

**УНИВЕРЗИТЕТ "СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ" - СКОПЈЕ  
ЈНУ ИНСТИТУТ ЗА ЈУЖНИ ЗЕМЈОДЕЛСКИ КУЛТУРИ  
СТРУМИЦА**

---

---

UDC 63(058)

ISSN 1409-987X



**ГОДИШЕН ЗБОРНИК  
2003  
YEARBOOK**

GODINA 3

**VOLUME 3**

**UNIVERSITY "ST. CYRIL AND METHODIUS" SKOPJE  
INSTITUTE OF SOUTHERN CROPS - STRUMICA**

**ГОДИШЕН ЗБОРНИК - ЈНУ ИНСТИТУТ ЗА ЈУЖНИ  
ЗЕМЈОДЕЛСКИ КУЛТУРИ - СТРУМИЦА  
YEARBOOK - INSTITUTE OF SOUTHERN CROPS - STRUMICA**

---

**Издавачки Совет**

Д-р Саша Митрев  
Д-р Илија Каров  
Д-р Лилјана Колева-Гудева  
Д-р Милан Ѓеорѓиевски  
Д-р Љупчо Михајлов

**Editorial board**

Dr. Sasa Mitrev  
Dr. Ilija Karov  
Dr. Liljana Koleva-Gudeva  
Dr. Milan Gjeorgjievski  
Dr. Ljupco Mihajlov

**Редакциски одбор**

Д-р Саша Митрев  
Д-р Илија Каров  
Д-р Лилјана Колева-Гудева  
Д-р Милан Ѓеорѓиевски  
Д-р Љупчо Михајлов  
М-р Душан Спасов  
М-р Драгица Сапсова

**Editorial staff**

Dr. Sasa Mitrev  
Dr. Ilija Karov  
Dr. Liljana Koleva-Gudeva  
Dr. Milan Gjeorgjievski  
Dr. Ljupco Mihajlov  
M. Sci. Dusan Spasov  
M. Sci. Dragica Sapsova

**Одговорен уредник**

Д-р Саша Митрев

**Responsible editor**

Dr. Sasa Mitrev

**Уредник**

Д-р Лилјана Колева-Гудева

**Editor**

Dr. Liljana Koleva-Gudeva

**Компјутерска подготовка**

Д-р Лилјана Колева-Гудева

**Computer adaptation**

Dr. Liljana Koleva-Gudeva

**Редакција и администрација**

Институт за јужни земјоделски  
култури - Струмица  
Гоце Делчев б.б.  
2 400 Струмица, Р Македонија  
тел/факс: 034 345-096

**Address of the editorship**

Institute of Southern Crops  
Strumica  
Goce Delcev b.b.  
2 400 Strumica, R Macedonia  
phone/fax: ++ 389 34 345-096

---

Изданието финансиски е потпомогнато од Министерство за образование и  
наука на Република Македонија. За оваа издание се плаќа 5% ддв.  
Реализира "Европа 92" - Кочани

**СОДРЖИНА**  
**CONTENT**

**Одделение за агротехника**  
**Department for agrotechnology**

- Бошев, Д., Василевски, Г., Пекиќ Софија, Михајлов, Љ., Бошев, З.  
Влијание на водениот дефицит врз елементит на приносот кај  
пченката-----11-20  
Boshev, D., Vasilevski, G., Pekic Sofija, Mihajlov, Q., Boshev, Z.  
Influence of the water deficit on the yield elements of maze -----11-20
- Бошев, Д., Василевски, Г., Пекиќ, Софија, Михајлов, Љ., Бошев, З.  
Односот зрно-кочанка кај хибриди пченка (*Zea mays L.*)  
одгледувани во сушни услови -----21-28  
Boshev, D., Vasilevski, G., Pekic Sofija, Mihajlov, Q., Boshev, Z.  
The relation seed-cob at the maize hybrids (*Zea mays L.*) cultivated  
under drought conditions -----21-28
- Илиевски М.  
Фолијарна исхрана со агростемин кај компирот (*Solanum  
tuberosum*) -----29-36  
Ilievski M.  
Foliar application with agrostemin on potato (*Solanum tuberosum*)  
-----29-36
- Илиевски М., Митрев С., Спасова Драгица и Чеботарева Цонка  
Влијание на томасфосфатот и NPK ѓубривата врз  
квантитативните и квалитативните својства на Куртовската  
капија -----37-44  
Ilievski M., Mitrev S., Spasova Dragica i Chebotareva Conka  
The influence of tomasphosfate and NPK fertilizations of quantitative  
and qualitative characteristics on Kurtovska kapija -----37-44
- Илиевски М., Спасова Драгица, Киров Н.  
Влијание на ѓубривата врз морфолошките својства на плодот  
од пиперката Куртовска капија-----45-54

- Илевски М., Спасова Драгича, Киров Н.  
The influence of fertilizers on the morphological characteristics of fruit  
on pepper Kurtovska карија-----45-54
- Кукутанов Р.  
Избор на соодветни распрскувачи на машините за апликација  
во полјоделското производство -----55-66
- Kukutanov R.  
Selection of adequate sprayers at the application machines in the field  
production -----55-66
- Давчев Ж., Кукутанов Р., Цанев И.  
Достигнувања и трендови на развој на машините за  
апликација-----67-76
- Davcev Z., Kukutanov R., Canev I.  
Achievements and trends of the development the application machines  
-----67-76

**Одделение за биотехнологија на растенијата**  
**Department of biotechnology**

- Колева-Гудева Лилјана, Спасеноски М., Рафајловска Весна  
Содржина на капсаицин во плодови на пиперка (*Capsicum*  
*annuum* L.)-----79-86
- Koleva-Gudeva Liljana, Spasenoski M., Rafajlovska Vesna  
Content of capsaicin in pepper fruits (*Capsicum annum* L.) ----79-86
- Колева-Гудева Лилјана  
Влијание на инкубацискиот третман врз андрогенезата на  
пиперка (*Capsicum annum* L.) -----87-94
- Koleva-Gudeva Liljana  
The effect of incubation treatment on the pepper (*Capsicum annum*  
L.) androgenesis -----87-94
- Колева-Гудева Лилјана  
Култура на антери од пиперка (*Capsicum annum* L.) -----95-102
- Koleva-Gudeva Liljana  
Anther cultures in pepper (*Capsicum annum* L.)-----95-102

**Одделение за генетика и селекција на растенијата**  
**Department for genetics and selection of plants**

Михајлов Љ.

Содржина на масла во зрното од соја во зависност од  
зрелосната група и роковите на сеидба-----105-112

Mihajlov Lj.

Dependents of the oils content in the soybean grain from the maturity  
group and the sow dues-----105-112

Ѓеорѓиевски М., Каров И., Спасов Д., Спасова Драгица, Камењарска  
Ирена, Ајановски Р.

Болести штетници и плевели кај семенската пченица и јачмен  
во периодот од 2001-2003 година-----113-120

Gjeorgievski M., Karov I., Spasov D., Spasova Dragica, Kamenjarska Irena,  
Ajanovski R.

Diseases, pest and weeds on the seed of wheat and barley in the period  
from 2001-2003-----113-120

Ѓеорѓиевски М.

Влијание на опрашувањето во разни подфази од развојот на  
цветот врз приносот на семе по растение и единица површина  
кај домотот (*L. sculentum*) од аспект на хетерозисното  
семе производство-----121-129

Gjeorgjievski M.

The influence of pollination in different phases of development the  
blossom over the yield of seed per plant and land of tomato (*L.*  
*sculentum*) from the aspect of the heterogenous seed production  
-----121-129

**Одделение за заштита на растенијата од болести, штетници и  
плевели**

**Department of protection of the plants from diseases, pests and weeds**

Спасова Драгица и Димов З.

Испитување на сорти памук во различни реони на Македонија  
-----133-138

Spasova Dragica and Dimov Z.

Cotton varyetyes examination in different reones at the Republic of  
Macedonia-----133-138

- Спасов, Д., Митрев, С., Каров, И., Георгиевски, М.  
Влијанието на начинот на производство врз здравствената состојба на пиперката -----139-144  
Spasov, D., Mitrev, S., Karov, I., Georgievski, M.  
The influence of the method of production on the health condition of the pepper -----139-144
- Михајловиќ, Д., Митрев, С., Јованчев, П., Бошков, С.  
Бактериски рак кај виновата лоза со посебен осврт на посадочниот материјал -----145-154  
Mihajlovic, D., Mitrev, S., Jovancev, P., Boshkov, S.  
Bacterial crown of grapes with particular devote on the seedling material -----145-154
- Каров Илија  
*Cochliobolus myabeanus* (Ito & Kuriabayash) Drechs. причинител на кафеава дамкавост на оризот-----155-160  
Karov Ilija  
Brown spot of rice caused by *Cochliobolus myabeanus* (Ito & Kuriabayash) Drechs. -----155-160
- Спасова Драгица, Егуменовски П.  
Морфолошки и стопански особини на неколку линии памук одгледувани во струмичко-----161-168  
Spasova Dragica, Egumenovski P.  
Morphological and economical characteristics of several lines of cotton at the area of Strumica-----161-168
- Додаток**  
**Appendix**
- Makedonka Mitreva, James P. McCarter, John Martin, Mike Dante, Todd Wylie, Brandi Chiapelli, Deana Pape, Sandra W. Clifton, Thomas B. Nutman, and Robert H. Waterston  
Comparative genomics of gene expression in the parasitic and free-living nematodes *Strongyloides stercoralis* and *Caenorhabditis elegans* -----171-201

Македонка Митрева, James P. McCarter, John Martin, Mike Dante, Todd Wylie, Brandi Chiapelli, Deana Pape, Sandra W. Clifton, Thomas B. Nutman, и Robert H. Waterston

Компаративна геномика помеѓу паразитната и слободно-живеачката нематода *Strongyloides stercoralis* и *Caenorhabditis elegans*-----171-201

Упатство за печатење на трудови во зборникот на ЈНУ Институт за јужни земјоделски култури-----205-206

**ОДДЕЛЕНИЕ ЗА БИОТЕХНОЛОГИЈА НА  
РАСТЕНИЈАТА**

**DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY**

UDC: 57.085:581.33:635.64

Оригинален научен труд  
Original research paper

## **КУЛТУРА НА АНТЕРИ ОД ПИПЕРКА (*Capsicum annuum* L.)**

**Колева-Гудева Лилјана**

### **Краток извадок**

Соматската ембриогенеза, се дефинира како развоен процес во кој се создава идеален ембрион од само една соматска (телесна) клетка, и се формира структура која покажува биполарна активност, иста како таа во најраните фази на зиготската ембриогенеза.

Цел на овие истражувања беше да се постигне ефективна *in vitro* технологија за проучување на хаплоидни и дихаплоидни растенија-регенеранти; индукција на ембриогенеза во култура на антери од пиперка *in vitro*, како и микропропагација во услови *in vitro* на добиените регенерантите. Индуцирана е соматска ембриогенеза во култури на антери кај пет, од девет испитувани сорти на пиперка.

**Клучни зборови:** *Соматска ембриогенеза, in vitro, антери, пиперка (Capsicum annuum L.)*

## **ANTHER CULTURE IN PEPPER (*Capsicum annuum* L.)**

**Koleva-Gudeva Liljana**

### **Abstract**

Somatic embryogenesis has been defined as the developmental process producing a perfect embryo from a single cell, which achieves bipolar at as a stage as occurs in zygotic embryogenesis.

The main achievement of these examination was to establish *in vitro* effective technology for haploid and diploid plant regenerants; induction of embryogenesis from microspores in pepper anther culture as well as micropropagation *in vitro* of pepper regenerants. Induction of somatic embryogenesis from anther pepper culture was obtained in five from nine exanimate varieties of pepper.

---

ЈНУ Институт за јужни земјоделски култури - Струмица, Гоце Делчев б.б.,  
2 400 Струмица, Македонија  
Institute of Southern Crops-Strumica, Goce Delcev b.b., 2 400 Strumica, Macedonia

**Key words:** *Somatic embryogenesis, in vitro, anthers, pepper (Capsicum annuum L.)*

## 1. Вовед

Со сексуалната генеративна репродукција бројот на хромозомите се редуира на половина, како резултат на мејозата, а се дуплира повторно со опрашувањето (со фузија на женски и машки гамети). Ако мејозата се случува во диплоидно растение со 2 пара на хромозоми ( $2n=2x$ ), тогаш се добиваат клетки чии хромозоми се со  $n=x$ . Ако од таква клетка  $n=x$  се добие цело растение без опрашување, тогаш се добива монохплоидно растение, кое има само еден пар на хромозоми ( $x$ ), (Pierik, 1998).

Во култура на антери, кои содржат микроспори во стадиум на првата поленова делба или непосредно пред делбата ( $n=x$ ), ако успешно се индуцира соматска ембриогенеза се добива хплоидни или диплоидни регенеранти.

Развојот и делбата на микроспорите во услови *in vivo* се одвива на следниот начин (слика 1 а):

1. Млада микроспора, вакуола неразвиена;
2. Средно-касна фаза од развојот на микроспората, вакуола присутна;
3. Нормално поларизирана прва поленова митоза;
4. Младо двоклеточно поленово зрно, генеративното јадро е кон зидот, вакуолата е редуцирана;
5. Втора поленова митоза, вакуолата е многу редуцирана;
6. Зрело поленово зрно, нема вакуола, појава на две сперми и едно генеративно јадро.

Во услови *in vitro* (слика 1 б), после првата митоза се јавуваат неидентични (асиметрични) или идентични (симетрични) јадра. Резултатот после втората митоза е хплоид или диплоид, а диплоидни клетки се јавуваат со клеточна фузија.

Најраните истражувања за соматска ембриогенеза на пиперка (*Capsicum annuum* L.) се на полето на андрогенеза со култура на антери и тоа: 1973, Kuo, Wang, Chein, Ku, Kung и Hsu; 1973, George и Narayanaewamy; 1974, Saccardo и Devreux; 1979, 1980, Sibi, Dumas de Valux и Chambonet; 1981, Dumas de Valux, Chambonet и Porchard; 1989, Munyon, Hubstenberger и Phillips; 1992, Matsabura и сор.; 1992, Park и сор.; 1993 Qin и Rotino, но добиените регенеранти главно биле мешавина од хплоиди и диплоиди растенија (Kararakis, 1999). Користени се разни стрес третмани со цел да се зголеми соматската

ембриогенеза, од една страна, и да се зголеми продукцијата на хаплоиди, од друга страна.

Андрогенезата кај пиперка е доста ограничена појава, која е проследена со многу ограничувачки фактори како: структурата и градбата на микроспорите; стадиумот во кој е микроспората т.е. култивирањето на антерите во *in vitro* услови мора да е во фазата на првата поленова митоза или непосредно пред неа; растенијата од кои се собираат цветните пупките, донатори на антери, да не се постари од 4 недели од првата појава на цвет; колекционираните пупки да се со венечни и цветни ливчиња со еднаква должина, кога антерата на врвот почнува да се обојува светло виолетово, т.е. незрела цветна пупка; генетската предиспозиција за соматска ембриогенеза; хормоналната регулација во *in vitro* услови; инхибиторното дејство на секундарните метаболити, особено капсаицинот, како и многу други познати и непознати ограничувачки фактори, за кои науката нема доволно сознанија, а кои го оневозможуваат овој процес кај видови од родот *Capsicum*.

## 2. Матријал и метод на работа

Како материјал за индукција на соматска ембриогенеза во култура на антери, користени се незрелите пупки од пиперка, кои содржат антери со микроспори во стадиум на првата поленова делба или непосредно пред делбата (слика 3). Испитувањата се изведени со девет различни сорти на пиперка: слатко лута, лута везена, сиврија, феферона, златен медал, куртовска капија, калифорниско чудо, фехерозон и ротунд. Стерилизацијата на пупките се одвиваше на следниот начин: најпрво пупките се промиваат во водоводна вода; потоа следи промивање во дестилирана вода; потоа 15 секунди во 70%  $C_2H_5OH$ ; па 10 минути во 5%  $Ca(ClO)_2$  со 2-3 капки Tween 20, и на крај пупките се промиваат неколкупати во стерилна вода.

Изолираните антери од 3 пупки потоа се поставуваат во петриеве садови со пречник од 5 cm и тоа со конкавната страна да го допираат индуктивниот медиум. Стадиумот на делбата на микроспората е одредуван микроскопски со обојување на антерите со ацето кармин неколку минути, а потоа истите беа микроскопирани. Тоа обично е фаза на цветната пупка кога должината на цветните и венечните ливчина е еднаква и кога слободниот крај на антерата почнува да се обојува слабо виолетово.

Приготвувањето на бојата (ацето кармин) за одредување на стадиумот на микроспорите се врши на следниот начин: 1 g кармин

се растворува во 45 ml глацијална оцетна киселина, се додава уште 55 ml дестилирана вода, и се става на вриење околу 5 минути. Потоа, растворот се лади, се филтрира, и за интензивирање на бојата се додава 1-2 капки железенхидроксид. На изолираните антери се капнува од ацето карминот и по неколку минути истите се мацерираат на микроскопско предметно стакло и се набљудуваат во кој стадиум е микроспората.

Истражувањата за андрогенетскиот потенцијал на испитуваните сорти на пиперка изведеуван е по методот на Dumas de Valux, 1981. Според методот на овој автор, најпрво антерите се култивираат на медиумот CP + 0,01 mg/l KIN + 0,01 mg/l 2,4D, со инкубација на темно 8 дена и на  $+35\pm 2^\circ\text{C}$ , следните 4 дена во клима комора на  $+25\pm 2^\circ\text{C}$  со фотопериодизам 12 h светло / 12 h темно, а потоа истите се пренесуваат на медиумот R<sub>1</sub> + 0,01 mg/l KIN на  $+25\pm 2^\circ\text{C}$ , со фотопериодизам 12 часа светло и 12 часа темно.

### 3. Резултати и дискусија

Пиперките се непредвидливи култури во услови *in vitro*, и поради тоа резултатите кои се добиваат со култура на клетки и ткива се умерени, а култура на антери по се изгледа дека е единствен исклучок од ова правило (Mityko и Fari, 1997).

Врз основа на добиените резултати може да се каже дека, сите испитувани сорти не се способни за формирање на хаплоидни ембриоиди. Всушност, ембриогенетски антери се јавуваат со статистичка сигнификантност само кај сортите: слатко лута ( $2,43\pm 0,20\%$ ,  $p=0,05$ ), златен медал ( $3,31\pm 0,24\%$ ,  $p=0,05$ ), куртовска капија ( $1,55\pm 0,50\%$ ,  $p=0,05$ ), калифорниско чудо ( $6,16\pm 0,28\%$ ,  $p=0,05$ ) и фехерозон ( $35,36\pm 1,00\%^{***}$ ,  $p=0,001$ ) (табела 1, слика 2).

Забележана е и статистички сигнификантна позитивна корелација помеѓу процентот на ембриогенетски антери и бројот на формирани хаплоидни ембриоиди на 100 антери. Ваква висока вредност ( $r=0,9389$ ,  $p<0,05$ ) за Pearson-овиот коефициент за процентот на ембриогенетски антери во однос на бројот на формирани хаплоидни ембриоиди на 100 антери е и нормално очекуван резултат, бидејќи андрогенетски способните сорти нормално дека ќе формираат поголем број на хаплоидни ембриоиди (слика 2).

После индуктивниот период на CP медиум од 12 дена (на темно 8 дена на  $+35\pm 2^\circ\text{C}$  и 4 дена на  $+25\pm 2^\circ\text{C}$  12/12 темно/светло), антерите беа префрлувани на R<sub>1</sub> медиум. CP медиум е неопходен само за индукција, односно за почеток на делба на микроспорите во

*in vitro* услови, каде неопходно е и присуство на ауксин. Но, веднаш по формирањето на ембриогенетската структурата (слика 4 и 5), од само една единствена микроспора, улогата на ауксинот се менува, бидејќи, тој понатаму го инхибира процесот на формирање на хаплоидни ембриоиди. Затоа неопходно е антерите да се култивираат на нов, R<sub>1</sub> медиум, во отсуство на ауксини. На овој медиум ембриоидите уште на самиот почеток покажуваат тотипотентност, напредуваат во својот раст и развој и формираат изданок.

На R<sub>2</sub> медиум, каде исто така, отсуствуваат ауксини а цитокининот е во повисока доза, не е препорачливо антерите да се држат повеќе од една недела. 7-8 дена. На повисока концентрација на цитокинин доволно е повторно да се стимулира тотипотентноста, а потоа ембриоидите пак се враќаат на R<sub>1</sub> медиум, каде формираат изданок.

Формираниот изданок го продолжува својот развој на V<sub>3</sub> медиум, каде без присуство на фитохормони се оформуваат млади растенија на хаплоидна пиперка (слика 6). Вкоренувањето настанува, исто така, на V<sub>3</sub> медиум, а добро вкоренетите изданоци се префрлуваат во стерилна мешавина на песок : перлит : терсет во сооднос 1 : 1 : 1 и се спремни за вообичаената адаптација и аклиматизација за во нестерилни услови.

#### **4. Заклучок**

Според класификацијата на Mityko и Fari (1997), за андрогенетскиот потенцијал одредуван според процентот на антери кои формираат ембриоиди типовите на пиперка се делат на:

- со слаб андрогенетски потенцијал - до 5% ембриогенетски антери;
- со просечен потенцијал - 5-10% ембриогенетски антери;
- со добар потенцијал- 15 - 30% ембриогенетски антери и
- со одличен андрогенетски потенцијал - над 30% ембриогенетски антери.

Резултатите од овие истражувањата покажаа дека хаплоидни ембриоиди се формираа на CP медиум со топол температурен стрес (+35°C), што е во согласност со истражувањата на De Valux (1981). Од сите девет испитувани сори, пет покажаа способност за формирање на ембриоиди и тоа:

- слатко лута - (2,43±0,20%) со слаб андрогенетски потенцијал,
- златен медал - (3,31±0,24%) со слаб андрогенетски потенцијал,
- куртовска капија - (1,55±0,50) со слаб андрогенетски потенцијал,

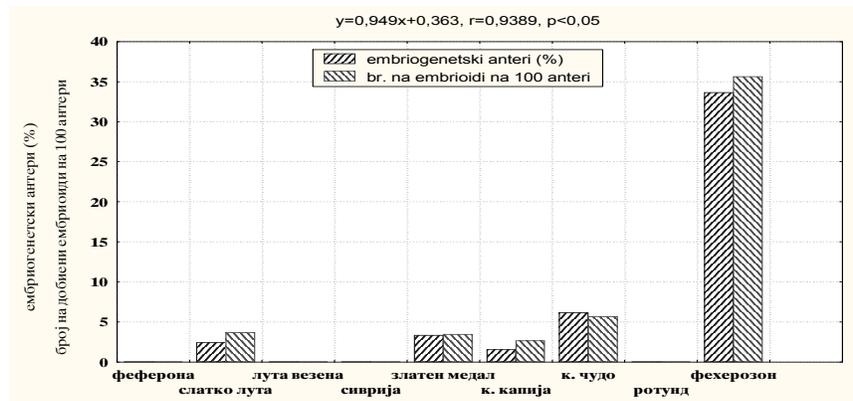


Табела 1. Индукција на хаплоидни ембриоиди од антери на пиперка  
 Table 1. Haploid embryo induction from pepper anthers

| сорти пиперка<br>pepper varieties | бр. на антери<br>nr. of anthers | ембриогенетски антери (%)<br>embriogenetic anthers (%) | бр. на ембриоиди на 100 антери<br>nr. of embryos per 100 anthers | ембриогенетски потенцијал<br>embryogenetic response |
|-----------------------------------|---------------------------------|--|--|---|
| феферона                          | 79±9                            | -  | -  | -   |
| слатко лута                       | 140±17                          | 2,43±0,20*   | 3,33±0,57**  | слаб/poor   |
| везена лута                       | 83±8                            | -  | -  | -   |
| сиврија                           | 104±15                          | -  | -  | -   |
| златен медал                      | 94±9                            | 3,31±0,24*   | ,66±0,57**   | слаб/poor   |
| куртовска капија                  | 120±11                          | 1,55±0,50*   | 2,66±0,57**  | слаб/poor   |
| калифорниско чудо                 | 151±15                          | 6,16±0,28*   | 5,66±0,57**  | просечен fair                                       |
| ротунд                            | 109±10                          | -  | -  | -   |
| фехерозон                         | 130±15                          | 33,66±6,02**   | 55,36±1,00***  | одличен excellent                                   |

\*Вредностите во секоја колона означени со \*, \*\*, \*\*\* се сигнификантно различни ( $p < 0,05$ , t-тест на зависни примероци);  $p = 0,05^*$ ,  $p = 0,01^{**}$ ,  $p = 0,001^{***}$ ;  $\pm S.D.$ ,  $n = 3$ .

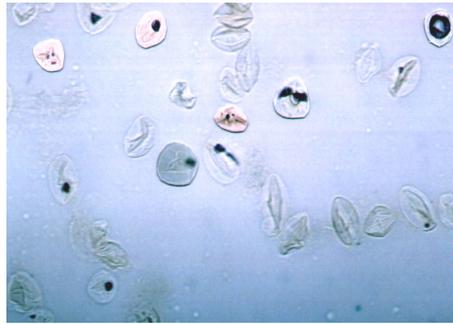
\* The values in each column (group) marked with \*, \*\*, \*\*\* are significant different (t- test on dependent examples  $p < 0,05$ );  $p = 0,05^*$ ,  $p = 0,01^{**}$ ,  $p = 0,001^{***}$ ;  $\pm S.D.$ ,  $n = 2$



Слика 2. Индукција на хаплоидни ембриоиди од антери на пиперка  
 Figure 2. Haploid embryo induction from pepper anthers



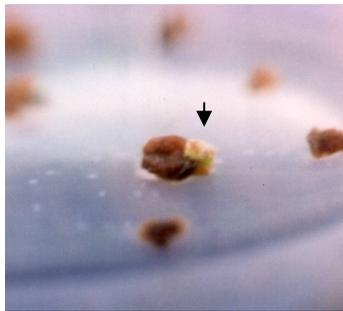
Слика 3; Figure 3



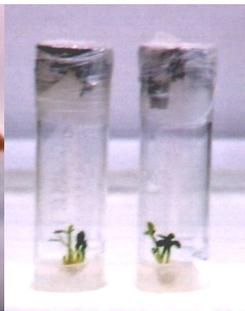
Слика 4; Figure 4

Слика 3. Изолирани антери од цветови на пиперка  
Figure 3. Isolated anthers from pepper buds

Слика 4. Делба на микроспори од пиперка во *in vitro* услови  
Figure 4. In vitro pepper microspore division



Слика 5; Figure 5



Слика 6; Figure 6

Слика 5. Појава на хаплоиден ембионид на CP медиум  
Figure 5. Haploid embryo on CP medium

Слика 6. Култура на хаплоидни изданоци од пиперка на V<sub>3</sub> медиум  
Figure 6. Haploid pepper shoots culture on V<sub>3</sub> medium