

Biber Anter Kültüründe Uygun Tomurcuk Büyüklüğü ile Besin Ortamı İçeriklerinin Embriyo Verimine Etkileri Üzerine Bir Araştırma*

Ayla SAYILIR¹

Ercan ÖZZAMBAK²

Summary

An Investigation for Embryo Yield Effects of Suitable Flower Bud Size with Nutrient Media Contents in Anther Culture of Pepper

Six pepper cultivars were used in this study. Flower buds from these cultivars were grouped into three sizes. Anthers were extracted from these buds and cultured in six nutrient media composed of basic MS (Murashige and Skoog,1962) and N (Nitsch and Nitsch,1969 H) including 4 mg/L NAA+ 0.1 mg/L BA added active charcoal and carrot extract. The best results were obtained from MS+ 4 mg/L NAA+ 0.1 mg/L BA with both activated charcoal and carrot extract added,one of them added or none of them added. The best embryo yield was obtained from anthers of Çarliston Bağcı taken from 5-6 mm buds and cultured in MS+4 mg/L NAA+ 0.1 mg/L BA. Charcoal alone did not show positive effect. N+4 mg/l NAA+0.1mg/l BA+%0,1 active charcoal +200ml carrot ekstract, gave good results.

Key words: *Capsicum annuum L.*, anther culture, androgenesis, haploids.

Giriş

Sera biber yetiştiriciliğinin tamamıyla F₁ hibrit biber çeşitleri ile yürütüldüğü herkes tarafından bilinmektedir. Biber üretimini sınırlayan ana faktörlerden birisi de bakteriyel ve viral hastalıklardır. İslah çalışmalarının ana hedefi; hastalıklara dayanıklılık, yerli çeşitlere meyve tutabilme vb. gibi istenen özelliklerin kazandırılması ya da bu özellikleri taşıyan yeni çeşitlerin ıslah edilmesidir (Vural ve ark.,

¹ Dr. E.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, 35100 Bornova- İZMİR
(aylasay@hotmail.com)

² Prof .Dr. E.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, 35100 Bornova- İZMİR
(m.ercan.ozzumbak@ege.edu.tr)

* E.Ü. Araştırma Fonu Proje No: 99-ZRF-001

2000). Biber bitkisinin, yüksek derecede yabancı tozlanma gösterdiğinden karakteristik özelliklerini hızla kaybettiği gözlenmektedir. Bu problem, uzun süren geleneksel ıslah metotları yerine çok daha kısa sürede gerçekleştirilebilen F₁ hibrit ıslahında yoğunlaşmak üzere ıslahçıların harekete geçmelerini sağlamıştır (Kalloo, 1988; Wan and Widholm, 1988; Kristiansen and Andersen, 1993; Vagera, 1990).

Çağımıza damgasını vuran ve tüm biyolojik konularda geniş olanaklar sağlayan biyoteknolojinin önemli dallarından birisi olan bitki doku kültürü teknikleri, bitki ıslahçılarına büyük kolaylıklar sağlamaktadır. Solanaceae familyasından domates ve patlıcanda transgenik çeşitler geliştirilmekle birlikte biber bitkisinde yapılan çalışmalar daha yenidir (Steinitz ve ark., 1999). Biberde yapılan çalışmalara geldiğimizde ilk yapılan çalışmaların çoğunun, poliembriyoni üzerinde yoğunlaştığı görülmüştür. Poliembriyoni durumunda normal döllenme sonucu oluşan zigotun yanında, komşu sinergit hücrelerinden birinin de bölünerek haploid embriyo oluşturması söz konusudur. Böylece tohum içerisinde biri haploid, diğeri haploid yapıda iki embriyo bulunur. Bununla birlikte poliembriyoni her zaman yüksek oranda haploid vermemekte ve başarı oranı oldukça düşük olmaktadır. Son zamanlarda anter kültürü ile daha yüksek başarı elde edilebildiği bildirilmektedir. Haploid biber bitkiciklerinin üretimine ait ilk yayınların, 70'li yılların ilk yarısında yapıldığına Vagera (1990) işaret etmektedir.

Vagera (1990) ve Dolcet-Sanjuan ve ark. (1997), biber kültüründe başarı için, çiçek tomurcuklarının kaliks ve korollanın aynı boyda veya korollanın biraz daha uzun olduğunda toplanması gerektiğini vurgulamışlardır. Bu tomurcuklar, kenarları menekşe renkli yeşil anterleri içermektedir. Genellikle Tomurcuk görünümü ve anter görünümü ile mikrospor gelişimi arasındaki korelasyonlar çok açık olmaktadır. Sapma, özellikle kış aylarında sera koşullarında kültür sırasında meydana gelmektedir.

Bu çalışmada, altı değişik biber çeşidinde ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere haploid fertler elde etmek için anter kültürü yöntemi uygulanmıştır. Biber anter kültüründe etkili tomurcuk büyüklüğü tespiti ve büyüme düzenleyici maddelerin karışımlarının embriyo oluşumuna etkileri incelenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Araştırmada açık arazide yetiştirilen altı değişik biber çeşidi; Ege Acı Sivri, Demre Sivrisi, Kandil Dolma, Charlston Bağcı, Tatlı

Sivri Kıl ve Acı Sivri Ilıca-256 kullanılmıştır. Çiçek tomurcukları Haziran- ağustos ayları içerisinde toplanarak, anterleri izole edilmiş ve kültüre alınmıştır.

I. Denemede yapılan uygulamalar:

Morfolojik görünümüne göre (yani taç yaprakların çanak yaprakları geçmeye başlamasından tomurcuk patlamasına yakın evreye yakın tomurcuk büyüklükleri) sınıflandırılan tomurcukların anterlerindeki mikrospor oluşum aşamalarını belirlemek amacıyla sitolojik gözlemler yapılmış, bu amaçla asetokarmin yönteminden yararlanılmıştır. Asetokarmin yönteminde örnekler önce Farmer tesbit çözeltisinde (3 kısım alkol:1 kısım glasiyalaseik asit) 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiş, bu sürenin sonunda % 70' lik etil alkol içinde birkaç kez çalkalandıktan sonra yine alkol içinde + 4 °C' de muhafaza edilmiştir. Elçi (1982) ve İnce (1989)'ye göre hazırlanan %1'lik asetokarmin ile boyama yapılacağı zaman, anterler bir lam üzerine konarak ok uçlu iğne ve pens yardımıyla mikrosporlar serbest hale getirilmiş ve bir damla asetokarminle karıştırılmışlardır. Lamel kapatıldıktan sonra preparatın üzerine bir filtre kağıdı konarak bastırılmış, ve 3-4 kez ispiro ocağında kaynatılmadan ısıtılmıştır. Boyama işleminden sonra preparatta mikroskopla gözlem yapılmıştır. *In vitro* Androgenesisin başarıyla uyartılması için en önemli konulardan birisi, anterlerin alındığı zamanda mikrosporların içinde buldukları gelişme dönemidir. Pek çok bitki türünde, mikrospor çekirdeğinin mitoz bölünmeye başlamadan önceki dönem, mitoz bölünme aşaması veya hemen bu aşamayı izleyen dönemi en iyi cevap veren dönemler olarak belirlenmiştir. Çalışmada Temel besin ortamı olarak MS (Murashige and Skoog, 1962) ortamı kullanılmıştır. Ortamın büyüme düzenleyici formülasyonu olarak BA (0.1 mg/L) +NAA (4 mg/L) ve aktif kömürün %0.1 oranında ilave edildiği ve aktif kömürün katılmadığı ortamlarda üç tomurcuk boyundan (I. grup: 3-4mm, II.grup: 4-5mm, III.grup: 5-6mm) alınan anterlerin dikimleri yapılmıştır. Besin ortamlarına dikilen anterlerde şişme, kallus oluşum ve embriyo oluşum durumlarına bakılmıştır.

II. Denemede yapılan uygulamalar:

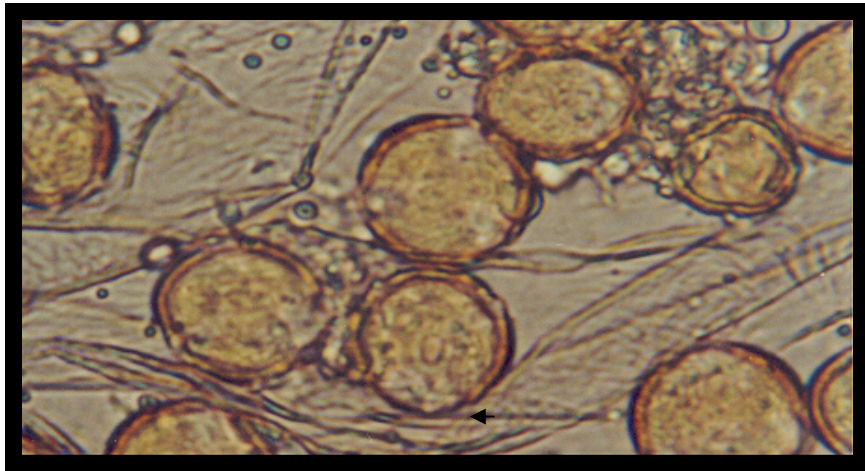
Bu deneme; bir önceki denemede en iyi şişme, kallus ve embriyo oluşumu gösteren tomurcuk grubu (II ve III. grup) ile yürütülmüştür. MS temel besin ortamı ve Nitsch and Nitsch (1969) tarafından geliştirilen N ortamı kullanılarak 4mg NAA ve 0.1mg/L BA formülasyonu ile aktif kömürün % 0.1 oranında katıldığı ve katılmadığı

ortamlarda ve aktif kömürün ayrıca havuç ekstraktı (200ml/L) ile hazırlandığı ortamlarda kültür yapılmıştır. Büyükalaca (yazılı görüşme)'nın önerdiği ortam kombinasyonunda aktif kömürün ve havuç ekstraktının anter gelişmesi ve embriyo verimine etkileri incelenmiştir. II.grup (sitolojik çalışmalarda tek çekirdekli mikrosporları içeren veya polen 1. mitozundan hemen önceki dönemde olan mikrosporları içeren anterlerin bulunduğu) tomurcuk boyunun kullanıldığı denemede embriyo oluşum oranlarını belirlemek amaçlanmıştır. Magentalara 3 tekerrürlü olarak toplam 75 adet anter dikilmiştir.

Araştırma Bulguları

I. Deneme:

Her çeşitteki morfolojik dönem ile mikrospor gelişme dönemi arasındaki ilişkinin belirlenerek kültüre alınacak tomurcukların seçilebilmesi için asetokarmin yöntemi sıklıkla kullanılabilir. Asetokarmin boyama yöntemi, parafin yöntemi kadar açık görüntüler vermemekle birlikte, mikrospor gelişim aşamalarının belirlenmesinde Karakullukçu (1991)' nun da Patlıcan bitkisiyle yaptığı çalışmada da ifade ettiği gibi yeterli sonuçlar verebilmektedir. Bu amaçla kültürü yapılacak her çeşitte, morfolojik olarak elverişli dönemlere yakın görülen büyüklükteki tomurcuklar toplanarak mikrospor gelişme dönemleri incelenmiştir. II. ve III. grup tomurcuklara (4-6mm) ait preparatlarda yapılan incelemelerde, tek çekirdekli mikrosporlar ve polen 1.mitozu safhaları gözlenmiştir. Şekil 1.'de tek çekirdekli mikrosporlar görünmektedir.



Şekil 1. Tek çekirdekli mikrosporlar

Üç farklı tomurcuk büyüklüğünde altı değişik çeşitte yapılan denemede II. ve III. grup tomurcuklarda kallus gelişiminin yoğun olduğu aynı zamanda kısmen embriyo gelişiminin de gerçekleştiği izlenmektedir (Çizelge1).

Çizelge 1: Üç tomurcuk boyunda (I,II,III) sekiz değişik biber çeşidine ait anterlerin gelişen, kallus ve embriyo oluşum sayıları

Çeşit	Tom Dön	MS+ 4 mg/l NAA+ 0.1 mg/ BA + % 0.1 Aktif Kömür				MS+ 4 mg/l NAA+ 0.1 mg/ BA			
		Dik Ant Say	Gel Ant Say	Kal. Ol Ant Say	Ol Emb Say	Dik Ant Say	Gel Ant Say	Kal. Ol Ant Say	Ol Emb Say
EgeAcı Sivri	I	29	-	-	-	27	-	-	-
	II	46	23	16	-	39	39	25	1
	III	52	34	6	1	17	14	-	-
Kandil Dolma	I	12	9	9	-	12	10	9	-
	II	39	29	7	-	19	19	19	-
	III	19	19	1	-	10	8	15	-
Tatlı Sivri Kıl	I	10	-	-	-	12	-	-	-
	II	29	24	-	-	39	28	14	-
	III	25	10	-	-	43	12	10	-
Demre Sivrisi	I	58	36	4	-	62	40	12	-
	II	55	50	17	-	97	82	29	-
	III	21	20	14	-	54	41	18	-
Acı Sivri Ilıca-256	I	15	14	-	-	27	7	5	-
	II	47	42	16	-	27	23	7	-
	III	45	37	14	-	28	21	17	-
Çarliston Bağcı	I	5	5	-	-	15	13	2	-
	II	15	5	-	-	61	61	5	-
	III	22	17	-	-	-	-	-	-

Tom Dön: Tomurcuk Dönemi, Dik Ant Say: Dikilen Anter Sayısı, Gel Ant Say: Gelişen Anter Sayısı, Kal Ol Ant Say: Kallus Oluşturan Anter Sayısı, Ol Emb Say: Oluşan Embriyo Sayısı

Aktif kömürün varlığının anter, kallus ve embriyo gelişimine etkisi net olmamakla birlikte aktif kömür içermeyen ortama göre anter gelişimine daha olumlu etki kattığını söylemek mümkün olmaktadır. II.grup tomurcuklardan çıkarılan anterlerden elde edilen kalluslar görülmektedir. Bu denemede II. ve III. grup tomurcuklardan çıkarılan anterlerden yüksek oranda kallus gelişimi meydana gelmiş, çok düşük olsa da embriyoid eldesi mümkün olmuştur. Bundan sonraki denemelerde II. ve III. grup tomurcuklarla yani 4-6 mm tomurcuk boyuyla çalışılmıştır. 4-6 mm uzunluğundaki tomurcuklarda yapılan ezme preparatlarda, tek çekirdekli mikrosporların yoğun olarak

gözlendiği bunun yanı sıra 1.polen mitozu safhasının bulunduğunu söylemek mümkündür. 4-6 mm uzunluğundaki tomurcukların morfolojisi: petal boyu sepal boyunu hafifçe geçmekte ve bu tomurcuklardan çıkarılan anterler soluk yeşil, kenarları ise açık maviden menekşe rengine dönmektedir. Nitekim Terzioğlu ve ark (2000)'de 5-7 mm uzunluktaki tomurcuklarda benzer sonuçları elde etmiştir. Bu tomurcuk boyundan elde edilen kalluslar sarımsı yeşil renkte kompakt, nodüler yapıda olduğu tespit edilmiştir. Bu denemede embriyo benzeri yapılar saptanmasına rağmen bunlar daha sonra dumura uğramışlardır.

II.Deneme:

1998 yılı denemelerinin ikincisinde 5-6 mm tomurcuklardan çıkartılan anterler, iki temel besin ortamı MS (Murashige and Skoog, 1963) ve N (Nitsch and Nitsch, 1969) ortamlarında 4mg/L NAA + 0.1 mg/L BA hormon solüsyonlarında, kontrol; aktif kömür ve aktif kömür(%0.1)+havaç ekstraktı (200ml) içeren 6 farklı besin karışımında kültüre alınmışlardır.

Bu denemede kullanılan genotiplerden en iyi androgenik tepkiyi Çarliston Bağcı çeşidi (7 adet) vermiştir. Bununla birlikte Demre Sivrisi ve Acı Sivri Ilıca-256 çeşitleri de 2' şer adet embriyo ile olumlu sonuç vermiştir (Çizelge 2). Hacimlerinin iki ila üç misli artması anterlerin gelişmesi olarak kabul edilmiştir. Çizelge 3'te çeşitlerin ortamlara tepkileri ile ilgili sayısal veriler verilmiştir. Çarliston Bağcı çeşidi MS+4 mg/l NAA+0.1 mg/l BA içeren ortamda diğer çeşitlere göre en iyi başarıyı göstermiştir.

Çizelge 2. Çeşitlerin gelişen anter, kallus, embriyo ve bitkicik oluşturma durumlarının sayısal sonuçları.

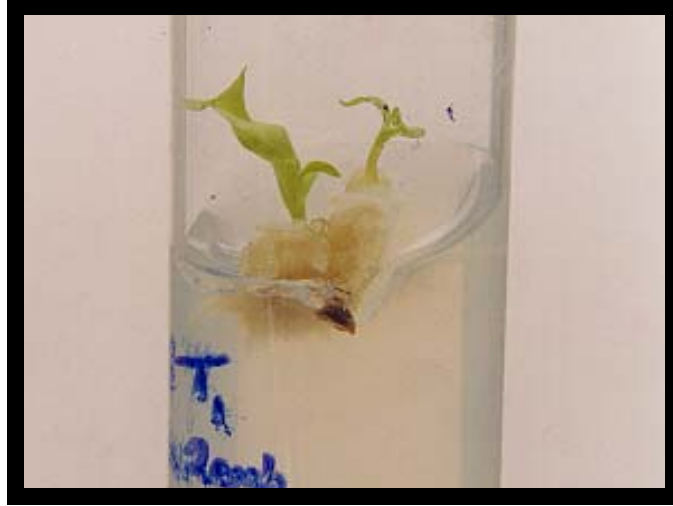
Çeşit	Gel.Ant. say.	Kal ol Ant say	Emb say	Bitk. say
Ege Acı Sivri	22	0	0	0
TatlıSvri Kıl	23	0	0	0
Demre Sivrisi	23	13	2	0
Kandil Dolma	22	4	0	0
Ç.Bağcı	24	15	7	7
Acı Sivri Kıl-256	22	10	2	0

Çizelge 3. Altı besin ortamına dikilen çeşitlerde gelişen anter, kallus, embriyo ve bitkicik oluşum durumları.

Çeşit	Gel.Ant. Say.(ad.)	Kal. Ol Ant. say	Emb. Ol. Say.	Bitk. Say	Emb.Ol. Oranı(%)
D. S.	19.17b	0.056b	0.056b	0b	0,223b
ASI-256	22.06ab	1.396	0.112b	0b	0.223b
EAS	20.39ab	0.779	0b	0b	0b
KD	20.39ab	0.445	0b	0b	0b
ÇB	22.72a	1.056	0.390b	0.390a	1,556a
TSK	16.94c	0.001	0b	0b	0b
LSD %5	2.93	öd	0.22	0.16	0.77

Gel Ant Say: Gelişen Anter Sayısı, Kal Ol Ant. Say: Kallus Oluşturan Anter Sayısı, Emb Ol. Say:Embriyo Oluşum Sayısı, Bitk. Say: Bitkicik sayısı, Emb.Ol.Or: Embriyo Oluşum Oranı, D. S.: Demre Sivrisi , ASI-256 : Acı Sivri-256, EAS : Ege Acı Sivri, KD : Kandil Dolma, ÇB : Çarliston Bağcı , TSK: Tatlı Sivri Kıl

Şekil 2' de Çarliston Bağcı çeşidine ait tek bir anterden elde edilmiş kotiledon yapraklı iki bitkicik görülmektedir.



Şekil 2 : Çarliston Bağcı çeşidine ait tek bir anterden oluşan iki adet bitkicik

Çizelge 4'te denemede kullanılan altı farklı besin ortamının gelişen anter, kallus, embriyo ve bitkicik oluşumu ile ilgili sayısal veriler verilmiştir. MS+ 4 mg/l NAA + 0.1 mg/l BA ve N+4 mg/l NAA+0.1 mg/l BA+% 0.1 Aktif Kömür+200ml Havuç ekstraktı içeren ortamlar en iyi sonucu vermiştir. Aktif kömürün havuç ekstraktı ile kombine edildiği N+4 mg/l NAA+0.1 mg/l BA+%0.1 Aktif Kömür +200ml Havuç ekstraktı içeren ortamda da embiyo oluşmuş, ama bitkiciğe dönüşüm olamamıştır.

Çizelge 4. Altı farklı ortamın gelişen anter, kallus, embriyo ve bitkicik oluşturma durumları.

Uygulama	Gel.Ant. Say.(ad.)	Kal.Ol. ad.	Embiyo Say(ad.)	Bitk. Say.	Emb.Ol. Oranı
1:MS+4 mg/l NAA+0.1 mg/l BA	22,83a	2,89	0,501a	0,390a	1,779a
2:MS+4 mg/l NAA+0.1 mg/l BA+% 0.1 Aktif Kömür	21,50ab	0	0b	0b	0b
3:MS+4 mg/l NAA+0.1 mg/l BA+% 0.1 Aktif Kömür + 200ml Havuç ekstraktı	19,72bc	0	0b	0b	0b
4:N+ 4 mg/l NAA + 0.1 mg/l BA	20,11ab	0,779	0b	0b	0b
5:N+4 mg/l NAA+0.1 mg/l BA+% 0.1 Aktif Kömür	17,17c	0	0b	0b	0b
6:N+4 mg/l NAA+0.1 mg/l BA+% 0.1 Aktif Kömür + 200ml Havuç ekstraktı	20,33ab	0,056	0,056b	0b	0,223b
LSD ₅	2,933	önemsiz	0,221	0,169	0,776

II denemede elde edilen bitkicikler pişkinleştirildikten sonra dış ortama alınmışlardır. Şekil 3' te polietilen örtüsü alınmakla birlikte kademeli olarak dış ortama alıştırılmaya çalışılan ve bu nedenle iklim odasında tutulan biber bitkisi görülmektedir.



Şekil 3. *in vivo* koşullara alınan Çarliston Bağcı çeşidine ait bitkicik

Tartışma ve Sonuç

I. denemede; dolmalık, sivri, ve çarliston tipi biberlerde 4-6 mm uzunluğundaki tomurcuklarda yapılan ezme preparatlarda , tek çekirdekli mikrosporlar yoğun olarak gözlenmiş, bunun yanı sıra 1. polen mitozunun safhaları da tespit edilmiştir. Bu tomurcuk boyunda yapılan dikimler en iyi anter, kallus ve embriyo gelişimini vermiştir. Biberlerle yaptığı çalışmasında Abak (1983), uzun meyveli biber çeşitlerinde 3.6-4.0 mm çapındaki tomurcukların tek çekirdekli mikrosporları içerdiği ve bu aşamanın anter kültürü için en uygun devre olduğunu ifade etmiştir. Çalışmamızda, Dolmalık, Çarliston ve sivri biber çeşitleri kullanıldığından daha geniş skalada tomurcuk boyuyla çalışılmıştır.

I. Denemede Ege Acı Sivri çeşidinden de 1 embriyo elde edilmiştir (%2.2). 1998 yılının II. denemesinde Çarliston Bağcı çeşidinden 4 mg NAA ve 0,1mg BA içeren MS ortamında 7 embriyo elde edilmiştir. Bitki oluşum oranı ise % 11.6 (en çok bitkicik elde edilen petrideki dikilen anter sayısı baz alındığında)' ya kadar yükselmiştir. Yine aynı denemede Demre Sivrisi ve Acı Sivri Ilıca-256 çeşidinden 2'şer embriyo elde edilmiştir (Çizelge 2). II. denemelerinde ortama katılan (%0,1oranında) aktif kömür tek başına kullanıldığında, olumlu sonuç vermemiştir. Fakat havuç ekstraktı ile kombine edilen aktif kömürlü 6 no'lu ortamda sonuç olumlu olmuştur. Karakullukçu (1991), Patlıcan bitkisinde yaptığı anter kültürü çalışmasında, aktif kömür uygulamalarından olumlu sonuç alamadığını ifade etmiştir. Aktif kömürün fonksiyonun agarın içinde bulunan toksik ve engelleyici bileşikleri absorbe etmek olduğu bilinmektedir. Aktif kömürün farklı

dozlarının denenmesi olumlu sonuç verebilir. Literatürler ışığında (Abak,1983; Karakullukçu, 1991), temel besin ortamı olarak MS ortamı N ortamına göre bariz bir şekilde üstünlük göstermekle birlikte N ortamı aktif kömür ve havuç ekstraktı ile kombine edilen ortamda embriyoların oluşması da gözardı edilememiştir. N ortamı aktif kömür ve havuç ekstraktı ile zenginleştirildiğinde etkili olmuştur. Sadece aktif kömür katılan N ortamı etkili olmamıştır. Havuç ekstraktının hücre bölünmesinde olumlu etkisi olduğu Vagera (1990) tarafından da bildirilmiştir. Terzioğlu ve ark. (2000), Kahramanmaraş yöresinin yerli populasyonlarını materyal olarak kullandıkları çalışmada elde ettikleri bitkiciklerin büyüme ucu oluşturmadıklarını kaydetmişlerdir. Bizim çalışmamızda da, elde edilen bitkilerin çoğu, strese girmişler ve devamlı yaprak dökerek normal gelişimlerini kaydedememişlerdir. Genel olarak elde edilen bitkilerin dış ortama aktarılmasında da çok büyük problemler çıkmaktadır. Güçlülük ve düşük oranda elde edilen bitkicikler, dış ortama alıştırılma aşamasında büyük kayıplar vermektedir. Yakın gelecekteki çalışmaların bu konu üzerinde yoğunlaşması ve kademeli geçiş yöntemlerinin denenmesi bitki kayıp oranlarının düşürülmesi açısından önemli olacaktır.

Yapılan çalışmalar ışığında kullanılan çeşitlerden Charleston çeşidi dolmalık ve sivri biberlere göre androgenesise daha olumlu cevap vermiştir. İkinci sırayı sivri biber çeşitleri olan Demre Sivrisi ve Acı Sivri Ilıca-256 almıştır. Anter kültürü denemelerini sürekli kılmak ve bu yönde yeni çalışmaların devamının başarı getireceği kuşkusuzdur.

Özet

Çalışmada sivri, dolmalık ve çarliston gruplarından altı biber çeşidine ait anterler üç gruba ayrılarak kültüre alınmıştır. En etkin tomurcuk büyüklüğü olarak saptanan 5-6 mm uzunluğundaki çiçeklerden alınan anterler, MS(Murashige and Skoog,1962) ve N(Nitesh and Nitsch,1969 H) temel besin ortamlarında aktif kömür ve havuç ekstraktı ile çeşitlendirilen 4 mg/l NAA+0.1 mg/ l BA kombinasyonu ile hazırlanan altı farklı ortamda inokülasyon yapılmıştır. MS+ 4 mg/l NAA+ 0.1 mg/l BA kombinasyonu , en iyi sonucu Ç. Bağcı çeşidinde vermiştir. Tek başına Aktif kömürün herhangi bir olumlu etkisi saptanmamıştır. Fakat N+4 mg/l NAA+0.1mg/l BA+%0,1 aktif kömür+200ml havuç ekstraktı içeren besin ortamı iyi sonuç vermiştir.

Anahtar Sözcükler: *Capsicum annuum L.*, anter kültürü, androgenesis, haploid bitki.

Kaynaklar

1. **Abak, K.** 1983. Biberde (*Capsicum annuum* L.) Stomatal Diffüzyon Direnci ile *Phytophthora capsici*' ye Dayanıklılık Arasındaki İlişki. A.Ü. Ziraat Fak. Yıllığı;33, (1-2-3-4), s:155-163
2. **Dolcet-Sanjuan, R., E. Claveria, and A. Huerta,** 1997. Androgenesis *Capsicum annuum* L.- Effects of Carbon Dioxide Enrichment. J.Amer. Soc.Hort. Sci.122(4):468-475.
3. **Elçi, Ş.** 1982. Sitogenetikte Gözlemler ve Araştırma Yöntemleri. Fırat Üniversitesi, Fen –Edebiyat Fakültesi Yayınları, Biyoloji: 3, 165 s.
4. **İnce, H.**1989. Bitki Preparasyon Teknikleri. Ege Üniversitesi Yayınları No: 127, Bornova, 94 s.
5. **Kalloo, Dr.** 1988. Vegetable Breeding Vol I. S: 171-173. CRC. Press, Inc. Boca Raton, Florida.
6. **Karakullukçu, Ş.** 1991. Değişik Patlıcan Genotiplerinde In Vitro Androgenesis ve Haploid Bitki Oluşumunu uyarıcı Bazı Etmenler Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniv. Fen Bilimleri Ens., Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı (Yayınlanmamış doktora tezi), 136 s.
7. **Kristiansen, K. and S.B. Andersen,** 1993. Effect of Donor Plant Temperature Photoperiod and Age on Anther Culture Response of *Capsicum annuum*L. Euphytica.(67):1-2,105-109.
8. **Murashige , T. and F. Skoog,** 1962. A revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497
9. **Nitsch,J.P. and C. Nitsch,** 1969. Haploids Plants from Pgrains. Science 163:85-87.
10. **Steinitz, B., D. Wolf, T. Matzevitch-Josef and A. Zelcer,** 1999. Regeneration in *In Vitro* and Genetic Transformation of Pepper (*Capsicum* spp.): The Current State of the Art. *Capsicum and Eggplant Newsletter*, 18(1999):9-15.Invited paper.
11. **Terzioğlu, Ş., Ş. Ellialtıoğlu ve K. Abak,** 2000. İnkübasyon Koşullarının Biber Anter Kültüründe Embriyo Oluşumu üzerine Etkisi. III. Sebze Tarımı Sempozyumu.11-13 Eylül, Isparta. s:233-238.
12. **Vagera, J.** 1990. Pepper (*Capsicum* spp.): In Vitro Induction of Haploids. Biotechnology in Agriculture and Forestry,Vol.12 Haploids in Crop Improvement 1(ed.By Y.P.S.Bajaj) s:374-392.
13. **Wan, Y. and J.M. Widholm,** 1988. Anther Culture of Maize. Methods of Plant Breeding,(Vol III), (Ed.H.K. Hayes, F.R. İmmes,D.C.Smith), C.R.C., McGraw-HillBook Company,s.199-220.
14. **Vural, H., D. Eşiyok, ve İ. Duman,** 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ders Kitabı. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir.

