

Farklı ışık yayan diyotlar (LED) altında tıbbi sucul bitki *Lysimachia nummularia* L.'nin boğum eksplantlarından çoklu sürgün rejenerasyonu

Muhammet Dogan *^{ID}

*Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Kamil Özdağ Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Karaman, Türkiye

*Corresponding author : mtdogan1@gmail.com
Orcid No: 0000-0003-3138-5903

Received : 12/05/2019
Accepted : 05/06/2019

Özet: Bitki büyüme ve gelişimi için önemli avantajlara sahip ışık yayan diyotlar (LED) doku kültürü çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır. LED'lerin ışık renkleri bitkiler üzerinde farklı etkiler göstermektedir. Bu çalışmada, beyaz (B), kırmızı (K), mavi (M) LED ışıkların *Lysimachia nummularia* L.'nin çoklu sürgün rejenerasyonu üzerine tek ve kombine etkileri incelenmiştir. Boğum eksplantları 0,10 mg/L indol butirik asit (IBA) ve 0,20-0,80 mg/L Thidiazuron (TDZ) eklenmiş Murashige ve Skoog (MS) besin ortamında sekiz hafta süre ile kültüre edilmiştir. Her üç hormon uygulamasında %100 sürgün rejenerasyon frekansları 2B:1K:1M ve 1B:1K:1M LED ışıkları altında kaydedilmiştir. En fazla sürgün sayısı 1B:2K:1M LED ışıklar altında sırasıyla 17,47, 16,16 ve 13,46 adet olarak 0,40 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA, 0,20 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA ve 0,80 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA eklenmiş MS besin ortamında belirlenmiştir. En az sayıda sürgünler ise mavi LED altında kaydedilmiştir. En uzun sürgünler tüm ortamlarda 1B:1K:2M LED ışık altındaki eksplantlardan elde edilmiştir. TDZ'nin kültür ortamında fazla kullanılması sürgün uzunluğunu olumsuz etkilemiştir. Çoğaltım denemelerinde yoğun kök oluştuğundan dolayı ayrıca köklendirme yapılmamıştır. Kültür ortamında üretilen bitkiler dış koşullara başarıyla alıştırmıştır. Sonuç olarak çalışma, LED ışıkların *L. nummularia*'nin üretimindeki etkinliğini ve floresan ışıklara göre üstünlüğünü göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Doku kültürü, Işık etkisi, LED, Shoot rejenerasyonu

Multiple shoot regeneration from nodal explants of medicinal aquatic plant Lysimachia nummularia L. under different light emitting diodes (LEDs)

Abstract: Light emitting diodes (LEDs), which have important advantages for plant growth and development, have been used in tissue culture studies. The light colours of LEDs show different effects on plants. In this study, single and combined effects of white (W), red (R), blue (B) LED lights on multiple shoot regeneration of *Lysimachia nummularia* L. were investigated. Nodal explants were cultured for eight weeks in a Murashige and Skoog (MS) nutrient medium supplemented with 0.10 mg/L indole butyric acid (IBA) and 0.20-0.80 mg/L Thidiazuron (TDZ). 100% shoot regeneration frequencies in all three hormone applications were recorded under 2W:1R: 1B and 1W: 1R: 1B LED lights. The maximum number of shoots was determined under 1W:2R:1B LED lights as 17.47, 16.16 and 13.46 shoots/explant in the MS nutrient medium added 0.40 mg/L TDZ + 0.10 mg/L IBA, 0.20 mg/L TDZ + 0.10 mg/L IBA and 0.80 mg/L TDZ + 0.10 mg/L IBA, respectively. The minimum number of shoots was recorded under blue LED. The longest shoot was obtained from explants under 1W:1R:2B LED light in all environments. Excessive use of TDZ in the culture medium adversely affected shoot length. Since there was a dense root in replication experiments, no rooting was performed. Plants produced in the culture environment have been successfully adapted to external conditions. As a result, the study showed the effectiveness of the LED lights on the production of *L. nummularia* and their superiority over the fluorescent lights.

Keywords: Tissue culture, Light effect, LED, Shoot regeneration

© EJBCS. All rights reserved.

1. Giriş

Işık yayan diyotlar (LED) ile ilk bitki üretimi çalışmalarının çoğu, NASA'ya bağlı araştırmacılar tarafından bitki bazı rejeneratif yaşam destek sistemlerinin geliştirilmesine hazırlık olarak yürütülmüştür. Günümüzde LED'ler, bahçecilik ve seracılıkta kullanılan gaz halindeki deşarj tipi lambalardan farklı bir teknolojiyi temsil etmektedir. Spektral kompozisyon kontrolü ve az radyant ısıyla yüksek

ışık çıkışı gibi özellikleri ile LED'ler, bahçecilik ve seracılıkta bitki üretimi için en önemli gelişmelerden biri haline getirmiştir (Morrow, 2008).

LED'ler, floresan ve akkor lambalardan elektrik enerjisi başına daha fazla ışık üretir. Herhangi bir lambadan çok daha sağlamdır ve floresan lambalar gibi tehlikeli madde içermeyen katı hal cihazlardır. LED'ler akkor ve floresan

lambalardan çok daha uzun bir ömre sahiptir (Bourget, 2008).

LED tabanlı aydınlatma sistemleri, özellikle bahçecilikte birçok avanta sağlamaktadır. Birincisi, geniş spektrumlu kaynaklarla kolayca yapılamayan bir aydınlatma sisteminin spektral çıktısını kontrol etme yeteneğidir. LED'ler, belirli ışık renklerinin yanı sıra, istenen yönde yüksek düzeyde ışık yayabilir. Bitkisel üretimde kullanılan diğer ışık kaynaklarında istenmeyen renkler filtrelenerek boşa enerji harcar. LED'lerde saf renkli ışıkları filtrelenmeden üretilir (Dănilă ve Lucache, 2013; Dougher ve Bugbee, 2001). Spektral çıktının dinamik olarak kontrol edilebilmesi, bitki morfolojisini etkilemek için de kullanılabilir (Heo ve ark., 2002).

Doku kültürü teknikleri bitki üretimi için önemli bir alternatiftir. Son yıllarda bu tekniği kullanarak *Ceratophyllum demersum* L. (Emsen ve Dogan, 2018; Dogan, 2019a), *Plumbago zeylanica* L. (Sharma ve Agrawal, 2018), *Bacopa monnieri* L. Pennell (Dogan ve Emsen, 2018) *Rotala rotundifolia* (Buch-Ham. ex Roxb) Koehne (Dogan, 2019b), *Fagraea fragrans* Roxb (Fatonah ve Isda, 2018) ve *Pogostemon erectus* (Dalzell) Kuntze (Dogan, 2019c) gibi birçok bitkinin etkili ve hızlı çoğaltımı başarılmıştır. Bu çalışmada, doku kültürü koşullarında farklı LED ışıkları altında *Lysimachia nummularia* L.'nin üretimi hedeflenmiştir. Bu bağlamda, beyaz, kırmızı ve mavi LED ışıkların *L. nummularia*'nın çoklu sürgün rejenerasyonu üzerine tek ve birlikte etkileri incelenmiştir.

2. Materyal ve Metot

Bitki materyali olarak *L. nummularia* kullanılmıştır. Bu bitkiler Konya-Türkiye'deki akvaryumculardan temin edilmiştir. Bitkiler, yüzey sterilizasyonundan önce akan musluk suyu altında bekletilmiştir. *L. nummularia*'nın yüzey sterilizasyonu, 10 dk boyunca ticari çamaşır suyu (NaOCI) ile işlemden geçirilerek elde edilmiştir. 5'er dk x 3 defa durulamadından sonra, boğum eksplantları izole edilmiştir. Eksplantlar daha sonra bitki büyüme düzenleyici içermeyen Murashige ve Skoog (MS) ortama aktarılmıştır (Murashige ve Skoog, 1962). Deneylerde, bu kültür ortamında geliştirilen dört haftalık boğum eksplantları kullanılmıştır.

Doku kültürü çalışmalarında MS mineral tuzu ve vitaminleri içeren temel besin ortamı ile %3 sukroz (Duchefa) ve % 0,65 agar (Duchefa) kullanılmıştır. Ortam hazırlığında ultra saf su kullanılmıştır. MS besin ortamına 0,10 mg/L indol butirik asit (IBA) ve 0,20, 0,40 ve 0,80 mg/L Thidiazuron (TDZ) ilave edilmiştir. Besiyerinin pH'ı, 1N NaOH ve 1N HCl kullanılarak 5.7 ± 0.1 'e ayarlanmıştır. 1.2 atmosferik basınç altında ve 120°C'de 20 dk süre ile otoklavda sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

L. nummularia'nın *in vitro* rejenerasyon için boğum eksplantları, yedi farklı LED ve beyaz floresan ışığı altında sekiz hafta boyunca kültüre edilmiştir. Kullanılan LED ışıklar, beyaz (B), kırmızı (K), mavi (M) ve bunların farklı oranlardaki kombinasyonlarıdır (Tablo 1). Ek olarak, kontrol amacıyla beyaz floresan ışık kullanılmıştır. LED ışık odasına yerleştirilen kültürlerin ışık koşulları 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık olarak belirlenmiştir. Denemelerde, tüm ışık yoğunlukları 1500 lux'de (24°C) sabit tutulmuştur. Bu çalışmalar çoklu sürgün rejenerasyonu için en etkili ışık ortamını belirlemeyi amaçlamıştır.

Tablo 1. *In vitro* sürgün rejenerasyonu için kullanılan farklı ışık uygulamaları

Işık uygulamaları
2 Beyaz LED :1 Kırmızı LED :1 Mavi LED (2B:1K:1M)
1 Beyaz LED :2 Kırmızı LED :1 Mavi LED (1B:2K:1M)
1 Beyaz LED :1 Kırmızı LED :2 Mavi LED (1B:1K:2M)
1 Beyaz LED :1 Kırmızı LED :1 Mavi LED (1B:1K:1M)
Beyaz LED
Kırmızı LED
Mavi LED
Beyaz floresan ışık

Çoğaltım ortamlarında sürgünlerden çok sayıda kök çıkması nedeniyle ayrıca köklendirme çalışması uygulanmamıştır. Bitkiler daha sonra çevre şartlarına alışmak için cam akvaryuma transfer edilmiştir. Akvaryum zeminine yüksekliği 4-5 cm olan nehir kumu yerleştirilmiştir. Akvaryumun içine 16 saat ışık verilmiş (1500 lüks) ve sıcaklık 24°C ayarlanmıştır. Denemeler 6 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. SPSS 16 for Windows programı ile veriler analiz edilmiştir. Post Hoc analizleri için Duncan testinden yararlanılmıştır. Yüzde veriler arksin dönüşümüne çevrilmiştir (Snedecor ve Cochran, 1997).

3. Bulgular ve Tartışma

Çoklu bitki üretimi için *L. nummularia*'nın boğum eksplantları 0,10 mg/L IBA ve 0,20-0,80 mg/L TDZ ilave edilmiş kültür ortamında, farklı ışıklar altında kültüre edilmiştir. İki hafta sonunda ışık ortamlarında sürgün uçları belirlemeye başlamıştır. Sekiz hafta sonunda deneme sonuçlandırılmış ve sürgün rejenerasyon değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Bitki doku kültürü çalışmalarında eksplant çeşidi oldukça önemlidir. Boğum eksplantları doku kültürü denemelerinde birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır (Venkatachalam ve ark., 2017; Rameshkumar ve ark., 2017; Acemi ve ark., 2018; Dogan 2018a, 2018b; Najar ve ark., 2018).

Farklı LED ışıkları ve beyaz floresan ışık ortamları ile yapılan çalışmada sürgün rejenerasyon oranı 0,20 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA içeren kültürlerde %72,22-100, 0,40 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA içeren kültürlerde %61,11-100 ve 0,80 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA içeren kültürlerde %66,66-100 arasında değişmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Farklı ışık ortamlarının *L. nummularia* 'nın boğum eksplantlarından sürgün rejenerasyon oranına etkisi

Işık Ortamları	Büyüme Düzenleyicileri		
	0,20 mg/L TDZ	0,40 mg/L TDZ	0,80 mg/L TDZ
	+ 0,10 mg/L IBA**	+ 0,10 mg/L IBA*	+ 0,10 mg/L IBA**
2B:1K:1M	100,00 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
1B:2K:1M	100,00 ^a	94,44 ^{ab}	94,44 ^a
1B:1K:2M	100,00 ^a	94,44 ^{ab}	83,33 ^{ab}
1B:1K:1M	100,00 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a
Beyaz LED	77,77 ^{ab}	88,89 ^{ab}	94,44 ^a
Kırmızı LED	72,22 ^b	72,22 ^{bc}	66,66 ^b
Mavi LED	77,77 ^{ab}	72,22 ^{bc}	77,77 ^{ab}
Beyaz Işık Flouresan	83,33 ^{ab}	61,11 ^c	83,33 ^{ab}

**Aynı sütunda farklı harfler $p < 0,01$ seviyesinde anlamlıdır.

* Aynı sütunda farklı harfler $p < 0,05$ seviyesinde anlamlıdır.

B: Beyaz LED ışık, K: Kırmızı LED ışık, M: Mavi LED ışık

0,20 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA içeren MS ortamında beyaz, kırmızı ve mavi LED ışık kombinasyonlarında %100 sürgün rejenerasyonu elde edilirken, 0,40 ve 0,80 mg/L TDZ + 0,10 IBA içeren MS ortamında ise 2B:1K:1M ve 1B:1K:1M ışık ortamlarında %100,00 sürgün rejenerasyonu elde edilmiştir. En düşük sürgün rejenerasyon oranı 0,20 ve

0,80 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA içeren kültürlerde kırmızı LED ışık altındaki kültür ortamlarında belirlenirken, 0,80 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA eklenmiş kültürlerde beyaz flouresan ışık altında belirlenmiştir. Genel olarak beyaz, kırmızı ve mavi LED ışıkların birlikte verildiği eksplantlarda sürgün rejenerasyon oranı yüksek çıkmıştır.

Tablo 3. Farklı ışık ortamlarının *L. nummularia* 'nın boğum eksplantlarından eksplant başına sürgün sayısına etkisi

Işık Ortamları	Büyüme Düzenleyicileri		
	0,20 mg/L TDZ	0,40 mg/L TDZ	0,80 mg/L TDZ
	+ 0,10 mg/L IBA**	+ 0,10 mg/L IBA**	+ 0,10 mg/L IBA*
2B:1K:1M	13,6 ^{6ab}	16,05 ^{ab}	11,77 ^{ab}
1B:2K:1M	16,16 ^a	17,47 ^a	13,46 ^a
1B:1K:2M	11,27 ^{bc}	12,28 ^{7abc}	8,35 ^{bc}
1B:1K:1M	12,27 ^{ab}	14,77 ^{ab}	11,16 ^{ab}
Beyaz LED	11,08 ^{bc}	14,39 ^{ab}	9,47 ^{abc}
Kırmızı LED	8,05 ^{cd}	7,33 ^c	7,11 ^{bc}
Mavi LED	5,66 ^d	6,19 ^c	5,33 ^c
Beyaz Işık Flouresan	8,30 ^{cd}	10,19 ^{bc}	7,64 ^{bc}

**Aynı sütunda farklı harfler $p < 0,01$ seviyesinde anlamlıdır.

* Aynı sütunda farklı harfler $p < 0,05$ seviyesinde anlamlıdır.

B: Beyaz LED ışık, K: Kırmızı LED ışık, M: Mavi LED ışık

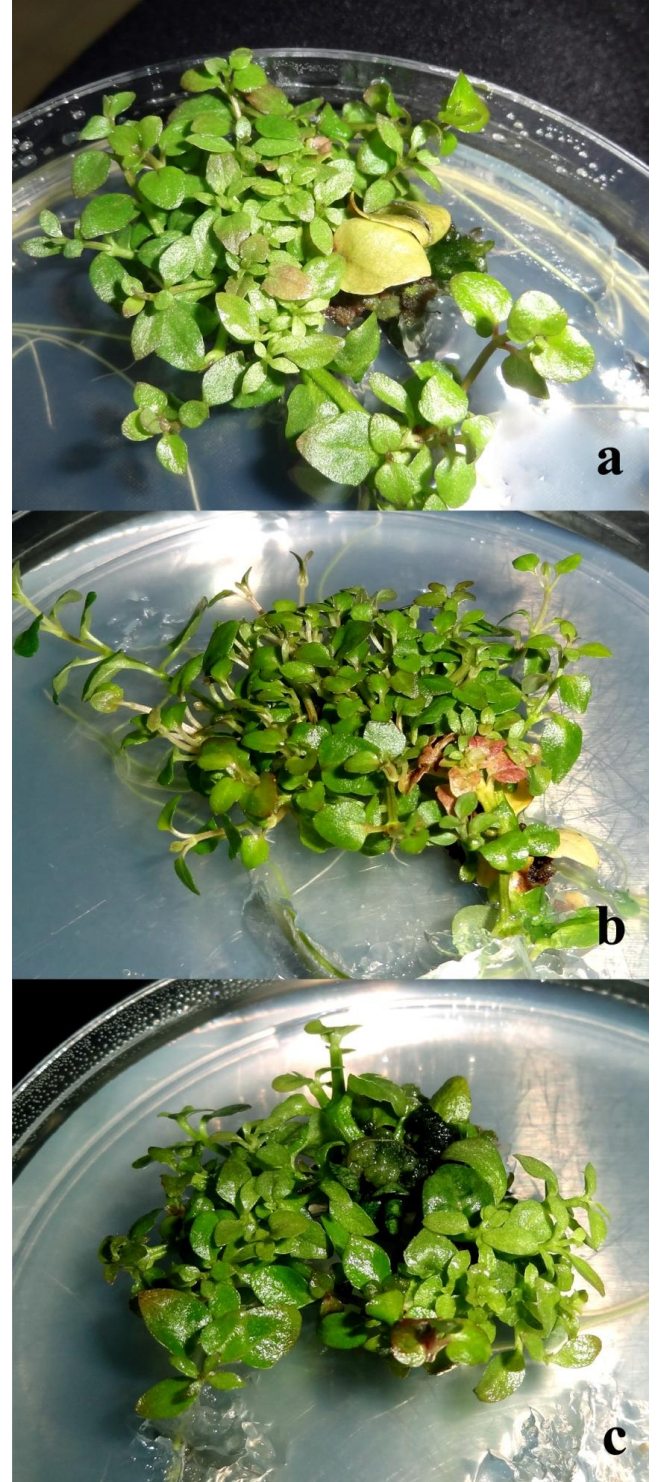
Boğum eksplantlarının kullanıldığı kültür ortamlarında eksplant başına sürgün sayısı 0,20, 0,40, 0,80 mg/L TDZ ve 0,10 mg/L IBA eklenmiş kültürlerde sırasıyla 5,66-16,16, 6,19-17,47 ve 5,33-13,46 adet olarak belirlenmiştir (Tablo 3). En fazla sürgün sayısı kombinasyon şeklinde kullanılan LED ışıklar altında ve kırmızı LED'in mavi ve beyaz LED ışık oranına göre iki kat daha yoğun olduğu ışık altında (1B:2K:1M) sırasıyla 17,47 adet ile 0,40 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA eklenmiş MS besin ortamında (Şekil 1a), 16,16 adet ile 0,20 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA eklenmiş MS besin ortamında (Şekil 1b) ve 13,46 adet ile 0,80 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA eklenmiş MS besin ortamında (Şekil 1c) elde edilmiştir. Benzer şekilde, LED ışıkları kullanılarak doku kültürü koşullarında çoklu sürgünler daha önce *Lysionotus pauciflorus* maxim. (Lu ve ark., 2013), *Lactuca sativa* L. var. capitata (Lin ve ark., 2013) ve *Curculigo orchioides* Gaertn (Gupta ve Sahoo, 2015) bitkilerinde de bildirilmiştir.

En az sürgün sayısı ise mavi LED ışık altında sırasıyla 5,33, 5,66 ve 6,19 adet olarak sırasıyla 0,80 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA'lı, 0,20 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA'lı ve 0,40 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA'lı kültürlerde kaydedilmiştir. Genel olarak sürgün sayısı bakımından kombinasyon şeklinde kullanılan LED ışıklar, tek olarak kullanılan LED ışıklara kıyasla daha etkili bulunmuştur.

Kültür ortamlarında sürgün uzunlukları 0,20, 0,40 ve 0,80 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA içeren MS ortamında sırasıyla 0,84-1,76 cm, 0,68-1,49 cm ve 0,61-1,37 cm arasında kaydedilmiştir (Tablo 4). En uzun sürgünler tüm ortamlarda 1B:1K:2M LED ışık altında ardında ise 1B:1K:1M LED ışık altındaki eksplantlardan elde edilmiştir. Tüm kültür ortamlarında en uzun sürgünler sırasıyla TDZ'nin 0,20, 0,40 ve 0,80 mg/L kullanıldığı besin ortamında elde edilmiştir. Kullanılan TDZ konsantrasyonu arttıkça sürgün uzunluğu kısalmıştır. Bu bulgular ile benzer şekilde TDZ'nin sürgün uzunluğu üzerine olumsuz etkisi daha önce Debnath (2005), Ledbetter ve Preece (2004) ve Tomson ve ark. (2004) tarafından da bildirilmiştir.

En kısa sürgünler ise her üç hormon oranında da mavi LED altındaki eksplantlardan tespit edilmiştir. Sonuç olarak, *L. nummularia*'nın boğum eksplantından en uzun sürgünler 0,20 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA içeren MS ortamında ve 1B:1K:2M LED ışık ortamındaki elde edilmiştir. Tekli LED ışıklar genel kombinasyon şeklinde kullanılan LED'lere göre daha düşük sonuçlar vermiştir.

In vitro üretim denemelerinde sürgünlerden çok sayıda kök oluşmuştur. Bu nedenle ayrıca köklendirme çalışması yapılmamıştır. Bitkiler daha sonra dış koşullara alışmak için akvaryum ortamına aktarılmış ve dört hafta sonunda bitkilerin alıştırılması başarıyla sağlanmıştır.



Şekil 1. 1B:2K:1M LED ışık ortamı altında a) 0,20 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA b) 0,40 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA ve c) 0,80 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA eklenmiş kültür ortamında *L. nummularia*'nın boğum eksplantlarından sürgün rejenerasyonu

Tablo 4. Farklı ışık ortamlarının *L. nummularia* 'nın boğum eksplantlarından sürgün uzunluğuna etkisi

Işık Ortamları	Büyüme Düzenleyicileri		
	0,20 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA	0,40 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA	0,80 mg/L TDZ + 0,10 mg/L IBA
2B:1K:1M	1,24 ^{bc}	1,09 ^{bc}	0,84 ^{cde}
1B:2K:1M	1,28 ^{bc}	1,17 ^b	0,97 ^{bcd}
1B:1K:2M	1,76 ^a	1,49 ^a	1,37 ^a
1B:1K:1M	1,46 ^{ab}	1,34 ^{ab}	1,12 ^b
Beyaz LED	1,15 ^{bcd}	1,11 ^{bc}	1,04 ^{bc}
Kırmızı LED	0,93 ^{cd}	0,85 ^{cd}	0,76 ^{def}
Mavi LED	0,84 ^d	0,68 ^d	0,61 ^f
Beyaz Işık Flouresan	0,91 ^{cd}	0,74 ^d	0,65 ^{ef}

** Aynı sütunda farklı harfler $p < 0,01$ seviyesinde anlamlıdır.

* Aynı sütunda farklı harfler $p < 0,05$ seviyesinde anlamlıdır.

B: Beyaz LED ışık, K: Kırmızı LED ışık, M: Mavi LED ışık

Sonuç

Doku kültürü ve bahçecilik alanlarında LED aydınlatmalar parlak bir geleceğe sahiptir. Enerji verimliliği, uzun ömür ve uygulama esnekliği, LED'leri gelecekteki tarımsal aydınlatma sistemleri için doğal bir seçim haline getirmektedir. Bu bağlamda, beyaz, kırmızı ve mavi LED ışıkların tekli ve kombinasyon halleri *L. nummularia* 'nın *in vitro* üretimi için test edilmiş ve çoklu sürgünler başarıyla elde edilmiştir. En etkili LED ışık 1B:2K:1M LED'ler olarak belirlenmiştir. Genel olarak kombinasyon halinde kullanılan LED ışıklar, tekli LED ışıklara göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Bu çalışma sonuçları itibariyle LED ışıkların flouresan ışıklara göre daha etkili olduğu öne sürülebilir.

Teşekkür

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir (Proje no:2130190).

Kaynaklar

Acemi A, Bayrak B, Çakır M, Demiryürek E, Gün E, El Gueddari NE, Özen F 2018. 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 Cell Dev Biol Plant* 54(5): 537-544.

Bourget CM 2008. An introduction to light-emitting diodes. *HortScience* 43(7): 1944-1946.

Dănilă E, Lucache DD 2013. Cost effectiveness of growing plant lighting system. *Journal of Electrical Engineering* 13(4): 224-229.

Debnath SC 2005. Micropropagation of lingonberry: influence of genotype, explant orientation, and overcoming TDZ-induced inhibition of shoot elongation using zeatin. *HortScience* 40(1): 185-188.

Dogan M 2018a. *In vitro* shoot regeneration of *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr. from nodal and internodal explants. *Iğdır Univ J Inst Sci & Tech* 8: 77-84.

Dogan M 2019a. Multiple shoot regeneration via indirect organogenesis from shoot tip and nodal meristem explants of *Ceratophyllum demersum* L. *J Anim Plant Sci* 29: 568-577.

Dogan M 2019b. Callus formation from full leaf and leaf parts of *Rotala rotundifolia* (Buch-Ham. ex Roxb) Koehne. *Acta Biologica Turcica* 32: 78-83.

Dogan M 2019c. *In vitro* rapid propagation of an aquatic plant *Pogostemon erectus* (Dalzell) Kuntze. *Ant J Bot* 3: 1-6.

Dogan M 2018b. *In vitro* micropropagation from nodal explants of the medicinal plant *Lysimachia nummularia* L.. *KSU J Agric Nat* 21(6): 875-881.

Dogan M, Emsen B 2018. Anti-cytotoxic-genotoxic influences of *in vitro* propagated *Bacopa monnieri* L. Pennell in cultured human lymphocytes. *Eurasian J Bio Chem Sci* 1(2): 48-53.

Dougher T, Bugbee B 2001. Differences in the response of wheat, soybean and lettuce to reduced blue radiation. *Photochem Photobiol* 73: 199- 207.

Emsen B, Dogan M 2018. Evaluation of antioxidant activity of *in vitro* propagated medicinal *Ceratophyllum demersum* L. extracts. *Acta Sci Pol-Hortoru* 17: 23-33.

Fatonah S, Isda MN 2018. *In vitro* shoot regeneration of tembesu (*Fagraea fragrans* Roxb.) from seed explants

- on different concentrations of sucrose and honey. *Biosci Res* 15(2): 655-662.
- Gupta SD, Sahoo TK 2015. Light emitting diode (LED)-induced alteration of oxidative events during *in vitro* shoot organogenesis of *Curculigo orchioides* Gaertn. *Acta Physiol Plant* 37(11): 233.
- Heo J, Lee C, Chakrabarty D, Paek K 2002. Growth responses of marigold and salvia bedding plants as affected by monochromic or mixture radiation provided by a light-emitting diode (LED). *Plant Growth Regulat* 38: 225-230.
- Ledbetter DI, Preece JE 200). Thidiazuron stimulates adventitious shoot production from *Hydrangea quercifolia* Bartr. leaf explants. *Sci Hort* 101(1-2): 121-126.
- Lin KH, Huang MY, Huang WD, Hsu MH, Yang ZW, Yang CM. 2013. The effects of red, blue, and white light-emitting diodes on the growth, development, and edible quality of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L. var. capitata), *Sci Hort* 150: 86-91.
- Lu YX, Godo T, Fujiwara K, Guan KY, Mii M 2013. Effects of nitrogen source and wavelength of led-light on organogenesis from leaf and shoot tip cultures in *Lysionotus pauciflorus* maxim. *Propag Ornam Plants* 13: 174-180.
- Morrow RC 2008. LED lighting in horticulture. *HortScience* 43(7): 1947-1950.
- Murashige T, Skoog F 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497.
- Najar RA, Fayaz M, Bhat MH, Bashir M, Kumar A, Jain AK 2018. An efficient micropropagation protocol for direct organogenesis from nodal explants of medicinal climber, *Tylophora indica*. *Biosci Biotech Res Comm* 11(1): 144-153.
- Rameshkumar R, Largia MJV, Satish L, Shilpha J, Ramesh M 2017. *In vitro* mass propagation and conservation of *Nilgiranthus ciliatus* through nodal explants: A globally endangered, high trade medicinal plant of Western Ghats. *Plant Biosyst* 151(2): 204-211.
- Sharma U, Agrawal V 2018. *In vitro* shoot regeneration and enhanced synthesis of plumbagin in root callus of *Plumbago zeylanica* L.-an important medicinal herb. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 54(4): 423-435.
- Snedecor GW, Cochran WG 1997. *Statistical methods*. Iowa, USA: The Iowa State University Press, USA.
- Tomsone S, Gertner D, Novikova D 2004. The influence of thidiazuron on shoot regeneration and proliferation of rhododendrons *in vitro*. *Acta Univ Latv* 676: 239-242.
- Venkatachalam P, Jinu U, Gomathi M, Mahendran D, Ahmad N, Geetha N, Sahi SV 2017. Role of silver nitrate in plant regeneration from cotyledonary nodal segment explants of *Prosopis cineraria* (L.) Druce.: A recalcitrant medicinal leguminous tree. *Biocatal Agric Biotechnol* 12: 286-291.