

Eşme Ayvasının Doku Kültüründe Farklı Karbonhidrat Formlarının Sürgün Çoğalması Üzerine Etkileri

Melekber SÜLÜŞOĞLU DURUL^{1*}, İlknur ESKİMEZ², Kerem MERTOĞLU³, Mehmet POLAT⁴, Deniz GÜLKAYA ARITÜRK⁵

¹Doç. Dr., Kocaeli Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, İzmit; ORCID: 0000-0002-6546-5891

²Ziraat Yük. Müh., Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv., Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Böl., Isparta; ORCID: 0000-0003-4443-505X

³Dr. Öğr. Üyesi, Uşak Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Uşak; ORCID: 0000-0002-0490-9073

⁴Doç. Dr., Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Böl., Isparta; ORCID: 0000-0002-2415-4229

⁵Ziraat Yük. Müh., Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fak., Bahçe Bitkileri Böl., Isparta; ORCID: 0000-0001-6266-4396

ÖZ

Ayva üretiminde ilk sıralarda olduğumuz bir meyvedir ve Eşme ayvası yetiştirilen çeşitler arasında öne çıkmaktadır. Ayvada ıslah çalışmaları önemlidir. Doku kültürü ıslah çalışmalarında birçok kolaylığı sunmakta, ıslah süresini kısaltabilmektedir. Doku kültüründe başarı da uygun materyal, besin ortamının seçilmesi, uygun kültür koşullarının ve alıştırma ortamının belirlenmesi ile mümkün olabilmektedir. Bu çalışmada eşme ayvası çeşidinin doku kültürü ile üretiminde çoğaltma aşamasında kullanılan farklı şeker çeşitlerinin etkileri incelenmiştir. Eşme ayvasının in vitro çoğaltılan sürgünleri çoğaltma aşamasında 2 mg.l⁻¹ BA+0,25 mg.l⁻¹ GA₃ içeren MS besin ortamında kültüre alınmış, ortama 7 g.l⁻¹ agar ilave edilmiştir. Şeker kaynağı olarak sakkaroz, fruktoz, glikoz ve D-sorbitolün 30, 50 veya 70 g.l⁻¹ dozları ortama eklenmiştir. Çalışma sonunda sürgünlerin yaşama oranına kullanılan şekerlerin ve dozlarının etkileri önemli bulunmazken, sürgün çoğalması kullanılan şeker kaynağından etkilenmiştir. Sürgünlerin çoğalma oranı şeker çeşitlerinin 30 g.l⁻¹ dozunda yüksek bulunmuştur. En yüksek sürgün çoğalması 30 g.l⁻¹ fruktoz (4,67 adet) meydana gelirken, bunu 3,22 adet ile 50 g.l⁻¹ sakkaroz takip etmiştir. Sürgün boyları ise 70 g.l⁻¹ glikozda daha yüksek bulunmuştur. Kültürlerde kallus oluşumu ve vitrifikasyon görülmüştür. Sakkarozun dozunun artması vitrifikasyonu teşvik etmiş, fruktoz içeren ortamlarda sürgünlerde daha az vitrifikasyon oluşmuştur. Elde edilen sonuçlar farklı şekerlerin sürgün kalitesi üzerine etkili olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Eşme ayvası, doku kültürü, proliferasyon, karbonhidrat

Effects of Different Carbohydrate Forms on Shoot Proliferation in Tissue Culture of Quince ‘Eşme’

ABSTRACT

Turkey takes the first place in quince production in the world and Eşme cultivar is one of the most grown quince cultivars. Breeding studies need to improve for new quince cultivars. Tissue culture serve as a good tool by shortened the breeding process and offers many conveniences in breeding studies. The success of tissue culture depends on choosing the appropriate material, suitable nutrient medium, and needs to determine the appropriate culture conditions and acclimation environment. In the study presented here, the effects of different carbohydrate types were investigated in the shoot proliferation culture of Quince cultivar ‘Eşme’. Micro shoots of Eşme cultivar were cultured in MS nutrient medium containing 2 mg.l⁻¹ BA+0,25 mg.l⁻¹ GA₃ and 7 g.l⁻¹ agar was added into the medium. One of 30, 50 or 70 g.l⁻¹ of sucrose, fructose, glucose and D-sorbitol were added as carbohydrate sources. While the effects of the sugars and their doses were not made a significant effect on the survival rate of the shoots, shoot proliferation was affected by the carbohydrate type. The shoot proliferation rates increased at 30 g.l⁻¹ dose of each sugar. 30 g.l⁻¹ fructose gave the highest shoot proliferation (4,67 units), followed by 50 g.l⁻¹ sucrose with 3,22 units. Shoot lengths increased at 70 g.l⁻¹ glucose. Callus formation and vitrification were observed during the cultures. Vitrification rates were increased by the increasing doses of sucrose while less vitrification rates were occurred in shoots in environments containing fructose. The results clearly show that different carbohydrates affected micro shoot proliferation rates and quality.

Keywords: Eşme quince, tissue culture, proliferation, carbohydrate

GİRİŞ

Ayva (*Cydonia oblongo* Miller.) Rosales takımının Rosaceae familyasının Pomoideae alt

familyasının Cydonia cinsine ait bir meyvedir ve bu cins içindeki tek tür olma özelliğine sahiptir [1]. Anavatanı İran’dan Kuzey Kafkasya, Hazar Denizi kıyıları ve Kuzey Anadolu’ya kadar uzanan bölgedir.

*Sorumlu yazar / Corresponding author: meleksl@kocaeli.edu.tr

İlk olarak Mezopotamya’da kültüre alınmış ve buradan Orta ve Doğu Avrupa’ya yayılmıştır [2]. Dünyada önemli ayva yetiştiriciliği yapan ülkeler arasında ilk sıralarda Türkiye, Çin, İran, Fas ve Özbekistan yer almaktadır. 2022 yılı verilerine göre Türkiye 192012 ton üretim miktarıyla en fazla üretim yapan ülkedir [3]. Türkiye’de ayva üretiminde toplam üretimin %76.44’ü Marmara Bölgesi’nden sağlanmaktadır. Kocaeli’nde ise 2022 yılı verilerine göre 3614 ton üretim gerçekleşmiştir [4]. Bölge içerisinde ayva yetiştiriciliği daha çok Sapanca Gölünün çevresinde, Kartepe İlçesinde, adı ayva ile özdeşleşen Eşme ve Uzuntarla bölgesinde Sapanca gölüne yakın arazilerde yapılmaktadır.

Ayva meyvesi kalsiyum ve C vitamini bakımından zengin [5], antioksidan özelliği yüksek bir meyve olarak sağlık açısından faydalıdır [6]. Kanser hücrelerinin çoğalmasını durdurucu etkisi bulunmaktadır [7]. Meyvesi asidik, buruk tada sahip ve sert dokulu olması nedeniyle taze meyve olarak çok fazla talep görmemektedir. Bu nedenle işlenmiş olarak reçel, meyveli tatlı, marmelat olarak tüketimi yaygındır [8]. Ayva sıcak, kurak iklimlere adaptasyonu yüksek olan bir meyve türüdür [9]. Ayva yetiştiriciliği fazla zorlu olmayan, hasadı özen gerektiren, depolama açısından dayanıklı bir meyvedir. Son yıllarda pazarda iyi fiyat bulması, üreticilerin kapama ayva bahçeleri kurmalarını teşvik etmiştir [10]. İhracatının gelişmesi Türkiye’de ayvanın değerini artırmış, bunun sonucunda yetiştiricilerin daha fazla dikkatini çekmeye başlamıştır [11].

Meyve yetiştiriciliğinde ıslah çalışmalarının ekonomik değeri yüksek türlere odaklanması, ayva gibi bazı meyve türlerinin ihmal edilmesine ve tüketicilerin farklı lezzetlerden uzak bırakılmasına yol açmaktadır. Yabani ayva popülasyonlarından seçilen verimli ve kaliteli ayvalar bugünkü çeşitlerin kaynağını oluşturmuştur [12, 13]. Ayvanın kendine verimli bir tür olması tek çeşit ile ekonomik getirisi yüksek kapama bahçelerin kurulmasına izin vermektedir. Vejetatif olarak çelik, dip sürgünü gibi materyallerle çoğaltılabildiğinden genetik çeşitlilik daha azdır. Yine tüketiminin düşük olması da çeşit sayısının az olmasında bir etkendir. Ayva yetiştiriciliğinde yeni çeşitlerin ıslah edilmesi yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılması için önemlidir. Doku kültürü ıslah çalışmalarında farklı kriterlerin incelenmesi açısından büyük kolaylıklar sunan, bitkilerin kısa sürede çoğaltımı ile sonuç alınabilen bir tekniktir. Ayvanın giderek artan ekonomik değeri göz önüne alındığında, hızlı ve ekonomik çoğaltımı önem kazanmaktadır.

Eşme ayvası ekonomik değeri yüksek bir çeşittir. Gerek ıslah çalışmalarında değerlendirecek

materyalin elde edilmesi, gerekse çeşidin çoğaltılmasının geliştirilmesi bakımından uygun besin ortamı bileşenlerinin etkin olacak şekilde ortaya konması gereklidir. Doku kültürü çalışmalarında besin ortamının seçimi, kullanılan hormon kombinasyonlarının yanı sıra ortama eklenen karbonhidrat kaynağı da başarıyı etkilemektedir. Fruktoz daha çok gövde segmentleri, embriyo kültürleri, kallus kültürleri ve polen çimlendirme çalışmaları için karbon kaynağı olarak önerilmektedir. Sorbitolün de içlerinde yer aldığı şeker alkollerini şekerlerden (genellikle monosakkaritler) türetildikleri için ve onlarla benzer kimyasal, fiziksel şeyleri paylaştıklarından karbonhidrat kaynağı olarak değerlendirilirler. Sorbitol elma anaçlarının in vitro çoğaltımında en etkili karbon kaynağı olarak belirtilmiştir. Sorbitol ve fruktozda diğer karbonhidratlarla karşılaştırıldığında en iyi sürgün uzamasının sağlandığı ortaya konmuştur. %75 sakkaroz + %25 sorbitol kompakt yapıda sürgünlerin gelişimini azaltmıştır. Öte yandan Sorbitol vişnede iyi bir çoğalmaya neden olmakla birlikte, çoğunlukla rozetleşmiş sürgünler üretmiştir [14]. Sorbitol ve fruktoz kombinasyonu yine olumlu etkiler sergilemiştir. Sorbitol BA konsantrasyonu ile sinerjetik bir süreç göstermektedir.

Burada sunulan çalışmada Eşme ayvasının sürgün çoğaltma aşamasında farklı karbonhidrat formlarının çoğalma üzerine etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada kullanılan mikro sürgünler %20 NaClO solüsyonunda 12 dakika süre ile steril edildikten sonra 4.0 m g.l⁻¹ BA+0.5 m g.l⁻¹ IBA+0.1 mg.l⁻¹ GA₃ eklenen MS besin ortamında çoğaltılmıştır [15]. Ardından yine aynı hormon kombinasyonunu içeren MS besin ortamında Sakaroz, glikoz, fruktoz ve D-Sorbitol’ün 30, 50 ve 70 g.l⁻¹ dozlarından birini içeren ortamlarda denemeler kurulmuştur. Besin ortamlarına 7 g.l⁻¹ agar eklenmiştir. Şeker ve agar eklenmeden önce ortam pH’sı 5.6 olarak ayarlanmıştır.

121°C, 1.2 kg⁻¹.cm², 22 dakika süresince ortamlar sterilize edilerek dikime hazırlanmıştır. Dikimler sorasında kültürler 25±1°C, 16/8 saat aydınlatma koşullarında ve 4000 lux ışık şiddetinde geliştirilmiştir. Sonuçlar 45 gün sonra değerlendirilmiştir. Proliferasyon (%), sürgün verimi (adet/sürgün), sürgün boyu(cm), dikilen ana sürgünlerde boylanma oranı (%) ve ana sürgünlerde uzama (cm) olarak kaydedilmiştir. Kültürlerde sürgün tabanında kallus oluşumu (%), kallus çapı (cm), vitrifikasyon oluşumu (%) kaydedilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler One-Way ANOVA (Minitab

13) yapılarak, farklı gruplar Tukey testi ile belirlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde 30 g.l⁻¹ sakkaroz içeren ortamlarda tüm sürgünlerde proliferasyonun olduğu görülmektedir. Sakkaroz dozunun 50 g.l⁻¹ olarak artığında sürgün sayısı artmış ancak ortamda sakkaroz dozunun artması sürgün boylarının uzamasını engellemiştir (Çizelge 1). 30 g.l⁻¹ fruktoz eklenen ortamda sürgün verimi önemli oranda artmış, sürgünlerde köklenmeye alınabilecek yeterlilikte boylanma gerçekleşmiştir. 30 g.l⁻¹ glikoz içeren MS ortamında da sürgünlerde uzama gözlenmiştir. Fruktoz, glikoz ve D-sorbitol dozlarının artırılması sürgün uzamasını engelleyen bir etki oluşturmuş, ancak farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Kültüre alınan ana sürgünler değerlendirildiğinde, en fazla uzama gösteren sürgünlerin 50 g.l⁻¹ glikoz içeren ortamda olduğu, diğer şekerlere göre farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 1, Şekil 1).

Çizelge 1. Farklı Karbonhidrat dozlarında Eşme ayvası sürgün ucu kültürlerinin gelişimi

Karbon hidrat formu	Karbon hidrat dozu (g.l ⁻¹)	Proliferasyon (%) Ö.D.	Sürgün verimi (adet)	Sürgün boyu (cm) Ö.D.	Ana sürgün uzama oranı (%) Ö.D.	Ana eksplant uzaması (cm) Ö.D.
Sakkaroz	30	100	2,0 ab	1,63	22,22	1,0
	50	88,89	3,22 ab	1,23	22,22	1,67
	70	55,56	0,89 b	0,48	55,56	1,33
Fruktoz	30	88,89	4,67 a	1,70	11,11	0,67
	50	66,67	1,89 ab	2,12	44,45	1,75
	70	26,67	1,67 ab	1,88	33,33	1,0
Glikoz	30	88,89	3,11 ab	1,51	22,22	2,0
	50	44,45	2,0 ab	1,67	66,67	2,67
	70	77,78	1,17 ab	2,61	22,22	1,50
D-Sorbitol	30	88,89	2,0 ab	1,29	11,11	0,50
	50	66,67	2,0 ab	1,96	33,33	1,08
	70	44,44	1,0 ab	0,83	55,56	0,89

Aynı sütundaki farklı küçük harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıklardır (%5). Ö.D.: Önemli değil.

Şeker dozları kallus oluşumunu istatistiksel olarak etkilemiştir. 50 g.l⁻¹ fruktoz ve 30 g.l⁻¹ D-sorbitol içeren ortamlarda sürgünlerin tamamında kallus oluşmuştur. 70 g.l⁻¹ glikoz eklenen ortamda kallus oluşumu daha düşük düzeyde olmuş, istatistiksel olarak diğer tüm uygulamalardan farklılık göstermiş, 0.17 cm kallus ile en küçük kallus oluşumu meydana gelmiştir. Genel olarak bakıldığında kallus büyüklüğü 1cm'den daha küçük olmuştur. Kültürlerde düşük oranda vitrifikasyon oluşmuş, istatistiksel fark oluşmamıştır (Çizelge 2.).

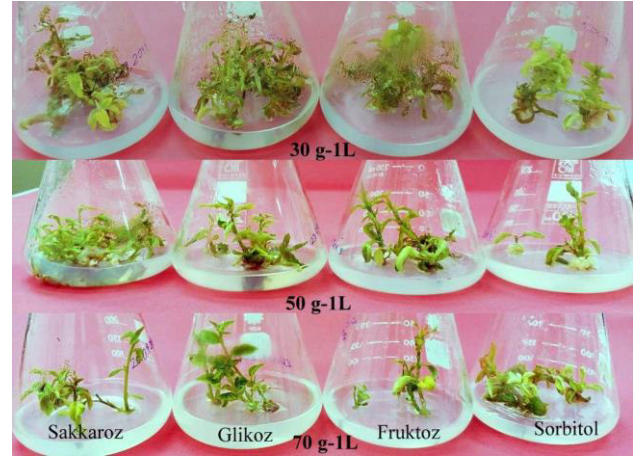
Farklı karbonhidrat kaynaklarının yer aldığı çalışmalarda farklı sakkaroz dozlarında diğer karbon

kaynaklarına göre büyüme kinetiğinin olumlu etkilendiği bildirilmiştir [16, 17, 18]. Ortamlarda kullanılan karbonhidrat kaynağına bağlı olarak karbonhidrat metabolizmasının değişimini öne süren çalışma sonuçları bulunmaktadır [19]. Ancak spesifik konsantrasyonun üzerinde bir konsantrasyonun kullanılması durumunda kültür ortamı ile karbon kaynağı bitki materyalleri üzerinde olumsuz etkilere neden olarak, ozmotik değerlere bağlı olarak ve/veya toksik etki nedeniyle kültür gelişimini olumsuz etkileyebilmektedir [20].

Çizelge 2. Farklı Karbonhidrat dozlarında Eşme ayvası sürgün ucu kültürlerinin gelişimi

Karbonhidrat formu	Karbonhidrat dozu (g.l ⁻¹)	Kallus oranı (%)	Kallus büyüklüğü (cm) Ö.D.	Vitrifikasyon (%) Ö.D.
Sakkaroz	30	88,89 a	0,87	22,22
	50	88,89 a	0,91	22,22
	70	88,89 a	0,60	55,56
Fruktoz	30	77,78 ab	0,59	11,11
	50	100 a	0,64	11,11
	70	88,89 a	0,50	11,11
Glikoz	30	77,78 ab	0,57	22,22
	50	55,56 ab	0,50	11,11
	70	22,22 b	0,17	22,22
D-Sorbitol	30	100 a	0,80	33,33
	50	77,78 ab	0,69	44,45
	70	44,44 ab	0,50	11,11

Aynı sütundaki farklı küçük harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıklardır (%5). Ö.D.: Önemli değil.



Şekil 1. Farklı karbonhidrat kaynaklarının sürgün gelişimi ve kalitesine etkileri

Önceki çalışmalarda da maksimum kültür gelişimi bizim çalışmamızda olduğu gibi %3 sakkaroz dozunda elde edilmiştir. Yüksek sakkaroz dozlarında kütle artışının osmotik strese bağlı olarak baskılanmış olabileceği bildirilmiştir. İn vitro kültürlerde fotosentetik aktivite düşük olduğundan karbon ve enerji kaynağı önemlidir. Karbonhidrat hücrenin önemli karbon ve enerji kaynaklarıdır. Osmotik potansiyelin oluşmasında ve bitki büyüme farklılaşması üzerinde önemli rol oynarlar [16]. Bu nedenle kültür ortamında uygun miktarda

bulunmaları gereklidir. Bir diğer çalışmada sorbitol içeren besin ortamındaki sürgün verimi ve sürgünlerin kalitesi glikoz, sakkaroz ve fruktoz içeren ortamda gelişenlerle karşılaştırılmış, sorbitolün sürgün verimini ve kalitesini artırdığı tespit edilmiştir [21]. Sakkaroz glikoza göre düşük, fruktoza göre daha etkili gelişme sağlamıştır. Bizim çalışmamızda da fruktoz ve glikozun çalışmadaki en düşük dozu olan 30 g.l⁻¹ dozunu içeren ortamlarda sürgün veriminin arttığı ve sürgünlerin uzadığı görülmektedir. Sürgün çoğaltma ortamında kullanılan karbonhidrat kaynağı sonraki köklenme aşamasındaki başarıya da etki etmektedir. Bu nedenle kültürlerin sağlıklı bir şekilde bitkiye dönüşüm süreci için de önem taşır. Özellikle sakkaroz içeren ortamlardan gelen sürgünlerde köklenme başarısı etkilenebilmektedir. Alt kültür sayısının sürdürülebilirliğinde de yine karbonhidrat kaynağının önemi vurgulanmaktadır. Sakkarozun 30 g.l⁻¹'den yüksek konsantrasyonlarının klorofil kayıplarına neden olduğu belirlenmiştir [22]. Bu da yüksek karbonhidrat dozlarında kültürlerdeki yaprak renginin sararmasını açıklamaktadır.

Besin ortamlarının otoklavda sterilizasyonu sırasında şeker içeriğinde azalmalar, bozulma sonucunda zararlı içerikler ortaya çıkabilir. Bu durum fruktozda, glikozda rapor edilmiştir [23]. Bu nedenle bu tip bozulmalara karşı besin ortamının sterilizasyon öncesi ve sonrasındaki yapısı incelenebilir.

SONUÇ

Çalışma sonuçları farklı karbonhidrat kaynaklarının kültürlerin gelişiminde etkilerinin farklılığını ortaya koymuştur. Ayva sürgün ucu kültürleri için en uygun karbonhidrat kaynağı olarak 30 g.l⁻¹ sakkaroz öne çıkmaktadır. Fruktozun boylanmaya etkileri dikkate alındığında, farklı şeker kombinasyonlarının birlikte etkilerinin denenmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Bell, R.L., Leita, J. 2011. *Cydonia*. In: Kole, C., eds. "Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources" Berlin, Germany: Springer-Verlag, pp:1-16.
2. Özçağır, R., Ünal, A., Özeke, E., İsfendiyaroglu, M., 2011. Ilıman İklim Meyve Türleri, Yumuşak Çekirdekli Meyveler. Cilt:2. Ege Üniversitesi, İzmir, s:109-126.
3. FAO, 2023. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/qcl> (Erişim Tarihi: 15.10.2023).
4. TÜİK, 2023. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> (Erişim Tarihi: 15.10.2023).
5. Rodriguez-Guisado, I., Hernández, F., Melgarejo, P., Legua, P., Martínez, R., Martínez, J.J. 2009. Chemical, morphological and organoleptically characterization of five Spanish quince tree clones (*Cydonia oblonga* Miller). *Scientia Horticulturae*, 122, 491-496.
6. Hegedüs, A., Papp, N., Stefanovits-Bányai, É. 2013. A review of nutritional value and putative health-effects of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) fruit. *International Journal of Horticultural Science* 19(3-4):29-32.
7. Sun, J., Chu Y.F., Wu, X., Liu, R.H. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *J. Agric. Food Chem.* 50:7449-7454.
8. Alvarenga, A.A., Abrahao, E., Pio, R. et. al. 2008. Comparison among marmalades produced from different fruit quince species (*Cydonia oblonga* Miller and *Chaenomeles sinensis* Koehne) and cultivars. *Cienc Agrotecnol* 32:302-307.
9. Kafkas, S., Imrak, B., Kafkas, N.E., Sarier, A., Kuden, A. 2018. Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) breeding: Springer International Publishing AG, Part of Springer Nature. Al-Khayri J.M. et al. (eds.), *Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits* 3:277-304. doi.org/10.1007/978-3-319-91944-7-7.
10. Ercan, N., Özkarakaş, İ. 2005. Ege Bölgesinden toplanan bazı ayva (*Cydonia vulgaris* Pers.) materyalinin adaptasyonu ve değerlendirilmesi. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi* 15(2):27-42.
11. Atay, E., Gargın, S., Çalhan, Ö., Atay, N.A., Butar, A. 2011. Propagation of ege-2, ege-22 and Eşme quince varieties by hardwood cuttings. *Uluslararası Katılımlı 1. Ali Numan Kıraç Tarım Kongresi ve Fuarı*, pp:2441-2444.
12. Özbek, S. 1978. Özel Meyvecilik. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No:128, Adana, 485 s.
13. Westwood, M.N., 1993. *Temperate-Zone Pomology: Physiology and Culture*. Timber Press, Portland, Oregon, USA, 523 s.
14. Borkowska, B., Szczerba, J. 1991. Influence of different carbon sources on invertase activity and growth of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) shoot cultures. *J. Exp. Bot.* 42:911-915.
15. Sülüoğlu Durul, M., Korana Aktaş, T. 2023. *In vitro* propagation of *Cydonia oblonga* cv. Esme. *Turk J. Agric. for* (2023) 47:578-589. doi:10.55730/1300-011x.3110.
16. Gibson, S.I. 2000. Plant sugar-response pathways. Part of a complex regulatory web. *Plant Physiol.* 124:1532-9.

17. Baskaran, P., Jayabalan, N. 2005. Role of basal media, carbon sources and growth regulators in micropropagation of *Eclipta alba*- A valuable medicinal herb. *KMITI Sci. J.* 2005; 5:469-82.
18. Praveena, C., Veeresham, C. 2014. Multiple shoot regeneration and effect of sugars on growth and nitidine accumulation in shoot cultures of *Toddalia asiatica*. *Pharmacogn Mag.* 2014 Aug; doi:10.4103/0973-1296.139777. 10(Suppl 3):480-486.
19. Marino, G., Bertazza, G., Magnanini, E., Doro Altan, A. 1993. Comparative effects of sorbitol and sucrose as main carbon energy sources in micropropagation of apricot. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 34:235-244.
20. Ślesak, H., Skoczowski, A., Przywara, L. 2004. Exogenous carbohydrate utilization by explants of *Brassica napus* L.; Cultured *in vitro*. *Plant Cell Tiss Org.* 79:45-51.
21. Pua, E.C., Chong, C. 1984. Requirement for sorbitol (D-glucitol) as carbon source for in vitro propagation of *Malus robusta* No.5. *Canadian Journal of Botany* 62(7):1545-1549.
22. Mohamed, M.A.H., Alsadon, A. 2010. Influence of ventilation and sucrose on growth and leaf anatomy of micropropagated potato plantlets. *Scientia Horticulturae* doi:10.1016/j.scienta.2009.09.014. 123(3):295-300.
23. Redei, G.P. 1974. Fructose effect in higher plants. *Annals of Botany, New Series.* 38(155):287-297.