

Doğan, M., Farklı Benzil Amino Pürin ve Gibberellik Asit Kombinasyonunun *Rotala rotundifolia* (Buch-Ham. ex Roxb) Koehne'nin Mikroçoğaltımı Üzerine Etkisi. International Journal of Life Sciences and Biotechnology, 2019. 2(2): p. 72-79.

## Farklı Benzil Amino Pürin ve Gibberellik Asit Kombinasyonunun *Rotala rotundifolia* (Buch-Ham. ex Roxb) Koehne'nin Mikroçoğaltımı Üzerine Etkisi

Muhammet Doğan<sup>1</sup>

### ÖZET

*Rotala rotundifolia* (Buch-Ham. ex Roxb) Koehne genenksel tıp sisteminde hastalıkların tedavisinde kullanılan önemli akuatik tıbbi bitkidir. Bu çalışmada, 6-benzil amino purin (BAP) ve gibberellik asit (GA<sub>3</sub>)'in farklı kombinasyonlarını içeren kültür ortamında *R. rotundifolia*'nın boğum eksplantlarından *in vitro* sürgün rejenerasyonu araştırılmıştır. Kültür ortamlarında ilk sürgün oluşumları 10 gün sonunda gözlenmiştir. Sekiz hafta sonunda deneme sonlandırılmış ve rejenerasyon verileri alınmıştır. Sürgün rejenerasyon oranı %72,22-100,00 arasında sıralanmıştır. %100 sürgün rejenerasyon oranı 0,25-0,75 mg/L BAP + 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> içeren MS ortamında kaydedilmiştir. Eksplant başına maksimum sürgünler (18,38 adet) ve en uzun sürgünler (2,36 cm) 0,25 mg/L BAP + 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> eklenmiş kültürlerde elde edilmiştir. Çoğaltım ortamında sürgünlerin köklenmesi nedeniyle ayrıca köklendirme çalışması yürütülmemiştir. Rejenere sürgünlerin akvaryum ortamına alıştırılması başarıyla sağlanmıştır. Bu rapor, tıbbi bitki *R. rotundifolia*'nın çoklu üretimini sunması bakımından önemlidir. İleride bu bitki ile yürütülecek sekonder metabolit üretimi ve gen aktarım çalışmalarına yardımcı olabilir.

### MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş 09.05.2019

Kabul 10.06.2019

### ANAHTAR KELİMELEK

Boğum eksplantı,  
doku kültürü,  
sürgün  
rejenerasyonu,  
BAP

## The Effect of Different Combinations of Benzyl Amino Purine and Gibberellic Acid on Micropropagation of *Rotala rotundifolia* (Buch-Ham. ex Roxb) Koehne

### ABSTRACT

*Rotala rotundifolia* (Buch-Ham. ex Roxb) Koehne is an important aquatic medicinal plant for the treatment of diseases in the traditional medicine system. In this study, *in vitro* shoot regeneration from the nodal explants of *R. rotundifolia* in culture medium containing different combinations of 6-benzyl amino purine (BAP) and gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) was investigated. First shoot formation was observed after 10 days in culture medium. At the end of eight weeks, the trial was completed and regeneration data were obtained. Shoot regeneration rate is listed as 72.22-100.00%. 100% shoot regeneration rate was recorded in MS medium including 0.25-0.75 mg/L BAP + 0.25 mg/L GA<sub>3</sub>. The maximum shoots per explant (18.38) and the longest shoots (2.36 cm) were obtained in cultures with 0.25 mg/L BAP + 0.25 mg/L GA<sub>3</sub>. No rooting study was carried out due to the rooting of the shoots in the multiplication environment. The acclimation of regenerated shoots to the aquarium environment has been successfully achieved. This report is important in that it offers multiple production of medicinal plant *R. rotundifolia*. In the future, it can help with the production of secondary metabolites and gene transfer studies.

### ARTICLE HISTORY

Received 09.05.2019

Accepted 10.06.2019

### KEY WORDS

Nodal explant, tissue  
culture, shoot  
regeneration, BAP

<sup>1</sup> Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Kamil Özdağ Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Karaman, Türkiye.  
e-mail: mtdogan1@gmail.com

## Giriş

*Rotala rotundifolia* (Buch-Ham. Eski Roxb) Koehne (Lythraceae) Asya'da yayılış gösteren sucul bir bitkidir [1]. *R. rotundifolia* geleneksel tıp sisteminde hastalıkların iyileştirilmesinde şifali bitki olarak kullanılmaktadır. Özellikle eklem ağrısının tedavisi ve romatizmal tedavisinde tercih edilmektedir [2]. Ayrıca *R. rotundifolia*'nın akuatik ekstrelerinin en fazla antioksidan kapasiteye barındırdığı bildirilmiştir [3].

Bitkiler süsleme, tıbbi ve diğer birçok amaç için doğal ortamlarından aşırı şekilde toplanmaktadır. Bu durum bitki türlerinin neslinin yok olmasına ve bu bitki türleri ile beslenen diğer canlı türlerinin ölmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle, önemli bitki türlerinin büyük ölçekli çoğalmalarını ve korunmalarını sağlayacak etkili çoğaltma yöntemlerinin geliştirilmesine acil bir ihtiyaç vardır.

Normal koşullarda tatlı su bitkilerini yetiştirme teknikleri eşeyli ve eşeysiz olmak üzere ikiye ayrılır. Eşeyli üretimde yapay polenleme ve tohumla üretimden yararlanılmaktadır. Yapay polenleme, kendini dölleyemeyen türlerde uygulanan bir yöntemdir. Döllenme olayı, bir fırça yardımıyla alınan polenlerin diğer bitkinin çiçeğine taşınmasıyla sağlanabileceği gibi olgunlaşmış anterleri bulunan çiçeklerin koparılarak diğer çiçeğin stigmasına sürtülmesi ile de sağlanabilir. Tohumla üretim, bitkinin normal hayat döngüsünde bulunan bir olaydır. Diğer üretim şekli eşeysiz üretimdir. Bu yöntem ticari olarak en yaygın kullanılan yöntemdir. Çeşitli şekillerde yapılabilmektedir. Örneğin; ana bitkiden kesilen parçaların toprağa dikilmesiyle, rizoma sahip bazı su bitkilerinde, rizomlar üzerinde yeni çıkan bitkilerin kesilip toprağa aktarılmasıyla ve çiçek açmayan bazı su bitkilerinde ana bitkinin yapraklarından yeni bitkilerin gelişmesiyle elde edilebilmektedir [4].

Geleneksel üretim yöntemlerinin aksine bitki üretiminde yaygın şekilde biyoteknolojik bir yöntem olan doku kültürü teknikleri kullanılmaya başlanmıştır. Geleneksel tekniklerle çoğaltma ile ilişkili zorluklar, doku kültürü teknikleri kullanılarak aşılabılır [5]. Bitki doku kültürü teknikleri, özellikle nadir ve nesli tükenmekte olan bitki türlerinin hızlı bir şekilde çoğaltılması için kolay ve güvenilir yöntemler olarak kabul edilir [6-9].

Bu çalışmada, 6-benzil amino purin (BAP) ve gibberellik asit ( $GA_3$ )'in farklı kombinasyonlarını içeren kültür ortamında *R. rotundifolia*'nın boğum eksplantlarından *in vitro* sürgün rejenerasyonu araştırılmıştır.

## Materyal ve Metot

*R. rotundifolia* Konya'da (Türkiye) yer alan akvaryumculardan temin edilmiştir. Bitkinin yüzey sterilizasyonu işlemleri %20 hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ile 10 dk etkileşime sokularak başarılmıştır. Ardından bitki parçaları üzerinde  $H_2O_2$ 'i uzaklaştırmak için 3 kez 5'er dk süre ile durulama yapılmıştır. Bu bitki parçalarında boğum eksplantları izole edilerek bitki büyüme düzenleyici içermeyen Murashige ve Skoog (MS) temel besin ortamına transfer edilmiştir [10]. Çoğaltım çalışmalarında, bu kültür ortamında büyüyen 4 haftalık sürgünler kullanılmıştır.

*In vitro* çoğaltım çalışmalarında boğum eksplantları izole edilerek %3 sukroz ve 0,05-1,25 mg/L BAP ve 0,25 mg/L  $GA_3$  kombinasyonlarını içeren sıvı MS besin ortamı kullanılmıştır. Besin ortamın pH'ı otoklavlanmadan önce 1N NaOH ve 1N HCl ile  $5.8 \pm 0.1$ 'e ayarlanmıştır. Otoklavda  $120^\circ C$ 'de 20 dk boyunca (118 kPa atm) steril edilmiştir. Bütün kültürler, beyaz floresan lambalar altında 16 saat ışık fotoperiyodunda (5000 lux),  $24 \pm 1^\circ C$ 'de bekletilmiştir.

Çoğaltım ortamında sürgünlerin köklenmesi nedeniyle ayrıca köklendirme çalışması yürütülmemiştir. Kültür ortamında üretilen bitkiler üzerinde bulunan besin ortamları uzaklaştırılmış ve musluk suyu ve kum içeren akvaryuma alınmıştır (16 saat ışık;  $23^\circ C$ ).

Kültür ortamındaki dataların analizi için SPSS 21 for Windows programı kullanılmıştır. Post Hoc testlerinden ise Duncan seçilmiştir. Yüzde veriler için arksin transformasyon uygulanmıştır [11].

## Bulgular ve Tartışma

*In vitro* sürgün rejenerasyonu için *R. rotundifolia*'nın boğum eksplantları 0,05-1,25 mg/L BAP ve 0,25 mg/L  $GA_3$  kombinasyonlarını ihtiva eden sıvı MS besin solüsyonunda kültüre alınmıştır. Benzer şekilde boğum eksplantlarından başarılı sürgün rejenerasyonları daha önce Mishra ve ark. [12], Dogan [13], Reddy ve ark. [14], Subbaiyan ve ark. [15] ve Warakagoda ve ark. [16] tarafından da bildirilmiştir. İlk sürgün çıkışları 10. günde gözlenmiştir. Sekiz hafta sonunda deneme sonlandırılmış ve kültür ortamlarındaki boğum eksplantlarından çıkan çoklu sürgün oluşumları kaydedilmiştir. Sürgün rejenerasyon verileri için varyans analizi uygulanmıştır (Tablo 1).

**Tablo 1** 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> ve farklı BAP konsantrasyonlarının *R. rotundifolia*'nın boğum eksplantlarından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Rejenerasyon Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)		Kök Oluşturan Eksplant oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
<b>Ortam</b>	5	361,18	2,60 <sup>ös</sup>	42,91	13,95**	0,95	80,01**	2395,09	8,62**
<b>Hata</b>	12	138,91	-	3,08	-	0,02	-	277,74	-
<b>Genel Toplam</b>	17	-	-	-	-	-	-	-	-

\*\*  $p < 0,01$  düzeyinde önemli, <sup>ös</sup>Önemsiz.

Tablo 2. incelendiğinde, sürgün rejenerasyonu oranı bakımından ortamlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken, kök oluşturan eksplant oranı, sürgün uzunluğu ve eksplant başına sürgün sayısı bakımından istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmuştur ( $p < 0,01$ ). Bu farklılığın anlamlılık seviyesi için Duncan testi uygulanmıştır (Tablo 2).

Sürgün rejenerasyon oranı %72,22-100,00 arasında sıralanmıştır (Tablo 2). %100 sürgün rejenerasyon oranı 0,25-0,75 mg/L BAP + 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> içeren MS ortamında kaydedilmiştir. %72,22 sürgün rejenerasyon oluşumu 1,25 mg/L BAP + 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> eklenmiş kültürlerde kaydedilmiştir. Genel olarak çok yüksek hormon kombinasyonu ve çok düşük hormon kombinasyonları eksplantların sürgün rejenerasyonları için olumlu bulunmamıştır. Benzer şekilde *Ceratophyllum demersum* L.'un sürgün ucu ile yürütülen çalışmada sürgün rejenerasyon frekansları yüksek ve düşük BAP içeriğinde azalmıştır Emsen ve Dogan [17]. *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr.'nin boğum ve boğum arası eksplantları 0,10 mg/L GA<sub>3</sub> ve 0,05-1,60 mg/L Tidiazuron kombinasyonunu içeren MS besin ortamında kültüre alınmış ve en yüksek ve en düşük hormon kombinasyonlarında sürgün rejenerasyon yüzdeleri düşüş göstermiştir [18]. Benzer sonuçlar *Ipomoea purpurea* (L.) Roth'nın boğum eksplantlarında da tespit edilmiştir [19]. BAP ve GA<sub>3</sub> kombinasyonlarını içeren MS besin ortamlarında eksplant başına sürgün sayısı 8,16-18,38 adet arasında değişmiştir (Tablo 2). En fazla sürgün oluşumu 18,38 adet ile 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> + 0,25 mg/L BAP eklenmiş kültürlerde (Şekil 1a,b,c), ardından da 17,10 adet ile 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> + 1,25 mg/L BAP eklenmiş kültür ortamında tespit edilmiştir. Düşük sayıda sürgünler ise 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> + 0,75 mg/L BAP eklenmiş kültürlerde (8,16 adet), ardından da 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> + 0,05 mg/L BAP'lı ortamda belirlenmiştir (12,64 adet).

**Tablo 2** 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> ve farklı BAP konsantrasyonlarının *R. rotundifolia*'nin boğum eksplantlarında sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/L)		Sürgün Rejenerasyon Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)	Kök Oluşturan Eksplant Oranı (%)
BAP	GA <sub>3</sub>				
0,05	0,25	88,89 <sup>ös</sup>	12,64b	1,08c	83,33a
0,25	0,25	100,00	18,38a	2,36a	66,66a
0,50	0,25	100,00	15,27ab	1,75b	55,55ab
0,75	0,25	100,00	8,16c	1,51b	44,44ab
1,00	0,25	88,89	14,34ab	1,077c	16,66b
1,25	0,25	72,22	17,10a	0,83c	11,17b

Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir ( $p < 0.01$ )

<sup>ös</sup> Önemsiz

Veriler incelendiğinde, sürgün sayılarının hormon kombinasyonlarının etkisiyle önemli ölçüde etkilendiği fakat sürgün sayısının hormon kombinasyonları ile düzenli bir artış veya azalış göstermediği görülmüştür. Benzer şekilde farklı hormon konsantrasyonlarının etkileri ile sürgün sayıları üzerinde değişimler *Lysimachia nummularia* L. [20], *Echinops kebericho* [21], *Pongamia pinnata* [22], *Picea abies* (L.) H. Karst [23] ve *Pogostemon erectus* (Dalzell) Kuntze [24] bitkilerinde de bildirmiştir.



**Şekil 1** 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> ve farklı BAP dozlarını ihtiva eden sıvı kültür ortamında *R. rotundifolia*'nin boğumlarından rejenere sürgünler; Sekiz hafta sonra (a,b,c) 0,25 mg/L BAP + 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> eklenmiş kültürlerde boğum eksplantından çoklu sürgünler

Kültür ortamlarında sürgün uzunlukları 0,83-2,36 cm arasında değişmiştir. En uzun sürgünler (2,36 cm) 0,25 mg/L BAP + 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> eklenmiş kültürlerde, en kısa sürgünler ise 1,25 mg/L BAP + 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> eklenmiş kültürlerde elde edilmiştir. Bitki büyüme düzenleyicilerin 0,25 mg/L'den fazla kullanılması sürgün uzunluğunu olumsuz etkilemiştir. Sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından en uygun hormon kombinasyonları BAP ve

GA<sub>3</sub>'in eşit oranda (0,25 mg/L) kullanıldığı ortam olarak kaydedilmiştir. Dogan [25] *R. rotundifolia*'nın sürgün ucu ve boğum eksplantları doku kültürü ile üretim için 0,05-1,25 mg/L Kinetin ve 0.25 mg/L GA<sub>3</sub> eklenmiş büyütme ortamına aktarılmış ve en uzun sürgünleri sürgün ucu eksplantlarında 0,75 mg/L Kinetin + 0.25 mg/L GA<sub>3</sub>'lı kültürlerde, boğum eksplantlarında 0,50 mg/L Kinetin + 0.25 mg/L GA<sub>3</sub>'lı kültürlerde elde etmiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde aynı bitki türlerinde bile farklı hormonlar bitki üzerinde farklı etkiler gösterebilmektedir. Kök oluşturan eksplant oranı %11,17-83,33 arasında sıralanmıştır. En yüksek kök oluşumu (%83,33) BAP'ın en düşük oranda kullanıldığı ortamda (0,05 mg/L), en düşük kök oluşumu (%11,17) BAP'ın en yüksek oranda (1,25 mg/L) kullanıldığı kültür ortamlarında kaydedilmiştir.

Çoğaltım ortamlarında bitkilerden kök oluşturmaları nedeniyle ayrıca köklendirme çalışmaları yürütülmemiştir. Rejenere sürgünler üzerinde bulunan besin ortamı çeşme suyu ile dikkatlice uzaklaştırıldıktan sonra akvaryum ortamına aktarılmıştır. Dört hafta sonunda rejenere bitkilerin dış koşullara alıştırılması sağlanmıştır.

## **Sonuç ve Öneriler**

Son zamanlarda ekonomik olarak değerli bitkilerin çoklu üretimi için doku kültürü teknikleri yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, farklı BAP ve GA<sub>3</sub> kombinasyonlarını içeren kültür ortamında *R. rotundifolia*'nın *in vitro* hızlı ve çoklu üretimi başarıyla sağlanmıştır. En fazla eksplant başına sürgünler ve en uzun sürgünler 0,25 mg/L BAP ve 0,25 mg/L GA<sub>3</sub> kombinasyonunda elde edilmiştir. Bu rapor tıbbi bitki *R. rotundifolia*'nın doku kültürü koşullarında çoklu üretimine yardımcı olabilir ve böylece bu bitkiden değerli sekonder metabolitlerin fazlaca üretilmesine olanak sağlayabilir. Ayrıca doğal ortamlarından toplanmasının önüne geçilerek biyoçeşitliliğe katkı sağlayabilir. Bu çalışma sonuçları, tıbbi ve süs amaçlı kullanılan *R. rotundifolia*'nın büyük ölçekli üretimine yardımcı olabilir. Ayrıca bu bitki ile yürütülecek genetik mühendisliği çalışmalarına katkı yapabilir.

## **Teşekkür**

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 2130190 numaralı proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

## Kaynaklar

1. Bhowmik S, M. Saha, and B.K. Datta, Extended Distribution of *Rotala rotundifolia* (Buch.-Ham. ex Roxb.) Koehne (Lythraceae) from India. NeBIO, 2012. 3: p. 48-50.
2. Tan, Q.G., et al., Megastigmane-type Compounds from *Rotala rotundifolia*. Chinese Journal of Natural Medicines, 2009. 7: p. 187-189.
3. Ho, Y.L., et al., *In vitro* Antioxidant Properties and Total Phenolic Contents of Wetland Medicinal Plants in Taiwan. Botanical Studies, 2012. 53: p. 55-66.
4. Cirik, Ş., S. Cirik, ve M. Conk-Dalay, Su Bitkileri II (İçsu Bitkilerinin Biyolojisi, Ekolojisi, Yetiştirme Teknikleri). E.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No:61, 2011.p. 4-150
5. Sivanesan, I. et al., Micropropagation of *Cotoneaster wilsonii* Nakai-a Rare Endemic Ornamental Plant. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2011. 105: p. 55-63.
6. Joshi, P., and V. Dhawan, Axillary Multiplication of *Swertia chirayita* (Roxb. Ex Fleming) H. Karst., a Critically Endangered Medicinal Herb of Temperate Himalayas. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 2007. 43(6): p. 631-638.
7. Sivanesan, I., and B.R. Jeong, Direct Shoot Regeneration from Nodal Explants of *Sida cordifolia* Linn. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 2007. 43(5): p. 436-441.
8. Offord, C.A., and J.L. Tyler, *In vitro* Propagation of *Pimelea spicata* R. Br (Thymelaeaceae), an Endangered Species of the Sydney Region, Australia. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2009. 98(1): p. 19-23.
9. Gonçalves, S., L. Fernandes, and A. Romano, High-Frequency *In Vitro* Propagation of the Endangered Species *Tuberaria Major*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2010. 101(3): p. 359-363.
10. Murashige, T., and F. Skoog, A Revised Medium For Rapid Growth And Bioassays With Tobacco Tissue Cultures. *Physiological Plantarum*, 1962. 15: p. 473-497.
11. Snedecor, G.W., and W.G. Cochran, *Statistical Methods*. The Iowa State University Press, 1997. Iowa, USA.
12. Mishra, A.K., et. al., Factors Affecting the Efficiency of *In Vitro* Regeneration from Seedling-Derived Nodal Explants of *Nyctanthes arbor-tristis* L. and Evaluation of Genetic Fidelity. *Plant Biosystems*, 2019. p. 1-9.
13. Dogan, M., Multiple Shoot Regeneration Via Indirect Organogenesis from Shoot Tip and Nodal Meristem Explants of *Ceratophyllum demersum* L. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 2019. 29(2): p. 568-577.
14. Reddy, R., M. Nakhoda, and S. Shaik, Germination Studies And *In Vitro* Propagation of *Momordica balsamina* L. Using nodal explants and zygotic embryos. *South African Journal of Botany*, 2018. 115: p. 328-328.
15. Subbaiyan, B., M. Visveshwari, and V. Thangapandian, An Efficient Indirect Regeneration And Multiple Shoots Formation from Nodal Explant of *Ceropegia juncea* Roxb. *International Journal of Conservation Science*, 2017. 8(3): p. 529-536.
16. Warakagoda, P. S., S. Subasinghe, and M.T.K Gunasekare., *In vitro* Clonal Propagation of *Coscinium fenestratum* (Gertn.) Colebr.(Weniwel) Through Nodal Explants. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 2017. 45(2): p. 133-141.
17. Emsen, B. and M. Dogan, Evaluation of Antioxidant Activity of *In Vitro* Propagated Medicinal *Ceratophyllum demersum* L. Extracts. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 2018. 17(1): p. 23-33.
18. Dogan, M., *In Vitro* Shoot Regeneration of *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr. from Nodal and Internodal Explants. *Iğdır University Journal of the Institute of Science and Technology*, 2018. 8(3): p. 77-84.
19. Acemi, A., Comparative Analysis Of The Effects of Chitosan And Common Plant Growth Regulators on *In Vitro* Propagation of *Ipomoea purpurea* (L.) Roth from Nodal Explants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 2018. 54(5): p. 537-544.
20. Dogan, M., *In Vitro* Micropropagation from Nodal Explants of the Medicinal Plant *Lysimachia nummularia* L.. *KSU Journal of Agriculture and Nature*, 2018. 21(6): p. 875-881.
21. Enyew, M., and T. Feyissa, *In Vitro* Shoot Regeneration from Leaf Explants of *Echinops kebericho*: an Endangered Endemic Medicinal Plant. *Plant Biosystems*, 2019. 153(2): p. 199-204.

22. Tan, S.N., C.S. Tee, and H.L. Wong, Multiple Shoot Bud Induction and Plant Regeneration Studies of *Pongamia pinnata*. *Plant Biotechnology*, 2018. 35: p. 325-334.
23. Varis, S., K., Klimaszevska, and T. Aronen, Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Primordial Shoot Explants of *Picea abies* (L.) H. Karst. *Somatic Trees. Frontiers in plant science*, 2018. 9: 1551.
24. Dogan, M., *In Vitro* Rapid Propagation Of An Aquatic Plant *Pogostemon erectus* (Dalzell) Kuntze. *Anatolian Journal of Botany*, 2019. 3(1): p. 1-6.
25. Dogan, M., Multiple Shoot Regeneration from Shoot Tip and Nodal Explants of *Rotala rotundifolia* (Buch-Ham. ex Roxb) Koehne. *Anatolian Journal of Botany*, 2017. 1(1,2): p. 4-8.