



***In Vitro* Koşullarda Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Bitkisinde Hipokotil ve Kotiledon Eksplantlarından Kallus ve Sürgün Oluşumu**

Emel YILMAZ, Betül BÜRÜN*¹

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kötekli/Muğla

(Alınış Tarihi: 14.05.2014, Kabul Tarihi: 12.12.2014)

Anahtar Kelimeler

Domates
Bitki büyüme düzenleyicileri
Fotoperiyot
Kotiledon
Hipokotil
Kallus oluşumu
Sürgün oluşumu

Özet: Bu çalışmada, domates M-28 hibrit çeşidinde kallus oluşumu ve sürgün oluşumu üzerine çeşitli bitki büyüme düzenleyicilerinin ve kültür koşullarının etkisi araştırılmıştır. Tohumlar yarı kuvvette ($\frac{1}{2}$) Murashige-Skoog (MS) ortamında çimlendirilmiş ve 10 günlük steril fidelerin kotiledon yaprakları (5x5 mm) ve hipokotilleri (5 mm) farklı konsantrasyon ve kombinasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri içeren semi-solid MS ortamında kültüre alınmıştır. Kallus oluşumu ve gelişimi bakımından en iyi sonucu, her iki eksplantta (kotiledon ve hipokotil) ve her iki kültür koşulunda (16 saat aydınlık-8 saat karanlık olarak fotoperiyodik koşul ve 25 gün karanlığı takiben fotoperiyodik koşul), MS ortamına 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilavesi vermiştir (%100 kallus oluşumu). Adventif sürgün oluşumu bakımından, karanlığı takiben fotoperiyodik koşulda, 2 mg/l Kin+0.2 mg/l IAA, sadece 2 mg/l BAP ve sadece 3 mg/l TDZ ilaveli ortamlarda her iki eksplantta da en iyi sonuçlar alınmıştır (sürgün veren eksplant oranı %72 ile %100'dür). Eksplant başına düşen en yüksek sürgün sayısı (17.30±5.72 adet), kotiledon eksplantlarının TDZ'li ortamda karanlığı takiben fotoperiyodik koşuldaki kültürlerinden elde edilmiştir. En yüksek adventif sürgün boyu (33.00±0.57 mm) ve sürgündeki yaprak sayısı (3.00±0.00 adet) ise hipokotil eksplantlarının 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli ortamda fotoperiyodik koşuldaki kültürlerinde tespit edilmiştir.

***In Vitro* Callus Formation and Shoot Regeneration from Hypocotyl and Cotyledon Explants of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)**

Keywords

Tomato
Plant growth regulators
Photoperiod
Cotyledon
Hypocotyl
Callus formation
Shoot regeneration

Abstract: In this study, the effects of various plant growth regulators and culture conditions on the callus induction and shoot regeneration in M-28 hybrid cultivar of tomato have been evaluated. The seeds were germinated in half strength ($\frac{1}{2}$) Murashige-Skoog (MS) medium and the cotyledon (5x5 mm) and hypocotyl (5 mm) segments of the 10 day old seedlings were cultured on semi-solid MS medium containing different concentrations and combinations of plant growth regulators. The best result on callus formation, both explants (cotyledon and hypocotyl) and both culture conditions (photoperiodic condition at 16 hours light-8 hours dark ve 25 days dark condition after photoperiodic condition), was found MS medium supplemented with 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA (%100 callus formation). At the adventitious shoot induction, under dark condition after photoperiodic condition, the best results were obtained from MS medium supplemented with 2 mg/l Kin+0.2 mg/l IAA, only 2 mg/l BAP and only 3 mg/l TDZ and both explants (regenerated explant from %72 to %100). The highest number of shoots regenerated per explant (17.30±5.72 number), was found under dark condition after photoperiodic condition at MS medium supplemented with TDZ of cotyledon explants. The highest adventitious shoot length (33.00±0.57 mm) and the number of leaf in shoot (3.00±0.00 number) were obtained at MS supplemented with 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA of hypocotyl explants and photoperiodic conditions.

* İlgili yazar: bbetul@mu.edu.tr

1. Giriş

Solanaceae familyasına ait olan domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.), sebze olarak tüketimi yüksek olan önemli kültür bitkilerinden biridir. Bilindiği gibi bitkilerin *in vitro* çoğaltımında ve ıslahında farklı bitki doku kültürü tekniklerinden yararlanılmaktadır. Bitki doku kültürleri, mikroçoğaltım, hastaliksız bitki üretimi, sentetik tohum üretimi, sekonder metabolit üretimi, somatik hücre melezlemeleri, haploid bitki üretimi, *in vitro* germplazm muhafazası, somaklonal varyasyon, genetik transformasyon ve uygun çeşitleri geliştirmek gibi farklı biyoteknolojik uygulamalarda kullanılmaktadır (Babaoğlu vd., 2001). Domateste de amaca göre çeşitli doku kültürü çalışmaları yapılmaktadır. Doku kültürlerinin uygulama alanlarından biri de genetik mühendisliği çalışmaları ile bitkilere gen veya genlerin aktarılmasıdır. Domates, dikotil bitkiler içerisinde tarımsal olarak önemli genlerin aktarımında model bitki olarak kabul edilmektedir. Genetik transformasyonların başarısında ilk adım, o bitki türüne uygun *in vitro* kültür sisteminin geliştirilmesidir. Bu nedenle *in vitro* kültür tekniklerinin o bitki türü veya belli genotip için optimize edilmesi önemlidir. Bitki doku kültürlerinde başarılı uygulamalar, optimal kültür koşullarının kurulmasının yanı sıra etkili kültür sistemlerinin de oluşturulmasına bağlıdır (Rashid ve Bal, 2010; Osman vd., 2010). Bazı bitki türlerinde veya bir türün belli genotiplerinde, *in vitro* sürgün ve bitki oluşumunu başarmak zor olabilmektedir. Bugüne kadar doku kültürü çalışmaları ile domateste organogenezis ve sürgün rejenerasyonu üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır. Rejenerasyonu, kullanılan genotip ve eksplant tipi, bitki büyüme düzenleyicilerin farklı kombinasyon ve konsantrasyonları, besin ortamının pH'sı ve inkübasyon koşulları, temel ortam kompozisyonunun yanı sıra, jelleştirici ajan, ışık yoğunluğu ve kalitesi, fotoperiyot, sıcaklık ve kullanılan kültür kabı gibi bir çok faktörün etkilediği çok sayıda araştırma ile belirlenmiştir (El-Bakry, 2002; Gubis vd., 2004; Sheeja vd., 2004; Bhatia ve Ashwath, 2005; Bhatia vd., 2005; Ishag vd., 2009; Mohamed vd., 2010; Osman vd., 2010; Rashid ve Bal, 2010).

Domateste, farklı eksplant kaynaklarından sürgün elde edilmesi, sitokinin ve oksinlerin farklı kombinasyonları ile başarılmıştır (Mohamed vd., 2010). Domateste 1 mg/l Zeatin+1 mg/l IAA kullanımı hipokotilden sürgün rejenerasyonunda başarılı sonuçlar vermiştir (Chaudhry vd., 2010). *In vitro* kültürlerde morfogenezis için kuvvetli bir biyodüzenleyici olan thidiazuran (TDZ)'nin, yalnız ya da diğer büyüme düzenleyicileri ile birlikte kullanılmasının, pek çok bitki türünde sürgün oluşumu ve somatik embriyogenezisi olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir (Osman vd., 2010).

Bu çalışma, domateste tuz stresi konusunda yürütülecek *in vitro* çalışmaları planlamak üzere M-28 hibrit çeşidine ait kotiledon ve hipokotil eksplantlarından, farklı oksin ve sitokinin kombinasyonlarının, kallus oluşumu ve/veya sürgün oluşumuna etkisi hem fotoperiyodik koşulda hem de karanlığı takiben fotoperiyodik koşullarda belirlenmesi amacı ile gerçekleştirilmiştir

2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) M-28 hibrit çeşidi kullanılmıştır ve tohumlar, Agrotek Tohumculuk Tarım Sanayi ve Ticaret Limitet Şirketi'nden sağlanmıştır. Yüzeysel sterilizasyon için tohumlar, %2.25'lik sodyum hipoklorit (NaOCl)'te 5 dakika bekletildikten sonra 3 kez steril distile sudan geçirilmiştir (Yokaş vd., 2008). Yüzey sterilizasyonu yapılan tohumlar, 20 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar ilaveli yarı kuvvetteki Murashige-Skoog (1962) (½ MS) ortamında çimlendirilmiş ve steril fideler elde edilmiştir. 10 günlük steril fidelerin kotiledon (5x5 mm) ve hipokotil (5 mm) eksplantları farklı konsantrasyon ve kombinasyonlarda bitki büyüme düzenleyicilerini içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Bunlar: Bitki büyüme düzenleyicisi ilave edilmemiş MS ortamı (kontrol); 2 mg/l kinetin (Kin)+0.4 mg/l α -naftelen asetik asit (NAA) ilaveli MS ortamı; 2 mg/l Kin+0.2 mg/l indol-3-asetik asit (IAA) ilaveli MS ortamı; 1 mg/l 6-benzil amino pürin (BAP)+1 mg/l 2,4-diklorofenoksi asetik asit (2,4-D) ilaveli MS ortamı; 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli MS ortamı; 2 mg/l BAP ilaveli MS ortamı; 3 mg/l thidiazuran (TDZ) ilaveli MS ortamıdır. Ortamlara 30 g/l sakkaroz eklenerek pH 5.8'e ayarlanmış ve 7 g/l agar ilave edilmiştir. Besin ortamının sterilizasyonu 15 dakikada, 121 °C ve 1.5 atm basınçtaki otoklavda yapılmıştır. Eksplantların kültüre alınmasını takiben kültür kaplarının bir kısmı 16 saat aydınlık-8 saat karanlık olmak üzere fotoperiyodik koşulda, diğer kısmı 25 günlük karanlıktan sonra aynı şekilde düzenlenmiş fotoperiyodik koşuldaki kültür odasında bekletilmiştir. Kültür odası sıcaklığı 25°C±2 ve aydınlanma 45 μ E/m²/s olarak ayarlanmıştır.

45 günlük kültür süresinin sonunda kültürler kaplardan çıkarılarak kallus kitlelerinin yaş ve kuru ağırlıkları (mg), eksplant başına ortalama sürgün sayısı (adet/eksplant), ortalama sürgün boyu (mm) ve sürgündeki yaprak sayısı (adet/sürgün) belirlenmiştir. Ayrıca kallustaki meristematik bölgeler, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Araştırma Laboratuvarı Merkezi'nde Scanning Elektron Mikroskobu (SEM) ile görüntülenmiştir. Elde edilen veriler farklı bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonları ve kültür koşullarına göre SPSS 14.0 paket programında parametrik testlerden ANOVA ve One Sample T-Testi ile değerlendirilmiştir.

İstatistiksel olarak ortalamalar arasındaki anlamlı farklılık $P \leq 0.05$ düzeyinde belirlenmiştir.

3. Araştırma Bulguları

3.1. Eksplantlardan Kallus ve Adventif Sürgün Oluşumu

Fotoperiyodik koşuldaki kültürlerde; kotiledon eksplantlarından Kin+IAA ilaveli ortam hariç bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli diğer ortamlarda ve kontrolde (bitki büyüme düzenleyicisi ilavesiz MS ortamı) kallus oluşumu gözlenmiştir. Kontrolde %10 gibi düşük bir kallus oluşumu görülürken 1 mg/l BAP+1 mg/l 2,4-D ve 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli ortamlarda %100 olmuştur. Aynı koşullarda hipokotil eksplantlarından da 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli MS ortamında %100 kallus oluşumu gözlenmiş, kontrolde ise kotiledon eksplantına göre daha yüksek (%33) bir kallus oluşumu saptanmıştır. Her iki eksplantta da NAA ilaveli kombinasyonlarda kallus oluşumu yüksek bulunmuş ayrıca, BAP+2,4-D ilavesi de kallus oluşumu için iyi sonuç vermiştir (Tablo 1). Her iki eksplant tipinde de kallus oluşumunun kontrole göre yüksek olması istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Kültürlerde kallus oluşumunun yanı sıra kök oluşumu da gözlenmiştir. Fotoperiyodik koşulda, kotiledon ve hipokotil eksplantlarında NAA ilaveli ortamlarda kök oluşumu yüksek oranlarda gerçekleşmiş olup (%90-100) kontrole göre ortama NAA kombinasyonlarının ilavesi kök oluşumu üzerine istatistiksel olarak önemli fark oluşturmuştur. BAP+2,4-D ilaveli ortamda gelişen kalluslarda ise kök oluşumu gözlenmemiştir (Tablo 1).

Domateste sürgün oluşumunda başarı oranı bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanımı başta olmak üzere diğer pek çok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Bu çalışmada kotiledon eksplantlarında, 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA, tek başına 2 mg/l BAP ve 3 mg/l TDZ ilaveli ortamlarda adventif sürgünler gözlenirken diğer ortamlarda gözlenmemiştir. Buna karşılık hipokotil eksplantında ise 1 mg/l BAP+1 mg/l 2,4-D kombinasyonu dışında, kontrol de dahil tüm ortamlarda sürgünler gözlenmiştir (Tablo 1). Kotiledon eksplantında BAP (BAP+NAA ve BAP) ve TDZ ilaveli ortamlarda kontrole göre istatistiki olarak önemli fark olmuştur. Hipokotil eksplantlarında da, sadece BAP ve sadece TDZ ilaveli ortamlardaki sürgün oluşumu kontrole göre istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Elde edilen verilerden sürgün oluşumu üzerine BAP ve TDZ'nin etkisi açık olarak görülmüştür. Kotiledon ve hipokotil eksplantlarında en yüksek sürgün oluşum oranı, TDZ ilaveli ortamda tespit edilmiştir (kotiledon eksplantında %58 ve hipokotil eksplantında %73) (Tablo 1). Adventif sürgün oluşumu için sitokinin grubu hormonların gerekliliği bilinmektedir ve

çalışmamızda da besin ortamına tek başına 3 mg/l TDZ ilavesinin olumlu etkisi gözlenmiştir. Her iki eksplantın kültüründe kallus oluşumu ve gelişiminde iyi sonuç veren 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli besin ortamında ise sürgün oluşumunun düşük olduğu tespit edilmiştir.

25 gün karanlığı takiben fotoperiyodik koşuldaki kültürlerde; kotiledon ve hipokotil eksplantlarından, kontrol hariç, bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli tüm ortamlarda kallus oluşumu gözlenmiştir. Her iki eksplantın kültürlerinde, Kinetin (Kin+NAA ve Kin+IAA) ve BAP ilaveli (BAP+2,4-D ve BAP+NAA) ortamlarda %100 kallus oluşumu tespit edilmiştir (Tablo 2). Fotoperiyodik koşullarda kontrolde kallus oluşumu gözlenmesine rağmen, karanlığı takiben fotoperiyodik koşulda kontrolde kallus oluşumu gözlenmemiş, sadece kök oluşumu gözlenmiştir. Fotoperiyodik koşulda tutulan kültürlerde olduğu gibi karanlığı takiben fotoperiyodik koşulda da NAA'lı kombinasyonlarda her iki eksplantta kallus oluşumunun yanı sıra kök oluşumu da yüksek bulunmuştur (Tablo 2). Her iki eksplantın kültüründe de, BAP+2,4-D ve TDZ ilaveli ortamlar haricinde, kontrol de dahil diğer ortamlarda kök oluşumu gözlenmiştir.

Karanlığı takiben fotoperiyodik koşulun sürgün oluşumuna olumlu etkisi her iki eksplantın kültüründe de gözlenmiştir (Tablo 2). Kotiledon eksplantında, sadece 2 mg/l Kin+0.2 mg/l IAA, 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA, 2 mg/l BAP ve 3 mg/l TDZ ilaveli ortamda sürgün oluşumu gözlenirken; hipokotil eksplantlarında kontrol ve 1 mg/l BAP+1 mg/l 2,4-D ilaveli MS ortamı hariç diğer tüm ortamlarda adventif sürgünler gözlenmiştir. Her iki eksplantta da kontrole göre sürgün oluşumunu arttıran bitki büyüme düzenleyicilerinin MS ortamına ilavesi istatistiksel olarak önemli olmuştur. Kotiledon eksplantlarında, en yüksek sürgün oluşumu %100 olarak 2 mg/l Kin+0.2 mg/l IAA ve sadece 2 mg/l BAP ilaveli MS ortamlarında gözlenmiştir. Hipokotil eksplantlarında en yüksek sürgün oluşumu 3 mg/l TDZ ilaveli ortamda gözlenmiştir (%93), bunu 2 mg/l Kin+ 0.2 mg/l IAA ilaveli ortamdaki kültür izlemiştir (%90) (Tablo 2).

Tablo 1. Çeşitli bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli MS ortamında ve fotoperiyodik koşuldaki kültürlerde kotiledon ve hipokotil eksplantlarından kallus, kök ve sürgün oluşumu (%)

Bitki Büyüme Düzenleyicileri	Fotoperiyodik Koşul					
	Kotiledon			Hipokotil		
	Kallus oluşumu (%)	Kök oluşumu (%)	Sürgün oluşumu (%)	Kallus oluşumu (%)	Kök oluşumu (%)	Sürgün oluşumu (%)
Kontrol	10	41	0	33	29	29
Kin+NAA	93*	100*	0	95*	100*	20
Kin+IAA	0	0	0	38	14	19
BAP+2,4-D	100*	0	0	89*	0	0
BAP+NAA	100*	90*	10*	100*	100*	5
BAP	30*	8	41*	62*	19	65*
TDZ	83*	0	58*	60*	0	73*

* Aynı sütundaki değerler bakımından, farklı bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli ortamların kontrole göre istatistiksel farklılığını göstermektedir ($P \leq 0.05$).

Tablo 2. Çeşitli bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli MS ortamında ve karanlığı takiben fotoperiyodik koşuldaki kültürlerde kotiledon ve hipokotil eksplantlarından kallus, kök ve sürgün oluşumu (%)

Bitki Büyüme Düzenleyicileri	Karanlığı Takiben Fotoperiyodik Koşul					
	Kotiledon			Hipokotil		
	Kallus oluşumu (%)	Kök oluşumu (%)	Sürgün oluşumu (%)	Kallus oluşumu (%)	Kök oluşumu (%)	Sürgün oluşumu (%)
Kontrol	0	83	0	0	64	0
Kin+NAA	100*	100	0	100*	88*	53*
Kin+IAA	100*	81	100*	100*	82*	90*
BAP+2,4-D	100*	0	0	100*	0	0
BAP+NAA	100*	100	8*	100*	94*	29*
BAP	100*	36	100*	45*	18	72*
TDZ	83*	0	91*	28*	0	93*

* Aynı sütundaki değerler bakımından, farklı bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli ortamların kontrole göre istatistiksel farklılığını göstermektedir ($P \leq 0.05$).

3.2. Kallus Ağırlığı

Fotoperiyodik koşulda tutulan kültürlerde; 45 günlük kültür sonunda kallus yaş ağırlıkları belirlenmiş ve en yüksek kallus yaş ağırlığı her iki eksplantın kültüründe hem kök hem sürgün oluşumunun görüldüğü 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli besin ortamında belirlenmiştir (Tablo 3), (Şekil 1a). Kallus oluşumunun yüksek olduğu ortamlarda kallus gelişiminin de iyi olduğu ilgili verilerin bulunduğu tablolardan açıkça görülmektedir. Her iki eksplant tipinde de, 2 mg/l Kin+0.4 mg/l NAA, 1 mg/l BAP+1 mg/l 2,4-D ve 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli ortamlardaki kallus yaş ağırlıkları kontrole göre istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

Kallus oluşumunun yanı sıra gelişen kallusların renk ve dokusu incelenmiş, fotoperiyodik koşulda gelişen kallusların yeşil renkli olduğu; 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli besin ortamında gelişen yeşil kallusların sıkı dokulu; 1 mg/l BAP+1 mg/l 2,4-D ilaveli ortamda gelişenlerin ise sulu dokulu olduğu belirlenmiştir.

Karanlığı takiben fotoperiyodik koşuldaki kültürlerde de; 45 günlük kültür sonunda kallus yaş

ve kuru ağırlıkları belirlenmiş ve her iki eksplantta en yüksek kallus yaş ve kuru ağırlıkları 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli ortamda tespit edilmiştir. Besin ortamına ilave edilen bitki büyüme düzenleyicilerinin kallus yaş ve kuru ağırlığına etkisi, istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Tablo 4).

Tablo 3. Çeşitli bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli MS ortamında ve fotoperiyodik koşuldaki kültürlerde kotiledon ve hipokotil eksplantlarından gelişen kallusların yaş ve kuru ağırlıkları

Bitki Büyüme Düzenleyicileri	Fotoperiyodik Koşul			
	Kotiledon		Hipokotil	
	Kallus yaş ağırlığı (mg/eksplant) ^a	Kallus kuru ağırlığı (mg/eksplant) ^a	Kallus yaş ağırlığı (mg/eksplant) ^a	Kallus kuru ağırlığı (mg/eksplant) ^a
Kontrol	110±10	16.24±1.63	140±20	16.70±2.59
Kin+NAA	670±100*	40.35±6.13*	570±60*	44.70±4.37*
Kin+IAA	0±0	0.00±0.00	100±10	15.00±2.52
BAP+2,4-D	790±90*	54.61±5.68*	500±70*	35.53±4.93*
BAP+NAA	1270±110*	89.44±6.56*	1060±80*	78.38±5.91*
BAP	210±30	25.73±3.77	380±70	45.37±7.46*
TDZ	400±90	40.65±7.52*	330±100	28.87±7.85

^a Değerler ortalama±standart hatadır.

* Aynı sütundaki değerler bakımından, farklı bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli ortamların kontrole göre istatistiksel farklılığını göstermektedir (P≤0.05).

Tablo 4. Çeşitli bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli MS ortamında ve karanlığı takiben fotoperiyodik koşuldaki kültürlerde kotiledon ve hipokotil eksplantlarından gelişen kallusların yaş ve kuru ağırlıkları

Bitki Büyüme Düzenleyicileri	Karanlığı Takiben Fotoperiyodik Koşul			
	Kotiledon		Hipokotil	
	Kallus yaş ağırlığı (mg/eksplant) ^a	Kallus kuru ağırlığı (mg/eksplant) ^a	Kallus yaş ağırlığı (mg/eksplant) ^a	Kallus kuru ağırlığı (mg/eksplant) ^a
Kontrol	0±0	0.00±0.00	0±0	00.00±0.00
Kin+NAA	880±90*	57.21±5.38*	920±130*	56.00±7.42*
Kin+IAA	420±40*	43.78±4.17*	350±40*	35.03±0.36*
BAP+2,4-D	610±30*	43.48±2.35*	690±70*	41.48±4.82*
BAP+NAA	1180±90*	75.79±5.15*	1300±80*	79.35±5.37*
BAP	550±30*	57.08±3.53*	150±30	14.85±3.45
TDZ	580±90*	54.41±7.11*	70±10	8.06±3.70

^a Değerler ortalama±standart hatadır.

* Aynı sütundaki değerler bakımından, farklı bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli ortamların kontrole göre istatistiksel farklılığını göstermektedir (P≤0.05).

Kallus gelişimi bakımından kültür koşullarının etkisi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, 2 mg/l Kin+0.2 mg/l IAA ilaveli kombinasyonda fotoperiyodik koşulda kallus oluşumu düşük iken (kotiledon eksplantında %0, hipokotil eksplantında %38) (Tablo 1), karanlığı takiben fotoperiyodik koşulda her iki eksplantta da %100 olmuştur. Ancak bu ortamda kallus gelişiminin oldukça zayıf olduğu tespit edilmiştir (kallus yaş ve kuru ağırlıkları düşüktür). Dolayısı ile besin ortamına ilave edilen bitki büyüme düzenleyicilerine göre kotiledon eksplantından gelişen kallusların yaş ağırlığı üzerine kültür koşullarının etkisi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ve BAP kombinasyonlarını içeren ortamlarda fotoperiyodik koşul; Kin+IAA ilaveli ortamda ise karanlığı takiben fotoperiyodik koşul istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo 3 ve 4). Hipokotil eksplantında

ise, kontrol, BAP ve sadece TDZ ilaveli ortamda fotoperiyodik koşul etkili iken; Kin ve BAP kombinasyonlarını içeren ortamlarda ise karanlığı takiben fotoperiyodik koşul istatistiksel olarak önemli fark oluşturmuştur (Tablo 3 ve 4). Genel olarak değerlendirildiğinde, her iki kültür koşulunda (fotoperiyodik koşul ve karanlığı takiben fotoperiyodik koşul) ve her iki eksplant tipinde (kotiledon ve hipokotil) kallus oluşumu ile gelişimi üzerine en iyi sonucu 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ile 1 mg/l BAP+1 mg/l 2,4-D ilaveli MS besin ortamlarının verdiği belirlenmiştir.

3.3. Sürgün Sayısı, Sürgün Boyu ve Sürgündeki Yaprak Sayısı

Fotoperiyodik koşulda, sürgün oluşumunda başarılı sonuçlar veren 3 mg/l TDZ ilaveli ortamda her iki

eksplantta da, eksplant başına düşen rejenere sürgün sayısı en yüksektir (Tablo 5). Sürgün boyu en fazla kotiledon eksplantından, 2 mg/l BAP ilaveli ortamda rejenere olan sürgünlerde; hipokotil eksplantından ise 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli ortamda rejenere olan sürgünlerde bulunmuştur. Kotiledon eksplantlarından rejenere olan adventif sürgünlerin ortalama yaprak sayısı en yüksek 2 mg/l BAP ilaveli ortamda tespit edilirken; hipokotil eksplantında 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA'lı ortamda bulunmuştur. Dolayısı ile sürgün oluşumunda ve rejenere sürgünlerin vejetatif gelişiminde sitokin grubu hormonların etkisi açık olarak görülmektedir.

Karanlığı takiben fotoperiyodik koşulda, adventif sürgün sayısı en yüksek kotiledon eksplantlarında 3 mg/l TDZ ilaveli ortamda bulunurken (Şekil 1b); hipokotil eksplantında ise 2 mg/l BAP ilaveli ortamda belirlenmiştir (Tablo 6). En yüksek sürgün boyu, hem kotiledon hem de hipokotil eksplantında 2 mg/l Kin+0.2 mg/l IAA içeren ortamda tespit edilmiştir

(Şekil 1c). Kotiledon eksplantından oluşan sürgünlerdeki yaprak sayısı en yüksek 2 mg/l Kin+0.2 mg/l IAA ilaveli ortamdaki sürgünlerde tespit edilirken; hipokotil eksplantında ise 2 mg/l BAP ilaveli ortamdaki sürgünlerde olmuştur. Rejenere olan sürgün sayısı, boyu ve sürgündeki yaprak sayısı üzerine bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

Çalışmamızda, kotiledon ve hipokotil eksplantlarından, farklı bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli MS ortamı ve farklı kültür koşullarında hem direk hem de indirek organogenezis ile adventif sürgün oluşumu gerçekleşmiştir. Kültürde 45 gün sonraki kallusların SEM incelemesi ile kallus kitlesinin arasından dışa doğru kabartı şeklinde çıkıntı görülmüş (Şekil 1d) ve bu çıkıntı meristematik bölge ve yaprak primordialarına dönüşmüş (Şekil 1e ve 1f) böylece indirekt sürgünün meydana geldiği belirlenmiştir.

Tablo 5. Çeşitli bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli MS ortamında ve fotoperiyodik koşuldaki kültürlerde kotiledon ve hipokotil eksplantlarından gelişen adventif sürgünlerin sayısı, boyu ve sürgündeki yaprak sayısı

Bitki Büyüme Düzenleyicileri	Fotoperiyodik Koşul					
	Kotiledon			Hipokotil		
	Sürgün sayısı (adet/eksp.) ^a	Sürgün boyu (mm) ^a	Sürgündeki yaprak sayısı (adet) ^a	Sürgün sayısı (adet/eksp.) ^a	Sürgün boyu (mm) ^a	Sürgündeki yaprak sayısı (adet) ^a
Kontrol	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	2.57±0.52	18.85±4.63	1.73±0.28
Kin+NAA	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	2.00±0.31	16.95±8.62	2.10±0.67
Kin+IAA	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	2.50±0.80	10.59±3.24	1.02±0.02
BAP+2,4-D	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
BAP+NAA	3.00±0.57*	3.00±0.57*	1.33±0.33*	1.00±0.00	33.00±0.57	3.00±0.00*
BAP	5.10±6.42*	4.88±2.11*	1.60±0.29*	7.53±1.48*	2.89±0.56	1.25±0.05
TDZ	10.67±2.81*	3.69±0.70*	1.36±0.10*	8.27±2.49*	2.40±0.39	1.40±0.14

^a Değerler ortalama±standart hatadır.

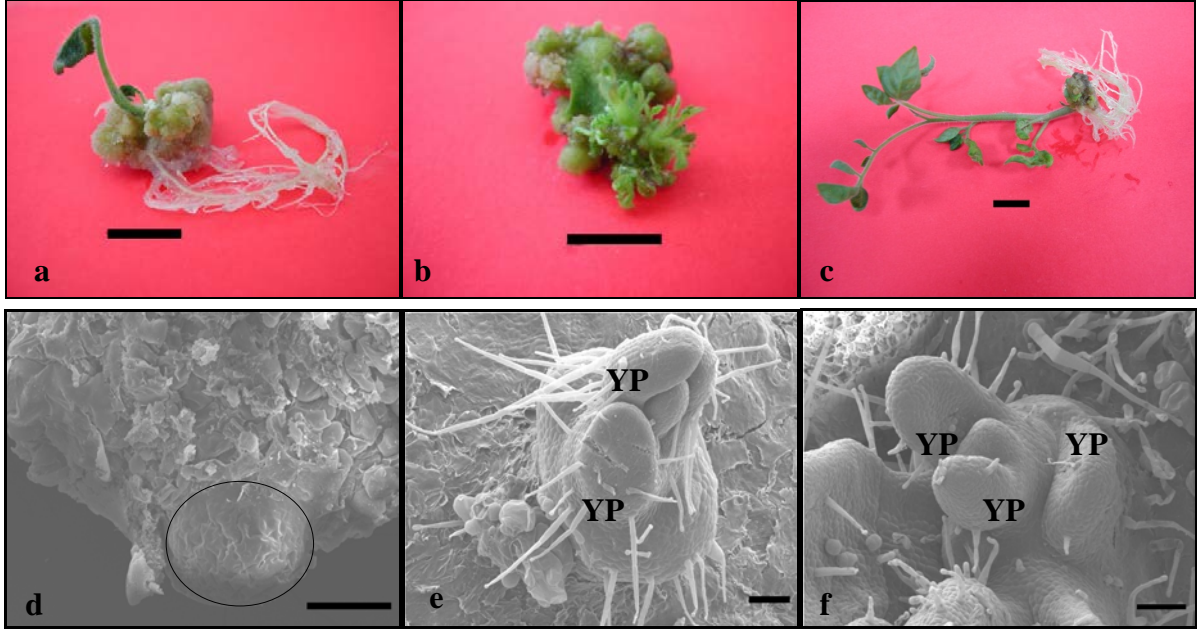
* Aynı sütundaki değerler bakımından, farklı bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli ortamların kontrole göre istatistiksel farklılığını göstermektedir (P≤0.05).

Tablo 6. Çeşitli bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli MS ortamında ve karanlığı takiben fotoperiyodik koşuldaki kültürlerde kotiledon ve hipokotil eksplantlarından gelişen adventif sürgünlerin sayısı, boyu ve sürgündeki yaprak sayısı

Bitki Büyüme Düzenleyicileri	Karanlığı Takiben Fotoperiyodik Koşul					
	Kotiledon			Hipokotil		
	Sürgün sayısı (adet/eksp.)	Sürgün boyu (mm)	Sürgündeki yaprak sayısı (adet)	Sürgün sayısı (adet/eksp.)	Sürgün boyu (mm)	Sürgündeki yaprak sayısı (adet)
Kontrol	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Kin+NAA	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	2.00±0.33*	2.46±0.39*	1.11±0.11*
Kin+IAA	7.75±0.90*	16.56±3.23*	1.73±0.13*	5.58±0.90*	8.80±0.92*	1.59±0.12*
BAP+2,4-D	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
BAP+NAA	1.33±0.33	1.33±0.33	1.33±0.33	3.60±1.20*	1.44±0.19*	1.46±0.16*
BAP	14.85±1.32*	6.30±0.46*	1.69±0.65*	11.88±1.80*	3.74±0.38*	2.16±0.18*
TDZ	17.30±5.72*	2.56±0.37*	1.63±0.21*	0.92±1.48*	1.27±0.08*	1.30±0.10*

^a Değerler ortalama±standart hatadır.

* Aynı sütundaki değerler bakımından, farklı bitki büyüme düzenleyicileri ilaveli ortamların kontrole göre istatistiksel farklılığını göstermektedir (P≤0.05).



Şekil 1. Domatesin *in vitro* kültürlerinde kallus ve sürgün oluşumu, köklenme ve bitkicik oluşumu **a:** BAP+NAA ilaveli MS ortamında hipokotil eksplantından fotoperiyodik koşuldaki kültürden sürgün ve kök gelişiminin olduğu kallus kitlesi; **b:** Karanlığı takiben fotoperiyodik koşulda kotiledon eksplantından TDZ'li ortamda gözlenen çok sayıda adventif sürgünler; **c:** Karanlığı takiben fotoperiyodik koşulda kotiledon eksplantından Kin+IAA ilaveli ortamda gelişen yapraklı ve uzamış sürgün (a, b ve c'de ölçü çizgisi: 1 cm); **d:** Fotoperiyodik koşulda, Kin+IAA ilaveli MS ortamında hipokotil eksplantından oluşan organogenik kallusun SEM görüntüsü; **e:** Karanlığı takiben fotoperiyodik koşulda ve TDZ'li ortamda kotiledon eksplantı kalluslarında yaprak primordiaları (YP)'nin SEM görüntüsü; **f:** Karanlığı takiben fotoperiyodik koşulda ve TDZ ilaveli MS ortamındaki hipokotil eksplantı kalluslarında YP'nin SEM görüntüsü (d, e ve f'de ölçü çizgisi: 100 µm)

Farklı bitki büyüme düzenleyicilerini içeren ortamlara göre kültür koşullarının etkisi, sürgün sayısı, boyu ve sürgündeki yaprak sayısı üzerine istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Buna göre kotiledon eksplantından gözlenen sürgün sayısı üzerine 2 mg/l Kin+0.2 mg/l IAA ve 2 mg/l BAP ilaveli ortamlarda; sürgün boyu ve sürgündeki yaprak sayısı bakımından ise 2 mg/l Kin+0.2 mg/l IAA'lı ortamda karanlığı takiben fotoperiyodik koşulun etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Tablo 5 ve 6). Hipokotil eksplantında ise, sürgün sayısı üzerine kontrolde fotoperiyodik koşul, 2 mg/l Kin+0.2 mg/l IAA'lı ortamda ise karanlığı takiben fotoperiyodik koşul; sürgün boyu üzerine kontrol, 2 mg/l Kin+0.4 mg/l NAA, 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ve 3 mg/l TDZ'li besin ortamında fotoperiyodik koşul; sürgündeki yaprak sayısı üzerine ise kontrol, 2 mg/l Kin+0.2 mg/l IAA, 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ve 2 mg/l BAP ilaveli ortamlarda fotoperiyodik koşul istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Tablo 5 ve 6).

4. Tartışma ve Sonuç

Fotoperiyodik koşuldaki kültürlerde; M-28 domates çeşidinin kotiledon eksplantlarından bitki büyüme düzenleyicisi ilavesiz ortamda %10 gibi düşük kallus oluşumu, 1 mg/l BAP+1 mg/l 2,4-D ile 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli ortamlarda ise yüksek kallus oluşumu (%100) gözlenmiştir. Buna karşılık, 2 mg/l Kin+0.2 mg/l IAA ilaveli ortamda kallus oluşumu

gözlenmemiştir. Aynı koşullarda hipokotil eksplantlarından, kontrolde %33 bir kallus oluşumu, 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli MS ortamında ise %100 kallus oluşumu saptanmıştır. Her iki eksplantta, NAA ilaveli kombinasyonlarda (2 mg/l Kin+0.4 mg/l NAA ve 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA) ve BAP+2,4-D'li ortamda kallus oluşumu iyi sonuç vermiştir. Aazami vd. (2010), 6 domates çeşidinde (Nora, PS-10, Peto, Roma, Imperial, Pascal) hipokotil eksplantlarından 1 mg/l BAP+1 mg/l 2,4-D ilaveli ortamda % 90'nın üzerinde kallus oluşumu tespit etmişlerdir. Harish vd. (2010) ise, kullandıkları farklı BAP+NAA kombinasyonlarından 2 mg/l BAP+0.5 mg/l NAA ilaveli ortamda en yüksek ve en hızlı kallus oluşumu gözlemişlerdir.

Kallus oluşumunun yanı sıra gelişen kallusların renk ve dokusu incelenmiş, fotoperiyodik koşulda gelişen yeşil renkli kalluslardan 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli besin ortamlarındaki sıkı dokulu, 1 mg/l BAP+1 mg/l 2,4-D ilaveli ortamda gelişenlerin sulu dokulu olduğu belirlenmiştir. El-Meleigy vd. (2004), kültürü yapılan Castrock ve Oriet domates çeşitlerinde kallus elde etmek için kullandıkları 2 mg/l Kin+0.4 mg/l NAA ilaveli MS ortamında kotiledon ve hipokotil eksplantlarını kültüre almışlardır. Kotiledon eksplantlarından bej, hipokotil eksplantlarından ise yeşilimsi renkli ve sıkı dokulu kalluslar elde etmişlerdir. Vikram vd. (2011), S-22 domates çeşidinde kotiledon eksplantından 2

mg/l'den 3.5 mg/l'e kadar BAP ilaveli MS ortamından yeşil renkli ve noduler kalluslar elde etmişlerdir. Oysa 4 mg/l'den 5 mg/l'e kadar BAP ilavesinde kalluslarda rengin kahverengi olduğunu gözlemişlerdir. Araştırmacılar aynı çeşitte ve eksplantta 0.5 mg/l'den 2 mg/l'e kadar BAP ve 0.1 mg/l IAA içeren MS ortamında ise beyaz renkli ve kırılğan dokulu kalluslar elde etmişlerdir. Sonuç olarak kullanılan domates çeşidi ve genotipi, bitki büyüme düzenleyicileri çeşidi, konsantrasyonu ve kombinasyonlarına göre kallus renk ve dokusunda farklılıklar olabileceği görülmüştür.

Domateste *in vitro* sürgün oluşumunda, bitki büyüme düzenleyicileri ve kültür koşulları gibi birçok faktörün etkisi başarı oranını değiştirmektedir. Bu çalışmada kotiledon ve hipokotil eksplantlarında, adventif sürgünlerin elde edilmesi üzerine BAP ve TDZ'nin etkisi açık olarak görülmüştür. Kotiledon ve hipokotil eksplantlarında en yüksek sürgün oluşumu, 3 mg/l TDZ ilaveli ortamda tespit edilmiştir (kotiledon eksplantında %58 ve hipokotil eksplantında %73). Moghaieb vd. (1999), domates Pontaroza çeşidinde 2 mg/l zeatin içeren MS ortamında hipokotil eksplantında kotiledon eksplantına göre daha yüksek frekansta sürgün oluşumu belirlemişlerdir. Osman vd. (2010), kotiledon eksplantından gelişen kallusların 0.5 mg/l TDZ+0.5 mg/l BAP içeren ortamdaki alt kültürlerinde yüksek rejenerasyon (%93) gözlemişlerdir. Benzer şekilde çalışmamızda da adventif sürgün oluşumu için sitokinin grubu hormonların (BAP ve TDZ) olumlu etkisi belirlenmiştir. Her iki eksplantta da kallus oluşumu ve gelişiminde iyi sonuç veren 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli besin ortamında, sürgün oluşumu oranı (%) düşük kalmıştır. Gubis vd. (2004), farklı domates çeşitlerindeki adventif sürgün oluşumunda, düşük konsantrasyonlarda BAP ve NAA'nın birlikte kullanımının olumlu sonuç verdiğini ancak, BAP'ın etkisinin zeatine göre zayıf kaldığını ve en etkili kombinasyonun 1 mg/l zeatin+0.1 mg/l IAA ilavesinin olduğunu belirtmişlerdir.

Fotoperiyodik koşulda, sürgün oluşumunda başarılı sonuçlar veren 3 mg/l TDZ ilaveli ortamda her iki eksplantta da eksplant başına düşen sürgün sayısı en yüksek bulunmuştur. Osman vd. (2010), domates Omdurman çeşidi kültürlerinde en yüksek sürgün sayısını, kotiledon eksplantının 3 mg/l TDZ ilaveli ortamdaki birinci alt kültürlerinden elde etmişlerdir. Vikram vd. (2011), S-22 domates çeşidine ait kotiledon eksplantlarının 3.5 mg/l BAP+0.1 mg/l IAA ilaveli ortamdaki kültüründe, yüksek sürgün sayısı elde etmişlerdir. Namitha ve Negi (2013), "Arka Ahuti" domates çeşidinde kotiledon ve hipokotil eksplantlarının 2 mg/l BAP+0.1 mg/l IAA ilaveli ortamdaki kültürlerinde sürgün sayısı bakımından başarılı sonuçlara ulaşmışlardır. Sitokinin-sitokinin etkisini araştıran Ali vd. (2012), MS

ortamına 1 mg/l BAP+1 mg/l Kin ilavesini eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından başarılı bulmuşlardır.

Çalışmamızda, sürgün boyu fotoperiyodik koşulda ve kotiledon eksplantında, en fazla 2 mg/l BAP ilaveli ortamda; hipokotil eksplantında ise, 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli ortamda tespit edilmiştir. Yapılan önceki araştırmalar sonucu sürgün organogenezisinde, sitokinin-oksijen kombinasyonunun etkin olduğu ifade edilmiş, buna ilave olarak son yıllarda sitokininlerin tek başına da kullanılabilirliği önerilmiştir. Mohammed vd. (2010) domates Pearl ve Beril çeşitlerinde BAP'ın tek başına da olumlu sonuç verdiğini belirtmişlerdir. Vikram vd. (2011), S-22 domates çeşidinin kotiledon eksplantlarını kültüre aldıkları ortamda sitokinin-oksijen dengesini dikkate almışlar ve en yüksek sürgün boyunu 4 mg/l BAP+0.1 mg/l IAA kombinasyonundan elde etmişlerdir. Namitha ve Negi (2013), "Arka Ahuti" domates çeşidinde kotiledon ve hipokotil eksplantlarının 2 mg/l BAP+0.1 mg/l IAA ilaveli ortamdaki kültürlerinde yüksek boya sahip sürgünler elde etmişlerdir. Bu çalışmaların sonuçları, farklı domates çeşitlerinin *in vitro* kültürlerinde sürgün elde edilmesinde hem sitokinin-oksijen dengesinin hem de sitokininlerin tek başına kullanımının başarıda etkisi olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda, kotiledon ve hipokotil eksplantlarından, direk ve indirek organogenezis ile adventif sürgün oluşumu gerçekleşmiştir. Öncelikle kotiledon ve hipokotil eksplantlarından organogenik kallus gelişmiş ve aynı zamanda rejenerasyon sürgünler gözlenmiştir. Plana vd. (2005), domateste *in vitro* bitkicik oluşumunu teşvik etmek amaçlı çalışmalarında hipokotil eksplantlarından direk organogenezis ile adventif sürgünlerin elde edilmesinin yanı sıra sürgün sayısını arttırmak amacı ile indirek organogenezis ile de sürgünler elde etmişler ve adventif tomurcuktan direk sürgün uzamasının SEM görüntülerini vermişlerdir. Busse vd. (2005) *Antirrhinum majus* (aslanağzı) hipokotil eksplantlarının *in vitro* kültüründe adventif sürgün oluşumunun küçük bir kabarcık ile başladığını, yaprak primordialarının oluştuğunu ve son olarak sürgünlerin uzadığını SEM incelemeleri ile belirlemişlerdir.

Sonuç olarak, M-28 domates çeşidinde kallus ve sürgün organogenezisi için iki farklı eksplant ve iki farklı kültür koşulunda çeşitli bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisi üzerinde durulmuş ve sonraki çalışmalarda yararlanmak üzere olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Kallus oluşumu için her iki eksplant tipinde 1 mg/l BAP+1 mg/l 2,4-D ve 1 mg/l BAP+1 mg/l NAA ilaveli MS ortamı ve fotoperiyodik koşul elverişli bulunmuş ve iyi bir kallus gelişimi elde

edilmiştir. Sürgün oluşumunda ve oluşan sürgünlerin gelişiminde ise, MS ortamına 2 mg/l BAP, 3 mg/l TDZ ve 2 mg/l Kin+0.2 mg/l IAA ilavesi ve karanlığı takiben fotoperiyodik koşul elverişli bulunmuştur.

Kaynaklar

- Aazami, M.A., Torabi, M., Shekari, F., 2010. Response of Some Tomato Cultivars to Sodium Chloride Stress Under *In Vitro* Culture Condition. African Journal of Biotechnology, 5(18), 2589-2592.
- Ali, A.A., Yossef, T.R., El-Banna, A., 2012. Cytokinin-Cytokinin Interaction Ameliorates the Callus Induction and Plant Regeneration of Tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.). Acta Agronomica Hungarica, 60(1), 47-55.
- Babaoğlu, M., Yorgancılar, M., Akbudak, M.A., 2001. Doku Kültürü: Temel Laboratuvar Teknikleri, Bölüm 1, s.1-35. Bitki Biyoteknolojisi, Doku Kültürü ve Uygulamaları, Eds. Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S., Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 374s.
- Bhatia, P., Ashwath, N., 2005. Effect of Medium pH on Shoot Regeneration from the Cotyledonary Explants of Tomato. Biotechnology, 4(1), 7-10.
- Bhatia, P., Ashwath, N., Midmore, D.J., 2005. Effects of Genotype, Explant Orientation, and Wounding on Shoot Regeneration in Tomato. *In Vitro* Cell Development in Biology, 41, 457-464.
- Busse, J.S., Figueroa-Cabanias, M., Stimart, D.P., 2005. Developmental Anatomy of Adventitious Shoot Formation on Snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) Hypocotyls *In Vitro*. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 130(2), 147-151.
- Chaudhry, Z., Abbas, S., Yasmin, A., Rashid, H., Ahmed, H., Anjum, M.A., 2010. Tissue Culture Studies in Tomato (*Lycopersicon esculentum*) var. Moneymaker. Pakistan Journal of Botany, 42(1), 155-163.
- El-Bakry, A., 2002. Effect Genotype, Growth Regulators, Carbon Source and pH on Shoot Induction and Plant Regeneration in Tomato. *In Vitro* Cell Development in Biology, 38, 501-507.
- El-Meleigy, E.-S.A., Gabr, M.F., Mohamed, F.H. ve Ismail, M.A., 2004. Responses to NaCl Salinity of Tomato Cultivated and Breeding Lines Differing in Salt Tolerance in Callus Cultures. Int J Agri Biol, 6 (1), 19-26.
- Gubis, J., Lajchova, Z., Farago, J., Jurekova, Z., 2004. Effect of Growth Regulators on Shoot Induction and Plant Regeneration in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Biologia, 59/3, 405-408.
- Harish, M.C., Rajeevkumar, S., Sathishkumar, R., 2010. Efficient *In Vitro* Callus Induction and Regeneration of Different Tomato Cultivars of India. Asian Journal of Biotechnology, 2(3), 178-184.
- Ishag, S., Osman, M.G., Khalafalla, M.M., 2009. Effects of Growth Regulators, Explant and Genotype on Shoot Regeneration in Tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Omdurman). International Journal of Sustainable Crop Production, 4(6), 7-13.
- Moghaieb, R.E.A., Saneoka, H., Fujita, K., 1999. Plant Regeneration from Hypocotyl and Cotyledon Explant of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Soil Science and Plant Nutrition, 45(3), 639-646.
- Mohamed, A.N., Ismail, M.R., Rahman, M.H., 2010. *In Vitro* Response from Cotyledon and Hypocotyls Explants in Tomato by Inducing 6-Benzylaminopurine. African Journal of Biotechnology, 9(30), 4802-4807.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. Physiology Plantarum, 15, 473-497.
- Namitha, K.K., Negi, P.S., 2013. Morphogenetic Potential of Tomato (*Lycopersicon esculentum*) cv. 'Arka Ahuti' to Plant Growth Regulators. Noyulae Scientia Biologicae, 5(2), 220-225.
- Osman, M.G., Elhadi, E.A., Khalafalia, M.M., 2010. Callus Formation and Organogenesis of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill, c.v. Omdurman) Induced by Thidiazuron. African Journal of Biotechnology, 9(28), 4407-441.
- Plana, D., Alvarez, M., Lara, R.M., Florido, M., Alvarez, F., Moya, C., 2005. A New *In Vitro* Regeneration Protocol in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Cultivos Tropicales, 26(2), 17-20.
- Rashid, R., Bal, S.S., 2010. Effect of Hormones on Direct Shoot Regeneration in Hypocotyl Explants of Tomato. Notulac Scientia Biologicae, 2(1), 70-73.
- Sheeja, T.E., Mondal, A.B., Rathore, R.K.S., 2004. Efficient Plantlet Regeneration in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Plant Tissue Culture, 14(1), 45-53.
- Vikram, G., Madhusudhan, K., Srikanth, K., Laxminarasu, M, Swamy, N.R., 2011. Effect of Plant Growth Regulators on *In Vitro* Organogenesis in Cultivated Tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Journal of Research in Biology, 4, 263-268.
- Yokaş, İ., Tuna, A.L., Bürün, B., Altunlu, H., Altan, F., Kaya, C., 2008. Responses of the Tomato Different Salt

Forms and Rates. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 32, 319-329.

Semboller

%	yüzde
°C	santigrat derece
l	litre
cm	santimetre
mm	milimetre
µm	mikrometre
g	gram
mg	miligram
atm	atmosfer