

Araştırma Makalesi/Research Article (Original Paper)

***Scilla siberica* subsp. *armena* Yaprak Sapından *In Vitro* Çoklu Sürgün Rejenerasyonu**

Fethi Ahmet ÖZDEMİR^{1*}, Mehmet Uğur YILDIRIM²

¹Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 12000, Bingöl

²Uşak Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 64200, Uşak

*e- posta: ozdemirfethiahmet23@yahoo.com

Özet: *Scilla siberica* subsp. *armena* çok yıllık, mavi çiçekli soğanlı bir bitkidir. Bu çalışmada *Scilla siberica* subsp. *armena*'nın yaprak sapı kullanılarak; 0.25, 0.50, 1, 2 mg/L TDZ ve 0.1, 0.2 mg/L NAA içeren (8 kombinasyon) MS besin ortamında etkili bir çoklu sürgün rejenerasyon sistemi geliştirmek amaçlanmıştır. Maksimum ortalama rejenerasyon sürgün yüzdesi 2 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA içeren MS besin ortamında kaydedilmiştir. Maksimum eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısı 2 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA içeren MS besin ortamında raporlanmıştır. Maksimum ortalama sürgün uzunluğu 0.25 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA ilave edilen MS besin ortamından elde edilmiştir. Gelişen sürgünler 1 mg/L IBA içeren MS besin ortamında köklendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Çoğaltım, Doku kültürü, Eksplant, Geofit, *Scilla siberica* subsp. *armena*

***In Vitro* Multiple Shoot Regeneration from *Scilla siberica* subsp. *armena* Petiole**

Abstract: *Scilla siberica* subsp. *armena* is a perennial blue flowered bulbous plant. This study aimed to develop an efficient multiple shoot regeneration system for *S. siberica* subsp. *armena* using petiole on MS medium containing 0.25, 0.50, 1, 2 mg L⁻¹ TDZ and 0.1, 0.2 mg L⁻¹ NAA (8 combinations). Maximum mean shoot regeneration percentage was noted in MS medium containing 2 mg L⁻¹ TDZ + 0.1 mg L⁻¹ NAA, maximum mean number of shoot per explant was recorded in MS medium containing 2 mg L⁻¹ TDZ + 0.2 mg L⁻¹ NAA, maximum mean number of shoot length was recorded in MS medium supplemented with 0.25 mg L⁻¹ TDZ + 0.2 mg L⁻¹ NAA. Well developed micro propagated shoots were rooted on MS medium containing 1 mg L⁻¹ IBA.

Keywords: Propagation, Tissue culture, Explant, Geophyte, *Scilla siberica* subsp. *armena*

Giriş

Coğrafi konumu gereği Avrupa ve Asya kıtalarını birbirine bağlayan ülkemizin; aynı zamanda İran-Turan, Avrupa-Sibirya ve Akdeniz bitki coğrafyası bölgelerinin kesişme noktasında bulunması ve farklı iklimatik ve edafik koşullara sahip olması nedenleri ile floristik zenginlik bakımından dünyanın sayılı merkezlerinden biri durumundadır. Çok sayıda cins ve tür için gen merkezi veya genetik farklılaşma alanı olması, pek çok kültür bitkisinin anavatanı olması ve endemik türler yönünden oldukça zengin olması nedenleri ile ülkemiz, yabancı bilim insanlarının da dikkatini çekmiş ve yüzlerce yıldır yerli ve yabancı çalışmalar için önemli bir floristik merkez olarak değerlendirilmiştir (Erzincanlıoğlu 2001).

Yılın büyük bir bölümünü toprak altında soğan, yumru ve rizom halinde geçiren bitkilere “Geofit (yer bitkileri)” veya “Kriptofit (saklı bitkiler)” adı verilir. Bu grup bitkilerin çoğu bahar ayının ilk günlerinde, bir kısmı ise sonbaharda güzel ve gösterişli çiçekler açarlar. Bu nedenle geofitler süs bitkisi olarak kullanılma yönünden büyük bir öneme sahiptir. Geofitler ayrıca besin değeri ve tıbbi yönden de doğal bir kaynak oluştururlar (Anonim 1986) Yurdumuz diğer bitkiler yönünden olduğu gibi, geofitler bakımından da oldukça zengin bir floraya sahiptir. Fırat havzasına ait florada yetişen başlıca geofitler Liliaceae, Amaryllidaceae, Iridaceae, Primulaceae ve Orchidaceae familyaları kapsamında bulunur. Bunlar ülkemizde daha çok 1000 metrenin üzerindeki dağlık bölgelerde yetişir. Bu bölgenin iklimi “sıcak, kuru bir yaz” ve “soğuk, karlı bir kış” olarak tanımlanabilir. Yağmurun ilkbahar ve sonbahar aylarında yağdığı Fırat havzası ve civarı, geofitlerin yetişmesi için oldukça uygundur (Anonim 1986). Geofitlerin

ekonomik olarak asıl önemi, onların yurt dışına ihraç edilmesinden ileri gelmektedir. Anadolu’da doğal olarak yetişen bu bitkilerin ihracatına yaklaşık bir asır kadar önce başlanmıştır (Ekim ve ark. 1991; Baytop ve Mathew 1984; Koyuncu ve Ekim 1984).

Scilla siberica subsp. *armena* İran-Turan coğrafik bölgesinde yetişen geofit bir bitkidir. *Scilla* cinsi içerisinde yer alan türler 1500-2000 metre yükseklikte, uzun bir kış mevsimi süresince karlar altında kalan kayalık alanlarda yetişmektedir. Bu cinse ait türler doğada 15 kadar bitki içeren küçük populasyonlar halinde görülmektedir. *Scilla* sp. türleri eski zamanlardan beri peyzajda, halk tıbbında ve aromatik amaçlarla kullanılmaktadır (Haber ve Semaan 2007).

S. siberica subsp. *armena* bitkisinin küçük soğanları, oldukça gösterişli küçük mavi çiçekleri bulunmaktadır. *Scilla* cinsine ait türlerin *in vitro* üretimi gerçekleştirilmekle birlikte *S. siberica* subsp. *armena*’nın *in vitro* üretimi konusunda yapılmış çalışmalar oldukça sınırlıdır (Crouch ve ark. 1999; McCartan ve Staden 1998; McCartan ve Staden 2002).

Bu nedenle bu çalışmada bir geofit olan *Scilla siberica* subsp. *armena*’nın yaprak sapı eksplant kaynağı olarak kullanılıp *in vitro* ortamda çoklu sürgün geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan *Scilla siberica* subsp. *armena* bitkisi Bingöl iline bağlı Şaban ve Yelesen köyleri arasında 1400-1500 m yüksekliğinde toplanmıştır. Bitkinin tür teşhisi “The Flora of Turkey and East Aegean Islands, volume 8” (Davis 1984)’e göre, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji bölümünde yapılmış olup; bitki örneği bu bölümdeki herbaryumda kayıt altına alınmıştır. Çalışmaya başlamadan önce bitkinin yaprak kısımları bitkiden uzaklaştırılarak çeşme suyunda 25 dakika boyunca yıkanıp bitki üzerindeki toprak, çamur ve diğer yapışık maddelerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Ardından yaklaşık 0.5 cm boyutunda kesilen yaprak sapları eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. Kesilen yaprak sapları %35’lik hidrojenperoksit (H₂O₂) çözeltisinde 30 dakika bekletilerek sterilizasyonları gerçekleştirilmiştir. Steril edilen yaprak sapları 5 dakika boyunca, 5 defa steril distile saf sudan geçirilerek durulanmıştır. Yaprak sapı eksplantları 0.25, 0.50, 1, 2 mg/L TDZ ve 0.1, 0.2 mg/L NAA içeren (8 farklı kombinasyon) MS besin ortamında (Murashige ve Skoog 1962) kültüre alınmıştır. Büyüme düzenleyici ilave edilmeyen MS ortamı ise denemede Kontrol uygulaması olarak yer almıştır. Yaprak sapı eksplantları üzerinde gelişen sürgünler köklendirilmek amacı ile 1 mg/L IBA içeren MS besin ortamına aktarılmıştır. Besin ortamlarının pH’sı 1 N NaOH ve 1 N HCl kullanılarak 5.8±1’e ayarlanmıştır. Çalışmada kullanılan besin ortamları, alet ve ekipmanların sterilizasyonları 1.4 kg cm⁻² basınç altında otoklavda 120°C’de 21 dakika tutularak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan bütün yaprak sapı eksplantları 24±1°C 16 saat ışık/ 8 saat karanlık fotoperiyodunda 500 µmol m⁻² s⁻¹ ışık yoğunluğunda iklim dolabında (Aralab) inkübe edilmiştir. Kullanılan her kültür kabına 5 eksplant konularak denemeler 3 tekrarlı olacak şekilde planlanmış ve bu tekrarlı denemeler sonucu oluşan standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

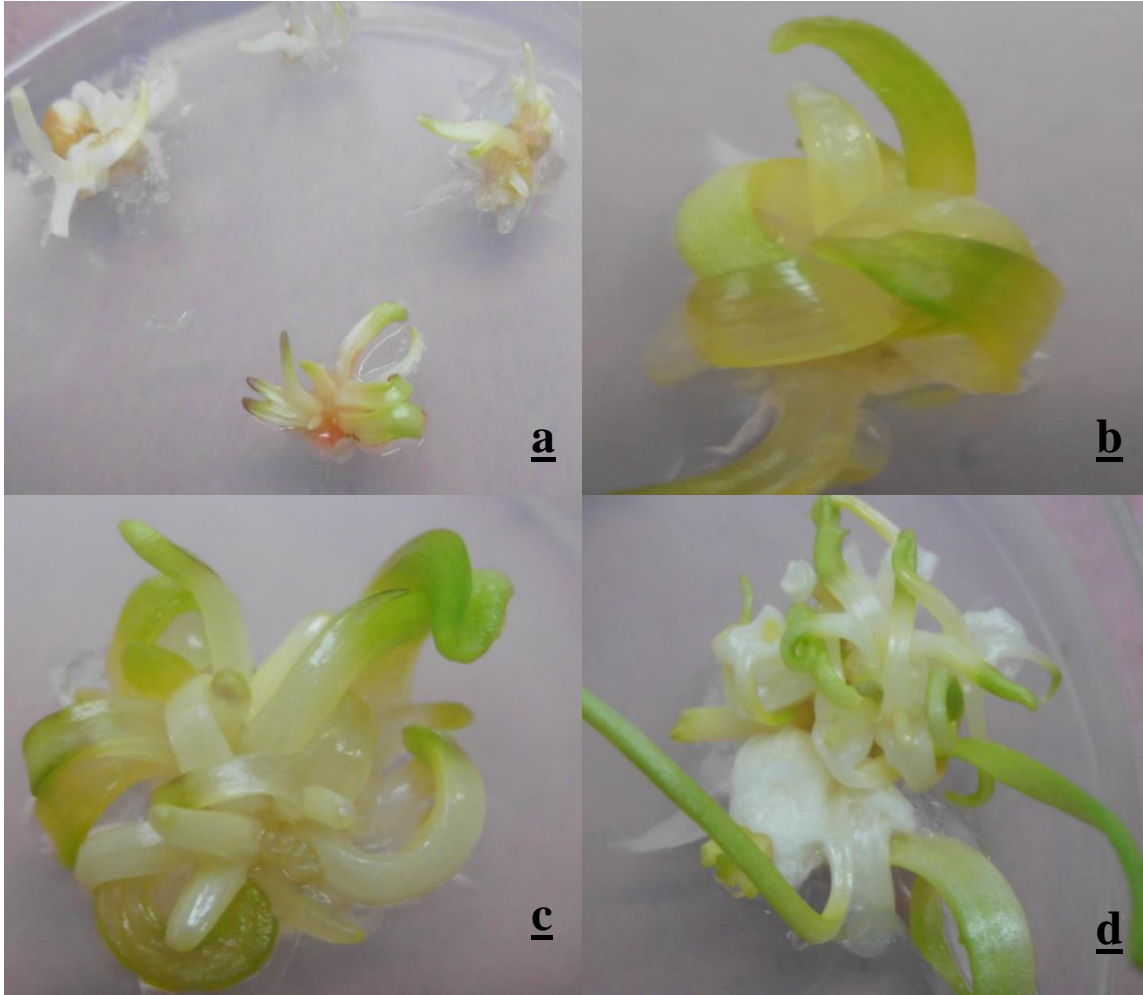
Scilla siberica subsp. *armena*’nın yaprak sapı eksplantları TDZ ve NAA’nın 8 farklı kombinasyonunu içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Kullanılan hormon konsantrasyonlarının; ortalama rejenere sürgün yüzdesi (%), eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısı ve ortalama sürgün uzunluğu (cm) üzerindeki etkileri Çizelge 1’de gösterilmiştir.

Çalışma sonucunda ortalama rejenere sürgün yüzdesinin %34.33 ile %74.67 arasında olduğu, ortalama rejenere sürgün yüzdesinin en fazla %74.67’lik bir oran ile 2 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA içeren MS besin ortamında olduğu (Şekil 1); bunu sırası ile %62.66’lık bir oran ile 1 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA, % 60.67’lik bir oran ile 2 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA, %58.33’lük bir oran ile 0.5 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA, %54.33’lük bir oran ile 1 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA, %52.67’lik bir oran ile 0.25 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA, %46.67’lik bir oran ile 0.50 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA içeren MS besin ortamı olduğu; ortalama rejenere sürgün yüzdesinin en az olduğu ortamın ise %34.33’lük bir oran ile 0.25 mg/L + 0.2 mg/L NAA içeren MS besin ortamı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Kullanılan TDZ ve NAA konsantrasyonlarının *Scilla siberica* subsp. *armena* yaprak sapı eksplantlarının rejenerasyonu üzerindeki etkileri

Kullanılan Hormonlar		Ortalama Rejenere Sürgün Yüzdesi (%)	Eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısı	Ortalama sürgün uzunluğu (cm)
TDZ (mg/L)	NAA (mg/L)			
0.25	0.1	52.67	3.42±1.26	1.57±0.96
0.50	0.1	58.33	4.16±0.81	2.26±0.28
1.0	0.1	62.66	3.04±0.24	1.42±0.74
2.0	0.1	74.67	5.52±1.16	2.04±0.32
0.25	0.2	34.33	2.84±0.42	3.03±1.65
0.50	0.2	46.67	3.68±1.26	1.24±0.92
1.0	0.2	54.33	5.86±1.62	2.61±0.89
2.0	0.2	60.67	9.62±0.78	1.82±0.38
0.0	0.0	0.00	0.00	0.00

±= En az üç tekrarla elde edilen standart sapma değerini ifade etmektedir.



Şekil 1. 2 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA içeren MS besin ortamında en fazla ortalama rejenerasyon sürgün yüzdesi (**a**, **b**); 2 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA içeren MS besin ortamında en fazla eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısı (**c**); 0.25 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA içeren MS besin ortamında en fazla ortalama sürgün uzunluğu (**d**).

0.1 mg/L NAA ortamlarında TDZ miktarının artışına bağlı olarak ortalama rejenere sürgün yüzdesi doğru orantılı olarak artmış ve en yüksek değere ile 2 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA içeren MS besin ortamında ulaşmıştır. Ancak ortamdaki NAA miktarının 0.1 mg/L'den 0.2 mg/L'ye çıkarılması ortalama rejenere sürgün yüzdesinde genel olarak azalmaya sebep olmuştur. 0.2 mg/L NAA ortamlarında TDZ miktarının artışına bağlı olarak ortalama rejenere sürgün yüzdesinin de doğru orantılı olarak arttığı görülmektedir.

Eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısının 2.84±0.42 ile 9.62±0.78 adet aralığında olduğu, eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısının en fazla 2 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA içeren MS besin ortamında olduğu (Şekil 1); bunu sırası ile 5.86±1.62 adet ile 1 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA, 5.52±1.16 ile 2 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA, 4.16±0.81 ile 0.5 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA, 3.68±1.26 ile 0.5 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA, 3.42±1.26 ile 0.25 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA, 3.04±0.24 ile 1 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA içeren MS besin ortamlarının izlediği ve eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısının en az olduğu ortamın ise 2.84±0.42 adet sürgün ile 0.25 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA içeren MS besin ortamı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1). Eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısının ortama ilave edilen TDZ ile 0.1 mg/L NAA içeren konsantrasyonlar arasında belirgin bir ilişkinin olmadığı görülmüştür. Ancak 0.2 mg/L NAA içeren ortamlarda artan TDZ miktarı ile eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısının belirgin bir şekilde arttığı ve 2.0 mg/L TDZ içeren besin ortamında maksimuma ulaştığı görülmektedir (Şekil 1).

Ortalama sürgün uzunluğu 3.03±1.65 cm ile 1.24±0.92 cm aralığında olup; ortalama sürgün uzunluğunun en fazla olduğu ortamın; 0.25 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA içeren MS besin ortamı olduğu (Şekil 1), ortalama sürgün uzunluğunun en az olduğu ortamın ise 0.50 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA içeren MS besin ortamı olduğu Çizelge 1'de görülmektedir. Ortalama sürgün uzunluğu ile ortama ilave edilen TDZ ya da NAA konsantrasyonları arasında herhangi bir ilişki tespit edilememiştir.

Çoğu geofitin doğal ortamlarında çoğalması oldukça yavaştır (Ziv ve Lilien- Kipnis 2000; Arslan ve ark. 2002). Geofitlerde yeni bir soğanın oluşması ve bu soğanın çiçeklenmesi genellikle 4-5 yıl almaktadır. Doku kültürü teknikleri ile bu problemin üstesinden gelinir. *S. siberica* subsp. *armena*'nın *in vitro* mikro üretimi bu bitkinin ticari amaçlı olarak üretilmesi için oldukça büyük bir önem arz etmektedir.

Geofitlerin *in vitro* üretiminde soğanların pul yapraklarının kullanılması oldukça yaygındır (Nasırcılar ve ark. 2011; Kizil ve ark. 2014; Özel ve ark. 2015) ancak geofitlerin *in vitro* üretimleri konusunda; yaprak sapının eksplant kaynağı olarak kullanıldığı çalışmalar pul yapraklara kıyasla sınırlı kalmıştır (Dilik 2006; Gürlek 2011).

Bu çalışmada *S. siberica* subsp. *armena*'nın yaprak sapı eksplant kaynağı olarak kullanılmış; TDZ ve NAA'nın farklı kombinasyonlarını içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Yaprak sapının eksplant kaynağı olarak kullanılması ağır bakteriyel ve fungal kontaminasyonun oluşmaması açısından büyük bir avantaj sağlamıştır (Langens-Gerrits ve ark. 1998; Ziv ve Lilien-Kipnis 2000). Çalışmamızda hemen hemen hiç kontaminasyon gözlenmemiştir.

S. siberica subsp. *armena*'nın yaprak sapı kullanılarak *in vitro* mikro üretimi üzerine yapılmış bir çalışma literatürde bulunmamaktadır; ancak diğer soğanlı bitkilerle yapılan çalışmalarda (Malabadi ve Van Staden 2004; Suh ve ark. 2005; İpek ve ark. 2009) TDZ'nin rejenerasyon kapasitesini arttırdığı kaydedilmiştir. Bu çalışmada da TDZ'nin rejenerasyonu sağlaması yukarıda belirtilen çalışma bulgularını desteklemektedir.

TDZ ve NAA'nın *in vitro* koşullarda birlikte kullanılması soğan oluşumu üzerine olumlu bir etkiye bulunmaktadır (Nasırcılar ve ark. 2011). Bu çalışmada da 2 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA içeren MS besin ortamında en fazla ortalama rejenere sürgün yüzdesinin elde edilmesi literatür bulguları ile örtüşmektedir.

In vitro ortamda gelişen sürgünlerin köklendirilmesi, hormonsuz ortamlarda olduğu gibi çoğunlukla oksin grubu hormonların kullanıldığı kültür ortamlarında gerçekleşmektedir (Yıldırım 2013; Özdemir ve ark. 2014; Özdemir ve ark. 2015). Bu çalışmada da rejenere edilen sürgünlerin IBA içeren MS besin ortamında köklendirilmesi literatür bulguları ile benzerlik göstermiştir.

Sonuç olarak; *S. siberica* subsp. *armena* bitkisinin doku kültüründe üretilmesinde, yaprak sapının eksplant kaynağı olarak kullanılması, ağır fungal ve bakteriyel kontaminasyonu engellemiş ve değerli bir

eksplant kaynağı olmuştur. NAA ve TDZ'nin birlikte kullanılması ve yaprak sapı eksplantının kültüre alınması, bu bitkide rejenerasyon ve sürgün oluşumunu sağlamış olup elde edilen bulgular hem bu türde, hem de geofitlerin mikroçoğaltımında umut vaat etmektedir.

Teşekkür

Bu çalışmada kullanılan *Scilla siberica* subsp. *armena* bitkisinin temin edilmesini sağlayan Bingöl Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Park ve Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Ömer KILIÇ' a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Anonim (1986). Fırat Havzası Tıbbi ve Endüstriyel Bitkiler Sempozyumu, Fırat Üniversitesi, Elazığ.
- Arslan N, Gurbuz B, Gumuscu A, Ozcan S, Mirici S, Khawar KM (2002). Cultivation of *Sternbergia fischeriana* (Herbert) Rupr. and a study on its morphological characteristics. *Pakistan Journal of Botany*. 34: 411–418.
- Baytop T, Mathew B (1984). The Bulbus Plants of Turkey, Batsford Ltd. London
- Crouch NR, Brunkhorst M, McCartan SA (1999). Micropropagation of *Scilla nervosa*, a southern African medicinal bulb. *South African Journal of Botany*. 65(4): 306-307.
- Davis PH (1984). Flora of Turkey and East Aegean Islands, University Press, Edinburgh: 8
- Dilik M (2006). Şemdinli Lalesi (*Fritillaria imperialis* L.) ve Adıyaman Lalesi (*Fritillaria persica* L.)'nin Doku Kültürüyle Çoğaltılması. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 99 s, Ankara.
- Ekim T, Koyuncu M, Güner A (1991). Türkiye'nin ekonomik değer taşıyan geofitleri üzerinde taksonomik ve ekolojik araştırmalar, T.C. Tarım Orman ve Köyisleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü, Sıra no:669, Seri no:65, Ankara.
- Erzincanlıoğlu A (2001). Porsuk Vadisi (Kütahya) Florası. Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 94 s, Kütahya.
- Gürlek D (2011). *Fritillaria imperialis* L. ve *Fritillaria persica* L. Türlerinde *in vitro* Soğancık Üretimi Üzerine Araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, 167 s, Ankara.
- Haber RM, Semaan MT (2007). A new record from Lebanon: *Scilla siberica* Haw. subsp. *armena* (Grossh.) Mordak (Liliaceae). *Turkish Journal of Botany*. 31: 263–264.
- İpek A, Çöçü S, Uranbey S, Kaya D, Gürbüz B, Aslan N, Sancak C, Özcan S (2009). *In vitro* bulblet production from immature embryos of ornamental plant *Ornithogalum platyphyllum* Boiss. *Research Journal of Biotechnology*. 4:21-25.
- Kızıl S, Khawar KM, Altuntas C, Sağlam S (2014). Direct bulblet regeneration from *Sternbergia fischeriana* (Herb.) Rupr. bulb scale explants. *Propagation of Ornamental Plants*. 14(2):68-75.
- Koyuncu M, Ekim T, 1984. Türkiye'nin ihraç ettiği geofitler ve bunların ekonomik önemi. V. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Tebliği, Ankara.
- Langens-Gerrits M, Albers M, De Klerk GJ (1998). Hot water treatment before tissue culture reduces initial contamination in *Lilium* and *Acer*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 52: 75–77.
- Malabadi RB, Van Staden J (2004). Regeneration of *Ornithogalum in vitro*. *South African Journal of Botany*.70: 618-621.
- McCartan SA, Van Staden J (1998). Micropropagation of the medicinal plant, *Scilla natalensis* Planch. *Plant Growth Regulation*. 25: 177-180.
- McCartan SA, Van Staden J (2002). Micropropagation of *Scilla kraussii* and *Scilla dracomontana*. *South African Journal of Botany*. 68: 223-225.
- Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15: 473–497.
- Nasircılar A, Mirici S, Karagüzel Ö, Eren Ö, Baktir I (2011). *In vitro* propagation of endemic and endangered *Muscari mirum* from different explant types. *Turkish Journal of Botany*. 35:37–43.
- Ozdemir FA, Yildirim MU, Purali Kahriz M (2014). Efficient micropropagation of highly economic, medicinal and ornamental plant *Lallemantia iberica* (Bieb.) Fisch. and C. A. Mey. *BioMed. Research International*. 2014: ID 476346. doi:10.1155/2014/476346.

- Ozdemir FA, Yildirim MU, Pourali Kahriz P (2015). Micropropagation of endemic *Scutellaria orientalis* L. subsp. *bicolor* using modified MS medium & TDZ. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 27: 1-7.
- Ozel CA, Khawar KM, Unal F (2015). Factors affecting efficient *in vitro* micropropagation of *Muscari muscarimi* Medikus using twin bulb scale. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 22:132–138.
- Suh J, Lee W, Lee A (2005). New plantlet proliferation and bulbing promotion *in vitro* cultures of *Ornithogalum* hybrid. *Acta Horticulturae*. 683:155-163.
- Yildirim MU (2013). Micropropagation of *Origanum acutidens* (Hand.- Mazz.) Ietswaart using stem node explants. *Scientific World Journal*. 2013: ID 276464. doi:10.1155/2013/276464.
- Ziv M, Lilien-Kipnis H (2000). Bud regeneration from inflorescence explants for rapid propagation of geophytes *in vitro*. *Plant Cell Reports*. 19:845–850.