



## Cemele Biberinin (*Capsicum annuum* L.) *In Vitro* Klonal Çoğaltımı Üzerine Farklı Besin Ortamı Tipleri ve TDZ'nin Etkisi

Sevil SAĞLAM YILMAZ<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 40100, Kırşehir

<https://orcid.org/0000-0003-1302-9147>

\*Sorumlu yazar e-mail: [ssaglam@ahievran.edu.tr](mailto:ssaglam@ahievran.edu.tr)

### Araştırma Makalesi

**Makale Tarihi:**  
Geliş tarihi: 28.01.2023  
Kabul tarihi: 21.03.2023  
Online Yayınlanma:  
30.06.2023

**Anahtar Kelimeler:**  
Cemele biber genotipi  
*In vitro* çimlenme  
Mikroçoğaltım TDZ

### ÖZET

Çalışmada ekonomik öneme sahip biber (*Capsicum annuum* L.) bitkisinin Cemele genotipinin *in vitro* koşullarda çimlenmesi ve klonal çoğaltımı üzerine farklı besin ortamı tipleri ve TDZ (Thidiazuron)'nin farklı konsantrasyonlarının etkileri incelenmiştir. Çalışma kapsamında, iki farklı besin ortamı (MS ve N6), TDZ'nin beş farklı konsantrasyonu ve iki farklı eksplant (sürgün ucu ve hipokotil) denenmiştir. Çalışma süresince, kontaminasyon ve çimlenme oranları, fide uzunluğu, yaprak sayısı ve kök uzunlukları ile kallus oluşum oranları, organogenes ve somatik embriyogenes oluşum durumları incelenmiştir. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, %93.33 ile maksimum çimlenme %50'lik NaOCl'de 10 dk. yüzey sterilizasyonu uygulamasında MS besin ortamında gözlenmiştir. Sürgün ucu eksplantından *in vitro* klonal çoğaltım sağlanamamış ancak hipokotil eksplantlarından başarılı sonuçlar elde edilmiştir. *In vitro*'da çimlendirilmiş olan bitkiciklerden alınan hipokotil eksplantları 0.5 mg/l BAP ve 1.0 mg/l IBA içeren MS ortamda 20 gün ön muameleye tabi tutulmuş ardından 0.25, 0.50, 1.00, 1.50 ve 2.00 mg/l TDZ içeren MS besin ortamına aktarılmıştır. Maksimum kallus oluşumu (%100.00), çok sayıda somatik embriyo ve kök organogenesi 2.00 mg/l TDZ içeren MS ortamında gözlenmiştir. Çalışma sonuçları, MS ve N6 ortamlarının biberin *in vitro* çimlenmesini ve fide gelişimini doğrudan etkilediğini ortaya koymuştur. MS ortamında bitkilerin kökleri daha fazla gelişirken (maksimum kök uzunluğu 9.9 cm); N6 ortamında toprak üstü aksamları daha fazla gelişmiştir (maksimum fide boyu 4.3 cm ve maksimum yaprak sayısı 5.2 adet). Sonuçlar, Cemele ve diğer biber genotiplerinin klonal çoğaltımı için kullanılabilmesi gibi kök boğazı çürüklüğü ya da benzeri hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılık özelliklerinin kazandırılması amacıyla ileride yapılacak olan genetik iyileştirme ve biyoteknolojik ıslah çalışmalarına da ışık tutacaktır.

### Effect of Different Nutrient Media Types and TDZ on *In Vitro* Clonal Propagation of Cemele Pepper (*Capsicum annuum* L.)

#### Research Article

**Article History:**  
Received: 28.01.2023  
Accepted: 21.03.2023  
Published online:  
30.06.2023

**Keywords:**  
Cemele pepper genotype,  
*In vitro* germination  
Micropropagation TDZ

#### ABSTRACT

In this study, the effects of different nutrient media types and different concentrations of TDZ on *in vitro* germination and clonal propagation of Cemele genotype of the economically important pepper were investigated. Within the study, MS and N6 medium, five concentrations of TDZ, shoottip and hypocotyl explants were tested. Contamination and germination rates, seedling length, leaf number, root length, callus rates were investigated. Results of the study are evaluated, *in vitro* surface sterilization of seeds at 50% dose of NaOCl for 10-minute maximum germination (93.33%) was observed in MS. Micropropagation could not be achieved from the shoottip explant, but successful results were obtained from hypocotyl explants. Hypocotyl explants were pretreated for 20 days in MS medium containing 0.5 mg/l BAP and 1.0 mg/l IBA. The explants were then taken into MS medium containing 0.25, 0.50, 1.00, 1.50 and 2.00 mg/l TDZ. Maximum callus (100.00%), multiple somatic embryos and rooting were observed in MS containing 2.00 mg/l TDZ. The results of the study revealed that MS and N6 mediums directly affected *in vitro* germination and seedling growth of pepper. While the roots of the plants develop more in MS (maximum root length 9.9 cm); above ground parts are more developed in N6 (maximum seedling length 4.3 cm and maximum number of leaves 5.2). The results can be used for micropropagation of Cemele and the others, and will also shed light on future genetic improvement and biotechnological breeding studies in order to gain resistance against root rot or similar diseases and pests.

E-ISSN: 2979-9198

**To Cite:** Sağlam Yılmaz, S. (2023). Cemele biberinin (*Capsicum annuum* L.) *in vitro* klonal çoğaltımı üzerine farklı besin ortamı tipleri ve TDZ'nin etkisi. *Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi (KUJINAS)*, 1(1), 10-20.

## 1. GİRİŞ

Biber (*Capsicum annuum* L.) Solanaceae familyasının bir üyesi olup anavatanı Amerikadır. *Capsicum* cinsi içerisinde yaklaşık 30 tür bulunmakta ve bu türlerden en yaygın olanları ve kültüre alınanları *C. annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L., ve *C. pubescens* Ruiz & Pav. türleridir (Greenleaf, 1986; Eken ve Mavi, 2014). Biber, çoğunlukla tek yıllık olmak üzere çok yıllık olarak da yetiştirilebilen bir kültür bitkisidir (Şalk ve ark., 2008). Dünya çapında en çok biber üretimi yapan ülkeler Vietnam, Brezilya, Endonezya, Burkina Faso ve Hindistan'dır (FAO, 2021). Türkiye iklimi biberin yetiştiriciliğe uygun olduğu için hemen hemen tüm bölgelerde üretimi yapılabilmektedir. TÜİK verilerine göre salçalık kopya biberi 1 481 612 ton, dolmalık biber 404459 ton, sivri biber 979 180 ton, çarliston biber 153524 ton ve kuru biber 227380 ton üretilmiştir (TÜİK, 2022). Ülkemiz biber gen kaynakları açısından oldukça zengindir (Karakurt ve ark., 2020).

Biber taze sebze olarak tüketimin yanında, baharat, salça, sos, turşu, biber gazı, insektisid, bakterisid gibi zirai mücadele ilacı ve ayrıca sindirim sistemi, romatizma, kas ağrıları, hipertansiyon ve kanser hastalıklarının tedavisinde halk ilacı olarak kullanımı gibi pek çok şekillerde değerlendirilmektedir (Oğuzkan ve ark., 2018; Li ve ark., 2020). Biber vitamin içeriği bakımından zengin olup, ayrıca kapsaisin, karoten, polifenol, flavonoidler, mineraller ve uçucu yağlar ihtiva etmektedir (Hernández-Pérez ve ark., 2020). Üstün (1990)'ün biber üzerine yaptığı çalışmada kapsidiol ile kökboğazı yanıklığı (*Phytophthora capsici* Leon) hastalığı arasında pozitif ilişkiler belirlemiştir. Bu bakımdan biberde ciddi verim kayıplarına sebep olan bu hastalığa dayanıklılık çalışmalarında kullanılmak üzere kapsidiol miktarını artırmaya yönelik çalışmalar son derece önemlidir. Bu hedefe yönelik olarak kurulacak hücre süspansiyonlarında kullanılmak üzere kallus dokularının elde edilmesi için en uygun eksplant, kültür şartları, besin ortamı ve büyüme düzenleyici kombinasyonları belirlenmelidir.

Cemele biberi Kırşehir bölgesinde yetiştiriciliği yapılan meyve kabuğu ve meyve et kalınlığı ince olan, üç ya da dört loblu taze ve kuru olarak tüketilebilen bir dolmalık biber genotipidir ve üzerinde gerek biyoteknolojik gerekse agronomik çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (Sağlam, 2014; Boyacı ve ark., 2017; Başak, 2019; Çimrin ve ark., 2020; Ergün, 2021; Başak, 2021). Cemele biberi yüksek antioksidan özelliğine sahiptir. Orta acı/acı özelliğine sahip Cemele biberinin gaz ve kabızlık gibi sindirim sistemi sorunları, romatizmal hastalıklar ve eklem ağrılarına iyi geldiğine ve ayrıca kan dolaşımını hızlandırdığına halk arasında inanılmaktadır. Dünyada ve ülkemizde değişik şekillerde yoğun olarak tüketilen biber aynı zamanda doğal antioksidanlar bakımından en önemli kaynaklarından biri olarak kabul edilmektedir (Eroğlu ve ark., 2020).

*Capsicum* türlerinin, %90'a varan yabancı dölleme durumları sebebiyle çok fazla miktarda viral ve bakteriyel kontaminasyona maruz kalmasına ve bu durum da ürün kaybına sebep olmaktadır (Karağaç ve Balkaya, 2010). Geleneksel ıslah çalışmalarının uzun zaman alması, maliyetli olması, yoğun işgücü ve emek gerektirmesi gibi birtakım sebeplerden dolayı son yıllarda biberin biyoteknolojik ıslah çalışmalarına da başlanmıştır. Özellikle son kırk yılda biberin doku kültürü ile üretimi konusunda yoğun çalışmalar yapılmıştır (Ammirato, 1983; Tanksley ve Iglesias-olivas, 1984; Morrison ve ark., 1986; Tisserat, 1991; Ebida ve Hu, 1993; Christopher ve Rajam, 1994; Binzel ve ark., 1996; Ellialtıoğlu ve ark., 1998; Berljak, 1999; Çömlekçioğlu ve ark., 2001; Çiner ve Tıpırdamaz, 2002; Sanatombi ve Sharma, 2007a,b; Dalar, 2008; Otrushy ve ark., 2011; Ceyhan ve Aktaş, 2020; Atasoy ve ark., 2021).

Bu çalışmada Kırşehir ili yerel bir dolmalık biber genotipi olan Cemele biberinin *in vitro* tohum çimlenmesi ve bitki rejenerasyonu ile klonal çoğaltımı araştırılmıştır. Bu amaçla, tohumların steril şartlarda çimlendirilmesi üzerine iki farklı temel [(MS-Murashige ve Skoog, 1962) ve (N6-Chu, 1978)] besin ortamının etkisi ayrıca sürgün ucu ve hipokotil eksplantlarının beş farklı TDZ konsantrasyonunda gelişim aşamaları incelenmiştir. Bu çalışmanın Cemele biberi üzerine yapılacak *in vitro* çalışmalara gerek doku kültürü ile çoğaltım ve sekonder metabolit üretimi, gerekse genetik iyileştirme çalışmalarına katkı sağlayacak temel bir çalışma niteliğinde olduğu düşünülmektedir.

## 2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarında yürütülmüştür.

## 2.1. Bitki Materyali

Cemele biberi Kırşehir ilinin yerel bir genotipidir. Çalışmada kullanılan Cemele biber tohumları Kırşehir ilinin Merkez ilçesine bağlı Çayağzı (Cemele) Kasabasından yerel bir bahçeden toplanan taze ve sağlıklı meyvelerden temin edilmiştir. Tohumların temin edildiği Çayağzı Kasabası/Kırşehir ili lokasyonu Şekil 1.'de gösterilmiştir. Bitkinin meyve kabuğu ve meyve et kalınlığı ince olup yaklaşık 10 cm boyundadır. Meyveler üç ya da dört lob taşımakta ve koyu yeşil rengindedir. Erken olgunlaşır ve taze olarak tüketiminin yanında özellikle kurutmalık olarak kullanılan bir dolmalık yerel biber genotipidir (Şekil 2). Kök boğazı çürüklüğüne karşı hassastır. Eksplant olarak Cemele biber genotipinin tohumlarının *in vitro*'da çimlendirilmesi ile elde edilen bitkiciklerden alınan sürgün ucu ve hipokotil eksplantları kullanılmıştır.



Şekil 1. Cemele biberinin temin edildiği Kırşehir/Merkez-Çayağzı lokasyonu



Şekil 2. Cemele biberinin taze ve kuru meyvesi ile tohumları

## 2.2. Tohumların Yüzeysel Sterilizasyonu ve Ekim İşlemleri

Tohumlar ön sterilizasyon amacıyla %70'lik etanolde (EtOH) 2 dk. bekletilmiştir. Daha sonra sodyum hipokloritin (NaOCl) % 25, 50, 100'lük solüsyonlarında 5 ve 10 dk. tutulduktan sonra 3 kez 5 dk.'lık sürelerde steril saf su ile durularak sterilizasyon tamamlanmıştır. Tohumlar üzerindeki fazla suyu uzaklaştırmak için steril kurutma kağıtlarına alınmıştır. Steril edilmiş olan tohumlar %3 sukroz içeren ve %0.6 plant agar ile katılaştırılan, Murashige ve Skoog (1962) ve N6 (CHU) besin ortamları taşıyan



magenta kutularına her birine beş adet olacak şekilde ekilmiştir. Hazırlanan tüm ortamların pH düzeyleri 1N NaOH ya da 1N HCl kullanılarak 5.6 - 5.8'e ayarlanmıştır. Ortam hazırlığında çift distile saf su kullanılmıştır. Ortamın sterilizasyonu otoklavda 1.2 atmosfer basınç ve 121 °C'de 20 dk. tutularak sağlanmıştır. Tüm kültürler Philips beyaz floresan ışığı (Preheat Daylight - 42  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) altında 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyodunda iklim odasında  $25 \pm 2$  °C sıcaklıkta tutulmuştur. Tohumlar bir ay süreyle *in vitro* şartlar altında inkübe edilerek çimlendirilmiş ve elde edilen veriler ile varyans analizi yapılmıştır.

### 2.3. Rejenerasyon Çalışmaları

Eksplantlar *in vitro* ekimlerinin ardından 4 hafta sonra kontrol edilerek meydana gelen kontaminasyon oranları, çimlenme oranları, fide uzunluğu, yaprak sayısı ve ana kök uzunluğu değerleri belirlenmiştir. Fidelerin sürgün ucu eksplantları besin ortamına dikey olarak, hipokotil eksplantları ise yatay biçimde yerleştirilerek denemeler kurulmuştur. *In vitro* ortamda steril olarak yetiştirilen 7-10 günlük biber fidelerinden izole edilen hipokotil eksplantları yaklaşık 1.0 cm uzunluğunda kesilerek 0.5 mg/l BAP + 1.0 mg/l IBA içeren rejenerasyon ortamlarına aktarılmıştır. Ön muameleden yirmi gün sonra eksplantlar TDZ'nin 0.25, 0.50, 1.00, 1.50 ve 2.00 mg/l dozlarını içeren MS ve N6 ortamlarında kültüre alınmıştır. En uygun besin ortamı ve TDZ konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla elde edilen veriler ile varyans analizi yapılmıştır. Çalışmada kullanılan MS ve N6 besin ortamlarının makro ve mikro besin elementleri ile vitamin içerikleri Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Cemele biberi doku kültüründe kullanılan MS ve N6 (CHU) besin ortamlarının makroelement, mikroelement ve vitamin içerikleri

Besin elementleri (mg l <sup>-1</sup> )	MS	N6
<b>Makroelementler</b>		
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	400.00	-
NH <sub>4</sub> 2SO <sub>4</sub>	-	463.00
KNO <sub>3</sub>	480.00	2830.00
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	332.02	-
CaCl <sub>2</sub>	-	125.33
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	180.54	-
MgSO <sub>4</sub>	-	90.27
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	330.60	-
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	400.00
<b>Mikroelementler</b>		
KI	0.30	0.80
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.20	1.60
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	16.90	3.33
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8.60	1.50
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.25	-
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.025	-
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.025	-
FeNaEDTA	73.40	36.70
<b>Vitaminler</b>		
Myo-Inositol	100.00	-
Thiamine-HCl	0.40	1.00
Adenine sulphate	80.00	-
Glycine	-	2.00
Pyridoxine HCl	-	0.50
Nicotinic acid	-	0.50

### 2.4. İstatistik Analizler

Araştırma tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrürlü ve her bir tekerrürde 5 eksplant olacak şekilde yürütülmüştür. Elde edilen veriler SPSS 22.0 istatistik programında varyans analizine tabi tutulmuş ve uygulamalar arasındaki farklılığın önem derecesi Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanarak yapılmıştır (Anonim, 2013).

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 3.1. Tohumların Yüzey Sterilizasyonu ve Çimlenme Durumlarına Ait Sonuçlar

Tohum yüzey sterilizasyonu amacıyla kurulan altı farklı uygulamadan en iyi çimlenme sonuçları %93.33 ile MS besin ortamından elde edilmiştir (Şekil 3a). N6 besin ortamında ise en fazla çimlenme %86.66 oranında elde edilmiştir (Şekil 3b). Kontaminasyon oranları bakımından ise en fazla kontaminasyon %100.00 ile N6 ortamında gözlemlenirken; MS besin ortamında en fazla %33.33 olarak belirlenmiştir. MS ortamında kontaminasyon oranı N6 ortamına göre daha düşük çıkarken, çimlenme oranı daha yüksek çıkmıştır. Her iki besin ortamında da kültüre alınan tohumların 3-10 gün içinde çimlendiği tespit edilmiştir. MS besin ortamında en iyi çimlenme (%93.33) 4. uygulama olan % 50 NaOCl-10 dk.'da, N6 besin ortamında ise en iyi çimlenme (%86.66) 2. uygulama olan %25 NaOCl-10 dk.'da elde edilmiştir. Farklı iki temel besin ortamının Cemele biberinin *in vitro* tohum çimlenmesi üzerine etkisini belirlemek amacıyla gerçekleştirilen denemelerden elde edilen bir aylık verilerle varyans analizi yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılığın önem düzeyleri  $p \leq 0.05$  olarak belirlenmiştir (Tablo 2).

**Tablo 2.** Cemele biber genotipi tohumlarının kontaminasyon ve çimlenme oranları (%)

Uygulama No	NaOCl Dozları (%)	Uygulama Süresi (dk.)	MS**		N6**	
			Kontaminasyon oranı (%)	Çimlenme oranı (%)	Kontaminasyon oranı (%)	Çimlenme oranı (%)
1	25	5	33.33a	60.00d	0.00a	80.00b
2	25	10	0.00b	80.00b	0.00a	86.66a
3	50	5	0.00b	80.00b	86.66c	60.00c
4	50	10	0.00b	93.33a	100.00d	80.00b
5	100	5	0.00b	73.33c	0.00a	80.00b
6	100	10	0.00b	80.00b	66.66b	80.00b

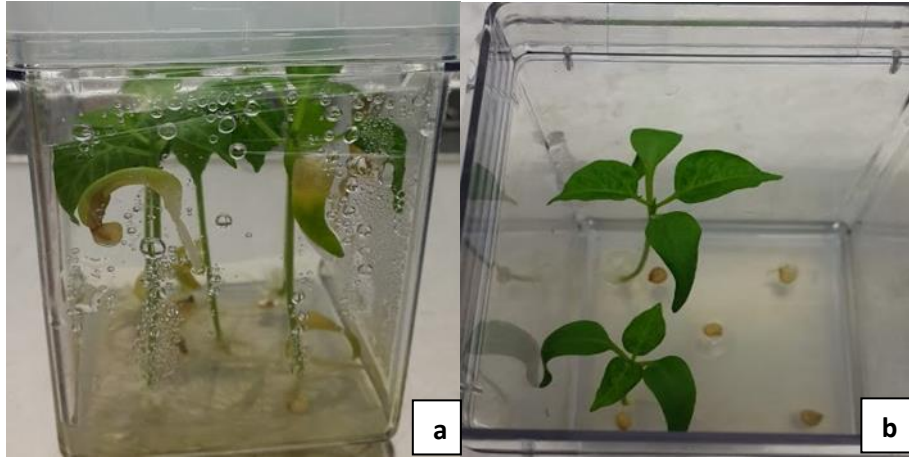
\*\* $p \leq 0.05$  seviyesinde önemlidir.

Cemele biber genotipi tohumlarının MS ve N6 besin ortamlarında gözlenen ortalama fide uzunluğu (cm), yaprak sayısı (adet) ve ana kök uzunluğuna (cm) ait bir aylık veriler Tablo 3'de verilmiştir.

**Tablo 3.** Cemele biber genotipi tohumlarının MS ve N6 besin ortamlarında fide uzunluğu (cm), yaprak sayısı (adet) ve ana kök uzunluğu (cm) ortalamaları

	MS	N6
Fide uzunluğu (cm)	2.56	3.23
Yaprak sayısı (adet)	3.65	4.00
Ana kök uzunluğu (cm)	8.56	4.80

Fide uzunluğu (cm) bakımından MS ve N6 besin ortamlarını karşılaştırıldığında fide uzunlukları ortalamasının 3.23 cm ile N6 ortamından elde edildiği görülmektedir. Yaprak sayısı ortalamaları bakımından da N6 besin ortamı daha iyi sonuçlar vermiştir. Maksimum yaprak sayısı (4.00 adet) yine N6 ortamında gözlemlenmiştir. Ana kök uzunluğu ise MS ortamında 8.56 cm iken N6 ortamında 4.80 cm olarak tespit edilmiştir (Tablo 3). MS ortamında çimlenip gelişen fidelerde yaprakların daha koyu ve yaprak ayalarının ise N6 ortamda yetişenlere göre daha dar oldukları gözlenmiştir. Fide uzunluklarına paralel olarak N6 ortamında yetişen bitkiciklerin daha fazla sayıda boğuma sahip oldukları da tespit edilmiştir.



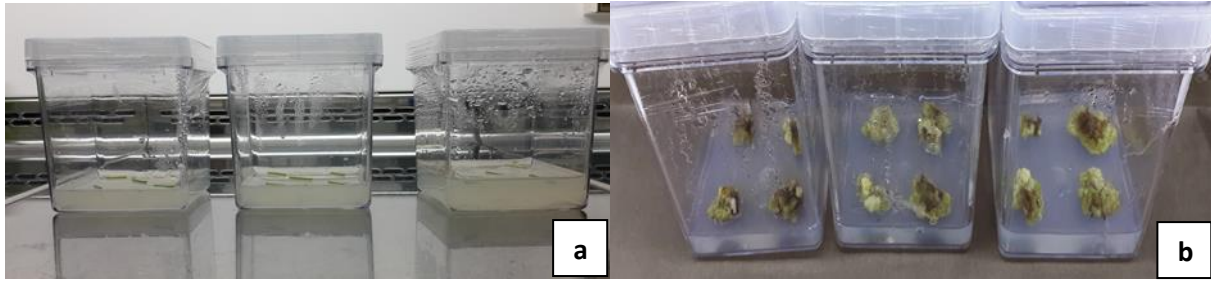
Şekil 3. *In vitro* koşullarda Cemele biberi tohumlarının sırasıyla a) MS ve N6 besin ortamlarında çimlenmesi sonucu elde edilen fidecikler

### 3.2. Rejenerasyon Çalışmalarına Ait Sonuçlar

Cemele biber çeşidine ait tohumlar çimlendirildikten sonra fideciklerden sürgün ucu ve hipokotil eksplantları izole edilmiştir. Hipokotil eksplantı genellikle kallus ve kök verirken sürgün ucu eksplantından herhangi bir rejenerasyon ve kallus oluşumu meydana gelmemiştir. Hipokotil eksplantlarında önce şişme gözlenmiş ardından TDZ uygulamasında ise kallus oluşumu üzerinde indirekt organogenez şeklinde kök rejenerasyonu gözlenmiştir. Hipokotil eksplantları ilk olarak 0.5 mg/l BAP ve 1.0 mg/l IBA içeren MS ve N6 ortamlarında yirmi gün bekletilmiştir. Daha sonra eksplantlar 0.25, 0.50, 1.00, 1.50 ve 2.00 mg/l TDZ içeren besin ortamlarına alınmıştır (Şekil 4a,b). En fazla kallus oluşumu ve beraberinde çok sayıda somatik embriyo ve kök organogenezisi hem MS ortamda hem de N6 ortamında 2.00 mg/l TDZ içeren ortamda gözlenmiştir (Tablo 4a,b). Sırasıyla kallus oluşturma oranları MS besin ortamında %100, N6 besin ortamında ise %80 olarak elde edilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar Raval ve Chattoo (1993)'nin sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Kontrol uygulamalarındaki eksplantlarda herhangi bir kallus oluşumu meydana gelmemiş olup, diğer ortamlarda oluşan kallus dokularının ise sıkı nitelikte oldukları tespit edilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklılık istatistik olarak önemli çıkmamıştır. Heriki besin ortamında da yaklaşık 2-3 hafta içerisinde arzu edilen nitelikte ve alt kültüre alınabilecek duruma gelmiş kallus elde edebilmek mümkün olmuştur. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda zigotik embriyodan embriyogenik kallus elde edilip bitki rejenerasyonunun gerçekleştirilmesi biber çeşitlerinin direkt ve indirekt somatik embriyogenezi için en iyi eksplantın zigotik embriyo olduğunu desteklese de (Ebida ve Hu, 1993) bu çalışma kapsamında elde edilen veriler ışığında embriyonik kallusların sağlanmasında hipokotil eksplantlarının da kullanılabileceği Cemele biberinde gösterilmiş olmaktadır.

**Tablo 4.** Cemele biberinin hipokotil eksplantlarının farklı TDZ uygulamalarında kallus oluşum oranları (%)

TDZ (mg/l)	Kallus oluşum oranı (%)	
	MS	N6
Kontrol	0.00	0.00
0.25	65.00	40.00
0.50	80.00	60.00
1.00	85.00	60.00
1.50	80.00	75.00
2.00	100.00	80.00



**Şekil 4.** Cemele biberinin hipokotil eksplantlarının 2.00 mg/l Thidiazuron (TDZ) içeren a) MS ve b) N6 besin ortamlarında kültürü ve somatik embriyogenesi

Biber gibi ekonomik önemi yüksek bitkilerin ıslahında klasik ıslahla beraber artık modern ıslah da oldukça yaygınlaşmıştır. *In vitro* şartlarda çimlenme olayı *in vivo* şartlardakine benzerlik göstermektedir. Tohum materyali *in vitro* kültürler için oldukça önemli bir başlangıç materyalidir. Capsicum cinsi ile yapılan pekçok doku kültürü çalışmasında başlangıç materyali olarak tohum kullanılmıştır (Watkins ve Cantlife, 1983; Groot ve Karssen, 1987; Ashrafuzzaman ve ark., 2009; Vivek Hegde ve ark., 2017). Çalışmada *in vitro* yüzey sterilizasyonu yapılan biber tohumlarından MS besin ortamında on gün sonunda %93.33 çimlenme belirlenmiştir. Bu sonuç *C. annuum*'un sera koşullarındaki çimlenmesine benzer hatta daha yüksek çimlenme oranıdır (Duman ve Gökçöl, 2017). Cemele biberinin *in vitro* çimlenmesinde MS besin ortamı N6 besin ortamına göre daha başarılı bulunmuştur.

Diğer kültürlerde olduğu gibi biberin doku kültürü ile çoğaltımında da uygun temel besin ortamının belirlenmesi son derece önemlidir. Farklı bitkiler besin ihtiyaçları da farklı olduğu için genellikle besin ortamlarında farklı tepkiler vermektedirler. Mangan (Mn) ve nikel (Ni) tohumların çimlenmesi için gerekli iki mikroelementtir (Kacar ve Katkat, 2010). MS ortamında çimlenme oranının N6 ortamına göre daha yüksek çıkması MS ortamının 16.90 mg/l, N6 ortamının ise 3.33 mg/l Mangan içeriyor olması olabilir (Tablo 1). Kayısların tohum çimlenmesi üzerine vitaminlerin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada en yüksek (%50.00) çimlenmeyi Askorbik asit; en düşük (%38.33) çimlenmeyi ise Thiamin vitamininin etkilediği belirlenmiştir (Ercişli ve ark., 1999). Bu çalışma, çalışmamızdaki N6 ortamında Thiamin vitamininin MS ortamındakinden daha fazla olmasına rağmen çimlenmenin daha yüksek olmaması desteklemektedir. Çalışma sonuçlarımızda, MS besin ortamında bitkilerin toprak altı kısımları daha fazla gelişirken (maksimum kök uzunluğu 9.9 cm); N6 besin ortamında bitkilerin toprak üstü kısımları daha fazla gelişmiştir (maksimum fide boyu 4.3 cm ve maksimum yaprak sayısı 5.2 adet). KNO<sub>3</sub> miktarı MS besin ortamında N6 besin ortamına göre daha düşüktür. Bitkiler azotu genellikle NO<sub>3</sub> formunda almaktadır. Nitrat hem proteinlerin hem de nükleik asitlerin bileşenini oluşturmaktadır (Bayraktar ve ark., 2020). MS besin ortamındaki yüksek çimlenme oranının böyle bir etkiden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle, MS besin ortamı Cemele tohumlarının *in vitro* çimlenmesi için en uygun besin ortamı olarak belirlenmiştir.

Eksplant tipi *in vitro* çalışmalarda çalışmanın başarısını son derece etkileyen önemli bir faktördür ve çalışmanın amacına uygun olarak başlangıç eksplantı belirlenmelidir. Bu çalışmada başlangıç materyali olarak tohum rejenerasyon amacıyla sürgün ucu ve hipokotil eksplantları kullanılmıştır. Ancak sürgün ucu eksplantında herhangi bir gelişme kaydedilemediği için çalışmalar hipokotil eksplantı ile devam etmiştir. Sanatombi ve Sharma (2007b) yaptıkları bir çalışmada, biberin 3 farklı türünden elde edilen yaprak, kotiledon ve hipokotil eksplantlarından direkt organogenez yoluyla *in vitro* üretim sağlamışlardır. Bu çalışmada hipokotil eksplantlarına önce bir ön muamele yapılmış ardından TDZ'nin etkisi araştırılmıştır. Hipokotil eksplantlarında önce şişme ardından TDZ uygulamasında sonra kallus üzerinde indirekt organogenes gözlenmiştir. Saxena ve ark. (1981), "Kaliforniya wonder" çeşidinin mezofil protoplastından bitki üretimi için bir protokol tanımlamış aynı zamanda şimdiki kadar, rejenerasyonun en başarılı metodunun, kotiledon ve hipokotillerin direkt organogenezini de kapsadığını ifade etmişlerdir. TDZ sentetik bir sitokinin çeşidi olup özellikle hücre bölünmesini düzenlediği, büyüme ve farklılaşmayı teşvik ettiği, tomurcuk ve yaprak patlamasına neden olduğu, oksinlerle kullanıldığında kök gelişimini teşvik ettiği bilinmektedir (McGaw, 1995). Çalışmada TDZ uygulamasının tomurcuk patlamasına sağladığı etki de bu bulguları doğrulamaktadır. Kallus kültüründen ise indirekt organogenes ile kök elde edilmiştir. Venkataiah ve ark. (2003), yaptıkları

çalışmada on adet biber çeşidinde çeşitlere göre değişen sayıda TDZ'den organogenesis elde etmişlerdir. Çalışmamız bu çalışma ile uyum içerisindedir. Thamidala ve Karampuri (2006), MS ortamında yetiştirilen biber bitkisinden alınan meristematik eksplantların sitokinin hormon çeşitlerini (BA, Kinetin, Zeatin, Kinetin, Thidiazuron) içeren ortamlara mikroüretimi sağlamak amacıyla yerleştirdiklerinde, en yüksek sürgün üretiminin Thidiazuron adlı sitokinin hormonunu içeren MS ortamında oluştuğunu belirtmişlerdir. Dumas Devaulx ve ark. (1981), Solanacea familyasının biber gibi birçok üyesinin hücre kültürü rejenerasyonunun inatçı olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca biber eksplantlarından elde edilen kallusların da inatçı olduklarını bildiren araştırmalar mevcuttur (Ochoa-Alejo ve Ireta-Moreno, 1990; Christopher ve Rajam, 1994; Ochoa-Alejo ve Ramirez-Malagon, 2001).

#### 4. SONUÇLAR

Çalışma sonunda kallus kültürüne dayalı süspansiyon kültürleri için de önemli sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışma bundan sonra yapılacak yalnızca mikroçoğaltım ve kök boğazı çürüklüğü hastalığına toleranslı çeşit geliştirmeye yönelik çalışmalar için değil aynı zamanda sekonder metabolit üretimi amacıyla yapılacak çalışmalar için de önemlidir ve aynı zamanda Kırşehir Cemele yerli biber genotipi üzerinde gerçekleştirilen ilk *in vitro* çalışma olma özelliği taşımaktadır.

#### Teşekkür

Bu çalışma, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından “ZRT.4001.12.005” numaralı proje olarak desteklenmiştir. BAP Ofisine ve ayrıca Cemele biberinin tohumlarının temin edilmesindeki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Serdar GENÇ'e (Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Kırşehir) teşekkür ederim.

#### Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

#### Kaynaklar

- Ammirato, P. V. (1983). The regulation of somatic embryo development in plant cell cultures. *Suspension Culture Techniques and Hormone Requirements*, 14(1), 68-74.
- Anonim, (2013). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. IBM Corp., Armonk, NY. <https://www.ibm.com/support/pages/spss-statistics-220-available-download>
- Ashrafuzzaman, M., Hossain, M. M., Ismail, M. R., Haque, M. S., Shahidullah, S. M., & Uz-zaman, S. (2009). Regeneration potential of seedling explants of chilli (*Capsicum annuum*). *African Journal of Biotechnology*, 8(4), 591-596.
- Atasoy, D., Baktemur, G., & Taşkın, H. (2021). Bazı biber (*Capsicum annuum* L.) genotiplerinin anter kültürü performanslarının belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 31(2), 282-293.
- Başak, H. (2019). Kırşehir yerel sivri biber (*Capsicum annuum* L. var. longum) populasyonlarının agronomik ve morfolojik karakterizasyonu. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg.*, 22(2), 202-216.
- Başak, H. (2021). Comparison of cemele pepper with bell pepper genotypes (*Capsicum annuum* L. var. grossum) with respect to agronomic and morphological characteristics. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 20(2), 121-134.
- Bayraktar, M., Hayta-Smedley, S., Unal, S., Varol, N., & Gurel, A. (2020). Micropropagation and prevention of hyperhydricity in olive (*Olea europaea* L.) cultivar 'Gemlik'. *South African Journal of Botany*, 128, 264-273. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629918324128?via%3Dihub>, Erişim Tarihi: 18 Şubat 2023.
- Berljak, J. (1999). *In vitro* plant regeneration from pepper (*Capsicum annuum* L. cv. 'Soroksari') seedling explants phyton (Austria). *Plant Physiology*, 39(3), 289-292.
- Binzel, M. L., Sankhla, N., Joshi, S., & Sankhla, D. (1996). Induction of direct somatic embryogenesis and plant regeneration in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Cell Rep.*, 15, 536-540. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00232989>, Erişim Tarihi: 18 Şubat 2023.
- Boyacı, S., Başak, H., & Altun, B. (2017). Potential of Kırşehir province in terms of horticulture. *International Journal of Science and Research*, 6(10), 1546-1550.



- Ceyhan, A. P., & Aktaş, H. (2020). Anther Kültürü Tekniği ile Dihaploid Nitelikli Üç Burun ve Dolma Tipli Biber Hatlarının Geliştirilmesi. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(1),199-205. <https://dergipark.org.tr/en/pub/ejbcs/issue/58824/822593>, Erişim Tarihi: 19 Şubat 2023.
- Christopher, T., & Rajam M. V. (1994). *In vitro* clonal propagation of Capsicum spp. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 38, 25–29. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00034439>, Erişim Tarihi: 19 Nisan 2023.
- Chu, C.C. (1978). The N6 medium and its application to anther culture of cereal crops. In: Proceedings of Symposium on Plant Tissue Culture, Science Press, Peking, [https://www.scirp.org/\(S\(czeh2tfqw2orz553k1w0r45\)\)/reference/referencespapers.aspx?referenceid=819145](https://www.scirp.org/(S(czeh2tfqw2orz553k1w0r45))/reference/referencespapers.aspx?referenceid=819145)
- Çimrin, K. M., Başak, H., & Turan, M. (2020). Farklı dozlarda tuz ve mikoriza uygulamalarının biberde hormon, antioksidan, fenolik ve organik asit içeriklerine etkisi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 25(3), 488-498.
- Çiner, D., & Tıprıdamaz, R. (2002). The effects of cold treatment and charcoal on the *in vitro* androgenesis of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Türk. J. Bot.*, 26, 131-139. <https://journals.tubitak.gov.tr/botany/vol26/iss3/2/>, Erişim Tarihi: 10 Ocak 2023.
- Çömlekçiöğlü, N., Büyükalaca, S., & Abak, K. (2001). Effect of silver nitrate on haploid embryo induction by anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.). XI. th. Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant, April 9-13, Antalya, 133-136
- Dalar, A. (2008). *Biber (Capsicum annuum L.) Bitkisi Çeşitlerinin Farklı Doku Kültürü Yöntemleri İle Mikroüretimi* [Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi].
- Duman, İ., & Gökçöl, A. (2017). Biber (*Capsicum annuum* L.) ve patlıcan (*Solanum melongena* L.) tohumlarının fidelik performanslarının iyileştirilmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 54(3), 333-340.
- Dumas De Vault, R., Chambonnet, D., & Pochard, E. (1981). *In vitro* culture of pepper (*Capsicum annuum*) anthers: high rate plant production from different genotype by 35° C treatment. *Agronomic*, 1(10), 859–864.
- Ebida, Aly, I.A., & Hu C. (1993). *In vitro* morphogenic response and plant regeneration from pepper (*Capsicum annuum* L.) seedling explants. *Plant Cell Rep.*, 13, 107–110. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00235301>
- Eken, N. İ., & Mavi, K. (2014). Çan biberinde *Capsicum baccatum* var. pendulum meyve olgunluk dönemleri ile tohum gelişimi ve kalitesi arasındaki ilişkilerin belirlenmesi. *Journal of Agricultural Sciences*, 22(1), 69-76.
- Ellialtıoğlu, Ş., Üstün, A.S., & Mehmetoğlu, Ü. (1998). Bazı biber çeşitlerinde *in vitro* kallus oluşumu için en uygun besin ortamı bileşiminin belirlenmesi. II. Kızılırmak Uluslararası Fen Bilimleri Kongresi, 20-22 Mayıs 1998.
- Ercişli, S., Eşitken, A., & Gülerüz, M. (1999). The effect of vitamins on the seed germination of apricots. *Acta Hort.*, 488, 437-440. [https://www.actahort.org/books/488/488\\_69.htm](https://www.actahort.org/books/488/488_69.htm), Erişim Tarihi: 10 Ocak 2023.
- Ergün, F. (2021). Kırşehir’de Yetiştirilen cemele biberinin biyoaktif bileşenlerinin ve antioksidan kapasitesinin belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 8(3), 693-701.
- Eroğlu, İ., Çamoğlu, G., & Demirel, K. (2020). Termografi Tekniği ile Biber Bitkisinde Su Stresinin ve Bazı Fizyolojik Özelliklerin Belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(3), 486-497.
- FAO, (2021). <http://www.fao.org.tr>
- Greenleaf, W. H. (1986). Pepper Breeding. In: (Editör: M.J. Basset). Breeding Vegetable Crops. AVI publishing company inc. Westport, Connecticut
- Groot, S. P. C., & Karssen, C. M. (1987). Gibberellins regulate seed germination in tomato by endosperm weakening: a study with gibberellin-deficient mutants. *Planta*, 171, 525-531. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00392302>, Erişim Tarihi: 15 Nisan 2023.
- Hernández-Pérez, T., Gómez-García, M., Valverde, M.E.R., & Paredes-López, O. (2020). *Capsicum annuum* (hot pepper): an ancient Latin-American crop with outstanding bioactive compounds and nutraceutical potential. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 19(6), 1–22.
- Kacar, B., & Katkat V. (2010). *Bitki Besleme* (5. Baskı). Nobel Yayın Dağıtım Tic. Ltd. Şti.

- Karaağaç, O., & Balkaya, A. (2010). Bafra kırmızı biber populasyonlarının (*Capsicum annuum* L. var. *conoides* (Mill.) Irish) tanımlanması ve mevcut populasyonun değerlendirilmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 25(1), 10-20.
- Karakurt, Y., Cesur, E., & Güvercin, D. (2020). Molecular Characterization of Pepper (*Capsicum annuum* L.) Genotypes Using SSR Markers. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 57(2), 185-189.
- Li, Y. X., Zhang, C., Pan, S., Chen, L., Liu, M., Yang, K., & Tian, J. (2020). Analysis of chemical components and biological activities of essential oils from black and white pepper (*Piper nigrum* L.) in five provinces of southern China. *LWT - Food Science and Technology*, 117(108644). <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0023643819309867?token=2D4F4CDBC6E5F7A3F53864B9B3DF1E012B9BCD973B967F4CAF3A64A793FABD023D695AF787F3B3C91B10FBCC67392F84&originRegion=eu-west-1&originCreation=20230512090303>, Erişim Tarihi: 09 Şubat 2023.
- McGaw, B. A., & Burch, L. R. (1995). Cytokinin biosynthesis and metabolism. In P. J. Davies (Eds.), *Plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, Kluwer academic Publisher, Dordrecht, Netherlands. <https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=AVTtCAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP8&dq=Cytokinin+biosynthesis+and+metabolism.+Plant+Hormones,+Physiology,+Biochemistry+and+Molecular+Biology>, Erişim Tarihi: 10 Ocak 2023.
- Morrison, R. A., Koning R. E., & Evans D. A. (1986). Pepper. In D. A. Evans, W. R Sharp & P. V. Ammirato (Eds.), *Handbook of Plant Cell Culture*. <https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=9141595>, Erişim tarihi 05 Mart 2023.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15, 473-497. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Ochoa-Alejo N., & Ramirez-Malagon, R. (2001). *In Vitro* Chili Pepper Biotechnology. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 37, 701-729. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11627-001-0121-z>, Erişim Tarihi: 17 Nisan 2023.
- Ochoa-Alejo, N., & Ireta-Moreno, L. (1990). Cultivar differences in shoot forming capacity of hypocotyls tissues of chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) cultured *in vitro*. *Sci. Hort.*, 42(1-2), 21-28.
- Oğuzkan, B. S., Can, M., Kılıç, H. İ., Uğraş, H. İ., & Özaslan, M. (2018). Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetişen yeşil acı biberlerdeki kapsaisinin DNA koruyuculuğu üzerine etkisi. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 21(1), 26-31.
- Otroshy, M., Moradi, K., & Khayam Nekouei M. (2011). Effect of different cytokinins in propagation of *Capsicum annuum* L. by *In vitro* nodal cutting. *Journal of Sciences*, 9(3), 21-30.
- Raval, M., & Chattoo, B. B. (1993). Role of media constituents and proline in callus growth, somatic embryogenesis and regeneration of *Oryza sativa* cv Indica. *Indian J Exp Biol.*, 31(7), 600.
- Sağlam, S. (2014). *Cemele biber genotipinin (Capsicum annuum L.) hipokotil eksplantından indirekt organogenesis*, II. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, Yalova. [https://www.bingol.edu.tr/documents/TAB%20bildiri%20OzetKitabi%20sf\\_128,129.pdf](https://www.bingol.edu.tr/documents/TAB%20bildiri%20OzetKitabi%20sf_128,129.pdf)
- Sanatombi, K., & Sharma G. J. (2007a). Micropropagation of *Capsicum frutescens* L. using axillary shoot explants. *Scientia Horticulturae*, 113(1), 96-99.
- Sanatombi, K., & Sharma G. J. (2007b). Micropropagation of *Capsicum annuum* L. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*. 35(1), 255-965.
- Saxena, P., Gill, R., Rashid, A., & Maheswari, S. C. (1981). Isolation and culture of protoplast of *Capsicum annuum* L. and their regeneration into plants flowering *in vitro*. *Protolasma*, 108, 357-360. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02224429>
- Şalk, A., Arın, L., Deveci, M., & Polat, S. (2008). Özel Sebzeçilik. Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları.
- Thamidala, C., & Karampuri, S. (2006). *In vitro* shoot multiplication and plant regeneration in four *Capsicum* species using thidiazuron. *Scientia Horticulturae*, 107(2), 117-122.
- Tisserat, B. (1991). Embryogenesis, organogenesis and plant regeneration. In R. A. Dixon (Eds.), *Plant Cell Culture: A Practical Approach*, IRL Pres, Oxford. [https://www.researchgate.net/publication/323915645\\_Embryogenesis\\_organogenesis\\_and\\_pla](https://www.researchgate.net/publication/323915645_Embryogenesis_organogenesis_and_pla)

- [nt regeneration In Plant Tissue Culture A Practical Approach R A Dixon ed Pp 79-106 Information Retrieval Limited Press Oxford England 1985](#), erişim tarihi:14 Nisan 2023
- TÜİK, (2022). Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr>.
- Üstün, A. S. (1990). *Biberde Kökboğazi Yanıklığı (Pythophthora capsici Leon.) Hastalığına Dayanıklılığının Nedenlerinin Fizyolojik ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi* [Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi].
- Venkataiah, P., Christopher, T., & Subhash, K. (2003). Thiadiazuron induced high frequency adventitious shoot formation and plant regeneration in *Capsicum annuum* L. *J. Plant Biotechnol.*, 5, 245-250. [https://www.researchgate.net/publication/284689541\\_Thiadiazuron\\_induced\\_high\\_frequency\\_adventitious\\_shoot\\_formation\\_and\\_plant\\_regeneration\\_in\\_Capsicum\\_annuum\\_L](https://www.researchgate.net/publication/284689541_Thiadiazuron_induced_high_frequency_adventitious_shoot_formation_and_plant_regeneration_in_Capsicum_annuum_L)
- Vivek, H., Partap P. S., & Yadav, R. C. (2017). *In Vitro* regeneration of capsicum (*Capsicum annuum* L.) from cotyledon explants. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 6(5), 225-237.
- Watkins, J. T., & Cantlife, J. D. (1983). Hormonal control of pepper seed germination. *Hort Sci.*, 18(3), 342-343.