



Araştırma/Research

Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J Agr Sci, 30 (2015) 126-129

ISSN: 1308-8750 (Print) 1308-8769 (Online)

doi: 10.7161/anajas.2015.30.2.126-129



Mentha spicata subsp. *spicata* hipokotilinden *in vitro* çoklu sürgün rejenerasyonu

Fethi Ahmet Özdemir^{a*}, Mehmet Uğur Yıldırım^b, Mahsa Pourali Kahriz^b

^aBartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bartın, ^bAnkara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara

*Sorumlu yazar/corresponding author: ozdemirfethiahmet23@yahoo.com

Geliş/Received 07/04/2015

Kabul/Accepted 10/06/2015

ÖZET

Mentha spicata subsp. *spicata* tıbbi ve aromatik bir bitkidir. Bu çalışmada *Mentha spicata* subsp. *spicata*'nın *in vitro* da çoğaltımı amacıyla hipokotil eksplantları BAP ve NAA'nın farklı kombinasyonlarını içeren, %3 sukroz ilave edilmiş ve % 0.65 agar ile katılaştırılmış MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Araştırma sonuçları kallus oluşum yüzdesi, rejenere sürgün yüzdesi, eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısı, ortalama sürgün uzunluğu, eksplant başına düşen ortalama kök sayısı ve ortalama kök uzunluğu için BAP-NAA arasındaki kombinasyonların etkili olduğunu göstermiştir. Maksimum kallus oluşum yüzdesi 0.25 mg/L BAP + 0.50 mg/L NAA içeren MS besin ortamında, maksimum rejenere sürgün yüzdesi 2 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamında, maksimum eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısı 2 mg/L BAP içeren MS besin ortamında, maksimum ortalama sürgün uzunluğu 2 mg/L BAP + 0.50 mg/L NAA içeren MS besin ortamında, kaydedilmiştir. Rejenere sürgünler 0.5 mg/L IBA içeren MS besin ortamında köklendirilmiştir.

Anahtar Sözcükler:

BAP

In vitro

Mentha spicata subsp.

spicata

NAA

In vitro multiple shoot regeneration from hypocotyl in *Mentha spicata* subsp. *spicata*

ABSTRACT

Mentha spicata subsp. *spicata* is a medicinal and aromatic plant. In order to propagate *Mentha spicata* subsp. *spicata* *in vitro*, hypocotyl explants were cultured in MS medium containing different combinations of BAP and NAA supplemented with 3% sucrose and solidified with 0.65% agar. The results showed a significant interaction between BAP and NAA combinations for callus formation percentage, shoot regeneration percentage, number of shoots and roots per explant, shoot and root length. Maximum callus regeneration percentage was noted in MS medium containing 0.25 mg/L BAP + 0.50 mg/L NAA, maximum shoot regeneration percentage was noted in MS medium containing 2 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA, Maximum number of shoot per explant was noted in MS medium containing 2 mg/L BAP, maximum number of shoot length was noted in MS medium supplemented with 2 mg/L BAP + 0.50 mg/L NAA. The regenerated shoots were rooted on MS medium containing 0.5 mg/L IBA.

Keywords:

BAP

In vitro

Mentha spicata subsp.

spicata

NAA

© OMU ANAJAS 2015

1. Giriş

Tıbbi ve aromatik bitkiler, hastalıkları iyileştirmek sağlıklı bir yaşam sürdürmek, veya hastalıkları önlemek için kullanılan bitkilerdir. Dünya sağlık örgütü (WHO)'nün, 91 ülkenin farmokopelerine (kodeks) ve tıbbi bitkiler üzerine yapılmış olan bazı yayımlara dayanarak hazırladığı bir araştırma tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarının 20 000 civarında olduğunu ortaya koymuştur. Dünya genelinde hastalıkların bitkilerle tedavisi XIX. yüzyıla kadar sürmüştü, daha sonra kimya sanayideki gelişmeler ilaç sanayisini etkilemiş ve sentetik ilaçlar bitkilerin yerini almaya başlamıştır. Ancak günümüzde

sentez yoluyla elde edilen ilaçların yan etkilerinin fazla olması ve organizmaların antimikrobiyal sentetik ilaçlara karşı direnç oluşturmaları modern tıbbin hastalık tedavisinde yetersiz kaldığı noktaları ortaya çıkarmıştır. Bu durum, doğal bitkisel kaynakların ve bu maddeleri taşıyan tıbbi bitkilerin önemini gittikçe artırmaktadır (Nakipoğlu, 1992). Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de tıbbi açıdan önemli bulunan bitkiler yüzyıllardan beri halk arasında kullanılmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitki olarak kabul edilen nane, *Mentha* türlerine verilen genel bir isim olup çok yıllık, sürünücü gövdelere sahip otsu bir bitkidir (Başer, 1997). Nane bitkisinin dünyada kültürü yapılan en önemli üç türü İngiliz nanesi (*Mentha piperita*), Japon

nanesi (*Mentha arvensis*) ve Bahçe nanesi (*Mentha spicata*)'dir (Baydar, 2007). Bahçe nanesi (*Mentha spicata*); *M. longifolia* x *M. rotundifolia* melezidir ve uçucu yağının ana bileşeni, diğer nane türlerinden farklı olarak carvone'dir. *M. spicata* uçucu yağında çoğunlukla %50'nin üzerinde carvone bulunmaktadır (Baydar, 2007). Değişik nane türleri; antimikrobiyal, antispazmodik, koleretik, karminatif gibi insanlarda çeşitli fizyolojik etkilere sahip olmaları nedeniyle eski çağlardan beri gerek halk ilacı olarak, gerekse ilaç, gıda, parfümeri ve kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır. Nane türlerinin endüstriyel kullanımına neden olan etken madde grubu uçucu yağlardır (Ellialtıoğlu ve ark., 2007). Uçucu yağının değerli olması nedeniyle *Mentha* türlerinin birçok ülkede ticari olarak tarımı yapılmaktadır (Özgül ve Kırıcı, 1999). Dünyada, uçucu yağ üretimi yaklaşık olarak 56 ton olup, *Mentha* türlerinden (*Mentha arvensis*, *Mentha piperita* L. ve *Mentha spicata*) elde edilen uçucu yağ miktarı 7,5 ton ile *Citrus* (narenciye) yağlarından sonra ikinci sırayı almaktadır (Başer, 1997; Özel ve Özgül, 1998; Özgül ve Kırıcı, 1999; Telci ve ark., 2004).

Bu çalışmanın amacı; daha önce *in vitro* rejenerasyonu üzerine çalışmalar yürütülmemiş olan *Mentha spicata* subsp. *spicata* nın hipokotilini eksplant kaynağı olarak kullanıp, etkili bir *in vitro* rejenerasyon protokolü geliştirmek ve bu türün uçucu yağlarının artırılmasına yada uçucu yağ miktarı daha fazla olan türlerin ıslahı ile ilgili olarak yapılacak olan çalışmalara destek sağlamaktır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Bitki materyali

Bu çalışmada doğal yetiştirme ortamından toplanmış olan *Mentha spicata* subsp. *spicata*. bitkisinin tohumları, bitkisel materyal olarak kullanılmıştır. Bitkinin tür teşhisi Bitlis Eren Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde yapılmıştır.

2.2. Sterilizasyon

Çalışmada kullanılan besin ortamlarının sterilizasyonu otoklavda 1.5 atmosfer basınç altında 121 °C de, 20 dakika tutularak, petri, erlen gibi cam malzemeler ile pens, bistüri gibi aletlerin sterilizasyonu ise 160 °C de pasteur fırınında 4 saat tutularak yapılmıştır. *Mentha spicata* subsp. *spicata*. tohumlarının sterilizasyonu ise % 100 lük çamaşır suyu (ACE, Türkiye) içerisinde 20 dakika bekletilerek sağlanmıştır. Daha sonra tohumlar steril saf su ile 3 kez durulanmıştır. Sterilizasyonu tamamlanan tohumlar hormon içermeyen besin ortamlarına her petriye 5 adet tohum gelecek şekilde ekim yapılarak, bu ortamlarda çimlendirilmiştir.

2.3. Besin ortamları ve kültür koşulları

Tohumların çimlendirilmesinde hormonsuz MS (Murashige ve Skoog, 1962) ortamı kullanılmıştır. Hipokotil eksplantları 0.25, 0.50, 1, 2 mg/L BAP ve 0, 0.25, 0.50 mg/L NAA nın 16 farklı kombinasyonunu içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Köklendirme ortamı

olarak da 0.5 mg/L indol-3-bütirik asit (IBA) içeren MS besin ortamı kullanılmıştır. Bu ortamlar içerisine % 3 sukroz ilave edilmiş ve % 0.65 agar kullanılarak katılaştırılmıştır. Ortam hazırlandığında çift distile saf su kullanılmış ve besin ortamının pH'sı 1N NaOH ve 1N HCl kullanılarak 5.8 e ayarlanmıştır. BAP, NAA ve IBA uygun çözücülerde çözdürüldükten sonra istenilen miktarda ve oranda stok solüsyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan stok solüsyonlar +4 °C'de saklanmıştır.

2.4. *In vitro*'dan elde edilen fidelerden eksplantların izolasyonu

In vitro ortamda steril olarak yetiştirilen 10 günlük *Mentha spicata* subsp. *spicata* fidelerinden alınan hipokotil, eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. 1 cm uzunluğunda kesilen eksplantlar her petride 5 adet olacak şekilde rejenerasyon ortamına aktarılmıştır. Uygulamalar 3 tekerrürlü olacak şekilde planlanmıştır. 90X15 mm steril petri kutularında MS ortamında uygun hormon konsantrasyonları eklenerek 16/8 ışık/karanlık fotoperiyodunda 500 $\mu\text{molm}^{-2}\text{sec}^{-1}$ floresans ışıklandırmasında iklim dolabında (Aralab), 25±2 °C sıcaklıkta rejenerasyona tabi tutulmuştur. Doku kültürü ile ilgili bütün çalışmalar steril hava akışlı kabin içerisinde yapılmıştır.

2.5. Rejenere olan sürgünlerin köklendirilmesi

Rejenere olan sürgünler belirli bir uzunluğa geldikten sonra 0.5 mg/L IBA içeren köklendirme ortamına aktarılmıştır. Köklenen sürgünler saksılara aktarıldıktan sonra iklim dolabında çevre şartlarına uyumu sağlanmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada *Mentha spicata* subsp. *spicata* bitkisinin tohumları *in vitro* ortamda çimlendirilmiş, 10 günlük bitkiciklerden alınan hipokotiller eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. Bu hormonların eksplantlar üzerindeki etkileri Çizelge 1 de gösterilmiştir. Bulgularımıza göre kallus oluşum yüzdesi %1.67 ile %87.67 arasında olup; kallus oluşum yüzdesinin en düşük olduğu ortam 2 mg/L BAP içeren MS besin ortamı olduğu, kallus oluşum yüzdesinin en fazla olduğu ortamın ise 0.25 mg/L BAP + 0.50 mg/L NAA içeren MS besin ortamı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1). Rejenere sürgün yüzdesi % 26.13 ile %97.33 oranları arasında gözlenmiş olup, rejenere sürgün yüzdesinin en az olduğu ortamın 0.50 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamı olduğu, rejenere sürgün yüzdesinin en fazla olduğu ortamın ise 2 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamını olduğu tespit edilmiştir (şekil 1). Eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısının 3.76±2.13 ile 11.21±0.7 aralığında olup, Eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısının en az olduğu ortamın 1 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamında olduğu, Eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısının en fazla olduğu ortamın ise 2 mg/L BAP içeren MS besin ortamı olduğu gözlenmiştir. Ortalama sürgün uzunluğunun 2.33±1.87 ile 8.36±2.65 aralığında olduğu; ortalama sürgün uzunluğunun en az olduğu ortamın 0.50

mg/L BAP içeren MS besin ortamı olduğu; ortalama sürgün uzunluğunun en fazla olduğu ortamın ise 2mg/L BAP + 0.50 mg/L NAA içeren MS besin ortamında olduğu belirlenmiştir (Şekil 1). Eksplant başına düşen ortalama kök sayısının 0.94±1.76 ile 7.13±0.97 aralığında olduğu eksplant başına düşen ortalama kök sayısının en az olduğu ortamın 0.50 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamı olduğu, Eksplant başına düşen ortalama kök

sayısının en fazla olduğu ortamın ise 0.25 mg/L BAP içeren MS besin ortamı olduğu saptanmıştır. Ortalama kök uzunluğunun 2.78±0.43 ile 7.94±0.59 aralığında olduğu; ortalama kök uzunluğunun en az olduğu ortamın 2 mg/L BAP + 0.50 mg/L NAA içeren MS besin ortamı olduğu; en fazla ortalama kök uzunluğunun ise 1 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Farklı BAP ve NAA konsantrasyonlarının hipokotil eksplantı üzerindeki etkileri

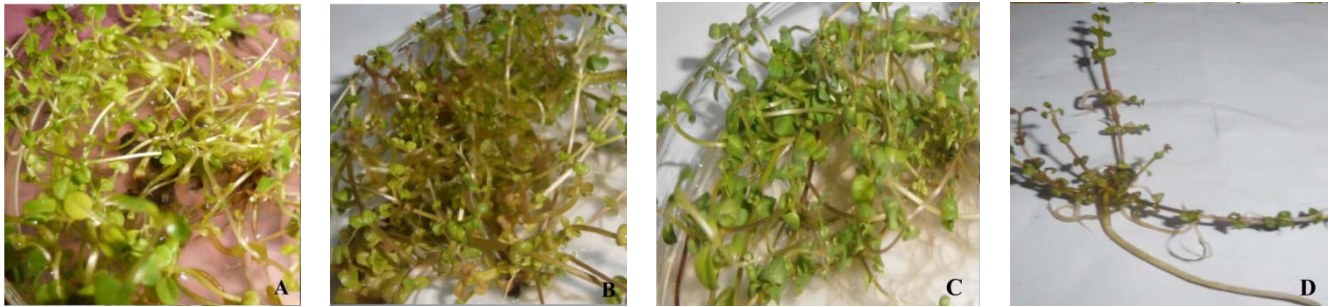
Hormonlar		Kallus oluşum yüzdesi (%)	Rejenere sürgün yüzdesi (%)	Eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısı	Ortalama sürgün uzunluğu (cm)	Eksplant başına düşen ortalama kök sayısı	Ortalama kök uzunluğu (cm)
BAP (mg/L)	NAA (mg/L)						
0.25	0	13.33	26.87	8.67±0.96	5.69±1.04	7.13±0.97	3.87±1.34
0.50	0	9.67	46.87	6.35±2.64	2.33±1.87	2.48±1.36	6.47±1.65
1	0	3.87	63.33	4.57±5.24	3.76±2.26	3.59±2.13	4.38±0.63
2	0	1.67	33.87	11.21±0.7	4.49±1.54	5.37±1.68	2.86±1.05
0.25	0.25	46.13	56.67	5.84±0.76	4.96±0.87	3.52±0.76	3.43±1.54
0.50	0.25	56.67	26.13	6.75±4.36	5.84±1.68	0.94±1.76	3.29±1.56
1	0.25	60.33	39.67	3.76±2.13	3.46±2.03	4.75±1.34	7.94±0.59
2	0.25	66.13	97.33	6.52±1.67	4.51±1.31	2.53±2.04	3.83±0.92
0.25	0.50	87.67	60.66	7.69±1.46	5.78±0.96	4.72±1.63	5.67±0.63
0.50	0.50	73.13	33.13	8.17±1.24	2.43±1.65	3.25±1.68	4.21±1.34
1	0.50	66.33	56.87	5.36±0.78	3.56±0.78	1.72±1.06	3.67±1.54
2	0.50	70.67	43.13	6.89±2.65	8.36±2.65	2.64±1.62	2.78±0.43

± : En az üç tekrarla elde edilen standart sapmayı ifade etmektedir

Çalışma sonuçlarımız besin ortamındaki NAA miktarı arttıkça kallus oluşum yüzdesinin arttırmış olup BAP'ın artan konsantrasyonu ile NAA miktarının artışı da rejenere sürgün yüzdesi üzerinde olumlu etki yapmıştır. Gelişen sürgünler 0.5 mg/L IBA içeren MS besin ortamında köklendirilmiştir (Şekil 1). Daha sonra köklenen bitkilerin dış ortama adaptasyonları sağlanmıştır.

Bu çalışma daha önce *Mentha* cinsinde yapılmış doku kültürü ve mikro üretim çalışmaları ışığında BAP ve NAA'nın 16 farklı kombinasyonu kullanılarak güçlü bir rejenerasyon protokolü geliştirmek amaçlanmıştır. Çalışmada kullanılan BAP ve NAA konsantrasyonlarının

çalışılan genotipte, kallus oluşum yüzdesi, rejenere sürgün yüzdesi, eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısı, ortalama sürgün uzunluğu, eksplant başına düşen ortalama kök sayısı ve ortalama kök uzunluğu için oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Sarwar ve ark. (2009) *Mentha piperita* L. nin nod, internod, petiol ve sürgün meristemini kullanarak ½ MS besin ortamında farklı konsantrasyonlarda BAP, Kinetin yada BAP, Kinetin ile birlikte NAA kullandıklarında sürgün meristemi ve nodal segmentlerden sürgün rejenerasyonu elde edebildikleri ancak internod ve petiol eksplantlarından sürgün rejenerasyon edemedilerdir. Bu çalışma sürgün gelişimi bakımından



Şekil 1. 2 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamındaki rejenere sürgünlerin genel görüntüsü (A), 2 mg/L BAP içeren MS besin ortamında maksimum eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısına ait görüntü (B), 2 mg/L BAP + 0.50 mg/L NAA içeren MS besin ortamında maksimum ortalama sürgün uzunluğuna ait görüntü (C), 0.5 mg/L IBA içeren MS besin ortamına aktarılan adventif sürgünlerden kök gelişimine ilişkin görüntü (D).

çalışmamız ile kıyaslandığında yaptıkları çalışmanın sürgün gelişimi açısından oldukça yetersiz olduğu görülmüştür, çünkü Sarwar ve ark. (2009) kullandıkları ekplantlardan sadece birer sürgün elde etmişler bazılarında çoklu sürgünler geliştirebilmişlerdir. Fakat bizim çalışmamızda eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısı en az 3.76 ± 2.13 'dür (Çizelge 1).

Bu durum kullanılan türün farklı olması, kinetin kullanmaları, hormon kombinasyonlarının farklı olması ile açıklanabilir. Ancak her iki çalışmada da kullanılan ve sentetik bir sitokinin olan BAP sürgün gelişimini teşvik etmiştir.

BAP ve kinetinin MS besin ortamında aksiller sürgünler ve nodal segmentler için sürgün rejenerasyonu oluşturmaları bakımından en iyi bitki büyüme düzenleyicileri oldukları farklı araştırmalarda rapor edilmiştir (Rech ve Pires, 1986; Sunandakumari ve ark., 2004). Bu bulgular sunulan bu çalışmadaki BAP'ın *Mentha spicata* subsp. *spicata* hipokotil eksplantlarından sürgün geliştirmesi sonucunu desteklemektedir.

Kukreja ve ark. (1991) *Mentha arvensis* L. ile yaptıkları bir çalışmada ortama sitokininler ile birlikte NAA ilavesinin daha fazla sürgün oluşturduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada da en fazla rejenerasyon sürgün yüzdesinin 2 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamında kaydedilmesi bu bulguyu desteklemektedir.

Mentha piperita nın olgunlaşmamış yaprak ve yaprak disklerinin eksplant kaynağı olarak kullanılması ile yapılan çalışmalarda (Li ve ark., 1999; Van Eck ve Kitto, 1992) birkaç sürgün elde etmişlerdir. Yapılan bu çalışmalar çalışmamız ile kıyaslandığında; çalışmamızda 11.21 ± 0.7 gibi yüksek bir oranda sürgün rejenerasyonu sağlamamız bahsedilen çalışmalara kıyasla çalışmamızın daha başarılı sonuçlar ortaya koyduğunu göstermektedir. Fakat Pooviaiah ve ark. (2006) modifiye edilmiş MS ortamına TDZ ilave edip; *Mentha* nın birinci ve ikinci internodunu eksplant kaynağı olarak kullandıkları bir çalışmada %89 oranında sürgün rejenerasyonu sağlamış ve eksplant başına 29 adet sürgün elde etmişlerdir. Bu çalışmaya dayanarak *Mentha* nın *in vitro* üretimi üzerine TDZ'nin BAP'a kıyasla daha etkili bir sitokinin olduğu söylenebilir.

Çalışmamızda gelişen sürgünler 0.5 mg/L IBA içeren MS besin ortamında köklendirilmiştir. IBA'nın gelişen sürgünlerin köklendirilmesi konusunda etkili bir oksin olduğu Özdemir ve ark. (2014)'ün bir başka tıbbi ve aromatik bitki olan *Lallemantia iberica*'nın *in vitro* üretimi ile ilgili yaptıkları çalışma ile de desteklenmektedir. Ayrıca IBA, NAA ile kıyaslandığında köklenme açısından daha etkili bir oksin olduğu Sunandakumari ve ark. (2004)'ün yaptıkları bir çalışma ile de gösterilmiştir.

4. Sonuçlar

Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen bulgular kullanılarak *Mentha spicata* subsp. *spicata* da sürgün rejenerasyonu üzerine daha etkili olabilecek 1.05, 1.40, 1.75, 2.10, 2.45 mg/L BAP ve 0.1, 0.2 mg/L NAA içeren 10 farklı hormon kombinasyonu denenebilir, farklı sitokinin ve oksin grubu bitki büyüme düzenleyicileri ve kombinasyonları kullanılarak yeni denemeler planlanabilir. Bu çalışma daha fazla miktarda uçucu yağ içeren *Mentha*

türlerinin ıslahı çalışmalarına ışık tutabilir. Çalışmadan elde edilen bulgular kullanılarak *Mentha* türlerine gen aktarımı ile ilgili çalışmalar gerçekleştirilebilir.

Kaynaklar

- Başer, K.H.C. 1997. İlaç ve baharat bitkilerinin ilaç ve alkollü içki sanayilerinde kullanımı. İstanbul Ticaret Odası Yayın, No: 39. İstanbul.
- Baydar, H. 2007. Tıbbi, aromatik ve keyf bitkileri bilimi ve teknolojisi (Genişletilmiş II. Baskı). Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 51, Isparta.
- Ellialtıoğlu, Ş., Sevengör, Ş., Sezik, E. 2007. Şanlıurfa'da nane tarımının geliştirilmesi üzerinde çalışmalar. Şanlıurfa GAP GİDEM Bilgilendirme Toplantısı, 30 Mart 2007, Seminer Notları (Yayımlanmamış). (<http://iller.gidem.org/Sanlıurfa/TibbiAromatikBitkiler.aspx>).
- Kukreja, A.K., Dhawan, O.P., Mathur, A.K., Ahuja, P.S., Mandal, S. 1991. Screening and evaluation of agronomically useful somaclonal variations in Japanese mint (*Mentha arvensis* L.). Euphytica, 53: 183-191.
- Li, X., Niu, X., Bressan, R.A., Weller, S.C., Hasegawa, M.P. 1999. Efficient plant regeneration of native spearmint (*Mentha spicata* L.). In Vitro Cell Dev Biol Plant, 35: 333-338.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15: 473-97.
- Nakipoğlu, M., Otan, H. 1992. Tıbbi bitkilerin flavonitleri. Anadolu Journal of AARI, 4(1): 70-93.
- Ozdemir, F.A., Yildirim, M.U., Kahriz, M.P. 2014. Efficient micropropagation of highly economic, medicinal and ornamental plant *Lallemantia iberica* (Bieb.) Fisch. and C. A. Mey. BioMed Res. International, ID 476346. doi:10.1155/2014/476346.
- Özel, A., Özgüven, M. 1998. Harran ovası koşullarında farklı dikim zamanlarının bazı nane (*Mentha* ssp) tiplerinin verim ve bazı tarımsal karakterlerine etkisi. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 23(4): 921-928.
- Özgüven, M., Kırıcı, S. 1999. Farklı ekolojilerde nane (*Mentha*) türlerinin verim ile uçucu yağ oran ve bileşlerinin araştırılması. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 23: 465-472.
- Pooviaiah, C.R., Stephen, R.W.C., Matthew, J. 2006. A *in vitro* adventitious shoot regeneration of native spearmint using internodal explants. Hort Sci, 41: 414-417.
- Rech, E.L., Pires, M.J.P. 1986. Tissue culture propagation of *Mentha* sp. By the use of axillary buds. Plant Cell Reports, 5: 17-18.
- Sarwar, S., Zia, M., Rehman, R., Fatima, Z., Sial, R.A., Chaudhary, M.F. 2009. In vitro regeneration in mint from different explants on half strength MS medium. African Journal of Biotechnology, 8(18): 4667-4671.
- Sunandakumari, C., Martin, K.P., Chithra, M., Sini, S., Madhusoodanan, P.V. 2004. Rapid axillary bud proliferation and *ex vitro* rooting of herbal spice, *Mentha piperita* L. Indian Journal of Biotechnology, 3:108-112.
- Telci, İ., İncekara Sahbaz, N., Yılmaz, G., Tugay, M.E. 2004. Agronomical and chemical characterization of spearmint (*Mentha spicata* L.) originating in Turkey. Economic Botany, 58(4):721-728.
- Van Eck, J.M., Kitto, S.L. 1992. Regeneration of peppermint and orange mint from leaf disk. Plant Cell Tiss. Org. Cult, 30: 41-46.