



***Micromeria dolichodontha* P.H. Davis 'nın *In vitro* Aksiller Sürgün Yoluyla Çoğaltımı**

Yelda Emek^{1*}

¹ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 09010 Kepez- Aydın, Türkiye, Türkiye

(İlk Geliş Tarihi 5 Aralık 2018 ve Kabul Tarihi 12 Aralık 2018)

(DOI: 10.31590/ejosat.492321)

Öz

Bu çalışmanın amacı endemik, nesli kritik tehlikede olan ve tıbbi *Micromeria dolichodontha* P.H. Davis türünün *in vitro* aksiller sürgün yoluyla çoğaltma protokolünü belirlemektir. *In vitro* şartlar altında tohumların çimlendirilmesi ile elde edilen bitkicikler aksiller sürgün çoğaltımı için eksplant olarak kullanılmışlardır. Bitkicikler köklerinden ayrılarak farklı tip ve konsantrasyonda sitokin (BA, KIN veya TDZ) içeren ve kontrol olarak herhangi bir bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen Murashige & Skoog (MS) besin ortamlarında kültüre alınmışlardır. En yüksek sürgün sayısı 0.1 mgL⁻¹ benziladenine (BA) içeren MS ortamında ve en uzun sürgünler 0.01 mgL⁻¹ BA içeren MS ortamında oluşmuştur. Sürgünlerin köklendirilmesi için farklı tip ve konsantrasyonda oksin (IBA veya IAA) içeren ve herhangi bir bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen ½ MS ortamı kullanılmıştır. En yüksek kök oluşumu (% 75) 0.5 mgL⁻¹ IBA içeren ½ MS ortamında gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Endemik, *Micromeria dolichodontha*, *in vitro*, aksiller sürgünler

***In vitro* Propagation of *Micromeria dolichodontha* P.H. Davis via Axillary Shoot Proliferation**

Abstract

The goal of this paper was to determine the protocol for *in vitro* axillary shoot propagation of *Micromeria dolichodontha* P.H. Davis, an endemic endangered and medicinal plant. Plantlets obtained from *in vitro* germinated seeds were used as explants for axillary shoot propagation. The plantlets were separated from their roots and cultured on Murashige & Skoog (MS) media without and with different types and concentrations of cytokinins (BA, KIN or TDZ). The maximum number of shoots was formed on MS medium with 0.1 mgL⁻¹ benzyladenine (BA), and the highest seedling length was formed on MS medium with 0.01 mgL⁻¹ BA. ½ MS medium without and with different types and concentrations of auxin (IBA or IAA) were used for rooting of shoots. The maximum root formation (75 %) were observed on ½ MS medium with 0.5 mgL⁻¹ IBA.

Key words: Endemic, *Micromeria dolichodontha*, *in vitro*, axillary shoots

Abbreviations:

BA – 6-benzyladenine

IAA- indole-3-acetic acid

IBA – indole-3-butyric acid

KIN-kinetin

MS –Murashige and Skoog medium

TDZ- Thidiazuron

¹ Sorumlu Yazar: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 09010 Kepez- Aydın, Türkiye, emekyelda@gmail.com

1. Giriş

Günümüzde bitkisel gen kaynaklarını tehdit eden birçok unsur bulunmaktadır. Bu durum gen kaynaklarının kaybedilmesi ile ilgili endişelerin artmasına yol açmıştır. Bu yüzden de koruma çalışmaları daha fazla önem kazanır olmuştur. Bitki gen kaynakları yönünden zengin olan ülkemiz endemizm yönünden de oldukça yüksek bir değere sahiptir (% 34.5) (Güner ve ark., 2000). Birçok aromatik ve tıbbi bitkiyi içeren *Lamiaceae* familyası da % 44.2 oranında endemik bitki içermektedir (Arslan ve ark., 2002). *Lamiaceae* familyasına ait olan *Micromeria* cinsi Türkiye florasında 12'si endemik olan 14 tür ve 22 takson ile temsil edilmektedir (Davis, 1982). *Micromeria* genusuna ait türler güzel aromaları ve tıbbi özelliklerinden dolayı geniş kullanıma sahiptirler. Türler, antioksidan (Güllüce ve ark., 2004; Stojanović ve Palić, 2008; Vladimir-Knežević ve ark., 2011), antibakteriyel (Tabanca ve ark., 2001; Duru ve ark., 2004; Sarac ve Ugur, 2007; Stojanović ve Palić, 2008), antifungal (Abou-Jawdah ve ark., 2004; Özcan, 1999), insektisidal (Arslan ve ark., 2005), biyoherbisidal (Dudai ve ark., 1999) ve allopatik (Dudai ve ark., 2009) biyolojik aktivite göstermektedir. Bazı *Micromeria* türleri, hem bitki çayı hem de yemeklerde çeşni olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca, kalp hastalıkları, baş ağrısı, yara ve deri enfeksiyonlarında en çokta soğuk algınlıklarına karşı alternatif tıpta yaygın kullanıma sahiptirler (Baytop, 1984; Ali-Shtayeh ve ark., 1998). *Micromeria* türlerinde en çok bulunan etken bileşenler: Pulegone, isomenthone, *p*-menthone, limonene, linalol, -pinene, -pinene, *p*-cymene, -terpinene, -terpinene, -terpineol, camphene, -bourbonene ve borneol (Duru ve ark., 2004).

Mikroçoğaltım, birçok tıbbi ve aromatik bitkinin *in vitro* üretiminde yüksek rejenerasyon potansiyelini sağlaması nedeni ile seçilmiş genotip ve kemotiplerin çoğaltımı için oldukça değerli bir yöntemdir (Rout ve ark., 2000). Aksiller sürgün yoluyla çoğaltım, mikroçoğaltım yöntemlerinden biridir. Bu teknik, 6 aylık gibi kısa bir sürede, tek bir bitkiden başlayarak 1000.000 kadar bitki elde etme imkânı sunmaktadır (Philips ve Hubstenbenger, 1995).

Micromeria dolichodontha P.H. Davis CR 'kritik tehlike' kategorisinde yer alan endemik bir bitkidir (Ekim ve ark., 2000). Tür ile ilgili yapılan bir çalışmada izomenton (%23), cts-piperiton oksit (%17), pulegon (%15), piperiton (%10) içerdiği saptanmıştır (Başer ve ark., 1997). Bu şekilde tıbbi öneme sahip bitkiler doğada aşırı toplamlara maruz kalmaktadır. Doğal populasyon üzerindeki baskıyı azaltmak ve kısa sürede çok fazla bitki elde edebilmek *in vitro* doku kültürü yöntemleri ile mümkündür.

Bu çalışmada tıbbi öneme sahip endemik *M.dolichodontha* türününün *in vitro* aksiller sürgün teşviki yoluyla çoğaltılması için uygun prosedürün belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada başlangıç materyali olarak *M.dolichodontha* tohumları kullanılmıştır. Tohumların yüzey sterilizasyonu için; tohumlar akan çeşme suyu altında bir saat yıkandı. Daha sonra, sırasıyla %50'lik Etil Alkol'de 1 dakika, % 2.5'lik sodyum hipokloritte (NaOCl, 3-4 damla tween-20 içeren)

5 dakika tutuldu ve bunu takiben her biri 5 dakika süreyle üç kez steril distile su ile durulandı.

Steril edilen tohumlar distile su içeren 190 cc'lik kavanozlara aktarılmışlardır. Tohumlara fiziksel destek sağlamak amacı ile cam bilyeli kâğıt köprü içeren kavanozlar kullanılmıştır. *In vitro* şartlarda çimlendirilen tohumlardan elde edilen bitkicikler gelişimleri için Murashige and Skoog, 1962-MS ortamına aktarılmışlardır. MS basal ortamı, MS mineral tuzları, 100 mgL⁻¹ myo-inositol, 2 mgL⁻¹ glisin, 0.5 mgL⁻¹ nikotinic asit, 0.5 mgL⁻¹ piridoksin-HCl, 0.1 mgL⁻¹ tiamin-HCL, %3 sukroz (w/v), % 0.8 agar-agar (w/v) içermektedir. Ortamın pH'sı 121°C'ta 15 dakika süreyle otoklavda steril edilmeden önce 0.1 M NaOH ve 0.1 M HCl çözeltileri ile 5.8'e ayarlanmıştır. Hazırlanan besi ortamı kavanozlara 50 mL olarak paylaştırılmıştır. Bitkicikler MS besi ortamında 4 hafta boyunca geliştirildikten sonra aksiller sürgün teşviki çalışmaları için başlangıç materyali olarak kullanılmıştır. Bu amaçla, bitkicikler köklerinden ayrılarak kontrol olarak hiçbir büyüme düzenleyicisi içermeyen ve farklı konsantrasyonda sitokinin N⁶-benzyladenine (BA), Thidiazuron (TDZ) veya Kinetin (KIN) (0.01 0.1, 1 ve 2 mgL⁻¹) içeren MS ortamlarına aktarılmıştır. Aksiller sürgün çoğaltımı denemelerinin sonuçları eksplant başına sürgün sayısı ve ortalama sürgün uzunlukları göz önüne alınarak 2. alt kültür sonunda değerlendirilmiştir. Her deneme bir kavonoza 3 eksplant gelecek şekilde 10 tekrarludur ve tüm denemeler 2 kez tekrar edilmiştir.

Aksiller sürgün çoğaltımı ile elde edilen sürgünler köklenme teşviki için stok kültürlerden ayrılarak IAA ve IBA'nın farklı konsantrasyonlarını (0.1, 0.5 ve 5 mgL⁻¹) içeren ve kontrol olarak herhangi bir bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen ½ MS ortamlarında kültüre edilmişlerdir. Her deneme bir kavonoza 5 eksplant gelecek şekilde 6 tekrarludur ve tüm denemeler 2 kez tekrar edilmiştir. Sonuçlar, kültür başlangıcından 6 hafta sonra % olarak değerlendirilmiştir.

Tüm kültürler soğuk beyaz floresan lambalar ile sağlanan 16/8 fotoperiyot ve 25±2°C'ta tutulmuşlardır. Kültürler 4 haftalık aralıklarla alt kültür edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı ve ortalama sürgün uzunlukları verilerinin ortalamaları ve standart hatalar SPSS 9 programı kullanılarak hesaplanmıştır. Farklılıklar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiş 0.05 önem düzeyinde Duncan Çoklu Oran Testi ile karşılaştırılmıştır. Köklenme ile ilgili sonuçlar % olarak değerlendirilmiştir.

3. Araştırma Bulguları ve Tartışma

Tohum sterilizasyonu prosedürü ile % 100 steril kültürler elde edildi. Tohumların çimlendirilmesi ile elde edilen bitkicikler MS ortamına aktarılarak 4 hafta boyunca gelişimleri sağlandıktan sonra, bitkicikler aksiller sürgün teşviki için köklerinden ayrılarak sitokinin içeren ve hiçbir bitki büyüme maddesi içermeyen MS ortamlarına aktarılmıştır. Aksiller sürgün çoğaltımı, bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen kontrol ortamı dahil tüm ortamlarda gerçekleşmiştir (Tablo 1). En yüksek sürgün oluşumu 0.1 mg/L BA ilaveli MS ortamında elde edilmiştir (10.20 sürgün/eksplant) (Şekil 1). BA ve KIN ilaveli ortamlarda sağlıklı sürgün oluşurken, TDZ ilaveli ortamlarda hiperhidrik sürgünler oluşmuştur (Şekil 2).

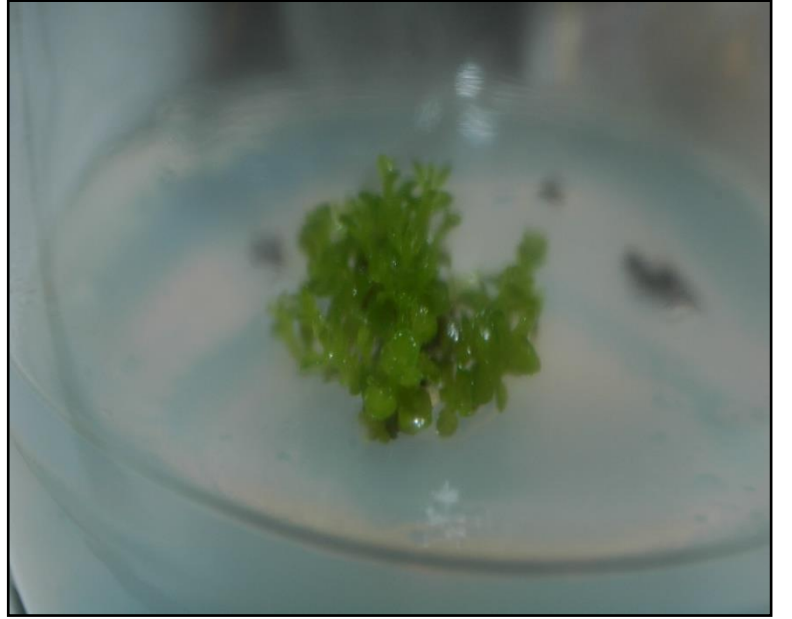
Tablo 1. *M. dolichodontha*'nın aksiller sürgün çoğaltımı üzerine sitokininlerin etkisi

BA (mgL ⁻¹)	TDZ (mgL ⁻¹)	KIN (mgL ⁻¹)	Sürgün Sayısı /Eksplant Mean ± S.E	Sürgün uzunluğu (mm) Mean ± S.E
-	-	-	04.20 ± 0.40 fgh	32 ± 0.19 bc
0.01	-	-	08.10 ± 0.72 b	41 ± 0.40 a
0.1	-	-	10.20 ± 0.93 a	34 ± 0.22 ab
1.0	-	-	06.50 ± 0.28 bcd	26 ± 0.28 cd
2.0	-	-	04.50 ± 0.25 fg	21 ± 0.29 d
-	0.01	-	04.65 ± 0.64 efg	25 ± 0.20 cd
-	0.1	-	06.70 ± 0.85 bcd	19 ± 0.21 de
-	1.0	-	03.35 ± 0.54 gh	13 ± 0.19 ef
-	2.0	-	02.80 ± 0.21 h	08 ± 0.15 f
-	-	0.01	06.20 ± 0.29 cde	38 ± 0.28 ab
-	-	0.1	07.30 ± 0.34 bc	32 ± 0.19 bc
-	-	1.0	05.50 ± 0.52 def	22 ± 0.29 d
-	-	2.0	03.80 ± 0.30 gh	19 ± 0.29 de

Aynı grafikte benzer harfle gösterilen ortalamalar Duncan Çoklu Oran Testine göre $p < 0.05$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak farklı değildir.



Şekil 1. 0.1 mgL⁻¹ BA içeren MS ortamında oluşan aksiller sürgünler



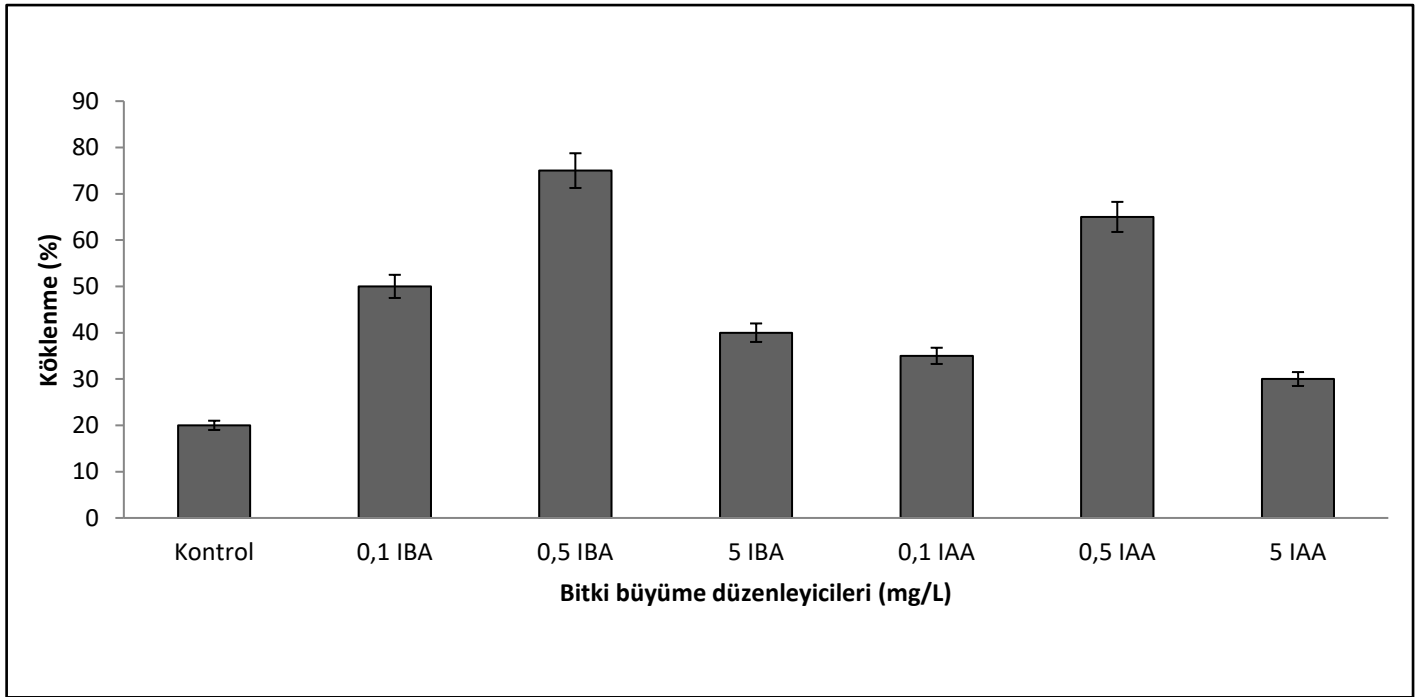
Şekil 2. 1.0 mgL⁻¹ TDZ içeren MS ortamında hiperhidrik sürgünler

In vitro kültür sırasında yüksek oranda sitokinin konsantrasyonları hiperhidrik sürgün oluşumuna neden olabilmektedir (Ziv, 1991; Kadota ve Niimi, 2003). Bu durum mikroçoğaltımı sınırlayan bir durumdur ve *Cunila incisa* (Agostini ve Echeverrigaray, 2006), *Lavandula dentata* (Echeverrigaray ve ark., 2005), *Salvia miltiorrhiza* (Chen ve ark., 2005), *Salvia guaranitica* Benth (Echeverrigaray ve ark., 2010) gibi birçok *Lamiaceae* familyası üyelerinin *in vitro* kültürü sırasında sınırlayıcı faktör olarak ortaya çıkmıştır.

Sürgün uzunluğu bakımından değerlendirilme yapıldığında en uzun sürgünlerin 0.01 mgL⁻¹ BA içeren MS ortamında elde edildiği görülmektedir (Tablo 1). Sitokinin konsantrasyonu arttıkça sürgün boyunda düşüş gözlenmiştir. *M. dolichodontha*'nın aksiller sürgün çoğaltımında BA, hem sürgün sayısı hem de sürgün uzunluğu bakımından diğer sitokininlere göre daha etkili bir sitokininidir. Tošić ve ark., (2015) *Micromeria juliana* (L.) Benth. ex Rchb. ile yaptıkları bir çalışmada aksiller sürgün çoğaltımında BA'nın etkili bir sitokinin olduğunu belirtmişlerdir. En yüksek aksiller tomucuk oluşumunu (9.39 sürgün/eksplant) 3µM BA ve 0.57 µM IAA ilaveli MS ortamında elde etmişlerdir.

Agostini ve Echeverrigaray (2006) *Cunila incisa* Benth. 'nın mikroçoğaltımında BA'nın sürgün çoğaltımını teşvik edici olduğunu belirtmişlerdir. Benzer sonuçlar *Lamiaceae* familyasına ait birçok tür içinde rapor edilmiştir (Elangomathavan ve ark., 2003; Lai-Keng, C., Leng, W., 2004; Sunandakumari ve ark., 2004; Erdağ ve ark., 2010; Echeverrigaray ve ark., 2010).

Aksiller sürgün çoğaltımı denemeleri sonucunda elde edilen sürgünler köklendirilmek için birbirlerinden ayrılarak farklı tip ve konsantrasyonda bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen ve oksin içeren ½ MS ortamlarında aktarılmışlardır. TDZ ortamlarında oluşan sürgünler hiperhidrik olduğu için köklendirilme denemelerinde kullanılmamıştır. *M. dolichodontha* sürgünleri tüm ortamlarda köklenmiştir (Şekil 3). En yüksek köklenme oranı (% 75) 0.5 mgL⁻¹ IBA'da elde edilmiştir. IBA *Lamiaceae* üyelerinin köklendirilmesi için etkili bir bitki büyüme düzenleyicisidir (Agostini ve Echeverrigaray, 2006; Erdağ ve ark., 2010; Fracaro and Echeverrigaray, 2001). Sürgünler, oksin içermeyen ortamda da köklenmiştir. Aksiller sürgün teşviki sırasında da düşük oranda spontane kök oluşumu gözlenmiştir. Bu durum birçok *Lamiaceae* türünde de rapor edilmiştir (Zuzarte ve ark., 2010; Bassolino ve ark., 2015).



Şekil 3. *M. dolichodontha* 'nın aksiller sürgün çoğaltımı yolu ile elde edilen sürgünlerinin köklenmesi üzerine IBA ve IAA'nın etkisi.

5. Sonuç

Micromeria dolichodontha P.H. Davis tıbbi öneme sahip endemik bir türdür. Tür aksiller sürgün çoğaltımı yöntemiyle başarılı bir şekilde üretilmiştir. Bu çalışmada belirlenen protokol ile, türün doğal populasyonuna zarar vermeden kısa sürede çok sayıda bitki elde etmek mümkündür. Böylece bu çalışma, istenilen sekonder metabolitlerin eldesi ile ilgili olarak ileride yapılacak olan çalışmalara ışık tutacaktır.

Teşekkür

Yazar, tohum temininden dolayı Doç.Dr. Tuncay Dirmenci'ye teşekkür eder.

Kaynaklar

- Abou-Jawdah, Y., Wardan, R., Sobh, H., Salameh, A. 2004. Antifungal activities of extracts from selected Lebanese wild plants against plant pathogenic fungi. *Phytopathologia Mediterranea* 43, 377–386.
- Agostini, G., Echeverrigaray, S. 2006. Micropropagation of *Cunila incisa* Benth., a potential source of 1,8-cineole. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu* 8, 186-189.
- Ali-Shtayeh, M.S., Yaghmour, R.M.R., Faidi, Y.R., Khalid, S., Al-Nuri, M.A., 1998. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology* 60, 265–271.
- Arslan, N., Gürbüz, B., Gümüşçü, A., Sarıhan, E.O., İpek, A., Özcan, S., Mirici, S. 2002. Researches on cultivation of

- Sternbergia candida* Mathew et. Baytop. Proceedings of 14th Meeting of Plant Originated Drugs Eskişehir, Turkey
- Aslan, I., Calmasur, O., Sahon, F., Çağlar, O. 2005. Insecticidal effects of essential plant oils against *Ephesia kuehniella* (Zell.), *Lasioderma serricorne* (F.) and *Sitophilus granarius* (L.). Journal of Plant Diseases and Protection 112 (3), 257–267.
- Bassolino, L., Giacomelli, E., Giovanelli, S., Pistelli, L., Cassetti, A., Damonte, G., Bisio, A., Ruffoni, B. 2015. Tissue culture and aromatic profile in *Salvia dolomitica* Codd. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 121 (1), 83–95.
- Başer, K.H.C., Kırmıner, N., Duman H. 1997. Composition of the essential oil of *Micromeria dolichodontha* P. H. Davis. Flavour and Fragrance Journal, 12, 289-291
- Baytop, T. 1984. Therapy with Plants in Turkey, Istanbul University Publication (No. 2355) 520p, Istanbul, Turkey.
- Bezić, N., Dunkić, V., Vuko, E. 2013. Antiphytoviral Activity of Essential Oils of Some Lamiaceae Species and Their Most Important Compounds on CMV and TMV. In: Méndez-Vilas, A. (ed.), Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education 2, 982-988. Formatex Research Center, Spain.
- Chen, U.C., Shiau, Y.J., Tsay, H.S., Hsia, C.N. 2005. Influence of cytokinin and ventilating container closure on shoot proliferation and hyperhydricity of *in vitro* *Salvia miltiorriza* culture. J. Taiwan Agric. Res. 54, 93-102.
- Davis, P. H. 1982. Flora of Turkey and the East Aegean Islands . Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Dudai, N., Poljakoff-Mayber, A., Mayer, A.M., Putievsky, E., Lerner, H.R. 1999. Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. Journal of Chemical Ecology 25(5), 1079-1089.
- Dudai, N., Chaimovitsh, D., Larkov, O., Fischer, R., Blaicher, Y., Mayer, A.M. 2009. Allelochemicals released by leaf residues of *Micromeria fruticosa* in soils, their uptake and metabolism by inhibited wheat seed. Plant Soil 314, 311–317.
- Duru, M.E., Öztürk, M., Ugur, A., Ceylan, O. 2004. The constituents of essential oil and *in vitro* antimicrobial activity of *Micromeria cilicica* from Turkey. Journal of Ethnopharmacology 94, 43–48.
- Echeverrigaray, S., Basso, R., Andrade, L.B. 2005. Micropropagation of *Lavandula dentata* from axillary buds of field-grown adult plants. Biol. Plant. 49, 439-442.
- Echeverrigaray, S. Carrer, R.S., Andrade, L.B. 2010. Micropropagation of *Salvia guaranitica* Benth. through axillary shoot proliferation. Brazilian Archives of Biology and Technology 53(4), 883-888.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N., 2000. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı (Red Data Book of Turkish Plants), Pteridophyta and Spermatophyta. Türkiye Tabiatını Koruma Derneği, Ankara.
- Elangomathavan, R., Prakash, S., Kathiravan, K., Seshadri, S., Ignacimuthu, S. 2003. High frequency *in vitro* propagation of Kidney Tea Plant. Plant Cell Tiss Org 72, 83-86.
- Erdağ, B., Emek, Y., Kurt, S. 2010. Clonal propagation of *Dorystoechas hastata* via axillary shoot proliferation. Turkish Journal of Botany 34, 233-240.
- Fracaro, F., Echeverrigaray, S. 2001. Micropropagation of *Cunila galioides*, a popular medicinal plant of south Brazil. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 64, 1-4.
- Güllüce, M., Sökmen, M., Şahin, F., Sökmen, A., Adıgüzel, A., Özer, H. 2004. Biological activities of the essential oil and methanolic extract of *Micromeria fruticosa* (L.) Druce ssp. *serpyllifolia* (Bieb.) P.H. Davis plants from the eastern Anatolia region of Turkey. Journal of the Science of Food and Agriculture 84(7), 735–741.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, C., 2000. “Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Supplement 2)” Vol. 11. University Press, Edinburgh.
- Kadota, M., Niimi, Y. 2003. Effect of cytokinin types and their concentration on shoot proliferation and hyperhydricity in *in vitro* pear cultivar shoots. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 72, 261-265.
- Lai-Keng, C., Leng, W. 2004. Plant regeneration from stem nodal segments of *Orthosiphon stamineus* Benth., a medicinal plant with diuretic activity. *In vitro* Cell Dev Biol Plant 40,115-118.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiology 15, 473-497.
- Özcan, M. 1999. Antifungal effects of *Micromeria myrtifolia* Boiss. and Hohen in Boiss. and *Prangos uechtritzi* (Boiss.) Hawsskn decoctions. Acta Alimentaria 28, 355–360.
- Philips, C.G., Hubstenbenger, J.F. 1995. Micropropagation by proliferation of axillary buds In: Plant Cell, Tissue and Organ Culture Fundamental Methods. Gamborg, O. L. and Philips, G. C. (eds), 45-47, Germany.
- Rout, G.R., Samantaray, S., Das, P. 2000. *In vitro* manipulation and propagation of medicinal plants. Biotechnol Adv 18, 91–120
- Sarac, N., Ugur, A. 2007 Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some *Lamiaceae* species growing in Muğla Turkey. EurAsian Journal of BioSciences 4, 28-37.
- Stojanovic, G., Palic, I. 2008. Antimicrobial and antioxidant activity of *Micromeria* Bentham Species. Current Pharmaceutical Design 14 (29), 3196-3202.
- Sunandakumari, C., Martin, K.P., Chithra, M., Sini, S., Madhusoodanan, P.V. 2004. Rapid axillary bud proliferation and *ex vitro* rooting of herbal spice, *Mentha piperita* L. Indian J Biotechnol 3, 108-112.
- Tabanca, N., Kırmıner, N., Demirci, B., Demirci, F., Başer, K.H.C. 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristata* subsp. *phrygia* and the enantiomeric distribution of borneol. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49, 4300-4303.
- Tošić, S., Nikolić, S., Jovanović, M., Zlatković, B., Stojičić, D. 2015. Micropropagation of *Micromeria juliana* (L.) Benth. ex Rchb. (Lamiaceae). Biologica Nyssana 6(1), 17-23
- Vladimir-Knežević, S., Blažeković, B., Bival Štefan, M., Alegro, A., Köszegy, T., Petrik, J. 2011. Antioxidant

activities and polyphenolic contents of three selected *Micromeria* species from Croatia. *Molecules* 16, 1454-1470.

Ziv, M., 1991. Vitrification: morphological and physiological disorders of *in vitro* plants. In: Debergh, P. C.; Zimmerman, R. H. (eds). *Micropropagation– Technology and application*. Dordrecht 45-69, Kluwer Academic Publish.

Zuzarte, M.R., Dinis, A.M., Cavaleiro, C., Salgueiro, L. R., Canhoto, J. M. 2010. Trichomes, essential oils and *in vitro* propagation of *Lavandula pedunculata* (Lamiaceae). *Industrial Crops and Products* 32,580–587.