

Citation:, Al-Remi, F., Arvas, Y. E., Durmuş, M., Kaya, Y., "Domates Bitkisi ve İn Vitro Mikro Çoğaltımı".
Journal of Engineering Technology and Applied Sciences 3 (1) 2018 : 57-73.

DOMATES BİTKİSİ VE İN VİTRO MİKRO ÇOĞALTIMI **(Tomato Plant and Its In Vitro Micropropagation)**

Faten Al-Remi¹, Yunus Emre Arvas², Mukaddes Durmuş¹, Yılmaz Kaya^{3*}

¹ *Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Türkiye*
handekonsuk@gmail.com

² *Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, Türkiye*
yunusearvas@gmail.com

³ *Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Ziraat Fakültesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Türkiye*
*yilmaz.kaya@omu.edu.tr (*Sorumlu yazar)*

Abstract

Tomato is the second largest vegetable crop consumed as crude and processed food worldwide. Originating in the Andes, the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) was imported to Europe in the 16th century. At present, it is an important crop plant cultivated all over the world, and its production and consumption continue to increase. This popular vegetable is known as a major source of important nutrients including lycopene, bcarotene, flavonoids and vitamin C as well as hydroxycinnamic acid derivatives. Since the discovery that lycopene has anti-oxidative, anti cancer properties, interest in tomatoes has grown rapidly. With the development of plant biotechnology, it has rapidly increased to micro-production methods. Many opportunities have appeared in tomato plants with micropropagation by tissue culture methods. In this review study, we provide general information about tomato plant, then tomato tissue culture and its influencing factors are presented in the light of new knowledges.

Keywords : Tomato, Plant biotechnology, Tomato Tissue culture

Özet

Domates bitkisi patatesten sonra, dünya genelinde ham ve işlenmiş gıda olarak tüketilen ikinci önemli bitkisel üründür. Kökünü And Dağları'ndan alan domates (*Solanum lycopersicum* L.), Avrupa'ya 16. yüzyılda getirilmiştir. Günümüzde tüm dünyada yetiştirilen bir kültür bitkisi olup üretim ve tüketimi artmaya devam etmektedir. Bu popüler sebze hidroksisinnamik asit türevleri için olduğu kadar, likopen, β-karoten (beta karoten), flavonoid ve C vitamini gibi önemli vitaminler ve besinler için de

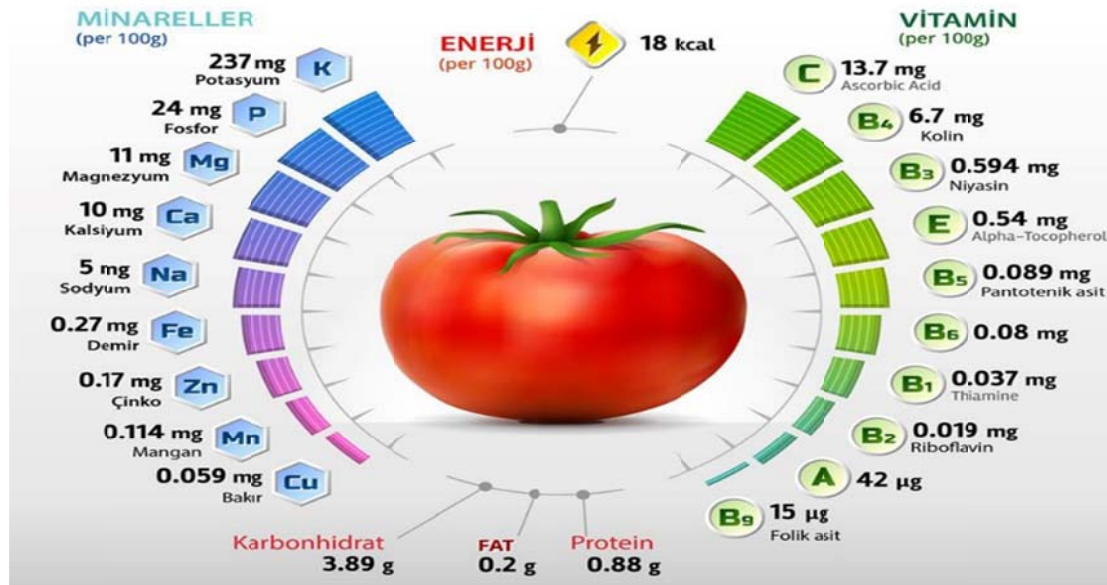
temel bir kaynak olarak bilinir. Likopenin anti-oksitatif ve anti kanser özelliklerinin keşfedilmesinden bu yana, bu bitki üzerindeki çalışmalar artmıştır. Bitki biyoteknolojisinin gelişimi ile mikroçoğaltım yöntemlerine ilgi hızlı şekilde artmıştır. Domates bitkilerinde doku kültürü yöntemleriyle mikro çoğaltım yapılmasıyla birlikte birçok fırsatlar ortaya çıkmıştır. Bu derleme çalışmasında, domates bitkisi hakkında genel güncel bilgiler verildikten sonra domates doku kültürü ve etkileyen faktörleri yeni yapılan araştırmalar ışığında sunulmuştur.

Anahtar kelimeler : Domates, Bitki biyoteknolojisi, Domates Doku kültürü

1. Giriş

Kökenini And Dağları'ndan alan domates (*Solanum lycopersicum* L.), Avrupa'ya 16. Yüzyılda getirilmiştir. Günümüzde, dünya genelinde yaygın olarak üretimi ve tüketimi yapılan domates ekonomik olarak önemli bir mahsul haline gelmiştir. Ayrıca domates bitkisi, tarımsal açıdan önemli genleri dikotiledon kültür bitkilerine uygulamak adına model bir bitki olarak da kullanılabilir [1]. Domates kendine has besin değeri sayesinde, yani likopen, beta karoten, flavanoidler, C vitamini ve hidroksisinnamik asit türevleri içerdiğinden, tıbbi önemi olan bir bitki olarak görülmektedir (Tablo 1).

Tablo 1. Domates Bitkisi Besin İçeriği [2] verilerinden alınmıştır



Domates özellikle son yıllarda, likopenin anti-oksitatif faaliyetleri ve anti-kanser fonksiyonlarından dolayı araştırmacıların ilgisini çekmiştir [3, 4]. Bu yüzden, domates üretim ve tüketimi son yıllarda sürekli artmaktadır. Domatesin sadece taze haliyle değil, çorba, sos, sebze suyu ve toz konsantre olarak satıldığını da göz önünde bulundurulmalıdır. Domates bitkisi; mısır, çeltik, buğday, patates, soya fasulyesi ve manyoktan ürünlerinden sonra dünya çapında en çok üretilen yedinci bitkidir [5].

Botanik bilimi açısından $2n=24$ kromozomlu diploid bir bitki olan domates, bir meyvedir ve diğer meyvelere oranla çok daha az şeker içermektedir. Domates bitkisi; patates, patlıcan, tütün, petunya ve biberler gibi ekonomik değeri olan bitkiler de dahil olmak üzere 3000'den

fazla tür içeren *Solanaceae* familyasında yer almaktadır [6]. 1753'te Linnaeus, domatesi *S. lycopersicum* özel adı altında *Solanum* cinsine dahil etmiştir. 1754'te Philip Miller domatesi *Lycopersicum esculentum* adıyla kendi ait türüne taşımıştır [7, 8]. Ancak, domatesin türünün belirlenmesi birçok bilim adamı tarafından uzun süre tartışma ve inceleme konusu edilmiştir [7]. Bundan dolayı, Linnaeus'un tanımlaması neredeyse iki yüzyıl sonra doğrulanmıştır. Yapılan birçok çalışmada yabani domatesin gen merkezi olarak Peru ülkesi gösterilmektedir. Orta Amerika'da çok bol miktarda bulunmasından dolayı, *S. lycopersicum* cerasiforme'yi kültür domatesinin atası olarak düşünmek yanlış olmaz [6]. Ancak, son zamanlardaki yaygın genetik çalışmalar domatesin en yakın akrabasının *Solanum pimpinellifolium* olduğunu ortaya çıkarmıştır [9]. Son yapılan çalışmalarla, domestik kültür bitkileri ve *S. pimpinellifolium* birbirinden sadece %0,6'lık bir nükleotid farkı göstermiştir. Yapılan klasik ıslah, modern ıslah ve melezleme çalışmaları ile domates ve onların yabani akrabaları arasında (morfolojik ve fizyolojik olarak) geniş fark yelpazesi ortaya konmuştur. Domateslerin yanı sıra mısır ve çeltik üzerinde yapılan ıslah çalışmaları, hızlı fenotipik farklılıkların, sıklıkla, nispeten az sayıdaki merkezlerin genetik kontrolünde olduğunu açığa çıkarmıştır (Koenig ve arkadaşları 2013).

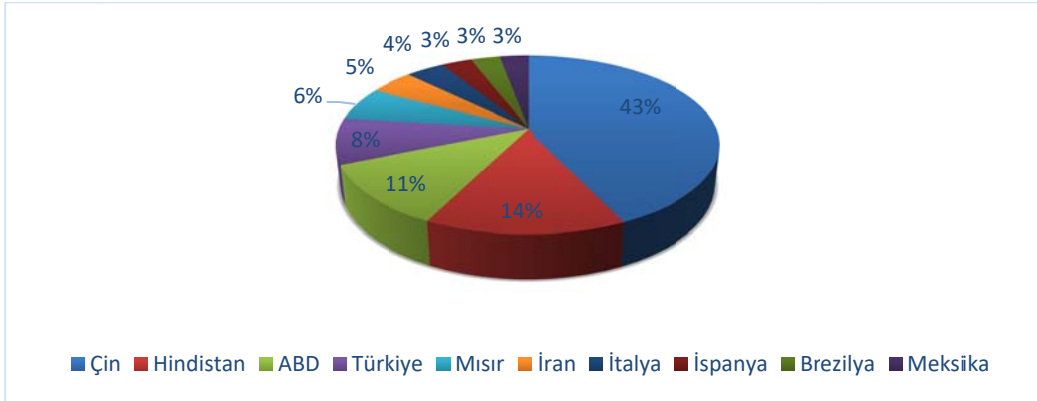
Solanaceae üyeleri arasından ; domates, patates, tütün, biber ve patlıcan gibi ekonomik öneme sahip birçok ekonomik bitki bulunmaktadır. Son yıllarda, genom diziliminin yapılmasının ardından bilim insanlarının domatese model bitki olarak ilgisi önemli ölçüde artmıştır [9]. Domates hem temel hem de uygulamalı araştırma programları için uygun bir model bitkidir. Bunun sebebi : farklı yetiştirme koşullarındaki büyüme ihtimali, nispeten kısa yaşam döngüsü, tohum üretim yeteneği, nispeten küçük genomu (950 Mb), gen kopyalama, yüksek öz-döllenme ve homozigotluk, tozlaştırma ve melezlemedeki kolaylığı, aşılama ile yapılan aseksüel çoğalma yeteneği ve farklı yapay dokulardan tam bir bitki üretme ihtimali gibi birçok sayıda farklı özelliği barındırmasıdır [3, 4].

Mevcut domates genotipleri arasında, cv. Micro Tom domatesi yukarıda sayılan kendine özgü özelliklerden dolayı model bir sistem olarak değerlendirilir [5]. Bu cüce domates süs amaçlı oluşturulmuş, iki kültür bitkisinin (Florida Basket x Ohio 4013-3) çaprazlanmasıyla ortaya çıkmış ve koyu yeşil kıvrımlı yaprakların yanı sıra küçük ve olgun meyveler veren bir bitkidir. Bu yeni model kültür bitkisinin fenotipi daha sonra GA üretiminde farklılığı ilişkilendirilen mutasyonlardan kaynaklanmaktadır [6]. Buna ek olarak, *Nicotiana tabacum*, *Arabidopsis* ve *oryza sativa* gibi model organizmaların aksine, domatesin birçok farklı özelliği vardır. Örneğin, domates bitkisi insan beslenmesi açısından önemli olan lifli meyveler üretmektedir. Domates bitkisi simpodiyal sürgün verir ve bileşik yapraklara sahip tek bitki model bitkidir. Dahası Domates Genetik Araştırma Merkezi (Tomato Genetic Resource Center), LycoTill platformları ve TOMA-TOMA üssünde kendiliğinden olmuş ya da kimyasal/ışınlama tetiklemeyle oluşturulmuş, geniş bir mutant domates havuzu bulunmaktadır [7, 8]. Hollanda'daki Botanik ve Deney Bahçesi'nde yıllardır, *Solanaceae* türlerinin bitkisel gen kaynakları toplanmakta ve doğal yeri dışında yetişen geniş ölçüde domates bitkisi koleksiyonları muhafaza edilmektedir [3].

2. Global ve Yerel Domates Üretim Miktarı

Domates bahçe bitkileri içerisinde dünya genelinde en önemli 3 bitkiden bir tanesidir [3]. Aynı zamanda tüketim miktarı bakımından da dünyanın en önemli sebzesi konumunda olup yaklaşık on yıldır domates üretimi sürekli artış göstermektedir. Yıllar boyunca hem arazi hem de seralarda domates üretiminin artması ekonominin büyümesine önemli derecede etki etmiştir. Ülkemiz domatesi Avrupa'dan sonra tanınmış olmasına rağmen günümüzde dünyanın en önemli domates üreticilerinden bir tanesi olmuştur. Ayrıca Çin, Hindistan, ABD ve Mısır

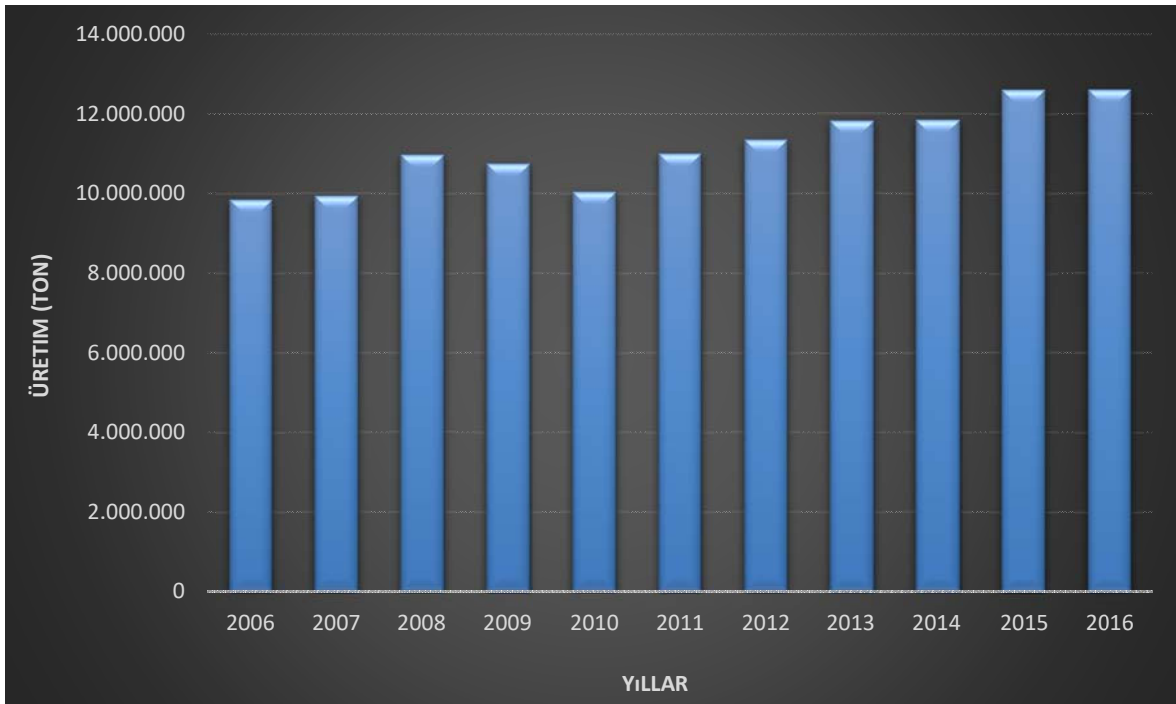
gibi ülkeler domates bitkisini Avrupa'dan sonra tanınmalarına rağmen üretim miktarları bakımından dünyada ilk sıralarda yer almaktadırlar (Şekil 1).



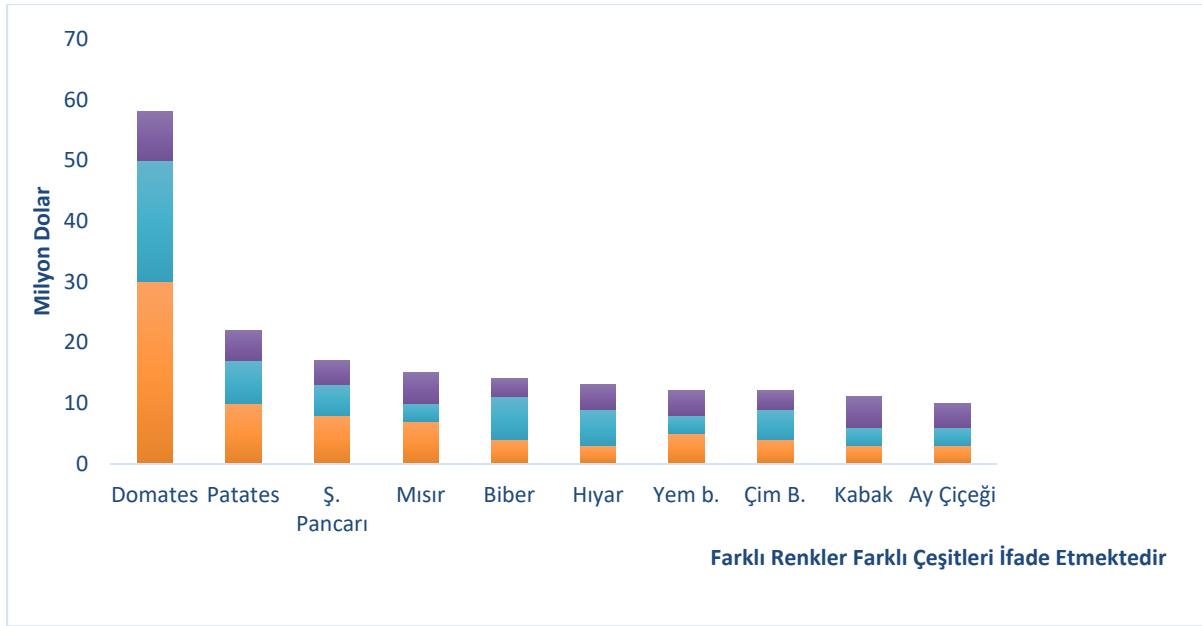
Şekil 1. Global Domates Üretimi [15]

Ülkemizde domates üretimi son yıllarda artarak devam etmiştir. 2006 yılında 9.854.877 ton üretimi yapılmışken 2016 yılında bu rakam yaklaşık 3 milyon ton artarak 12.600.000 tona çıkmıştır (Çizelge 2).

Tablo 1. Ülkemizde Yıllara Göre Domates Üretimi [16]



Türkiye domates üretimi bakımından Çin, Hindistan ve ABD' den sonra 4. Sırada yer almaktadır [3]. Bunlarla birlikte, Ülkemizin 2015 yılında tohumluk bitki ithalatı verilerine göre domates ilk sırada yer almaktadır (Şekil 2). Bu sonuca göre ülkemizden yurt dışına yaklaşık 60 milyon dolarlık bir sermayenin aktarıldığı anlaşılmaktadır [4].



Şekil 2. Ülkemizde İthal Edilen İlk On Tohumluk Bitki Grafığı ve Ödenen Miktar (Milyon Dolar)

3. Domates Bitkisinde Doku Kültürü Çalışmaları

Geleneksel ıslah ve melezleme yöntemlerinin yetiştirme zamanı açısından olumsuz tarafları bulunmaktadır ve çok zaman gerektirmektedir ayrıca üretim amaçları yapılan kriter seçiminde de eşeyssel uyumlu, yakın akraba bitkilerinin melezlenmesi gibi kısıtlamalardan dolayı zayıf tarafları bulunmaktadır. Bundan dolayı, basit ve etkili çoğaltma sistemlerinin kurulması biyoteknoloji için yapılan doku kültüründen fayda sağlamanın temel önkoşuludur. Yapay ortamdaki domates kültürleri yüksek değerli ticari kültür bitkilerinin klonal üretimi, virüssüz bitkiler ve genetik transformasyon dahil farklı biyoteknolojik uygulamalarda kullanılmaktadır [3-7].

Domates doku kültürü sayesinde ticari amaçlarla geliştirilmiş ve Rekombinant DNA yardımıyla genomları değiştirilmiş Flavır Savr domatesi (CGN-89564 olarak da bilinir) insan tüketimi için lisans alan ilk bitki olmuştur. Amerika’da “The Food and Drug Administration” tarafından 1994’te onaylanmıştır. Fakat bu domatesin tadının hoş olmaması olması ve yapısının hassas olmasından dolayı ticaretinde zorlukların bulunması 1997 yılında piyasadan çekilmesine neden olmuştur. Diğer ülkelerde onaylanan domates çeşitleri Tablo 2’de ayrıntılı bir şekilde gösterilmektedir.

Tablo 2. Ticaret İçin Onaylanan Transgenik Domates Türevleri [8, 9]

Şirket	Ürün	Özellik	Onay Yılı	Ne için onaylandığı	Ülke
Calgene	Flavır Savr CGN-89564	Gecikmeli yumuşama (İfade edilen ek PG geniyle geliştirilmiştir)	1994	ABD’deki tüm kullanımlar, Japonya ve Meksika’da hayvan besleme ve çevre	ABD

Calgene	Flavr Savr N 73 1436-11	Gecikmeli olgunlaşma (İfade edilen ek PG geniyle geliştirilmiştir)	1996	ABD'deki tüm kullanımlar	ABD
CAAS	10 farklı ürün	Bilinmiyor	1998	Bilinmiyor	ÇİN
DNA bitki teknolojisi	1345-4	Gecikmeli olgunlaşma (kesilmiş aminosiklopropane siklaz senteaz [ASS] geniyle geliştirilmiştir)	1994	ABD'deki tüm kullanımlar, Kanada ve Meksika'da beslenme	ABD
Zeneca ve Petoseed	B, Da, F	Gecikmeli olgunlaşma (İfade edilen ek PG geniyle geliştirilmiştir)	1994	ABD'deki tüm kullanımlar, Kanada ve Meksika'da beslenme	ABD
Monsanto	8338	Gecikmeli olgunlaşma (1-aminosiklopropan-1-karboksil asit deminazı geniyle [ASKD] geliştirilmiştir)	1995	ABD'deki tüm kullanımlar	ABD
Agritope	351N	Gecikmeli olgunlaşma (S-adenosilmetiyonin hidrolaz (SAM-K) geniyle geliştirilmiştir)	1995	ABD'deki tüm kullanımlar	ABD
Monsanto	5345	Haşerelere dayanıklı (bir cry1Ac geninin tanıtılmasıyla geliştirilmiştir)	1997	ABD'deki tüm kullanımlar, Çin'de beslenme	ABD
Huazhong Tarım Üniversitesi	Hufan no 1	Gecikmeli olgunlaşma (anti-sens EFE geninin tanıtılmasıyla geliştirilmiştir)	1996	Bilinmiyor	ÇİN
Pekin Üniversitesi	PK-TM8805R (8805R)	Gecikmeli olgunlaşma	1999	Çin'de beslenme, hayvan besleme ve yetiştirme	ÇİN

Doku kültürü yoluyla yüksek kaliteli domates bitkileri için uygun maliyetli ve üretken protokoller seçmek; fidelerin piyasa değerini aşağı çekmeye önemli ölçüde yardımcı olabilmektedir. Ayrıca doku kültürü yapılacak çalışmalarda etkili bir rejenerasyon sistemi, haploit bitki, mikro çoğaltma, somatik melezleme, mutasyon seçimi ve bitkisel gen kaynaklarının depolanması gibi teknikler için de hayati öneme sahiptir [3].

Domates üzerine yapılan birçok farklı çalışmalar göstermiştir ki, organogenesis yoluyla gerçekleştirilen bitki rejenerasyonu; genotip, besi ortamı, eksplant kaynakları, eksplant yaşı, ortam bileşim ve çevresel koşullar gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir [4-7].

Organogenesis yoluyla domates transformasyon ve farklı yapay ortamda bitki rejenerasyon (tohum kesimi çenekleri, hipokotiller, yapraklar, gövde kesitleri, çiçek sapçığı, yaprak sapı ve çiçeklenme vb.) üzerine birçok inceleme bulunmaktadır [5-12].

Yapılan çalışmalarda aynı zamanda “yetersiz” yapay ortam domateslerinin kontrol edilemezliği yani yapay üretime kısmen ya da tümünden cevap vermeme gibi konulara da değinilmiştir [4, 13]. Bundan dolayı, domates bitkileri üzerinde uygulanan doku kültür yöntemlerini kullanan öngörülme-yen sürgün rejenerasyon sistemlerinin geliştirilmesi, farklı genotiplerin çeşitli morfogenez potansiyelleri sebebiyle hala önemini korumaktadır. Yukarıda belirtildiği gibi, bilim insanları farklı tiplerde eksplantlar kullanmışlardır. Fakat eksplantların tiplerinin sadece eksplant organogenezlerinin sıklığını belirlemediğini aynı zamanda eksplant

başına üretilen sürgün sayısına da karar verdiğini önemle vurgulayarak belirtmişlerdir [14, 15].

3.1 Domates Bitkisinde Kök- Sürgün Doku Kültürü

Namitha ve Negi (2013) sürgün rejenerasyon yeteneğinin çoktan aza hipokotiller, kotiledon, yaprak şeklinde izlediğini ispat etmiştir [5]. Daha önceki çalışmalarda Mamidala ve Nanna (2011) kotiledon eksplantlarının, hipokotil ve yaprak eksplantlarına oranla organogenesis üstünlükleri olduğunu belirtmişlerdir [4]. Sonuç olarak, test edilen besi ortamının sadece bir tanesinde yaprak eksplantlar etkili rejenerasyonu gerçekleştirmiştir (MS +2 mg/L BAP, 6-Benziloaminopurin + 0.1 mg/L IAA, İndol-3-asetik asit), bunun sonucunda bu tip eksplantların kullanımının genotip bazlı çeşitlilikleri en aza indirdiği kanısına varılmıştır. Bu çalışmanın aksine, Chaudhry ve arkadaşları (2010) hipokotil eksplantlarının, yaprak eksplantlarına oranla daha yüksek rejenerasyon potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymuştur [16].

Diğer bir çalışmada ise, Harish ve arkadaşlarının (2010) sürgün oluşturma sıra : hipokotiller, yaprak sapı, yenilenen sürgünlerin sayısı ve büyüklüğüne kadar, rejenerasyon sürecinin uzunluğu bakımından da test edilen altı farklı kültür bitkisinin rejenerasyon kapasitesinde önemli farklar gözlemlediklerini belirtmişlerdir [17]. Kotiledon ve yaprak organogenes indüksiyonları üzerinde TDZ (Thidiazuron) etkilerini gözlemleyen Ashakiran ve arkadaşları (2011), benzer sonuçlar elde etmişlerdir [18]. Bir diğer yandan, Zhang ve arkadaşları (2012) eksplantlardaki yara yerinin, kallus indüksiyonu ve adventif tomurcuk oluşumunu büyük ölçüde etkilediğini göstermiştir [19]. En sık tomurcuk indüksiyonunun kotiledon parçasının orta kısmında oluştuğunu yaptıkları çalışmayla ortaya çıkarmışlardır. Aynı zamanda bir eksplantın bir ortama yerleştirilme şeklinin, kotiledon tomurcuklarının farklılaşma oranını da etkilediğini ispat etmişlerdir. Rejenerasyon sürecinin eksplantın yaşına bağlı olduğu bilinmektedir. Genç eksplantların yaşlı olanlardan daha iyi morfojenik cevap verdikleri yapılan çalışmada gösterilmiştir [17].

Dai ve arkadaşları (1988) domates eksplantlarının rejenerasyon kapasitesinin yaşlarıyla birlikte arttığını belirtmişlerdir [20]. Eksplantın kaynağına bağımlı olarak (7,8,10 veya 14 günlük) farklı yaşlarda eksplantlar kullanılmıştır [14, 21-24]. Ayrıca, datanın büyük çoğunluğu domateslerde eksplantın boyutu bitki rejenerasyonunu etkileyen çok önemli bir faktör olduğunu göstermiştir. Domatesler için ideal boyutların hipokotillerin uzun kısımları için 0.7-2 cm, kotiledonlar için 5mm x 5mm olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir [16, 21, 24].

3.2 Embriyo Kültürü

Yapay koşullarda küçük bitki yenilemek için iki yöntem bulunmaktadır : somatik embriyogenez (doğrudan ya da dolaylı) ve organogenez. Bitki biyoteknolojisi açısından, ikinci yolun daha makul olduğu ve somaklonal varyasyonları engellemeye izin verdiği belirtilmiştir. Bundan dolayıdır ki, somatik embriyogenez ile domates yenileme girişimlerine oldukça nadir rastlanırken, intakt (bütün) eksplantlarla örneğin ; kotiledonlar, hipokotiller ve yapraklar da doğrudan organogenez yolu prosedürleri daha kolaydır [5, 24]. Ancak Godishala ve ark. (2011) somatik embriyogenez yoluyla cv. S-22 domatesinin rejenerasyonu için basit ve yeniden üretilebilir bir protokol belirtmişlerdir [25]. Buna ilaveten Guan ve arkadaşları (2012) sürgün organogenezinin ve somatik embriyogenezin, IAA ile birleştirilmiş 6-BA uygulanan çeri domatesinin (*Solanum esculentum* var. *cerasi-forme*) mutant yaprak

eksplantlarının yapay ortam yenilenmesi sırasında eş zamanlı ortaya çıktıklarını göstermiştir [26]. İlginç bir şekilde, aynı kültür koşullarındaki değiştirilmemiş domates (çeri) bitkilerinin yenilenmesi sırasında sadece somatik embriyogenez gözlemlenmiştir. Khuong ve arkadaşları (2013) IAA (0.1 ml/L) ile birleştirilmiş transzeatin (TZ) uygulanan cv. Micro Tom domatesinde benzer bir etkiye rastladıklarını ifade etmişlerdir [27]. Daha önce Rio Grande kültür bitkisi için belirtildiği şekilde, konsantrasyonları farklı ortamlarda doğrudan sürgün farklılaşmasına işaret eden çok ufak bir kallus oluşumu görüldüğünü, diğer yandan da aynı türde hormon uygulanan kallus oluşumu yoluyla dolaylı embriyogeneze rastlanıldığını belirtmiştir (sırasıyla 1 ve 2 g/L).

Ortamdaki eksogenous fitohormonları kallus indüksiyonunu düzenlemede, organ farklılaşmasında ya da köklenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Domateslerde yapay ortamdaki kallus indüksiyonunu ve bitki yenilemesini iyileştirmek için yapılan birçok çalışmada belirtildiği üzere yaygın olarak kullanılan hormonların IAA, NAA (a-naftalinasetik asit), 2,4-D (2,4-Diklorofenoksiasetik asit), ZT ve 6-BAP hormonları olduğu görülmektedir [4, 5, 18, 19, 22]. Ayrıca KIN (Kinetin), 2iP (6-(y, y-dimetilalilamino) pürin), TDZ, ve IBA (İndol-3-bütirik asit) gibi farklı bitki büyüme düzenleyicileride (BGR) çalışmalarda kullanılmıştır (Tablo 3) [16, 18, 21, 28].

Tablo 3. Domatesde Doğrudan Organogenezis ve Kallus Üretimi İçin Çeşitli Araştırmacılar Tarafından Kullanılan Bitki Büyüme regülatörlerinin türü ve konsantrasyonu

Sıra	Eksplant	Bitki büyüme düzenleyicisi	Yanıt	Referans
1	Hipokotil, yaprak, kotiledon	Zeatin (4) NAA (0.1)	Sürgün Kök	[3]
2	kotiledon	Zeatin (1)+IAA (1)	Sürgün	[4]
3	kotiledon	Zeatin (0.5)+IAA (0.5)	Sürgün	[5]
4	Pistil (dışıorgan)	Zeatin (0.5)	Meyve benzeri yapı	[6]
5	Kotiledon	Zeatin (1)+IAA (0.1)	Sürgün	[7]
6	Hipokotil, yaprak, kotiledon	BA (2-3)+IAA (0.2)	Sürgün	[8]
7	Yaprak gövde, yumru	BA (0.5) Kinetin (1-2)	Kallus Sürgün	[9]
8	Yaprak disk, gövde, sürgün tip	IAA (0.2)+BA (2.5) IAA (0.2)+Kinetin (2.5) IAA (2)	Kallus Sürgün Kök	[10]
9	Yaprak disk	BA (4)+IAA (4)	Sürgün	[11]
10	Yaprak	BA (0.5)+NAA (0.25) BA (0.25)+NAA (0.01)	Sürgün segmentleri Sürgün	[12]
11	Çiçeklenme	Kinetin (2.15)+IAA or NAA (0.0001) IAA, IBA or NAA (0.02) IAA (1.75)+Kinetin (0.02)	Sürgün Kök Çiçek	[13]
12	Yaprak	NAA(0.1)+Kinetin (0.1-2) Kinetin (0.1-2) Kinetin (1)+IAA (0.1)	Kök ve sürgün Kök Kallus	[14]
13	Yaprak	BA (1.5)+IAA (1.5) Kn (1.5)+NAA (1) Kinetin+(NAA)	Sürgün Somatik Embriyo Kallus	[15]
14	Yaprak	BA (4.5)+NAA (0.2) IBA (1)	Sürgün filizleri Kök	[16]
15	Hipokotil, yaprak, kotiledon	BA or Zeatin (0.1-10)	Sürgün	[17]
16	Hipokotil	Zeatin (1)+IAA (0.02)	Sürgün	[18]
17	Hipokotil, kotiledon	IAA (0.5)+BA (2) IAA (0.5)	Sürgün Kök	[19]
18	Yaprak	Zeatin (0.02)+IAA (1.8), Zeatin (0.2)+IAA (0.02)	Sürgün ve kök	[20]
19	Yaprak	IAA (0.2)+BA (1 or 5) IAA (0.2-2), BA (2.5 or 5)+IAA (0.2 or 1)	Sürgün Kök Kallus	[21]
20	Sürgün segmentleri	NAA (0.01)+BA (0.5)	Kök	[22]
21	Kotiledon, Yapraklar, gövde	IAA (16)+Kinetin (4) IBA (1)	Kallus Kök	[23, 24]
22	Yaprak	GA3 or GA4 (0.003-34.63)	Sürgün	[25]
23	Hipokotil	NAA (1)+Kinetin (0.1) BA IBA (0.1-0.5)	Kallus Sürgün Kök	[26]
24	Kotiledon	Zeatin (1)+IAA (0.1) or BA (2.5)+IAA (0.2)	Sürgün	[27]
25	Hipokotil	BA (0.5-5)+IAA(0.2-2) or BA (2.5)+IAA (0.2) or BA (1-2)+IAA(2)	Kallus ve sürgün	[28]
26	Kotiledon	Kinetin (2)+IAA (0.2) or 2iP (2)+IAA (0.2)	Kallus, sürgün ve kök	[29]
27	Yaprak	Kinetin (2.9)+IAA (1)	Sürgün	[30]

4. Domates doku kültüründe kimyasal faktörler

Bitki doku kültürlerinde, bitki büyüme ve rejenerasyon küçük miktarda organik besinlerle geliştirilebilir. Genelde bu destekleyiciler potansiyel vitamin, aminoasit, yağ asidi, peptit, karbonhidrat veya farklı yoğunlukta doğal bitki büyüme düzenleyici kaynaklarıdır (örneğin; zeatin). Farklı tipteki eksplantlardan domates sürgünü indüksiyonu ortam koşullarının değiştirilmesi yoluyla farklı kültür bitkilerinde de başarılmıştır. Bunun da ötesinde MS veya B5 gibi kullanılan bazal ortamın tipinin rejenerasyon süreci oranını büyük oranda etkilediği ortaya çıkarılmıştır [3-6]. Rashid ve Bal (2010) 0.5 mg/L kinetin ve 0.5 mg/L BAP ile güçlendirilmiş MS'nin doğrudan sürgün yenilenmesi için ideal ortam olduğunu göstermiştir [7].

Yapılan bu çalışmaların aksine Wu ve arkadaşları (2011) B5 bazal ortamının MS ortamına üstünlüğüne vurgu yapmıştır [6]. B5 kullanılan MicroTom eksplantlarının sürgün yenilenme oranları MS kullanılanlardan dikkate değer ölçüde fazla (+%12) olduğunu ayrıca kotiledon ve hipokotillerde yenilenme için en uygun biçim 1,5 mg/L 6-BA ve 0,05 mg/L IBA takviyesi yapılmış MS ortamı (sırasıyla %95,8 ve %60) olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmanın ilginç yanı ise, IBA'sı artan konsantrelerde MicroTom eksplantlarının yenilenme sıklığının azalma göstermesi olmuştur [6]. Kantor ve arkadaşları (2010) 1 mg/l zeatin ve 0,05 mg/L IAA içeren MS'nin en yüksek oranda yenilenme sağladığını belirtmişlerdir [8].

Zhang ve arkadaşları (2012) kotiledon eksplantlarında benzer sonuçlar elde ettiklerini belirtmişlerdir. Kullandıkları ortamlardan 2 mg/L zeatin ve 0,01 mg/L IAA içeren MS ortamının en etkili ortam olduğunu belirtmişlerdir [9]. Bir diğer taraftan, BAP (2mg/L) ve IAA (0,1 mg/L) içerikli MS sürgün yenilenme indüklemesi (%74) ve hipokotillerdeki eksplant başına çoklu sürgün oluşumu için ideal ortam olduğu belirtilmiştir [10].

Birçok araştırmacı tarafından belirtilen ortamın aksine, Ali ve arkadaşları (2012) 1,0 mg/L kinetin ve 1,0 mg/L BA ile oluşturulacak bir MS ortamının domateslerdeki her bir hipokotil ve kotiledon eksplantı başına maksimum sayıda sürgün üretmek için ideal olduğunu öne sürmüşlerdir [11].

Afroz ve arkadaşları (2010) beş domates türünün Hindistan cevizi sütü içeren yapay ortamda yenilenme etkisini artırmak için çalışma yapmışlardır [12]. Hindistan cevizi sütü, karmaşık kombinasyonların farklı bileşiklerini içermektedir. Hindistan cevizi sütü yaygın olarak orkid doku kültüründe kullanılmakta ama domates doku kültüründe yaygın olarak kullanılmamaktadır. Hindistan cevizi sütü, bitki hücresi çoğalmasını tetiklemekte ve büyümeyi hızlandırmasıyla bilinmektedir. Afroz ve arkadaşları (2010) zeatinin yerine başarılı bir şekilde Hindistan cevizi sütü ve kinetini kullandıklarını belirtmişlerdir. Tek başına Hindistan cevizi sütünün yeterli çoğalma sağlamadığı, ancak IAA ve kinetinle karıştırılan Hindistan cevizi sütünün maksimum sayıda primordia sürgünüyle, daha hızlı yenilenmeye (yaprak eksplanlarında 12-15 gün, hipokotillerde 20-25 gün) olanak verdiği gözlemlenmiştir. Bhatia ve Ashwath (2008) kotiledon eksplantlarından alınan sürgün yenilenme karşılığını ilerletmek için aktif kömür, askorbik asit ve kazein hidrolizat gibi diğer destekleyicileri kullanmışlardır. Çalışmanın sonunda ortaya çıkan sonuçlar ; kazein hidrolizat, sürgünlerin altındaki kallus tepkisini azaltmak için etkin bir şekilde kullanılabilirken, askorbik asit gibi aktif kömür de yenilenen domates sürgünlerinin kalitesini artırmıştır [13]. Birçok bilim insanı farklı oksin ve sitokin konsantrasyonlarındaki MS ortamlarını kullanırken, Plana ve arkadaşları (2006) domates bitkilerinin yenilenmesi için dışsal (eksogenus) fitohormonların eksik olduğu alternatif bir prosedür tasarlamışlardır. Hazırladıkları ortam MS tuzları, 4 mg/L

tiyamin, 100 mg/L myo-inesitol ve %3 sükröz içermektedir. Uygulamaya geçildiğinde bu prosedür, kallus gelişimsiz organogenez geliştirmek için pre-kültür ve tohum kesimlerini birleştirmiştir [14]. Bu yöntemin temel avantajları basitliği, etkili zaman kullanımı ve en önemlisi de öne sürülen prosedürün, gelişimsel/morfolojik anormallik oluşmaksızın sürgün oluşumu elde etmeye olanak vermesidir (örneğin; apikal meristemsiz ve vitrifiyesiz yapılı yapraklar ve sürgünler).

5. Domates doku kültüründe fiziksel faktörler

Işık ve ısı gibi çevresel faktörler domates yenilenmesi için hayati görülmektedir. Gayet iyi bilindiği üzere, ışık (maruz kalma süresi ve kalitesi bakımından) eksplantın büyüme ve farklılaşma sürecini etkilemektedir. Domates eksplantlarının doku kültürüne verdiği tepki, verici bitkinin büyüme sürecinde kullanılan ışığın nicelik ve niteliğine bağlıdır. Glowacka (2004) kırmızı, sarı, yeşil, mavi ve doğal ışığın domateslerin mikro çoğaltılmasındaki etkisini araştıran bir çalışma gerçekleştirmiştir. Yapılan çalışmada kırmızı ve sarı ışığın sürgün ve boğum arası uzanımdaki çarpıcı etkisini gözlemlenmiş ve genç bitkilerin kolayca kesilebildiğini tespit etmiştir. Diğer yandan mavi ve doğal ışık boğum arası uzanımı durdurmuştur. Rejenerasyon sürecini uzatmanın kırmızı ve sarı ışık altındaki genç bitkilerin büyümesinde bir etkisi olmamıştır. Kırmızı ve sarı ışığın kök oluşumunda olumlu etkisi olduğu saptanmıştır [15]. Işık domates sürgünlerinin yenilenmesi için zaruri olduğundan, domates yenilenmesi üzerindeki çalışmalarda 16 saatlik ışık periyotları kullanılmıştır [9-11]. Örneğin Bhatia ve Ashwath (2005) eksplantlardaki maksimum yenilenmenin (%60), 16 saatlik ışık ve 8 saatlik karanlık sürecinde ortaya çıktığını belirtmiştir. Alınan bu karşılık 2 saatlik karanlıkta (%47) ya da 24 saatlik aydınlıkta (%40) azalma göstermiştir [16].

Bu çalışmalar ışık yokluğunda da domateslerin yenilenebileceğini rapor eden Tyburski ve Tretyn'in (1999) çalışmalarıyla zıtlık içindedir. Karanlık koşullarda yenilenen sürgünler klorotikti, ancak 16 saatlik ışık periyodundan sonra klorofil geliştirmeye başladığı görülmüştür [17]. Yapılan çalışmaya göre besin ortamının içeriği de domates yenilenmesini etkilemektedir. Velcheva ve arkadaşları (2005) *Agrobacteri*-aracılı bir başkalaştırmadan (transformasyon) sonra ticari domates kültürlerinin (Daniela 144, Brillante 179, Annan 3017, Galina 3019, ve Bernadine 5656) yenilenmesi için biri katılaştırılmış ortam diğeri ise sıvı ortam olmak üzere iki ayrı sistem geliştirmişlerdir [18]. Elde edilen sonuçlar, farklı tipteki eksplantların yenilenme yetenekleri açısından, hipokotillerin katı ortamda kotiledonlardan daha kötü olduğu yargısıyla uyum göstermekte ve sıvı ortam hem hipokotil hem de kotiledonlar için benzer yenilenme etkilerine olanak vermiştir. Gayet açık ki, bir sıvı kültürün (örneğin; gaz değişimi, sıklık geçişleri veya eksplantların sürekli uyarılması) fiziksel parametrelerinin etkili hipokotil yenilenmesinde hayati bir rol oynadığı göz ardı edilemez. Velcheva ve arkadaşlarının (2005) yaptığı çalışma bu prosedürün bazı avantajlarını net bir şekilde ortaya koymuştur: epidermalden hücrelerden subepidermal'e doğru başlatılan yenilenme sürecinin ve sıvı ortamdaki seçme sürecinin katı ortamda gerçekleştirilen benzer seçme sürecine göre çok daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Köklenme bitki doku kültürlerindeki yenilenme sürecinin son basamağıdır. Köklenme sürecini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Genç bitkilerin fizyolojik durumları, ortamın bileşenleri, büyüme düzenleyicileri bu faktörlerden birkaçıdır. Çoğunlukla MS veya 1/2MS köklenmede basal ortam olarak kullanılmaktadır. Mensuali-Sodi ve arkadaşları (1995), Rashid ve Bal (2010), ve Bahurpe ve arkadaşları (2013) domateslerin kök indüksiyonu için hiçbir harici bitki büyüme düzenleyicisine ihtiyaçları olmadığını ileri sürmüşlerdir [7, 19]. Ancak çoğu incelemede kök şekillenmesi sadece 0.1 ila 1 mg/L arasında değişen konsantrasyonlar ve

oksinler (IAA, NAA, IBA) gerçekleştirilmiştir [5, 9, 10, 20-23]. Kökün bol şekilde çıkması ise ancak 2 haftanın ardından gözlemlenebilmiştir.

6. Sonuçlar ve öneriler

Domates bitkisinin yerel ve global olarak üretimi, tüketimi ve ekonomik geliri her geçen yıl artmaktadır. Bitki biyoteknolojisi ve genetik mühendisliğinin ilk basamaklarından olan bitki doku kültürü ile domates üretmek bir alternatif üretim metodu olarak bulunmaktadır. Türkiye'nin domates tohumu için yurt dışına ödediği miktar 60 milyon dolardır. Bu rakamlar baz alındığında domates doku kültürü ile üstün ırkların mikro çoğaltım ile eldesi daha da anlamlı hale gelmektedir. Aynı zamanda ilerde yapılacak genetik transformasyonlar gibi biyoteknolojik çalışmaların temellerinde doku kültürü optimizasyonu yer almaktadır.

Domates bitkisinde doku kültürü teknikleri hızla ilerlemeler kaydetmektedir. Fakat, hibrit çeşitlerin doku kültürü yoluyla ekonomik açıdan uygun bir şekilde geliştirilmesi için hala uzun bir zamana ihtiyaç vardır. Bunun nedeni, bitki büyüme düzenleyicilerin genotipe özel gereksinimleri olmasıdır. Buna ek olarak, farklı eksplant türleri de kullanılmış ve doğru eksplant seçimi genotipe bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Canlı kallus gelişimi ve müteakiben bütün bitkilerdeki rejenerasyon deneysel bir süreç olarak kalmaktadır. Kültür sırasında karşılaşılan birçok zorluk literatürde tartışılmamıştır.

Domates organogenezisi ve mikro çoğaltımı ile ilgili güncel literatür, bitki büyüme düzenleyicilerin tip ve konsantrasyonlarının optimize edilmesi ve eksplantların tiplerinin seçilmesi üzerine yoğunlaşmaktadır. Bu nedenle, ticari olarak önemli çeşitlerin morfogenezi için protokoller geliştirmek için çeşitli fiziksel ve kimyasal faktörlerin daha iyi anlaşılması gerekmektedir. Genetik transformasyon yöntemini domatesde uygulabilmek için rejenerasyon somatik embriyogenez gibi bitki doku kültürü teknikler gereklidir. Bu teknikler, çok sayıda elit transgenik bitki üretmek için de gereklidir.

Domateste somatik embriyogenezis, yüksek enerjili iyi kalitede embriyoların makul bir maliyetle üretilebildiği bir aşamaya gelmemiştir. Doku kültürü yetiştirilen domates bitkilerinin bitki yetiştirme ve tarla performansı hakkında bilgi azdır. Doku kültüründen kaynaklanan somaklonal varyasyonlar domates yetiştiriciliğine yardımcı olmak için de kullanılabilir. Domateslerin hem genetik gelişimi hem de mikro üretim, için doku kültürü tekniklerini kullanmak için yeterli potansiyel var demektir. Bununla birlikte, bu potansiyel ancak morfogenez için çeşitliliğe özgü protokoller oluşturulduğunda gerçekleşebilir.

Kaynaklar

- [1] Paduchuri, P., et al., "Transgenic tomatoes", Int J Adv Biotechnol Res, 2(2010): 69-72.
- [2] USDA. National Nutrient Database for Standard Reference Release 28.(2016); Available from: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/3223> [Erişim Tarihi: 26.01.2017].
- [3] Wu, Z., et al., Establishment of Regeneration and Transformation System of Lycopersicon esculentum MicroTom. 2011.
- [4] Raiola, A., et al., Enhancing the health-promoting effects of tomato fruit for biofortified food. Mediators of inflammation. 2014.
- [5] FAOSTAT, 2011.

- [6] Bai, Y. and P. Lindhout, "Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future?", *Annals of Botany*, 100(5) (2007): 1085-1094.
- [7] Foolad, M.R., "Genome mapping and molecular breeding of tomato", *International Journal of Plant Genomics*, 2007.
- [8] Peralta, I.E. and D.M. Spooner, "History, origin and early cultivation of tomato (Solanaceae)". *Genetic Improvement of Solanaceous Crops*, 2(2006): 1-27.
- [9] TomatoGenomeConsortium, "The Tomato Genome Sequence Provides Insights Into Fleshy Fruit Evolution", *Nature*, 485(7400)(2012.): 635-641.
- [10] +polymorphism in 'Micro-Tom', A Model Cultivar Of Tomato (*Solanum lycopersicum*). *Plant and Cell Physiology*, 55(2)(2014): 445-454.
- [11] Martí, E., et al., "Genetic and physiological characterization of tomato cv". *Micro-Tom. Journal of Experimental Botany*, 57(9)(2006): 2037-2047.
- [12] Minoia, S., et al., "A new mutant genetic resource for tomato crop improvement by TILLING technology", *BMC Research Notes*, 3(1)(2010): 69.
- [13] Saito, T., et al., TOMATOMA, "A Novel Tomato Mutant Database Distributing Micro-Tom mutant collections", *Plant And Cell Physiology*, 52(2)(2011):283-296.
- [14] Dorais, M., et al., "Greenhouse Tomato Fruit Cuticle Cracking", *Horticultural Reviews*, 30(2004): 163-184.
- [15] FAO. The FAO Statistical Databases and Data-sets (FAOSTAT) Production Statistics. Rome: FAO. 2017; Available from: <http://www.apps.fao.org/page> (Erişim tarihi: 01.02.2017).
- [16] TÜİK. Türkiye İstatistik Kurumu Resmi İnternet Sayfası. Bitkisel Üretim İstatistikleri. 2017; Available from: www.tuik.gov.tr [Erişim tarihi: 01.02.2017].
- [17] Namitha, K.K. and S.N. Pradeep, "Morphogenetic Potential of Tomato (*Lycopersicon esculentum*) cv.'Arka Ahuti'to Plant Growth Regulators", *Notulae Scientia Biologicae*, 5(2)(2013): 220.
- [18] Hanus-Fajerska, "E. Variation in Tomato Plants Regenerated from Cucumber Mosaic Virus Infected Tissue", XV Meeting of the EUCARPIA Tomato Working Group 789 (2005).
- [19] Li, T., et al., "Transformation of HBsAg (Hepatitis B Surface Antigen)" *Czech J. Genet. Plant Breed*, 47(2) (2011): 69-77.
- [20] Yarra, R., et al., "Overexpression Of A Wheat Na⁺/H⁺ Antiporter Gene (TaNHX2) Enhances Tolerance to Salt Stress in Transgenic Tomato Plants (*Solanum Lycopersicum L.*)", *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 111(1) (2012): 49-57.
- [21] Kaya, Y., et al., "Transformation of *Nicotiana Tabacum* with dehE Gene", *Journal of Food Agriculture and Environment*, 11(3-4) (2013).
- [22] Yang, L., et al., "Screening and Construct-Specific Detection Methods of Transgenic Huafan No 1 Tomato by Conventional and Real-Time PCR", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(13) (2005): 2159-2166.
- [23] Fukuda-Parr, S., *The Gene Revolution: GM Crops and Unequal Development*. 2012: Taylor & Francis.

- [24] Karakütük, S., "Türkiye’de yetiştirilen kir çeltik çeşitlerinin in vitro koşullarda doku kültürü parametrelerinin ve kuraklığa toleranslarının belirlenmesi", Fen Bilimleri Enstitüsü, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 2018.
- [25] Mamidala, P. and R.S. "Nanna, Effect of Genotype, Explant Source and Medium on in Vitro Regeneration of Tomato", International Journal of Genetics and Molecular Biology, 3(3) (2011): 45-50.
- [26] Sherkar, H. and A. Chavan, "Studies on Callus Induction and Shoot Regeneration in Tomato", Sci Res Rep,1 (2014): 89-93.
- [27] Wayase, U. and M. Shitole, "Effect of Plant Growth Regulators on Organogenesis in Tomato (*Lycopersicon Esculentum* Mill.) cv Dhanashri", International Journal of Pure and Applied Sciences and Technology, 20(2) (2014): 65.
- [28] Khoudi, H., et al., "Optimization of Regeneration and Transformation Parameters in Tomato and Improvement of Its Salinity and Drought Tolerance", African Journal of Biotechnology, 8(22) (2009).
- [29] Yasmeeen, A., "An Improved Protocol for The Regeneration and Transformation of Tomato (cv Rio Grande)", Acta Physiologiae Plantarum, 31(6) (2009): 1271.
- [30] Goel, D., et al., "Transformation of Tomato with A Bacterial CodA gene enhances tolerance to salt and water stresses", Journal of plant physiology, 168(11) (2011): 1286-1294.
- [31] Koleva Gudeva, L. and G. Dedejski, "In Vivo and in Vitro Production of Some Genotypes of Cherry Tomato *Solanum Lycopersicum* Var. Cerasiforme (DUNAL)", International Journal of Farming and Allied Science, 1(4) (2012.): 91-96.
- [32] Rai, A.C., M. Singh, and K. Shah, "Engineering Drought Tolerant Tomato Plants Over-Expressing BcZAT12 Gene Encoding a C₂ H₂ zinc Finger Transcription Factor", Phytochemistry, 85 (2013): 44-50.
- [33] Fuentes, A.D., et al., "A Transformation Procedure for Recalcitrant Tomato by Addressing Transgenic Plant-Recovery Limiting Factors", Biotechnology journal, 3(8) (2008): 1088-1093.
- [34] Bahurupe, J., et al., "Callus Induction and Plantlet Regeneration in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.)", Journal of Cell and Tissue Research, 13(2) (2013): 3765.
- [35] Jehan, S. and A. Hassanein, "Hormonal Requirements Trigger Different Organogenic Pathways on Tomato Nodal Explants", American Journal of Plant Sciences, 4(11) (2013): 2118.
- [36] Chaudhry, Z., et al., "Tissue Culture Studies in Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Var. Moneymaker", Pak. J. Bot, 42(1) (2010): 155-163.
- [37] Harish, M., S. Rajeevkumar, and R. Sathishkumar, "Efficient in Vitro Callus Induction and Regeneration of Different Tomato Cultivars of India", Asian Journal of Biotechnology, 2(3) (2010): 178-184.
- [38] Ashakiran, K., et al., "Genotype Specific Shoots Regeneration from Different Explants of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Using TDZ", Asian Journal of Plant Science and Research, 1(2) (2011): 107-113.
- [39] Zhang, W., et al., Factors Affecting Regeneration of Tomato Cotyledons. Bioscience Methods, 2012. 3.

- [40] Dai, C., D. Mertz, and V. Lambeth, "Effect of Seedling Age, Orientation and Genotype of Hypocotyl and Cotyledon Explants of Tomato on Shoot and Root Regeneration", *Genet Manip Crops Newslett*, 4 (1988): 26-35.
- [41] Ishag, S., M.G. Osman, and M.M. Khalafalla, "Effects of Growth Regulators, Explant and Genotype on Shoot Regeneration in Tomato (*Lycopersicon esculentum* cv Omdurman)", *Int J Sustain Crop Prod*, 4 (2009): 7-13.
- [42] Kantor, M., R. Sestras, and K. Chowdhury, "Identification of The Most Organogenic-Responsive Variety of Tomato Using The Variety X Medium Interaction", *Rom Biotechnol Lett*, 5 (2010): 5640-5645.
- [43] Ali, A., T. Yossef, and A. El-Banna, "Cytokinin-Cytokinin Interaction Ameliorates The Callus Induction and Plant Regeneration of Tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.)", *Acta Agronomica Hungarica*, 60(1) (2012): 47-55.
- [44] Ajenifujah-Solebo, S., et al., "Tissue Culture Regeneration of Three Nigerian Cultivars of Tomato", *African Journal of Plant Science*, 6(14) (2012): 370-375.
- [45] Godishala, V., L. Mangamoori, and R. Nanna, "Plant Regeneration via Somatic Embryogenesis in Cultivated Tomato (*Solanum lycopersicum* L.)", *Journal of Cell and Tissue Research*, 11(1) (2011): 2521.
- [46] Guan, Z., et al., "Histocytological Examination on Organogenesis and Somatic Embryogenesis of HBsAg-Transgenic Cherry Tomato Mutant", *Int J Exp Bot*, 81 (2012): 51-58.
- [47] Khuong, T.T.H., et al., "Optimisation of Tomato Micro-tom Regeneration and Selection on Glufosinate/Basta and Dependency of Gene Silencing on Transgene Copy Number", *Plant cell reports*, 32(9) (2013): 1441-1454.
- [48] Davis, D., et al., *Callus Initiaton and Regeneration of Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Cultivars with Different Sensitivities to Metribuzin*, Quarterly (Plant Growth Regulator Society of America)(USA), 1994.
- [49] Ye, Z., H. Li, and G. Zhou, "In Vitro Culture of Tomato Cotyledons and Regenerated Plants", *J. Huazhong Agric. Uni*, 13 (1994): 291-295.
- [50] Hamza, S. and Y. Chupeau, "Re-evaluation of Conditions for Plant Regeneration and Agrobacterium Mediated Transformation from Tomato (*Lycopersicon esculentum*)", *Journal of Experimental Botany*, 44(12) (1993): 1837-1845.
- [51] Lu, W. and B. Liang, "In Vitro Induction of Regeneration of Fruit-like Structure in *Lycopersicon Esculentum* Mill", *Acta Botanica Sinica*, 36(6) (1994): 405-410.
- [52] Ichimura, K. and M. Oda, "Stimulation of Phenotypically Normal Shoot Regeneration of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) by Commercial Filter Paper Extract", *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 67(3) (1998): 378-380.
- [53] Düzyaman, E., A. Tanrisever, and G. Guenver. Comparative Studies on Regeneration of Different Tissues of Tomato in Vitro. in *II Symposium on Protected Cultivation of Solanacea in Mild Winter Climates* 366. 1993.
- [54] Pongtongkam, P., et al., "Tomato Propagation by Tissue culture", *Kasetsart J.* , 27 (1993): 269-277.
- [55] Selvi, D. and M. Khader, "In Vitro Morphogenetic Capacity of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Var", *PKM*, 1 (1993): 251-258.

- [56] Villiers, R., et al., "Regeneration of Adventitious Buds from Leaf Discs of *Lycopersicon Esculentum* cv. Rodade: Optimization of Culture Medium and Growth Conditions. JS Afr Soc Hort Sci 3: 24-27. Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)", *Plant Cell Rep*, 17 (1993): 843-847.
- [57] Dwivedi, K., et al., "Direct Regeneration of Shoots from Leaf Segments of Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Cultured in Vitro and Production of Plants", *Indian Journal of Experimental Biology*, 28(1) (1990): 32-35.
- [58] Compton, M. and R. Veilleux. Morphogenesis in Tomato Thin Cell-Layers. in *HortScience*. 1988. Amer Soc Horticultural Science 701 North Saint Asaph Street, Alexandria, VA 22314-1998.
- [59] Santana, N. and A. Ramirez, Leaf tissue of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)," in *Vitro Culture as Affected by Naphthalenoacetic Acid and Kinetin*. *Cultivos Tropicales* (Cuba), 1985.
- [60] Chandel, G. and S. Katiyar, "Organogenesis and Somatic Embryogenesis in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)", *Advances in Plant Sciences*, 13(1) (2000): 11-17.
- [61] Geetha, N., et al., "In Vitro Plant Regeneration from Leaf Callus Cultures of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)", *Advances in Plant Sciences*, 11 (1998): 253-258.
- [62] Plastira, V.A. and A.K. Perdikaris. Effect of Genotype and Explant Type in Regeneration Frequency of Tomato in vitro. in *III International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding* 447. 1996.
- [63] Zelcer, A., O. Soferman, and S. Izhar, "An in Vitro Screening for Tomato Genotypes Exhibiting Efficient Shoot Regeneration", *Journal of plant physiology*, 115(3) (1984): 211-215.
- [64] Gunay, A. and P. Rao, "In Vitro Propagation of Hybrid Tomato Plants (*Lycopersicon esculentum* L.) Using Hypocotyl and Cotyledon Explants", *Annals of Botany*, 45(2) (1980): 205-207.
- [65] Kartha, K., et al., "Morphogenetic Investigations on in Vitro Leaf Culture of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Starfire) and High Frequency Plant Regeneration", *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 77(4) (1976): 292-301.
- [66] Kurtz, S. and R. Lineberger, Genotypic Differences in Morphogenic Capacity of Cultured Leaf Explants of Tomato [*Lycopersicon esculentum*], *Journal-American Society for Horticultural Science* (USA), 1983.
- [67] Alfonso, A. and R. Alonso, Effect of NAA and BA "On Root Formation in Tomato Shoots Cultured in Vitro", *Ciencias de la Agricultura*, (1981): 41-45.
- [68] Vnuchkova, V., Development of a Method for Obtaining Regenerate Tomato Plants under Tissue Culture Conditions, *Soviet plant physiology*, 1977.
- [69] Vnuchkova, V., "Elaboration of Methods for Obtaining Tomato Plants by Tissue Culture", *Fiziol. Rast*, 24 (1977): 1095-1100.
- [70] Coleman, W.K. and R.I. Greyson, "Promotion of Root Initiation by Gibberellic Acid in Leaf Discs of Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Cultured in Vitro", *New Phytologist*, 78(1) (1977): 47-54.
- [71] Venkatachalam, P., et al., "High Frequency Plantlet Regeneration from Hypocotyl Explants of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) via Organogenesis", *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 1(3/4) (2000): 95-100.

- [72] Costa, G., et al., "In Vitro Regeneration of Processing Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)'IPA-5'and'IPA-6'", *Ciencia e Agrotecnologia*, 24(3) (2000): 671-678.
- [73] Chen, H., et al., "Studies on Optimum Hormone Levels for Tomato Plant Regeneration from Hypocotyl Explants Cultured in Vitro", *Shanghai Nongye Xuebao*, 15(2) (1999): 26-29.
- [74] Ramiah, M. and K. Rajappan, "Direct Shoot Regeneration from Excised Cotyledonary Leaf in Tomato", *South Indian Horticulture*, 44 (1996): 101-102.
- [75] Chandra, R., et al., "In Vitro Regeneration of Hybrid and Non Hybrid Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.)", *Indian Journal of Plant Physiology (India)*, 1995.
- [76] Murashige, T.C. and F. Skoog, "A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures", *Physiol. Plant*, 15 (1962): 473-97.
- [77] Gamborg, O.L.c., R.A. Miller, and K. Ojima, "Nutrient Requirements of Suspension Cultures of Soybean Root Cells", *Experimental cell research*, 50(1) (1968): 151-158.
- [78] Rashid, R. and S.S. Bal, "Effect of Hormones on Direct Shoot Regeneration in Hypocotyl Explants of Tomato", *Notulae Scientia Biologicae*, 2(1) (2010): 70.
- [79] Afroz, A., et al., "Enhanced Regeneration in Explants of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) with The Treatment of Coconut Water", *African Journal of Biotechnology*, 9(24) (2010): 3634-3644.
- [80] Bhatia, P. and N. Ashwath, "Improving The Quality of in Vitro Culture Shoots of Tomato", *Biotechnology*, 7(2) (2008): 188-193.
- [81] Plana, D., et al., "A New Approach for in Vitro Regeneration of Tomato Plants Devoid of Exogenous Plant Growth Hormones", *Biotechnology Journal*, 1(10) (2006): 1153-1157.
- [82] Glowacka, B., "Influence of Light Colour on Micropropagation of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)", *Biotechnologia*, 2 (2004): 168-175.
- [83] Bhatia, P. and N. Ashwath, "Effect of Duration of Light: Dark Cycles on in Vitro Shoot Regeneration of Tomato", *Asian Journal of Plant Sciences*, 4(3) (2005): 255-260.
- [84] Tyburski, J. and A. Tretyn, "Organogenetic Response of Photomorphogenic Mutants of Tomato", *Journal of Plant Physiology*, 155(4-5) (1999): 568-575.
- [85] Velcheva, M., et al., "A Liquid Culture System for Agrobacterium-Mediated Transformation of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L. Mill.), *Plant Science*, 168(1) (2005): 121-130.