

Zencefil (*Zingiber officinale* rosc.)’in Hızlı ve Etkili In Vitro Mikroüretimi

Müge Arkadaş¹ , Sebahattin Özcan² 

¹Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara, Türkiye

¹ <https://orcid.org/0000-0002-7375-6058>, ² <https://orcid.org/0000-0001-5127-1482>

✉: ozcans@ankara.edu.tr

Öz

Zingiberaceae familyasından olan Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.) tıp, gıda ve kozmetik gibi birçok kullanım alanına sahip olması nedeniyle ticari açıdan oldukça önemli bir tıbbi ve aromatik bitkidir. Çiçeklenme ile tohum tutumunun zayıf olması nedeniyle tohumdan çoğaltılması oldukça zor olan zencefilin rizom yoluyla uzun süreli vejetatif çoğaltımı da rizomların zayıflamasına neden olmaktadır. Bundan dolayı zencefil tarımının geliştirilmesi için kısa sürede ve çok sayıda hastaliksız bitki üretiminin yapılması gerekmektedir. Bu çalışmada da Murashige and Skoog (MS) besin ortamına ilave edilen 6-benzil amino pürin (BAP) ve α -naftalen asetik asit (NAA)’in 20 farklı kombinasyonunun zencefilin in vitro mikroüretimine etkisi araştırılmıştır. En yüksek oranda sürgün (9.25 adet/eksplant) ve kök oluşumu (11.41 adet/eksplant) besin ortamına 0.5 mg/L BAP ve 0.25 mg/L NAA ilave edildiğinde elde edilmiştir. Öte yandan, besin ortamlarına ilave edilen BAP ve NAA oranları bu miktarların üzerinde kullanıldığında sürgün ve kök oluşumunda çok önemli düşüşler olmuştur. Aynı şekilde BAP ile birlikte 0.1 mg/L NAA kullanımı da sürgün ve kök oluşumunu düşürmüştür. Bu sonuçlar, zencefil bitkisinde iyi bir oksin-sitokin dengesinin kurulmasının in vitro mikroüretim için son derece önemli olduğunu göstermiştir. Elde edilen in vitro bitkicikler de %100 oranında dış şartlara adaptasyon sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: BAP, doku kültürü, NAA, rejenerasyon, zencefil.

Rapid and Efficient In Vitro Micropropagation of Ginger (*Zingiber officinale* rosc.)

ABSTRACT

Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.), a member of the *Zingiberaceae* family, is a commercially important medicinal and aromatic plant with many uses in medicine, food and cosmetics. Ginger is very difficult to propagate from seed due to poor flowering and seed set. Long-term vegetative propagation through rhizomes also causes weakening of the rhizomes. Therefore, in order to develop ginger cultivation, it is necessary to produce a large number of disease-free plants in a short time. In this study, the effect of 20 different combinations of 6-benzyl amino purine (BAP) and α -naphthalene acetic acid (NAA) added to Murashige and Skoog (MS) medium on in vitro micropropagation of ginger was investigated. The highest rate of shoot (9.25 shoots/explant) and root formation (11.41 roots/explant) was obtained when 0.5 mg/L BAP and 0.25 mg/L NAA were added to the medium. On the other hand, there were significant decreases in shoot and root formation when BAP and NAA were added to the nutrient media above these amounts. Similarly, the use of 0.1 mg/L NAA with BAP also decreased shoot and root formation. These results showed that the establishment of a good auxin-cytokinin balance in ginger plants is extremely important for in vitro micropropagation. The in vitro plantlets regenerated were 100% adapted to external conditions.

Key words: BAP, ginger, NAA, tissue culture, regeneration.

GİRİŞ

Zencefil (*Zingiber officinale* Rosc.) *Zingiberaceae* ailesine ait çok yıllık, yaprakları rizom dallarından çıkan, adventif saçak köklere ve çoğunlukla tek yıllık toprak üstü aksamaya sahip yaklaşık 100 cm boylanan önemli bir tıbbi ve aromatik bitkidir (Aleem ve ark., 2020; Kumari ve ark., 2020; Udounang ve ark., 2022). Güney Doğu Asya'ya özgü tropik ve subtropik bölgelerde yetiştirilen Zencefil bitkisi ilaç, gıda ve kozmetik gibi birçok kullanım alanına sahip olması sebebiyle ticari açıdan oldukça önemlidir (Chakraborty ve ark., 2023). Zencefile keskin bir aroma veren uçucu yağ gingerol ve diğer keskin bileşikler, kan akışını ve iltihabı etkileyen kimyasallardan olan prostaglandin ve lökotrien üretimini engelledikleri için tıbbi açıdan oldukça önemlidir. Ayrıca, zencefil yüzyıllardır geleneksel tedavide soğuk algınlığı, boğaz ağrısı, astım, iştahsızlık kabızlık, hazımsızlık, mide bulantısı, çarpıntı, eklem iltihabı, yüksek tansiyon ve migren gibi hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Aleem ve ark., 2020).

Tıbbi ve aromatik bitkilerin gelişi güzel hasat edilmesi, biyolojik çeşitliliğinin azalması ve bitki kalitesindeki potansiyelin düşmesine yol açmaktadır. Endüstriyel faaliyetler için oldukça önemli olan bu bitkilerin sürdürülebilir bir şekilde hasat edilmeleri onların ticari tarım potansiyellerini de arttırmaktadır (Tasheva ve Kusturkova, 2013; Kunene ve ark., 2018). Düşük kök sap çoğalma oranına sahip olan zencefilin ekonomik değere sahip rizomlarının toprak kaynaklı patojenlere maruz kalması verim kayıplarını önemli oranda arttırmaktadır. Çoğunlukla rizom yoluyla üretilen zencefilin uzun süreli vejetatif çoğaltımı rizomların zayıflamasına da neden olmaktadır (Kambaska ve Santilata, 2009). Çiçeklenme ile tohum tutumunun zayıf olması nedeniyle tohumdan çoğaltılması da oldukça zor olan bitkilerin başında gelmektedir (Das ve ark., 2010; Mosie, 2019). Bu nedenlerden dolayı ticari olarak zencefil tarımı için kısa sürede yüksek miktarda hastaliksız bitki üretiminin yapılması gerekmektedir. Diğer taraftan in vitro teknikler kullanılarak kısa süre içerisinde aynı genotipe sahip hastaliksız milyonlarca bitki üretmek mümkün olmaktadır. Bu çalışmada da farklı bitki büyüme düzenleyicileri kullanılarak Zencefil bitkisinin in vitro hızlı ve yüksek oranda çoğaltımı için bir protokol geliştirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bitki Materyali ve Yüzey Sterilizasyonu

Piyasada satışa sunulan zencefil rizomlarından sağlıklı olanları seçilerek musluk suyunda sabunla yıkandıktan sonra 21 gün karanlıkta bekletilerek rizomların filizlenmesi sağlanmıştır. Yüzey sterilizasyonu için rizomlardan izole edilen filizler öncelikle %70'lik etanolde 2 dakika bekletildikten sonra üç defa steril saf su ile durulanmıştır. Etanol uygulamasını takiben filizler %30'luk ticari çamaşır suyunda 20 dakika tutulduktan sonra steril saf su ile üç kez yıkanmıştır. Yüzey sterilizasyonuna tabi tutulan bu sürgünler mikroçoğaltım başlangıç materyali elde etmek amacıyla aseptik şartlarda in vitro temel besin ortamında kültüre alınmıştır. Ayrıca Güney Agripark Tarımsal Araştırmalar Ltd. (Antalya) Şirketinden de in vitro steril fideler sağlanarak araştırmalarda kullanılmıştır.

Besin Ortamı ve Kültür Koşulları

Temel besin ortamı olarak 30 g/L sükroz ve 7 g/L agar içeren Murashige and Skoog (MS) ortamı (Murashige ve Skoog, 1962) kullanılmıştır. Bu besin ortamına zencefil bitkisinin hızlı çoğaltımı için 0.5, 1, 2 ve 4.0 mg/L 6-benzilaminopürin (BAP) ile 0.1, 0.25, 0.5, ve 1.0 mg/L α -naftelen asetik asit (NAA) farklı kombinasyonlarda ilave edilmiştir. Hazırlanan besin ortamlarının pH değeri 5.6-5.8'e ayarlandıktan sonra 121°C de 20 dakika süreyle otoklavda steril edilmiştir. Tüm kültürler 24±1°C sıcaklık ve 16 saat aydınlık fotoperiyodun uygulandığı iklim dolaplarında inkübe edilmiştir.

Mikroüretim

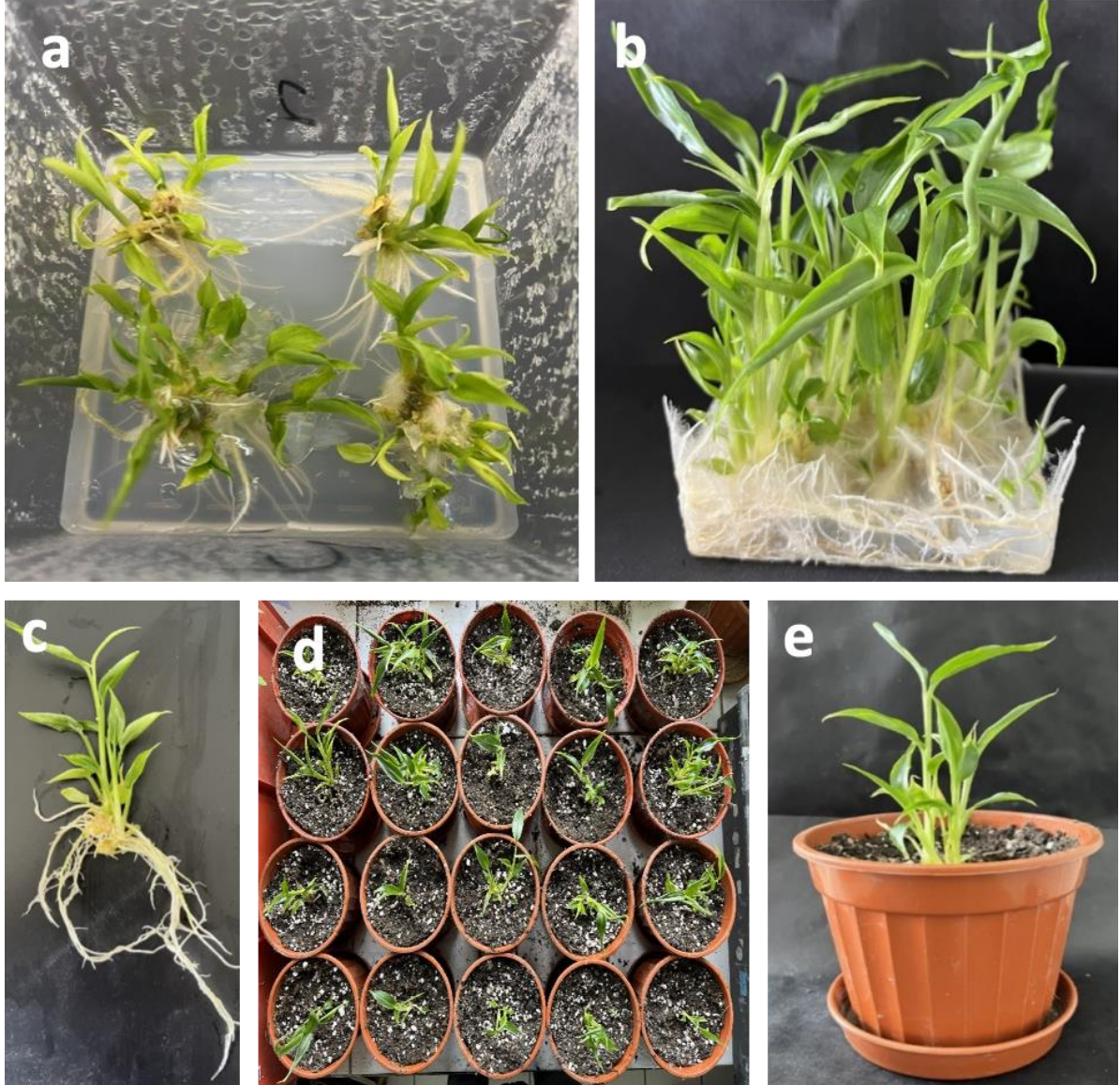
Yüzey sterilizasyonuna tabi tutulan rizom filizlerinden 6 hafta sonra gelişen sürgünler ile Güney Agripark Tarımsal Araştırmalar Ltd. (Antalya) Şirketinden elde edilen in vitro bitkiler hızlı çoğaltma için başlangıç materyali olarak kullanılmıştır. Bu sürgünlerden izole edilen koltuk altı ve tepe meristem bölgeleri farklı oranlarda BAP ve NAA içeren MS besin ortamında iklim dolaplarında kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 7 hafta sonra eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu ile kök sayısı ve kök uzunluğu belirlenmiştir. In vitro şartlarda gelişen ve köklenen bitkicikler 7 hafta sonra köklerindeki agar tamamen yıkanarak dış koşullara adaptasyon için 2:1 oranında torf ve perlit karışımı içeren saksılara aktarılmıştır. Nem kaybını önlemek için saksıların üzerine şeffaf naylon poşet geçirilmiş ve bir hafta süreyle poşetler açılarak su sprey edilmiştir. Bir hafta sonra poşetlerde delikler açılarak havalandırma sağlanmış ve 15 gün sonra da poşetler tamamen kaldırılmıştır.

İstatistik Analizler

Tüm denemeler 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve her bir tekerrürde 4 adet eksplant kültüre alınmıştır. Elde edilen veriler varyans analizi için JMP istatistik programına tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki fark LSD testi ile belirlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Rizomlardan gelişen filizler besin ortamında kültüre alındıktan bir hafta sonra sürgünler gelişmeye başlamıştır. Gelişen bu sürgünlerden 6-7 hafta sonra elde edilen tepe ve koltuk altı meristemleri farklı oranlarda BAP ve NAA içeren MS besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültüre alınan bu eksplantlardan da sürgün gelişimi bir hafta sonra başlamış ve 7 hafta sonra da iyi bir kök yapısına sahip tam gelişmiş sürgün ve bitkicikler elde edilmiştir (Şekil 1a-c).



Şekil 1. Zencefilin in vitro mikroüretimi. Kültür başlangıcından 4 hafta (a) ve 7 hafta (b-c) sonra 0.5 mg/L BAP ve 0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamında sürgün gelişim. d-e) Dış koşullara alıştırılmış in vitro bitkiler.

Çizelge 1’de MS besin ortamına ilave edilen 20 farklı BAP ve NAA konsantrasyonunun zencefilde in vitro sürgün oluşumu ve köklenmesi üzerine etkisi verilmiştir. Çizelge incelendiğinde farklı BAP ve NAA konsantrasyonlarının zencefilin mikroçoğaltımı üzerine önemli etkilerinin olduğu gözlenmiştir. Eksplant başına en yüksek sürgün sayısı 9.25 adet ile 0.5 mg/L BAP ve 0.25 mg/L NAA içeren besin ortamından elde edilmiş olup, diğer uygulamalarla arasındaki fark da istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Eksplant başına en düşük sürgün sayısı ise 0.5 adet ile 4 mg/L BAP ve 0.5 mg/L NAA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir (Çizelge 1). Sürgün

sayısında olduğu gibi en yüksek sürgün uzunluğu da 5.58 cm ile yine 0.5 mg/L BAP ve 0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamında gözlenmiştir. En düşük sürgün uzunluğu da aynı şekilde 4 mg/L BAP ve 0.5 mg/L NAA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir.

Çizelge 1. Kültür başlangıcından 7 hafta sonra farklı oranlarda BAP ve NAA içeren MS besin ortamının zencefilin in vitro mikroüretimine etkisi.

Büyüme Düzenleyicileri (mg/L)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (Adet)	Ortalama Sürgün Uzunluğu (cm)	Eksplant Başına Kök sayısı (Adet)	Ortalama Kök Uzunluğu (cm)
BAP	NAA				
0	0	4.91 cd*	3.09 b	7.00 bc	2.99 defg
0.5	0	2.75 efgh	2.81 bc	7.08 bc	5.30 bc
1	0	2.91 efgh	2.40 bcd	3.75 efg	2.70 efgh
2	0	7.75 b	1.73 de	3.91 efg	2.37 fgh
4	0	3.83 de	2.16 cd	3.75 efg	2.81 efgh
0.5	0.1	2.33 ghı	1.05 efg	2.41 gh	1.34 hı
1	0.1	2.16 ghı	0.99 efg	3.75 efg	3.34 def
2	0.1	2.08 hı	1.36 ef	3.16 fg	1.49 ghı
4	0.1	3.16 efgh	0.95 efg	5.00 def	2.23 fgh
0.5	0.25	9.25 a	5.58 a	11.41 a	8.91 a
1	0.25	2.08 hı	1.00 efg	3.75 efg	1.75 ghı
2	0.25	5.75 c	2.66 bc	8.83 b	6.08 b
4	0.25	3.41 efg	0.99 efg	3.50 efg	2.00 fgh
0.5	0.5	3.75 def	2.20 cd	3.16 fg	2.34 fgh
1	0.5	2.91 efgh	2.23 cd	5.41 cde	2.27 fgh
2	0.5	1.33 ij	0.73 fg	0.66 h	0.35 ı
4	0.5	0.50 j	0.51 g	0.83 h	0.33 ı
0.5	1	3.25 efgh	2.30 bcd	6.75 cd	3.91 cde
1	1	2.50 fghı	1.28 efg	4.91 def	4.45 cd
2	1	2.75 efgh	1.03 efg	2.00 gh	1.98 fgh
4	1	3.08 efgh	1.21 efg	2.00 gh	1.75 hı

*Aynı sütunda farklı harflere gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık LSD testi sonuçlarına göre 0.01 düzeyinde önemlidir.

Sürgün oluşumunda olduğu gibi kök gelişiminde de 0.5 mg/L BAP ve 0.25 mg/L NAA içeren besin ortamı en yüksek sonuçları vermiştir (Çizelge 1; Şekil 1b-c). Bu ortamda eksplant başına kök sayısı 11.41 adet olurken, ortalama kök uzunluğu ise 8.91 cm olmuştur. Eksplant başına en düşük kök sayısı 2 mg/L BAP ve 0.5 mg/L NAA içeren besin ortamından elde edilirken, en düşük kök uzunluğu ise 4 mg/L BAP ve 0.5 mg/L NAA içeren ortamdan elde edilmiştir (Çizelge 1). İyi bir kök sistemine sahip olan in vitro bitkicikler torf ve perlit karışımı içeren saksılara aktarıldıklarında %100 oranında dış şartlara adaptasyon sağlamıştır (Şekil 1 d-e).

Besin ortamları ve özellikle de bitki büyüme düzenleyicileri kültüre alınan hücre, doku ve organlardan yeni bitkilerin elde edilmesinde son derece önemli bir yer tutmaktadır (Çakmak ve ark., 2016; Trolinder, 2020). Farklı araştırmacılar tarafından çok sayıda yapay besin ortamı geliştirilmesine rağmen MS besin ortamı halen çok sayıda bitki türü için en yaygın kullanılan besin ortamı olma özelliğini sürdürmektedir (Özcan ve ark., 2023; Özcan ve ark., 2025). Dolaylı olarak bitki büyüme ve gelişme ile birlikte in vitro rejenerasyonu sağlayan bitki büyüme düzenleyicileri in vitro bitki gelişimi için mutlak gerekli olan bileşiklerdir (Trolinder, 2020; İbrahim, 2022). Çoğu bitki türünde bu bileşikler olmadan in vitro şartlarda yeni bitkilerin elde edilmesi mümkün olmamaktadır. Genel olarak in vitro şartlarda sitokinler sürgün oluşumu ve gelişimde etkili olurken, oksinler ise kallus ve kök oluşumunda etkili olmaktadır. Ancak en iyi sürgün ve bitki rejenerasyonu iyi bir oksin-sitokin dengesi kurulduğunda elde edilebilmektedir (Nazir ve ark., 2022). Genellikle yüksek oranda sitokin ve düşük oranda oksin kullanıldığında iyi bir bitki rejenerasyonu sağlanabilmektedir (de Oliveira ve ark., 2022; Asghar ve ark., 2023). Düşük oranlarda kullanılan oksinler hücrelerin hızlı bir şekilde bölünmesini ve kallus oluşumunu sağlarken, sitokinler ise hızlı bölünen bu hücrelerin farklılaşarak morfogenez yoluyla sürgünlere dönüşümünü ve

gelişmelerini sağlamaktadır. Doku kültürlerinde sitokinin olarak en yağın kullanılan bileşik BAP iken, oksin olarak da NAA yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu büyüme düzenleyicileri zencefilinde içinde bulunduğu çok sayıda bitki türünde yüksek oranlarda in vitro rejenerasyon sağlamıştır.

Bu çalışmada BAP ve NAA'nın 20 farklı kombinasyonu zencefil bitkisinin in vitro hızlı ve etkili mikroüretimi için kullanılmıştır. En yüksek oranda sürgün ve kök oluşumu besin ortamına 0.5 mg/L BAP ve 0.25 mg/L NAA ilave edildiğinde elde edilmiştir. Öte yandan, besin ortamlarına ilave edilen BAP ve NAA oranları bu miktarların üzerinde kullanıldığında sürgün ve kök oluşumunda çok önemli düşüşler olmuştur. Aynı şekilde BAP ile birlikte 0.1 mg/L NAA kullanımı da sürgün ve kök oluşumunu düşürmüştür. Büyüme düzenleyici içermeyen besin ortamından da önemli oranda sürgün ve kök gelişimi elde edilebilmiştir. Ancak, 0.5 mg/L BAP ve 0.25 mg/L NAA içeren besin ortamıyla karşılaştırıldığında oldukça düşük kalmıştır. Elde edilen bu sonuçlar zencefil bitkisinde iyi bir oksin-sitokinin dengesinin oluşturulmasının in vitro mikroüretim için son derece önemli olduğunu göstermiştir.

Farklı araştırmacılar tarafından zencefilin in vitro mikroüretimi üzerine araştırmalar yürütülmüştür. Shaaban ve ark. (2023) sadece 1 ve 2 mg/L BAP ile 0.1 mg/L NAA kullandıkları çalışmalarında kontrole göre yüksek sonuçlar elde etmişlerdir. Ancak, elde edilen sonuçlar bizim çalışmamıza göre düşük kalmıştır. Benzer şekilde sınırlı sayıda BAP ve NAA kombinasyonunun kullanıldığı diğer bir çalışmada ise en yüksek sürgün rejenerasyonu 7.8 adet ile tek başına 2.5 mg/L BAP kullanıldığında elde edilmiştir (Shaik ve Rajani Kanth, 2018). Ancak bu uygulamada kök gelişimi zayıf olduğundan dolayı sürgünler ayrıca NAA veya IBA içeren başka bir ortamda köklendirilmiştir. Bu çalışmaya göre bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçlar (eksplant başına 9.25 adet sürgün) daha yüksek olduğu gibi, köklendirme için sürgünlerin ayrı bir ortama aktarılmasına da gerek duyulmamıştır. Kullanılan rejenerasyon ortamında gelişen sürgünler aynı zamanda çok iyi bir kök sistemi de oluşturmuştur (Şekil 1b). Bu durum ise zencefilin hızlı üretiminde zaman ve maliyetten önemli oranda tasarrufa gidilmesini sağlayabilecektir. Ayrıca besin ortamlarında yüksek oranlarda sitokinin kullanımı anormal gelişmeler ile vitrifikasyona da neden olabilmektedir.

Zuraida ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada öncelikle rizom filizlerinden farklı büyüme düzenleyicisi içeren besin ortamlarında mikro sürgünler elde etmişler ve daha sonra bu sürgünleri farklı oranlarda BAP ve NAA içeren besin ortamında kültüre almışlardır. En yüksek sürgün sayısını 19.5 adet ile 3 mg/L BAP ve 0.5 mg/L NAA içeren ortamdan elde etmişlerdir. Ancak bu çalışmada elde edilen sürgünlerin eksplant başına mı yoksa kültür kabı başına mı olduğu ile ilgili bilgi vermemişlerdir. Ayrıca mikro sürgünlerin ve daha sonra da gelişmiş sürgünlerin elde edilmesi için 90 günlük bir zamana ihtiyaç duyulmuştur. Halbuki bizim çalışmamızda 7 hafta sonra iyi bir kök sistemine sahip bitkicikler elde edilebilmiştir. Zencefilin in vitro mikroüretimine yönelik çalışmalar diğer araştırmacılar tarafından da yürütülmüştür (Bhattacharya ve Sen, 2006; Miri, 2020; Zahid ve ark., 2021). Ancak halihazırdaki çalışmadan elde edilen sonuçlar düşük oranlarda bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanımı, iyi bir kök sistemine sahip yüksek oranda bitkicik eldesi ve süre yönüyle önemli avantajlar sağlamıştır.

SONUÇ

Bu çalışmada zencefil bitkisinin hızlı ve etkili in vitro mikroüretimi için BAP ve NAA'nın çok sayıda farklı kombinasyonu kullanılarak 7 hafta gibi kısa bir süre içerisinde iyi bir kök yapısına sahip bitkicikler elde edilebilmiştir. Üstelik düşük oranlarda büyüme düzenleyicilerinin kullanımı sayesinde elde edilen bitkiciklerinde son derece sağlıklı olduğu gözlenmiştir. Bu bitkiciklerin köklendirilmesi için ikinci bir alt kültür ve köklendirme ortamına da ihtiyaç duyulmamıştır. Elde edilen in vitro bitkicikler saksılara aktarılarak %100 oranında dış şartlara adapte olmuştur. Geliştirilen bu yöntem zencefil tarımında kullanılabilecek niteliktedir.

Teşekkür

Başlangıç materyali için in vitro bitki sağlayan Güney Agripark Tarımsal Araştırmalar Ltd. (Antalya) Şirketine ve istatistik analizlerde yardımları için Prof. Dr. Cengiz SANCAK'a teşekkür ederiz.

Çıkar çatışması beyanı

Yazarlar, bu makalede bildirilen çalışmayı etkileyebilecek herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan ederler.

Author Contributions

Müge ARKADAŞ: Bu çalışma, SÖ danışmanlığında yürütülen ve MA tarafından yapılan Doktora tezinin sonuçlarını içermektedir. MA laboratuvar denemelerin planlanması ve yapılması ile makalenin yazılması konularında görev almıştır.

Sebahattin ÖZCAN: Tez konusunun belirlenmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yönlendirilmesi ile makalenin düzeltilmesinde katkıda bulunmuştur.

ORCID

Müge ARKADAŞ  <https://orcid.org/0000-0002-7375-6058>

Sebahattin ÖZCAN  <https://orcid.org/0000-0001-5127-1482>

Article History

Submission received: 03.11.2024

Revised: 19.01.2025

Accepted: 22.01.2025

KAYNAKLAR

- Aleem, M., Khan, M.I., Shakshaz, F.A., Akbari, N. ve Anwar, D. 2020. Botany, phytochemistry and antimicrobial activity of ginger (*Zingiber officinale*): A review. *Int J Herb Med*, 8(6): 36-49.
- Asghar, S., Ghorri, N., Hyat, F., Li, Y. ve Chen, C. 2023. Use of auxin and cytokinin for somatic embryogenesis in plant: a story from competence towards completion. *Plant Growth Regulation*, 99 (3): 413-428.
- Bhattacharya, M. ve Sen, A. 2006. Rapid in vitro multiplication of disease-free *Zingiber officinale* Rosc. *Indian journal of plant physiology*, 11(4): 379-384.
- Chakraborty, A., Santra, I., Haque, S. M. ve Ghosh, B. 2023. In vitro conservation of commercial and threatened members of Zingiberaceae: an Indian scenario. *Biodiversity and Conservation*, 32 (7): 2155-2195.
- Çakmak, D., Karaoğlu, C., Aasim, M., Sancak, C. ve Özcan, S. 2016. Advancement in protocol for in vitro seed germination, regeneration, bulblet maturation, and acclimatization of *Fritillaria persica*. *Turkish Journal of Biology*, 40 (4): 878-888.
- Das, A., Kesari, V. ve Rangan, L. 2010. Plant regeneration in *Curcuma* species and assessment of genetic stability of regenerated plants. *Biologia Plantarum*, 54: 423-429.
- de Oliveira, L.S., Brondani, G.E., Molinari, L.V., Dias, R.Z., Teixeira, G.L., Gonçalves, A.N. ve de Almeida, M. 2022. Optimal cytokinin/auxin balance for indirect shoot organogenesis of *Eucalyptus cloeziana* and production of ex vitro rooted micro-cuttings. *Journal of Forestry Research*, 33 (5): 1573-1584.
- Ibrahim, M. 2022. Role of endogenous and exogenous hormones in bioactive compounds production in medicinal plants via in vitro culture technique. *Plant Hormones-Recent Advances, New Perspectives and Applications*.
- Kambaska, K.B. ve Santilata, S. 2009. Effect of plant growth regulator on micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) cv-Suprava and Suruchi. *Journal of Agricultural Technology*, 5(2): 271-280.
- Kumari, M., Kumar, M. ve Solankey, S.S. 2020. *Zingiber officinale* Roscoe: ginger. *Medicinal, Aromatic and Stimulant Plants*, 605-621.
- Kunene, E.N., Oseni, T.O., Wahome, P.K., Masarirambi, M.T., McCubbin, M.J., Dlamini, P.S. ve Zwane, M.G. 2018. Effects of plant growth regulators and explant type on the in vitro micro-propagation of wild ginger (*Siphonochilus aethiopicus* (Schweif.) BL Burt.). *Advancement in Medicinal Plant Research*, 6: 54-63.
- Miri, S.M. (2020). Micropropagation, callus induction and regeneration of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *Open agriculture*, 5(1): 75-84.
- Mosie, T. 2019. A Review on Influence of Growth Regulator and Culture Condition on Micro-Propagation of Ginger (*Zingiber officinale*). *International Journal of Food Science and Agriculture*, 3 (3): 200-204.
- Murashige, T. ve Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15 (3): 473-497.
- Nazir, U., Gul, Z., Shah, G.M. ve Khan, N.I. 2022. Interaction effect of auxin and cytokinin on in vitro shoot regeneration and rooting of endangered medicinal plant *Valeriana jatamansi* Jones through tissue culture. *American Journal of Plant Sciences*, 13 (2): 223-240.
- Özcan, E., Atar, H.H., Ali, S.A. ve Aasim, M. 2023. Artificial neural network and decision tree-based models for prediction and validation of in vitro organogenesis of two hydrophytes—*Hemianthus callitrichoides* and *Riccia fluitans*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 59 (5): 547-562.
- Özcan, E., Ali, S. A., Aasim, M. ve Atar, H. H. 2025. Precision in vitro propagation by integrating response surface methodology and machine learning for *Glossostigma elatinoides* (Benth) Hook. F. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 1-15.
- Shaaban, A., Elfishy, N., Aween, Z., Abdelah, E. ve Abughni, E. 2023. In vitro Micropropagation of Ginger plant (*Zingiber officinale*). *Scientific Journal for Faculty of Science-Sirte University*, 3 (2): 154-161.
- Shaik, J. ve Rajani Kanth G. 2018. In vitro propagation of *Zingiber officinale* through rhizome and effect of plant growth regulators. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7 (5): 2012-2014.

- Tasheva, K. ve Kosturkova, G. 2013. Role of biotechnology for protection of endangered medicinal plants. *Environmental biotechnology-New approaches and prospective applications*, 235-238.
- Trolinder, N. L. 2020. Use of plant bioregulators in tissue culture. *Alınmıştır In Plant Biochemical Regulators*, (ed) Gausman, H.W., CRC Press, 99-112.
- Udounang, P.I., Ekwere, O.J. ve Akata, O.R. 2022. Effect of Different Tillage Practices on the Growth and Yield of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) in Obio Akpa - Akwa Ibom State, South Eastern Nigeria. *AKSU Journal of Agriculture and Food Science* 6 (1): 36-45.
- Zahid, N.A., Jaafar, H.Z. ve Hakiman, M. 2021. Micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe)'Bentong'and evaluation of its secondary metabolites and antioxidant activities compared with the conventionally propagated plant. *Plants*, 10 (4): 630 (2-17)
- Zuraida A.R., Mohd Shukri, M.A., Erny Sabrina M.N., Ayu Nazreena O., Che Radziah C.Z., Pavallekoodi G. ve Sreeramanan S. 2016. Micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) using buds from microshoots. *Pak. J. Bot*, 48 (3), 1153-1158.