu ayların dışında Aralık ve Mart aylarında da 5°C'nin altına düşen minimum sıcaklıklar görülmüştür. Yaz mevsiminde de ilk yıl sıcaklık ortalaması 20-30°C arasında değişirken, ikinci yıl 26-34°C arasında değişmiştir. Sıcaklıklardaki bu değişimlerin bitki büyümesine, polen gelişimine ve dolayısıyla embriyo oluşumuna etkili olduğu düşünülmektedir.

Tüm genotiplerde başarılı bir şekilde uygulanacak tek bir yöntem ve uygulamalar dizini saptanmadığından, biberin haploidi tekniği ile embriyo oluşum frekansının düşük olması ve biberin ekonomik önemi doğrultusunda biber ıslahının popüler bir konu olması anter kültürü tekniği ile haploid bitki eldesi çalışmalarının yoğun bir şekilde yapılmasına neden olmaktadır.

Biber anter kültüründe çalışılan mevsime uygun çeşitler kullanıldığında, ihtiyacı olan optimum sıcaklıklarda ve şartlarda yetiştirildiğinde, genç bitkiler tercih edildiğinde ve döneme uygun ideal tomurcuklar kültüre alındığında başarının arttığı belirlenmiştir. Ayrıca biber anter kültüründe başarıyı arttırmak için genotipin çeşide özel mevsimde yetiştirilmesi ve yapılan denemelerle belirlenen aylarda kültüre alınması mutlak gerekmektedir. Çalışılan genotipe göre bu şartların optimize edilmesi ile beklenen başarı kaçınılmaz olacaktır.

Bu çalışmada farklı konularda elde edilen sonuçların bundan sonraki biber anter kültürü çalışmaları için bir ışık olacaktır. Son dönemlerde biber ve *Solanaceae* familyasındaki haploidi çalışmalarının yoğunlaşması ve problemlerin elimine edilmesi, yakın zamanda biber ıslahında anter kültürünün kullanımını yaygınlaştıracaktır.

6. KAYNAKLAR

- ABAK, K. 1983a. Biberde (*Capsicum annum* L.) anter kültürü yoluyla haploid bitki elde etme üzerinde araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı-1983, Cilt:33, 155-163.
- ABAK, K. 1983b. Study on the anther culture *in vitro* of pepper (*Capsicum annum*). *Capsicum Newsletter*, 2: 66-67.
- ABAK, K. 1986. Biber ıslahında anter kültüründen yararlanma. Tubitak Bitki Islahı Sempozyumu Bildiri Özetleri, 15-17 Ekim, İzmir.
- ABAK, K. 1988. Türkiye’de bitki ıslahı çalışmalarında *in vitro* tekniklerden yararlanma. I. Uluslararası Tarım ve Biyoteknoloji Sempozyumu. 1-3 Haziran, Adana, 1-7.
- ANONİM 2009a. www.fao.com
- ANONİM 2009b. www.tuik.gov.tr
- ANONİM 2009c. www.antalya-tarim.gov.tr
- ANONİM 2010a. www.tuik.gov.tr
- ANONİM, 2010b. www.akib.org.tr
- ANONİM, 2011a. www.rito.com.tr
- ANONİM, 2011b. www.sutarim.com.tr
- ANONİM, 2011c. www.seminis.com.tr
- ANONİM, 2011d. www.nunhems.com
- ANONİM, 2011e. www.yukseltohum.com
- ANONİM, 2011f. www.antalyatarim.com.tr
- ANONİM, 2011g. www.istanbultarim.com
- ANONİM, 2011h. www.rito.com.tr
- ANONİM, 2011i. www.bircantohum.com.tr
- ANONİM, 2011j. www.pinaper.com
- ANONİM, 2011k. www.bursaseed.com

- AYAR, F., 2003. Bazı biber (*Capsicum annuum* L.) çeşitlerinde anter kültürü yöntemiyle haploid bitki elde edilmesinde mevsimin ve bitki yaşının etkilerinin araştırılması, Yüksek lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri anabilim Dalı, Antalya.
- BAJAJ, Y.P.S., 1990. *In vitro* production of haploids and their use in cell genetics and plant breeding. *Biotechnology in Agriculture and Forestry* Volume 12. Haploids in Crop Improvement I., 372-380.
- BAL, U., ABAK, K., BÜYÜKALACA, S. and ÇÖMLEKÇİOĞLU, N. 2003. Development of callus colonies from the isolated mikrospore culture of *Capsicum annuum* L., *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 17; 38-43.
- BİNER, B., ERCAN, N., ve AKILLI, M., 2001. Biberde (*Capsicum annuum* L.) Anter kültürü yoluyla haploid bitki eldesi üzerine farklı sıcaklık ve ışık uygulamalarının etkileri. GAP II. Tarım Kongresi, 24-26 Ekim, Şanlıurfa. Cilt 1, 47-54.
- BJØRNSTAD, A., OPSAHL-FERSTAD, H-G. and AASMO, M., 1988. Effects of donor plant environment and light during incubation on anther cultures of some spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 17: 27-37.
- BÜYÜKALACA, S., ÇÖMLEKÇİOĞLU, N., ABAK, K., EKBİÇ, E., and KILIÇ, 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.
- CARANTA, C., PALLOIW, A., GEBRE, S.K., LEFEBVRE, V. and DAUBEZE, A. M., 1996. A Complementation of two genes originating from susceptible *Capsicum annuum* lines confers a new and complete resistance veinal mottle virus, *Phytopathology*, 86:739-743.
- CHAMBONNET, D., 1988. Obtention of haploid plants in vegetables. Advantages in breeding programmes. I. Uluslararası Tarım ve Biyoteknoloji Sempozyumu. 1-3 Haziran, Adana.
- CHANNAPPAGOUDAR, S. B., 2007. Studies on *in vitro* regeneration and genetic transformation in Chilli (*Capsicum annuum* L.), Ph. D. Thesis, University of Agricultural Sciences Dharwad, India.
- ÇAĞLAR, G., ARAS, V. ve BAYRAMI A., 2004. Kurutmalık kırmızı biberlerde androgenesis yoluyla *in vitro* haploid embriyo uyartımı, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17 (1):87-94.

- ÇİNER , D. and TIPIRDAMAZ, 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.
- ÇÖMLEKÇİOĞLU, N., BÜYÜKALACA, S. ve ABAK, K., 1999. Şanlıurfa ve Kahramanmaraş biber populasyonlarında anter kültürü yöntemiyle haploid bitki elde etme olanakları. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 14-17 Eylül, Ankara, 897-901.
- ÇÖMLEKÇİOĞLU, N., BÜYÜKALACA, S. and ABAK, K., 2001. Effect of silver nitrate on haploid embryo induction by anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.). XIth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of *Capsicum* & Eggplant. 9-13 April, Antalya, 133-136.
- DEMİR, İ., 1990. Genel Bitki Islahı. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ofset Basım Evi, Bornova, İzmir, No: 496, 366 ss.
- DOĞRAMACI-ALTUNTEPE, M., PETERSON, T.S. and JAUHAR, P.P., 2001. Anther culture-derived regenerants of durum wheat and their cytological characterization. *The American Genetic Association*, 92: 56-64.
- DOLCET-SANJUAN, R., CLAVERIA, E. and HUERTA, A., 1997. Androgenesis in *Capsicum annuum* L. effects of carbohydrate and carbon dioxide enrichment. *Journal of American Society Horticultural Science*, 122 (4): 468-475.
- DUNWELL, J.M., 1981. Influence of genotype and environment on growth of barley embryos *in vitro*. *Annual Botany*, 48: 535-542.
- DUNWELL, J.M., CORNISH, M. and DE COURCEL, A.G.L., 1985. Influence of genotype, plant growth temperature on mikrospore embryo production in *Brassica napus* ssp. *oleifera*. *Journal of Experimental Botany*, 36 (165): 679-689.
- ELÇİ, Ş., 1982. Sitogenetik Gözlemler ve Araştırma Yöntemleri. Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Yayınları, Biyoloji:3. Uğurel Matbaası, Elazığ, 159ss.
- ELLİALTIOĞLU, Ş., SARI, N. ve ABAK, K., 2001a. Haploid Bitki Üretimi. Mehmet BABALOĞLU, Ekrem GÜREL ve Sebahattin ÖZCAN, Bitki Biyoteknolojisi I-Doku Kültürü ve Uygulamaları. S. Ü. Vakfı Yayınları, Konya, 137-189.
- ELLİALTIOĞLU, Ş., KAPLAN, F. ve ABAK, K., 2001b. The effect of carrot extract and activated charcoal on the androgenesis of pepper. XIth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of *Capsicum* & Eggplant. 9-13 April, Antalya, 142-145.
- ELLİALTIOĞLU, Ş., BAŞAY, S. ve KAŞVURAN, Ş., 2006. Anter kültüründen elde edilen haploid patlıcanların katlanması amacıyla kullanılan *in vitro* ve *in vivo*

kolhisin uygulamalarının karşılaştırılması, VI. Sebze Tarımı Sempozyumu, 19-22 Eylül, Kahramanmaraş, 386-390.

EMİROĞLU, Ü., 1982. Haploidi ve bitki ıslahındaki önemi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi yayınları, yardımcı ders kitabı, Ofset Basım Evi, Bornova, İzmir

ER, C. ve CANPOLAT, N., 1992. Bitki Islahında Doku Kültürleri. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Ankara, 83 ss.

ERCAN S.N., KURUM, R., BOYACI, F. ve BİNER, B., 1998. Anter kültürü için elverişli tomurcuk safhasının saptanmasında kullanılacak boyama yöntemi. 2. Sebze Tarımı Sempozyumu. 28-30 Eylül, Tokat.

ERCAN, N., BOYACI, F. ve AYAR, F., 2001. Biberde (*Capsicum annuum* L.) anter kültürü yoluyla haploid bitki eldesi üzerine farklı besin ortamlarının etkisi. GAP II. Tarım Kongresi, 24-26 Ekim, Şanlıurfa. Cilt 1, 121-128.

ERCAN, N. ve BİNER B., 2002. Farklı irilikteki biber tomurcuklarında polen gelişme döneminin belirlenmesi, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15 (1): 53-59.

ERCAN, N., SENSOY, F.A. and SENSOY, A.S. 2006. Influence of growing season and donor plant age on anther culture response of some pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae*, 110 (1): 16-20.

ERCAN, N. and AYAR ŞENSOY, F. 2011. Androgenic responses of different pepper (*Capsicum annuum* L) cultivars, *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4 (2): 59-61.

FOROUGHİ, B. and WENZEL, G., 1993. Andro-and Parthenogenesis. Editers; M. D. Hayward, N. O. Bosemark and I. Romagosa. *Plant Breeding Principle and Prospects*. Chapman & Hall, London, 260-277.

GÖNÜLŞEN, N., 1987. Bitki doku kültürleri ve uygulama alanları. T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın no: 78, Menemen, İzmir, 137 ss.

GUDEVA K.,L.,R., SPASENOSKI, M. and TRAJKOVA, F., 2007. Somatic Embriyogenesis in pepper anther culture: The effect of incubation treatments and different media, *Scientia Horticulturae*, 111: 114-119.

GÜRSÖZ, N., 1990. Kavun ve karpuzda ışınlanmış polenlerle uyartılan *in situ* partenogenetik embriyolardan *in vitro* kültürü ile haploid bitki eldesi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilimdalı, Adana.

HATİPOĞLU, R., 1999. Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi Yayın no: A-58, Adana, 176 ss.

- HERMSEN, G.T. and RAMANNA, M.S., 1981. Haploidy and Plant Breeding. *Phill. Trans. R.Soc.Lond.B.* 292, 499-507.
- HWANG, J.K., PAEK, K.Y. and CHO, D.H., 1998. Breeding of resistant pepper lines (*Capsicum annuum* L.) to bacterial spot (*Xanthomonas campestris* P.v. Vesicatoria) through anther culture, International Symposium On Biotechnology Of Tropical and Subtropical Species - Part II, *Acta Hort.*, Issue: 46, 301-307.
- IRIKOVA, T., GROZEVA, S. and RODEVA, V., 2011. Anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.) *in vitro*, *Acta Physiologiae Plantarum*, Review.
- JUHASZ, A.G., PETUS, M., VENZCEL, G., SAGI, Z.S. and ZATYKO, L., 2001a. 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. 9-13 April, Antalya, 146.
- JUHASZ, A.G., PETUS, M., VENEZEL, G., ZATYKO, L., GYULAI, G. and CSEPLO, M., 2001b. Genetic variability of anther donor versus spontaneous doubled haploid descendents and colchicine induced doubled haploid sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) lines, *Acta Horticulturae* 560: 149-152.
- KALLO, DR., 1986. Vegetable Breeding, Volume III, CRC Press, Inc Boca Raton, Florida, 173.
- KARAKULLUKÇU, Ş. ve ABAK, K., 1992. Farklı sıcaklık şoklarının patlıcanda anter kültürü yoluyla embriyo oluşumu üzerine etkisi. Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 13-16 Ekim, İzmir.
- KARAKULLUKÇU, Ş. ve ABAK, K., 1993a. Patlıcanda anter kültürü üzerinde araştırmalar: I. Elverişli tomurcuk gelişim döneminin belirlenmesi. *Doğa-Turkish Journal of Agricultural and Forestry*, 17: 801-810.
- KARAKULLUKÇU, Ş. ve ABAK, K., 1993b. Patlıcanda anter kültürü üzerinde araştırmalar: I. Şeker ve büyümeyi düzenleyicilerin etkileri. *Doğa-Turkish Journal of Agricultural and Forestry*, 17: 811-820.
- KIM, M., KIM, J., YOON, M., DO, C. and KWAN-MIN, L., 2004. Origin of multicellular pollen and pollen embryos in cultured anthers of pepper (*Capsicum annuum* L.), *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 77: 63-72.
- KIM, M., JANG, I.J., KIM, J.A., PARK, E.J. and YOON, M., LEE, Y. 2008. Embryogenesis and plant regeneration of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) through isolated microspore culture, *Plant Cell Reports.*, 27:425-434.
- KRISTIANSEN, K. and ANDERSEN, S.B., 1993. Effect of donor plant temperature, photoperiod and age on anther culture response of *Capsicum annuum* L. *Euphytica* 67: 105-109.

- LANTOS C., 2009. *In vitro* androgenesis induction in wheat (*Triticum aestivum* L.), triticale (*Triticosecale wittmack*), spice pepper (*Capsicum annuum* L.) and integration of the results into breeding, Ph. D Thesis, Szent Istvan University, Budapest.
- LANTOS, C., JUHASZ, A., SOMOGYI, G., OTVOS, K., VAGI, P., MIHALY, R., KRISTOF, Z., SOMOGYI, N. and PAUK, J., 2009. Improvement of isolated microspore culture of pepper (*Capsicum annuum* L.) via co-culture with ovary tissues of pepper or wheat, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 97:285–293.
- LU, C.S., SHARMA, H.C. and OHM, H.W., 1991. Wheat anther culture: effect of genotype and environmental conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 24: 233-236.
- MATSUBARA, S., KAILIN, H. and MURAKAMI, K., 1992. Embryoid and callus formation from pollen grains of eggplant and pepper by anther culture, *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 61 (1): 69-77.
- METWALLY, E.I., MOUSTAFA, S.A., EL-SAWY, B. I. and SHALABY, T. A., 1998. Haploid plantlets derived by anther culture of Cucurbita pepo. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 52: 171-176.
- MITYKO, J., ANDRASZALVY, A., CSILLERY, G. and FARI, M., 1995. Anther culture response in different genotypes and F₁ hybrids of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Breeding*, 114: 78-80.
- MITYKO, J. and FARI, M., 1997. Problems and results of doubled haploid plant production in pepper (*Capsicum annuum* L.) via anther and microspore culture. *Acta Hort.* 447: 281-287.
- MURASHIGE, T. and SKOOG, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, 15: 473-497.
- NITSCH, J.P. and NITSCH, C. 1969. Haploid plants from pollen grains, *Science*, 163: 85-87.
- NOVAK, F.J., 1974. Induction of haploid callus in anther cultures of *Capsicum* sp., *Z. Pflanzenzüchtung*, 72: 46-54.
- NOWACZYK, P. and KISIAŁA, A., 2006. Effect of selected factors on the effectiveness of *Capsicum annuum* L. anther culture, *Journal of Applied Genetics*, 47 (2); 113-117.
- NOWACZYK, P., OLSZEWSKA, D. and KISIALA, A., 2009. Individual reaction of *Capsicum* F₂ hybrid genotypes in anther cultures, *Euphytica*, 168: 225-233.

- OUYANG, J.W., HE, D.G., FENG, G.H. and JIA, S E., 1987. The response of anther culture to culture temperature varies with growth conditions of anther-donor plants. *Plant Science*, 49: 145-148.
- POWEL, W., 1990. Environment and genetical aspects of polen embryogenesis. Y.P.S Bajaj (Ed). *Biotechnology in Agriculture and Forestry 12. Haploids in Crop Improvement I.*, 45-65.
- PRAYANTINI, D.,C., 2006. Anther culture in hot pepper (*Capsicum annuum* L.), Training Report, Supervisors; Dr.Paul A. Gniffke, Dr. Jong-Gyu Woo.
- QIN, X. and ROTINO, G.L., 1995. Anther culture of several sweet and hot pepper genotypes, *Acta Horticulturae*, 402: 313-316.
- REYNOLDS, L.,T., 1997. Polen embryogenesis, *Plant Molecular Biology*, 33: 1-10.
- SAYILIR, A., 2002. Değişik biber genotiplerinde *in vitro* androgenesis ve haploid bitki oluşumunu uyarıcı bazı etmenler üzerinde araştırmalar, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, İzmir.
- SHIVANNA, K.R. and RANGASWAMY, N.S., 1974. Polen biology, A laboratory Manual. Springer-Verlag, Berlin. P.119.
- SIBI, M., VAULX, D.R. and CHAMBONNET, B., 1979. Obtention de plantes haploides par androgenese *in vitro* chez le Piment (*Capsicum annuum* L.), *Ann Amel Plantes* 29: 583-606.
- SUPENA, E.D.J., and CUSTERS, J.B.M., 2002. Establishment of haploid technology to improve hot pepper breeding efficiency in Indonesia, Proceedings of the International 7th Indonesian Student's Scientific Meeting, ISSM 2002. Berlin, October 4-6, 2002, pp.69-72.
- SUPENA, E.D.J., SUHARSONO, S., JACOBSEN, E. and CUSTERS J.B.M., 2006a. Successful development of a shed-microspore culture protocol for doubled haploid production in Indonesian hot pepper (*Capsicum annuum* L.), *Plant Cell Reports*, 25: 1–10.
- SUPENA, E.D.J., MUSWITA, W., SUHARSONO, S. and CUSTERS J.B.M., 2006b. Evaluation of crucial factors for implementing shed-microspore culture of Indonesian hot pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars, *Scientia Horticulturae* 107; 226–232.
- TAKAHATA, Y., BROWN, D.C.W. and KELLER, W.A., 1991. Effect of donor plant age and infloescense age on microspore culture of *Brassica napus* L. *Euphytica*, 58: 51-55.
- TAŞKIN, 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, Adana.

- TERZİOĞLU, Ş., ELLİALTIOĞLU, Ş. ve ABAK, K., 2000. İnkübasyon koşullarının biber anter kültüründe embriyo oluşumu üzerine etkisi. III. Sebze Tarımı Sempozyumu, 11-13 Eylül, Isparta, 233-238.
- TIAINEN, T., 1992. The influence of culture conditions on anther culture response of commercial varieties of *Solanum tuberosum* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 30: 211-219.
- VAGERA, J., 1990. Pepper (*Capsicum* spp.): *In vitro* induction of haploids. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, 12: 374-392.
- VURAL, H., EŞİYOK, D. ve DUMAN, İ., 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 440.
- YOO, E.Y., KIM, S., KIM, Y.H., LEE, C.J. and KIM, B.D., 2003. Construction of A Deep Coverage BAC Library From *Capsicum annuum*, 'CM334', *Theoretical and Applied Genetics*, 107: 540-543.

ÖZGEÇMİŞ

Araştırıcı 19.04.1977 yılında Alanya'da doğmuştur. İlk, orta ve lise öğrenimini Antalya'da tamamlayarak, 1995 yılında lisans öğrencisi olmayı hak kazandığı Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nden, 2000 yılının Şubat ayında Ziraat Mühendisi unvanı alarak mezun olmuştur. Yine 2000 yılının Şubat ayında girdiği sınavı kazanarak Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak atanmıştır. 2003 yılında Yüksek Lisans eğitimini tamamlamış ve 2004 yılında yine aynı bölümde Doktora eğitimine başlamıştır. Evli ve bir kız çocuğu sahibi olan araştırıcı, halen aynı anabilim dalında görevine devam etmektedir.