

*** İKLİM KOŞULLARINA KARŞI FARKLI ADAPTASYON YETENEKLERİNE SAHİP BİBERLERDE (*Capsicum annuum L.*) ANTER KÜLTÜRÜNE MEVSİM ETKİSİ**

In Peppers (*Capsicum annuum L.*), That Adaptation to Climate Conditions Against Different Capabilities Effect of Season to Anter Culture

Atilla ATA
Bahçe Bitkileri

Prof Dr. Saadet BÜYÜKALACA
Bahçe Bitkileri

ÖZET

Bu çalışmada iklim koşullarına adaptasyon bakımından farklı özelliklere sahip (düşük ve yüksek sıcaklığa tolerant ve hassas) biber genotiplerinde, farklı zamanlarda embriyo oluşumu ve bitkiye dönüşümü belirlenerek iklim koşulları ile genotiplerin adaptasyon yetenekleri arasındaki ilişkinin varlığını bulmak amaçlanmıştır. Farklı genotiplere ait tek çekirdekli mikrosporları içeren anterler daha önceden hazırlanmış olan iki farklı BAP konsantrasyonu içeren MS besin ortamına 12 boyunca her ay dikilmiştir. En yüksek embriyo verimi ağustos ayında % 66.36 oranı ile İnan 3363 kültür çeşidinde, en yüksek oranda bitkiye dönüşüm ise tüm genotiplerde Nisan ayında gerçekleşmiştir. Genotiplerin farklı iklimlere adaptasyon yetenekleri ile embriyo oluşumu arasında ilişkinin olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler : Biber anter kültürü, mevsim etkisi

ABSTRACT

In this study, pepper genotypes that they have different capabilities to climatic conditions adaptation (low and high temperature tolerant and sensitive), determining the climatic conditions at different times of embryo formation and plant transformation with the genotypes were to find the existence of the relationship between adaptation. Anthers of different genotypes, that has single core microspore, planted each month for 12 to MS medium that containing two different BAP concentration. Highest embryo ratio was obtained from İnan 3363 cultivar variety that tolerant genotypes to high temperature the highest rate of all genotypes in plant transformation took place in April. Adaptation of genotypes to different climates with embryo formation between relationship were determined.

Key Words : Pepper, anther culture, effect of season

Giriş

Doku kültürü teknikleri içerisine giren haploid bitki üretimi bitki ıslahında önemli bir yere sahiptir (Heiser, 1976; Andrews, 1985). Haploidi tekniği ıslah sürecini kısalttığı için sebze ıslahında geniş uygulama alanı bulmuştur. Koleva-Gudeva ve ark. (2007) nın bildirdiğine göre; ilk anter kültürü yoluyla *in vitro* haploid biber çalışması Wang ve ark. (1973) tarafından yapılmıştır. Biberde anter kültürü

* Yüksek Lisans Tezi Msc Thesis

yoluyla ilk polen embryogenesisi 1973 yılında George ve Narayanaswamy tarafından yapılmıştır. Tekrar edilebilir metot Dumas de Valux ve ark. (1981) tarafından geliştirilmiştir. Ellialtıoğlu ve Tıyrıdamaz (2002) bildirdiğine göre ülkemizde biberde anter kültürü yoluyla ilk çalışmalar Abak (1983) tarafından yapılmıştır.

Anter kültüründe başarı genotip, donör bitkinin yetiştirilme koşulları, antere yapılan ön uygulamalar, inkübasyon koşulları ortam gibi pek çok koşula bağlıdır. (Bajaj 1990).

Mevsim etkisi (Tiainen 1992;, Yang ve ark. 1992;, Kristiansen ve Andersen, 1993;, Matsubara ve ark 1998;, Büyükalaca ve ark., 2004;, Mohamed ve Refaei, 2004;, Taşkın, 2005;, Ercan ve ark., 2006) tarafından bildirilmiştir.

Biberde anter kültürü ıslah çalışmalarında kullanılmakta ve bu yolla yeni çeşitler geliştirilmektedir. Ancak embriyo ve bitkiye dönüşümde; yetiştirilme koşulları, ortam, uygulama zamanı ve genotipe göre farklılık göstermesi ve bütün genotiplerde yüksek oranda haploid bitki elde edilememesi yöntemin yaygınlaşmasını engelleyen faktörlerdir.

Bu çalışmanın amacı farklı adaptasyon yeteneklerine sahip biber genotiplerinin (düşük ve yüksek sıcaklığa hassas ve tolerant genotiplerin) bir yıl boyunca her ay embriyo ve bitkiye dönüşüm oranları tespit edilerek; farklı iklim istekleri ile embriyo ve bitkiye dönüşüm arasında bir ilişkinin varlığını ortaya çıkarmak olmuştur.

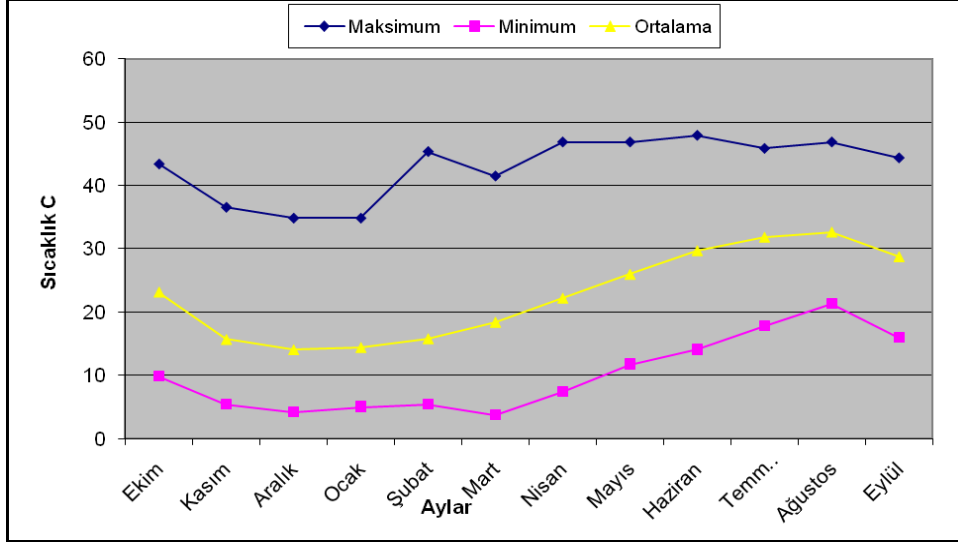
Materyal ve Metot

Materyal

Bu çalışmada Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsüne ait iklim koşullarına farklı adaptasyon yeteneklerine sahip biber genotipleri (düşük ve yüksek sıcaklıklara tolerant ve hassas) kullanılmıştır

Metot

Tohumlar fide yetiştirmek amacıyla fide yetiştirme serasında torf: perlit (2 h / 1 h) karışımı harç içeren viyollere iki dönem olarak 27.07.2009 ve 08.02.2010 tarihlerinde viyollere ekilmiş ve elde edilen fideler fideler 6-7 gerçek yapraklı dönemde iken 03.09.2009 ve 02.04.2010 tarihlerinde 50x100 cm aralıklarla plastik seraya her genotipten 50 bitki olacak şekilde dikimleri gerçekleştirilmiştir. Gelişimi için gerekli ilaçlama ve gübreleme yapılmıştır. Şekil 1 de deneme süresince yetiştirme alanında oluşan maksimum, minimum ve ortalama sıcaklık değerleri verilmiştir



Şekil 1. Deneme süresince deneme serasındaki maksimum, minimum ve ortalama sıcaklık değerleri

Kültüre alınan anterlerin bulunduğu gelişme aşaması haploid embriyo elde edilmesini etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Bunun için en uygun aşama, mikrosporların tek çekirdekli aşamanın sonunda ve/veya iki çekirdekli aşamanın başında olduğu (I. mitoz bölünmesinin başladığı) dönemdir. Daha önce yapılan çalışmalarda biber çiçek tomurcuklarında, çanak yaprak ve taç yaprak boylarının eşit olduğu veya taç yaprakların çanak yapraklardan biraz daha uzun olduğu, anterlerin yaklaşık yarı boyuna kadar antosiyan oluşumunun görüldüğü gelişme aşamasında mikrosporların I. mitoz aşamasında olduğu bildirilmiştir (Chambonnet, 1988). Bu morfolojik dönemdeki anterleri içeren tomurcuklar Ekim 2009dan Eylül 2010 kadar her bir defa toplanarak % 15'lik sodyum hipoklorit çözeltisi içinde 15 dakika strelize edilerek streil koşullarda streil saf su ile durulanmış pens ve bistüri yardımıyla 5 tekrür ve her tekrürde 25 anter olacak şekilde iki farklı BAP konsantrasyonuna sahip MS besin ortamına dikilmiştir.

Ortam I: MS ortamına eklenen 4 mg/l NAA, 0.1 mg/l BAP, % 0.25 aktif kömür ve 30 g/l sakkaroz ile 15 mg/l AgNO₃

Ortam II: MS ortamına eklenen 4 mg/l NAA, 0.5 mg/l BAP, % 0.25 aktif kömür ve 30 g/l sakkaroz ile 15 mg/l AgNO₃ ortamları kullanılmıştır. Ortamlara dikilmişlerdir.

Anterlerde oluşan embriyoların bitkiye dönüşümü için BGD içermeyen 30g/l sakkaroz içeren MS besin ortamlarına dikilmişlerdir.

Bulgular ve Tartışma

Aylara Göre Embriyo Oranı

Aylara göre embriyo oranı Çizelge 1'de verilmiştir. 277A nolu genotipin I nolu ortama dikilen anterlerinden en yüksek embriyo oranı Nisan (% 26.86) ve Ocak (% 14.28) aylarında elde edilirken, Temmuz ve Mayıs aylarında ortamlara dikilen anterler embriyo oluşturmamıştır. II nolu ortama dikilen anterlerinden ise Ekim % 23.20 ve Nisan % 10.62 oranında embriyo oluşumu meydana gelirken, Temmuz ayında embriyo oluşmamıştır. Her iki ortama dikilen anterlerin embriyo oluşturma oranı beraber incelendiğinde Nisan (% 18.74), Ekim (% 16.97) ve Ocak (% 14.88) öne çıkan aylar olmuşlardır. Temmuz ayında embriyo oluşumu meydana gelmezken Şubat ayında % 2.78 oranında embriyo oluşmuştur.

İnan 3363 kültür çeşidinin I nolu ortamına dikilen anterlerinde; Eylül (% 24.38), Mayıs (% 22.10), Ağustos (%20.95) ve Ekim (% 18.95) aylarında yüksek oranda embriyo oluşurken, en düşük oranlar Şubat (% 0.0,) Haziran (% 3.43) ve Aralık (% 4.67) aylarında gerçekleşmiştir. II nolu ortama dikilen anterler ise, Ağustos, Mayıs, Ekim ve Eylül aylarında % 40.79, 31.31, 23.15 ve 17.47 oranları ile embriyo oluştururken; en düşük embriyo oranı Şubat % 0.00 ve Aralık % 4.73 aylarında elde edilmiştir.

421 nolu genotipi I nolu besin ortamında en yüksek embriyo oranları Nisan (% 11.23) ve Aralık (% 9.81) aylarında elde edilirken, Ekim, Kasım, Ocak, Şubat, Mart, Mayıs Haziran ve Temmuz aylarında embriyo elde edilememiştir. II nolu ortama dikilen anterler ise, % 7.72 ve % 12.78 oranları ile Aralık ve Nisan aylarında en yüksek seviyeler ulaşırken, Kasım, Ocak, Şubat, Mart, Mayıs Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında embriyo elde edilememiştir.

195 nolu genotipten I nolu besin ortamına dikilen anterlerden embriyo oluşturma oranı en yüksek % 19.33, % 13.47 ve % 12.57 ile Temmuz, Eylül ve Nisan aylarından elde edilirken, Ekim, Kasım, Aralık, Ocak, Şubat, ve Mayıs aylarında ortama dikilen anterler embriyo oluşturmamışlardır. II nolu ortama dikilen anterler ise, % 34.67 ve % 10.40 embriyo oranları ile Temmuz ve Ağustos aylarında en yüksek seviyeler ulaşırken, Ekim, Kasım, Aralık, Ocak, Şubat, ve Mayıs aylarında embriyo oluşturmamışlardır.

Çizelge 1 incelendiğinde, embriyo oranı, Ocak ve Nisan aylarında 277A nolu genotip, I nolu besin ortamında Mart, Mayıs, Ağustos, Eylül ekim aylarında, İnan 3363 genotip II ve I nolu ortamlar ve Temmuz ayında, 195 nolu genotip II nolu besin ortamında yüksek bulunmuştur. Düşük sıcaklıklara tolerant ve yüksek sıcaklıklara hassas genotipler sıcaklığının düşük olduğu dönemlerde, yüksek sıcaklıklara tolerant ve düşük sıcaklıklara hassas genotipler sıcaklığının yüksek olduğu aylarda yüksek oranda embriyo oluşturmuşlardır. Şubat ve Haziran aylarında tüm genotiplerin embriyo oranları düşük bulunmuştur. Anter kültüründe başarının genotip, (Morison ve ark 1986; Bajaj 1990; Karakullukçu ve Abak 1992; Mityko ve ark 1995; Rodeva ve ark. 2004; Taşkın 2005;), bitkinin yetiştirilme koşulları, (Tiainen 1992; Yang ve ark. 1992; Kristiansen ve Andersen, 1993; Matsubara ve ark 1998; Büyükalaca ve ark. 2004; Mohamed ve Refaei, 2004;

Taşkın, 2005; Ercan ve ark. 2006) ortamlar, (Karakullukçu ve Abak 1993; Dias ve Martins 1999; Çömekçioğlu ve ark. 1999; Ercan ve ark. 2001; Büyükalaca ve ark., 2004; Taşkın, 2005; Koleva-Gudeva ve ark. 2007) ve donör bitkinin yaşamış olduğu stres faktörleriyle (Lu ve ark. 1990) ilgili olduğu bildirilmiştir. Bunlardan farklı olarak bu çalışmada anter kültüründe başarıyı, farklı iklim isteklerine sahip genotiplerin farklı yetiştirme dönemlerinde farklı etkileyebileceği belirlenmiştir. Ercan ve ark.

Çizelge 1. Aylara göre embriyo oranı %

Genotipler	Ortamlar	EKİM	KASIM	ARALIK	OCAK	ŞUBAT	MART
277A	I	10.74	10.79	11.99	27.37	2.40	7.75
	II	23.20	2.98	0.00	2.40	3.16	0.00
İnan 3363	I	37.45	12.80	5.67	12.83	0.00	18.78
	II	44.47	20.98	5.73	12.19	0.71	29.14
421	I	0.00	0.00	12.14	0.00	0.00	0.00
	II	0.95	0.00	7.48	0.00	0.00	2.40
195	I	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.25
	II	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.95
		NİSAN	MAYIS	HAZİRAN	TEMMUZ	AĞUSTOS	EYLÜL
277A	I	26.86	0.00	6.67	0.00	2.48	13.80
	II	10.62	6.02	0.80	0.00	5.00	3.33
İnan 3363	I	10.15	50.30	5.14	13.74	27.59	57.05
	II	8.07	64.72	8.80	10.87	66.36	45.60
421	I	12.78	0.00	0.00	0.00	0.83	4.15
	II	7.72	0.00	0.00	0.00	0.00	0.67
195	I	12.57	0.00	3.20	19.33	8.67	13.47
	II	6.71	0.00	1.33	34.67	10.40	1.33

Aylara Göre Bitkiye Dönüşüm Oranı

Aylara göre bitkiye dönüşüm oranları Çizelge 2 verilmiştir. 277A nolu genotipin I nolu besin ortamından elde edilen embriyoları Nisan Haziran Ocak ve Kasım aylarında en yüksek bitkiye dönüşüm oranları ile öne çıkarken; Eylül, Mart, ve Ekim aylarında bitkiye dönüşüm oranları düşük bulunmuştur. II nolu besin ortamından elde edilen embriyolar ise en yüksek Ocak Ağustos ve Kasım aylarında bitkiye dönüşürken, Ekim ve Şubat ayında düşük bulunmuştur.

İnan 3363 kültür çeşidinin I nolu besin ortamından elde edilen embriyoları Nisan Ağustos ve Ocak aylarında bitkiye dönüşümü yüksek bulunurken, Kasım Şubat Temmuz ve Eylül aylarında düşük bulunmuştur. II nolu ortamdan elde edilen

embriyolarda ise Mart Nisan ve Eylül ayları yüksek bulunurken, Ekim Kasım, Aralık ve Ocak aylarında düşük bulunmuştur.

421 nolu genotip I nolu besin ortamından elde edilen embriyolar sadece Eylül ve Nisan aylarında bitkiye dönüşürken, diğer aylarda bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. 421 nolu genotipin II nolu besin ortamından elde edilen embriyolarında bitkiye dönüşüm Aralık ve Nisan ayında gerçekleşmiştir.

195 nolu genotipin I nolu besin ortamından elde edilen embriyolarda bitkiye dönüşüm En yüksek Mart ve Nisan aylarında meydana gelmiş, Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında bitkiye dönüşüm düşük olarak gerçekleşmiştir. II nolu besin ortamından elde edilen embriyolarda en yüksek oranda bitkiye dönüşüm Mart, Nisan, Haziran ve Ağustos aylarında meydana gelirken, Eylül ayında bitkiye dönüşüm gerçekleşmemiştir. Bitkiye dönüşüm hem ortam, hem de genotiplerden etkilenmektedir. (Chuong ve Beversdorf, 1985; ,Karakullukçu ve Abak, 1992; Mityko ve ark. 1995;. Taşkın 2005; Mohamed ve Refaei 2005).

Çizelge 2. Aylara göre bitkiye dönüşüm oranı %

Genotipler	Ortamlar	EKİM ES/BDO	KASIM ES/BDO	ARALIK ES/BDO	OCAK ES/BDO	ŞUBAT ES/BDO	MART ES/BDO
277A	I	13/15.38	16/37.50	23/23.81	32/43.75	3/33.33	9/22.22
	II	37/2.70	4/25.00	0/0.00	3/100.00	3/0.00	0/0.00
İnan 3363	I	47/10.64	17/0.00	5/40.00	15/46.67	1/0.00	21/52.38
	II	40/7.50	29/0.00	6/0.00	20/0.00	0.00	35/34.29
421	I	0/0.00	0/0.00	23/31.82	0/0.00	0/0.00	0/0.00
	II	0/0.00	0/0.00	11/18.18	0/0.00	0/0.00	3/0.00
195	I	0/0.00	0/0.00	0.00	0/0.00	0/0.00	5/60.00
	II	0/0.00	0/0.00	0.00	0/0.00	0/0.00	3/100.00
		NİSAN ES/BDO	MAYIS ES/BDO	HAZİRAN ES/BDO	TEMMUZ ES/BDO	AĞUSTOS ES/BDO	EYLÜL ES/BDO
277A	I	26/76.92	0/0.00	10/30.00	0/0.00	4/25.00	15/0.00
	II	13/30.37	9/22.22	1/0.00	0/0.00	6/33.33	5/0.00
İnan 3363	I	12/83.81	79/22.78	9/0.00	19/0.00	52/30.77	89/6.74
	II	11/81.82	79/20.25	11/18.18	16/18.75	119/22.69	63/33.33
421	I	14/28.57	0/0.00	0/0.00	0/0.00	1/0.00	6/100.00
	II	8/87.50	0/0.00	0/0.00	0/0.00	0/0.00	1/0.00
195	I	13/38.47	0/0.00	4/0.00	29/3.45	13/7.69	2/0.00
	II	7/57.14	0/0.00	2/100.00	46/10.87	13/69.23	20/0.00

Sonuçlar

Besin ortamları bakımından sıcaklığın nispeten daha düşük olduğu Kasım, Aralık, Ocak, Nisan ve Eylül aylarında I nolu besin ortamı (MS + 30g/l sakkaroz + % 0.25 aktif kömür + 15 mg/l AgNO₃ + 4 mg/l NAA + 1 mg/0.1BAP) ve sıcaklığın

daha yüksek olduğu Ekim, Mart, Mayıs, Temmuz ve Ağustos aylarında II nolu besin ortamı (MS + 30 g/l sakkaroz + % 0.25 aktif kömür+ 15 mg/l AgNO₃ + 4 mg/l NAA + 0.5 mg/l BAP) daha başarılı bulunmuştur. Bahar ve yaz aylarında sürgün gelişmesi yoğun olduğundan bitkinin içsel oksin seviyesi yüksek olduğu için daha yüksek seviyede sitokinin içeren II nolu besin ortamında daha başarılı sonuçların elde edilirken, sürgün gelişmesinin daha az olduğu ve buna bağlı olarakda içsel oksin seviyesinin düştüğü kış aylarında I nolu ortam daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Değişik zamanlarda elde edilen embriyolarda bitkiye dönüşüm bütün genotiplerde zamanlara ortama ve genotiplere göre farklılık göstermiştir. Nisan ayı bütün genotiplerde yüksek oranda bitkiye dönüşüm ile öne çıkmıştır. Taşkın (2005), farklı zamanlarda kültüre alınan anterlerde oluşan embriyoların en yüksek bitkiye dönüşüm oranının Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında gerçekleştiğini bildirmiştir.

Kaynaklar

- ABAK, K., 1983. Biberde (*Capsicum annuum L.*) anter kültürü yoluyla haploid bitki elde etme üzerinde araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı. Cilt: 33, 155-163
- ANDREWS, J., 1985. Peppers. The Domesticated Capsicum. University. of Texas Pres, Box 7819 Austin, Texas 78713.
- BAJAJ, 1990. Y.P.S. Bajaj, In vitro production of haploids and their use in cellgenetics and plant breeding, Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 12, Haploids in Crop Improvement I (1990) pp. 372–380.
- CHAMBONNET, D., 1988. Production of haploid pepper plants. Bulletin interne de la station d'Amelioration des Plantes Maraicheres d'Avignon-Montfavet, France, 1-10
- ÇÖMLEKÇİOĞLU, N., BÜYÜKALACA, S., and ABAK, K., 1999. Şanlıurfa ve Kahramanmaraş biber popülasyonlarında anter kültürü yöntemiyle haploid bitki elde etme olanakları. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ankara, 897-900.
- BÜYÜKALACA, S., ÇÖMLEKÇİOĞLU, N., ABAK, K., EKBİÇ, N., 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.
- DUMAS DE VAULX, R., and CHAMBONNET, D., and SIBI, M., 1981. Culture in vitro d'antheres de piment (*Capsicum annuum L.*): amelioration des taux d'obtention de plantes chez differents genotypes par de traitements A+35°C. Agronomie, 11:859
- ERCAN, N., BOYACI, F., and 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., SENSOY, F., 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 Scientia Horticulturae. 110 (1): 16-20.
- ELLİALTIOĞLU, Ş., and TIPIRDAMAZ, R., 2002. Soğuk uygulamaları ve aktif kömürün biberde (*Capsicum annuum* L.) Anter Kültürü Süresince Absisik Asit Miktarındaki Değişim Üzerine Etkisi. Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi; 15(1):9-18.
- HATİPOĞLU, R., 1997. Bitki Biyoteknolojisi. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Genel YayınNo: 190. Ders Kitapları Yayın No: A-58.
- MOHAMED, M.F., and REFAEI E. F. S., 2004 Enhanced haploids regeneration in anther culture of summer squash (*cucurbita pepo* l.) Cucurbit genetics cooperative report 27:57-60 (2004)
- MORRISON, R., KONING, R.E., and EVANS, D.A., 1986. Anther culture of an interspecific hybrid of Capsicum. J. Plant Physiol,126:1-9.
- TAŞKIN, H., 2005. Bazı biber genotiplerinde anter kültürü ile haploid embriyo uyartımında embriyo kalitesinin artırılmasına yönelik bazı uygulamalar. Ziraat Fakültesi Yüksek Lisans, Sayfa Sayısı: 79.
- MITYKO, J., ANDRASFALVY, 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.
- KELEŞ, D., 2007. Farklı biber genotiplerinin karakterizasyonu ve düşük sıcaklığa tolerans Sayfa sayısı 212.
- KARAKULLUKÇU, Ş., ve ABAK, K., 1992. Bazı patlıcan çeşitlerinin anter kültürüne tepkileri. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yıllığı. Cilt:42, Fasikül: 1-2-3-4. s:7-12
- KARAKULLUKÇU, Ş., ve ABAK, K., 1993. Patlıcanda anter kültürü üzerinde araştırmalar. I. Şeker ve büyümeyi düzenleyicilerin etkileri. Doğa-Türk Journal of Agricultural and Forestry, 17:811-820.
- KOLEVA-GUDEVA, L.R., SPASENSKI, M., and TRAJKOVA, F., 2007. Somatic embryogenesis in pepper anther culture: The effect of incubation treatments and different media. Scientia Horticulturae, 111 (2007) 114–119.
- 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, 1991.
- MATSUBARA, S., YAMAMOTO, M., JO, M.H., and MURAKAMI K., 1998. Embryoid and callus formation from microspor by anther culture from july to november in pepper (*Capsicum annuum* L.) Scientif Report of the Faculty of Agriculture Okoyama University vol. 87,117-122 (1998)
- RODEVA, V.N., IRIKOVA, T.P., and TODOROVA, V.J., 2004 Anther culture of pepper (*Capsicum annuum* L.) Comparative study on effect of the genotype Biotechnol. & Biotechnol. Eq. 18/2004/3
- CHUONG, P.V., and BEVERSDORF, W.D., 1985. High frequency embryogenesis through isolated microspore culture in *Brassica napus* L. and *B. Carinata braun*. Plant Science, Volume 39, 3:219-226.

- TIAINEN, T., 1992. The influence of culture conditions on anther culture respons of commercial varieties of *Solanum tuberosum* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 30:211-219.
- KRISTIANSEN, K., and ANDERSEN, B., 1993. Effect of donor plant temperature, photoperiod and age on anther culture response of *Capsicum annuum* L. *Euphitica* 67:105-109.
- DIAS, J.S., and MARTINS, M.G., 1999. Effect of silver nitrate on anther culture embryo production of different *Brassica oleracea* morphotypes. *Scientia Horticulturae* 82:299-307.
- WANG, Y.Y., SUN, C.S., WANG, C.C. and CHIEN, N.J., 1973. The induction of polen plantlets of Triticale and *Capsicum annuum* from anther culture. *Sci. Sin* 16: 147-151.