



Yabani Ravent (*Rheum ribes* L.)'in Doku Kültürü ile Çoğaltım Olanakları Üzerine Araştırma

Burcu TUNCER*, Büşra GÜNSAN

Van Yüzcüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Van, TÜRKİYE

Geliş Tarihi/Received: 23.06.2017

Kabul Tarihi/Accepted: 20.08.2017

ORCID ID (Yazar sırasına göre / by author order)

<https://orcid.org/0000-0002-4402-4536> <https://orcid.org/0000-0003-4071-860X>

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: brctuncer@gmail.com

Özet: *Rheum ribes* L. tıbbi öneme sahip çok yıllık yabani bir bitki türüdür. Bu çalışmada, *in vitro* koşullarda büyütülmüş 7 günlük fidelerden alınan farklı eksplant tipleri (hipokotil ve kotiledon), Indol-3-butirik asit (IBA) (0.0 ve 1.0 mg L⁻¹) ve 6-Benzilaminopurin (BAP) (0.0, 1.0 ve 2.0 mg L⁻¹) kombinasyonları ilave edilmiş MS (Murashige and Skoog) besin ortamında kültüre alınmıştır. Araştırma sonucunda sürgün ve kallus oluşumu yönünden hipokotil eksplantlarının kotiledon eksplantlarından daha başarılı olduğu belirlenmiştir. Hipokotil eksplantlarında, eksplant başına en yüksek sürgün sayısı (4.0 adet eksplant⁻¹) 2mg L⁻¹ BAP ve 1 mg L⁻¹ IBA ilavesi yapılmış MS ortamından (MS6) elde edilirken, kallus oluşum oranı açısından ise MS4 (MS + 1 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA) (% 88.8) ve MS6 (MS + 2 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA) (% 83.3) ortamlarının daha başarılı olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Rheum ribes* L., *in vitro* rejenerasyon, kallus, sürgün

Research on Regeneration Via Tissue Culture on Wild Rhubarb (*Rheum ribes* L.)

Abstract: *Rheum ribes* L. is a perennial wild medicinal plant. In this study, the different explants types (hypocotyl and cotyledon) taken from 7-days-old plantlets were cultured in MS (Murashige and Skoog) media supplemented with 0.0, 1.0 and 2.0 mg L⁻¹ of 6-Benzylaminopurine (BAP) with 0.0 and 1.0 mg L⁻¹ of Indole-3-butyric acid (IBA). Hypocotyl explants were found to be more successful than cotyledon explants in terms of shoot and callus formation. The highest number of shoots per explant (4.0 shoot explant⁻¹) was obtained from MS medium supplemented with 2 mg L⁻¹ BAP and 1 mg L⁻¹ IBA (MS6) from the hypocotyl explants. In terms of the rate of callus formation (%), MS4 (MS + 1 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA) (88.8%) and MS6 medium (MS + 2 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA) (83.3%) were found to be more successful than the hypocotyl explants.

Keywords: *Rheum ribes* L., *in vitro* regeneration, callus, shoot

1. Giriş

Yabani ravent (*Rheum ribes* L.) Polygonaceae familyasından çok yıllık otsu yabani bir bitki olup; ışgın, uçkun adları ile de bilinmektedir. *Rheum* cinsine ait ülkemizde yetişen tek tür *Rheum ribes* L.'dir (Cullen, 1996). Bu yabani tür; Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'nde, İran ve Lübnan'da dağılım göstermektedir.

Bitki, Türkiye'de Nisan ayından itibaren yöre halkı tarafından dağlardan toplanmakta ve halk pazarlarında 10 TL kg⁻¹ olarak satılmaktadır. Bitkinin yöre halkı tarafından farklı kullanım şekilleri de bulunmaktadır. Genç haldeki bitkinin gövde kısmı ve yaprak sapı soyulduktan sonra çiğ olarak tüketilebildiği gibi, turşusu ve yumurtalı kavurması yapılabilmektedir. Tıbbi değeri de olan

ışık bitkisinin mideyi kuvvetlendirdiği, kusma, şeker hastalığı ve hemoroidi önlediği belirtilmektedir (Munzuroğlu ve ark., 2000; Tabata ve ark., 2000). Nitekim, kurutulduktan sonra kaynatılarak içilen ışık kökleri şeker hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır. Taze sürgünlerinin A, C ve E vitamini açısından zengin olduğu, selenyum düzeyinin beslenme açısından yeterli oranda olduğu bildirilmiştir (Munzuroğlu ve ark., 2000). Bitkinin 100 g yenilebilir kısımda 20.4 mg askorbik asit, 2.25 g protein, 0.24 g yağ, 1.15 g kül, 25.1 mg fosfor, 114.4 mg potasyum, 60.3 mg kalsiyum, 24.6 mg sodyum içermektedir (Alan ve Padem, 1989).

Henüz kültüre alma çalışmalarının yapılmadığı, tıbbi bitki olarak önem taşıyan yabancı ravent (*Rheum ribes* L.)'in, yöre halkı tarafından doğal habitatlarından bilinçsiz olarak toplanması sırasında köklerinin tahrip edilmesi veya köklü olarak bitkilerin tamamen topraktan sökülmesi nedeniyle, bu türler ileride yok olma tehlikesiyle karşı karşıya kalma durumundadır. Bu nedenle bu türlerin korunması için gerekli önlemler alınmalıdır. Bitki doku kültürü teknikleri bitki biyoçeşitliliğini korumaya olanak sağlamaktadır. Yabancı ravent gibi çok yıllık bitki türlerinde klasik ıslah çalışmaları uzun zaman almakta ve iş gücü gerektirmektedir. Oysaki doku kültürü

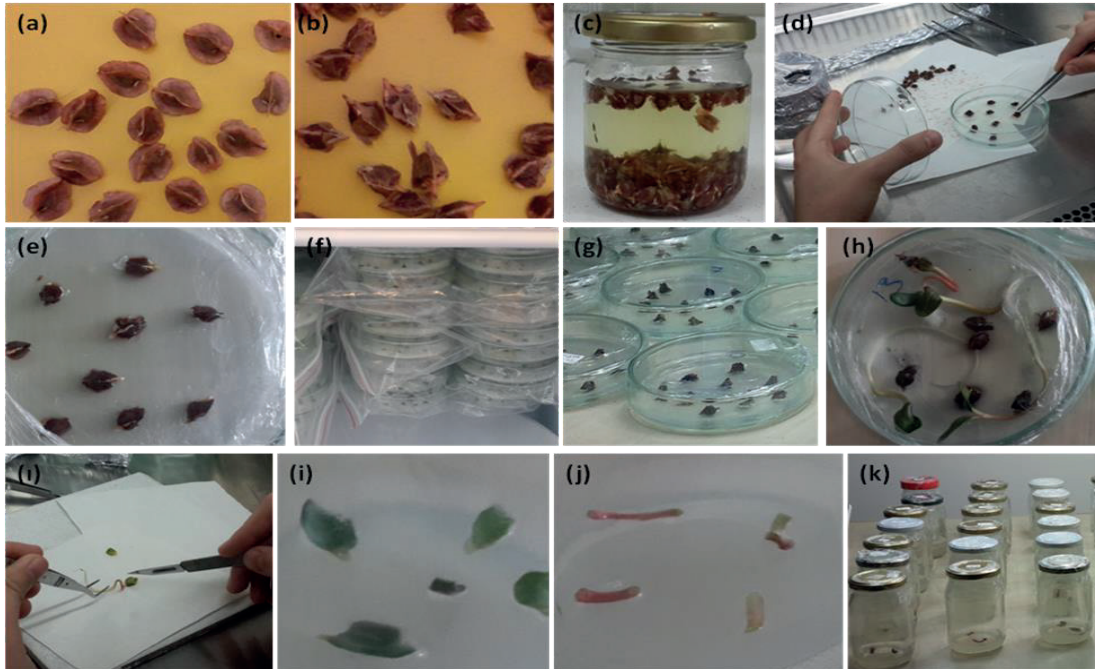
teknikleriyle bu süreyi kısaltmak mümkündür. Doku kültürü teknikleriyle tıbbi değeri olan bitkiler, yok olma tehlikesi altındaki türler, yabancı türler ve endemik türlerin de *in vitro* teknikler ile mikro çoğaltımının yapıldığı bildirilmektedir (Martin, 2002; Sahrawat ve Chand, 2002; Thomas ve Jacob, 2004; Paunescu ve Holobiuc, 2005, Guo ve ark., 2007; Dhandapani ve ark., 2008; Wang ve ark., 2010, Tabin ve ark., 2016). Ancak her tür için kullanılan *in vitro* rejenerasyon tekniğinin optimizasyonunun sağlanması ve uygun protokolün geliştirilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada, tıbbi bitki olarak önem taşıyan *Rheum ribes* L.'de farklı eksplant tipi ve MS (Murashige ve Skoog) besin ortamına ilave edilen farklı büyüme düzenleyici madde kombinasyonlarının *in vitro* çoğaltım olanakları üzerine etkisi araştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Bitki materyali

Çalışmada bitki materyali olarak; Türkiye'de Hakkâri ilinden temin edilen, *Rheum ribes* L. bitkisinin tohumları kullanılmıştır (Şekil 1a). Tohumlar geniş kanatlı yapıya sahip olduklarından dolayı sterilizasyon işleminden önce tohumun kanatları embriyoya zarar vermeyecek şekilde elle çıkartılmıştır (Şekil 1b).



Şekil 1. *Rheum ribes* L. bitkisinin (a) kanatlı yapıdaki tohumları, (b) kanatları çıkartılmış tohumlar, (c) tohumların sterilizasyonu, (d, e) tohumların MS çimlendirme ortamına ekimi, (f) ekimi yapılan tohumların buzdolabında 30 gün süreyle bekletilmesi, (g) iklim odası koşullarına alınan tohumlar, (h) çimlenmiş 7 günlük *in vitro* bitkicikler, (i) eksplantların hazırlanması, (j) kotiledon ve (j) hipokotil eksplantlarının sürgün rejenerasyon ortamına dikimi, (k) iklim odasında kültüre alınan eksplantlar

2.2. Tohumların sterilizasyonu

Tohumların sterilizasyonu 3 aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada tohumlar fungal hastalıkların önlenmesi amacıyla benomil solüsyonunda (% 0.3) 1 saat kadar bekletilmiş, ardından 1 saat süreyle saf suda çalkalanarak yıkanmıştır. İkinci aşamada; tohumlar dikim kabini içine alınarak % 70'lik etil alkolde 30 saniye süreyle bekletildikten sonra, bidistile suyla 1-2 kez çalkalanarak etil alkolün ortamdan uzaklaştırılması sağlanmıştır. Son aşamada ise; tohumlar % 50' lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 10 dakika kadar çalkalandıktan sonra, 3-5 kez 3'er dakika bidistile suyla yıkanarak sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır (Şekil 1c) (Farzami-Sepehr ve Ghorbanli, 2002).

2.3. *İn vitro* çimlendirme

Sterilizasyonu yapılmış olan tohumlar 10 cm'lik petri kutuları içerisinde (ortalama 9-10 tohum petri⁻¹) hormon içermeyen MS (Murashige ve Skoog, 1962) ortamında (30 g L⁻¹ sakkaroz, 7 g L⁻¹ agar, pH: 5.8) çimlendirilmiştir (Şekil 1d ve 1e). Ekim yapılan petri kutuları, tohumların soğuklama gereksinimlerinin karşılanması amacıyla buzdolabı poşetlerine alınarak 30 gün süreyle 4 °C'de bekletilmiştir (Şekil 1f). Bu sürenin sonunda petri kutularındaki tohumlar çimlendirilmek amacıyla 25 °C'de 16/8 saat aydınlık/karanlık koşullardaki iklim odasına alınmıştır (Şekil 1g).

2.4. *İn vitro* sürgün rejenerasyonu

Çimlenen 7 günlük *in vitro* fidelerden (Şekil 1h) alınan kotiledon ve hipokotil eksplantları MS (Murashige ve Skoog, 1962) ortamında (30 g sakkaroz L⁻¹, 7 g L⁻¹ agar, pH: 5.8) farklı konsantrasyonlarda BAP (0.0, 1.0 ve 2.0 mg L⁻¹) ve IBA (0.0 ve 1.0 mg L⁻¹) içeren besin ortamlarına dikilmiştir (Şekil 1i-j) (Farzami-Sepehr ve Ghorbanli, 2002, 2005). Dikilen eksplantlar 25 °C 16 saat gün uzunluğundaki iklim odasında kültüre alınmış (Şekil 1k); 5-6 hafta sonra kotiledon ve hipokotil eksplantlarından elde edilen kallus sayısı ve kallus oluşum oranı (%) ile eksplant başına sürgün sayısı ve eksplant başına sürgün oluşum oranı (%) hesaplanmıştır. Farklı oranlarda büyümeyi düzenleyici madde içeren MS besin ortamı bileşimleri ve adları Tablo 1'de özetlenmiştir.

2.5. *İn vitro* kök rejenerasyonu

Yaklaşık 2 cm uzunluğuna ulaşan sürgünler 0.5 mg L⁻¹ IBA içeren 1/2 MS ortamında köklendirilmiştir (Farzami Sepehr ve Ghorbanli, 2005).

2.6. İstatistiksel değerlendirme yöntemi

Her bir uygulama; tesadüf parselleri deneme desenine göre 5 tekerrürlü olarak ve her tekerrürde 4 adet eksplant olacak şekilde yürütülmüştür. Buna göre, çalışmada ele alınan özelliklerin karşılaştırılması amacıyla tesadüf parselleri deneme desenine göre varyans analizi yapılmıştır. Elde edilen ortalamalar arasındaki farklılıklarda istatistik önemlilik düzeyi % 5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanılmıştır.

Tablo 1. Farklı oranlarda büyümeyi düzenleyici madde içeren MS besin ortamı bileşimleri ve adları

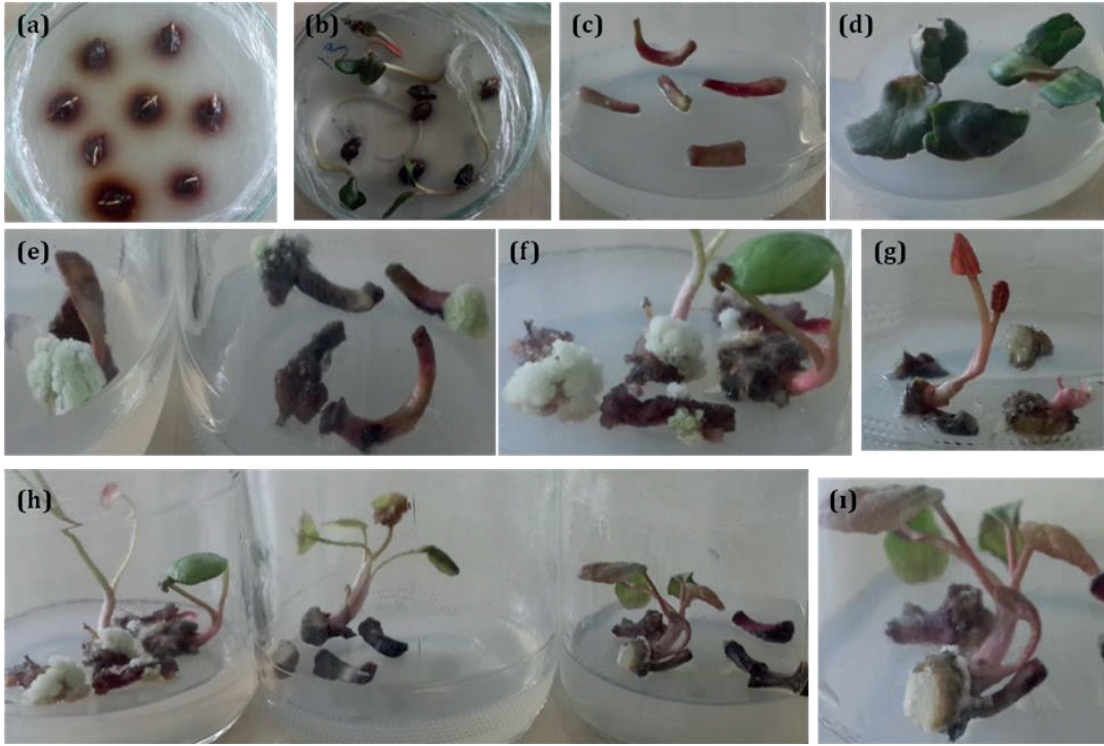
Besin ortamı adı	Büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonu (mg L ⁻¹)	
	BAP	IBA
MS1	0.0	0.0
MS2	0.0	1.0
MS3	1.0	0.0
MS4	1.0	1.0
MS5	2.0	0.0
MS6	2.0	1.0

3. Bulgular ve Tartışma

Hormon içermeyen MS ortamına ekilen tohumlarda kültürün 2. gününde tohum renginden kaynaklı olarak besin ortamına tohum renginin boyası akmaya başlamıştır (Şekil 2a). Bu nedenle çimlenmenin 4. gününde çimlenmeye başlayan tohumlar taze hormon içermeyen MS ortamına aktarılmış ve 7 günlük *in vitro* bitkiciklerden eksplantlar alınmıştır (Şekil 2b). Sürgün rejenerasyon ortamlarına dikilen eksplantlarda kültürün yaklaşık 10. gününden itibaren hipokotil ve kotiledon eksplantlarında şişmeler görülmüştür (Şekil 2c ve 2d).

Yabani ravent (*Rheum ribes* L.)'de farklı hormon kombinasyonlarının kullanıldığı MS ortamlarında hipokotil ve kotiledon eksplantlarından elde edilen kallus ve sürgün sayıları ile % oranları Tablo 2'de verilmiştir. Eksplant ortalamaları arasındaki farklılık, incelenen tüm özellikler bakımından istatistik olarak önemli bulunmuş (p<0.05), kallus ve sürgün oluşumu yönünden, hipokotil eksplantlarının kotiledon eksplantlarına göre daha başarılı olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

Besin ortamı ortalamaları arasındaki farklılık incelendiğinde ise, kallus sayısı ve kallus oranı bakımından en başarılı ortamların aynı istatistik grup içinde yer alan MS6 (8.3 adet kallus, % 69.4) ve MS4 (7.8 adet kallus, % 65.2) ortamları olduğu; bunu MS5 (4.0 adet kallus, % 33.2) besin ortamının izlediği; en başarısız ortamın ise kallus



Şekil 2. (a) MS ortamına ekilmiş tohumlarda boya maddesinin besin ortamına akması, (b) taze ortama aktarılmış 7 günlük *in vitro* bitkicikler, (c, d) sürgün rejenerasyon ortamına dikilen eksplantlarda 10. gündeki şişmeler, (e) MS5 ortamında kotiledon ve hipokotil eksplantlarından kallus oluşumu, (f, g, h) MS4 (i) MS6 ortamında hipokotil eksplantlarından kallus ve sürgün oluşumları

oluşumunun gözlenmediği MS1 ortamı olduğu saptanmıştır (Tablo 2).

Eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün oluşum oranı yönünden besi ortamı ortalamaları arasındaki farklılıklar incelendiğinde; 2 mg L⁻¹ BAP ve 1 mg L⁻¹ IBA katılmış MS6 ortamı (2 sürgün eksplant⁻¹, % 33.3) en başarılı ortam olurken, sürgün oluşumunun gözlenmediği MS1 ve MS2 ortamları en başarısız ortamlar olarak belirlenmiştir (Tablo 2).

Yapılan literatür taramalarından elde edilen bulgular, besin ortamına katılan düşük oksin konsantrasyonlarının sitokinin grubu bitki büyüme düzenleyici maddelerle birlikte uygulanmasının *in vitro* bitki rejenerasyonu üzerine olumlu etkisinin olduğunu bildirmektedir (Thomas ve Maseena, 2006; Irvani ve ark., 2010). Kozak ve Salata (2011), *Rheum rhaponticum* L.'de aseptik koşullarda yetiştirilmiş fideleri, sürgün çoğaltımı sağlamak amacıyla benziladenin (BA) (4.4, 11.1, 22.2 µmol.dm⁻³), kinetin (4.7, 11.6, 23.3 µmol.dm⁻³), 2-isopentiladenin (2iP) (4.9, 12.3, 24.6 µmol.dm⁻³) ve thidiazuron (TDZ) (4.5, 11.4, 22.7 µmol.dm⁻³) ilave edilmiş MS ortamında kültüre almışlardır. Çalışma sonucunda sitokininin yaprak gelişiminin yanı sıra, yeni sürgün oluşumunu teşvik ettiğini, en yüksek sürgün oluşumunun BA

(11.1-22.2 µmol.dm⁻³) ilave edilmiş ortamdan elde edildiğini, kinetin (4.7, 11.6 µmol.dm⁻³) veya 2iP (12.3 µmol.dm⁻³) içeren ortamlarda sürgünlerin yaprak uzunluğu ve yaprak büyüklüklerinin arttığını bildirmişlerdir. Lal ve Ahuja (1993), *Rheum emodi* Wall'da en yüksek sürgün oluşumunun (9.2 adet sürgün⁻¹) 1-2 cm uzunluğundaki sürgün ucu eksplantlarının, sıvı MS + 8.9 µM BA + 4.9 µM IBA ortamından elde edildiğini bildirmişlerdir. Literatürlerdeki bu sonuçların, araştırmamız bulgularıyla uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

Kallus sayısı ve oranı ile eksplant başına sürgün sayısı ve oranı yönünden, eksplant tipi x besi ortamı interaksyonunun da istatistik olarak önemli (P < 0.05) olduğu görülmüştür. Genellikle hipokotil eksplantlarında incelenen özellikler yönünden daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmada, hipokotil eksplantlarında kallus sayısı, kallus oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve oranı sırasıyla 0.0-10.6 adet, % 0.0- 88.8, 0.0-4.0 sürgün eksplant⁻¹, % 0.0-66.6 olarak saptanmıştır (Tablo 2). Şekil 2e, 2f, 2g, 2h ve 2i'de farklı ortam kombinasyonlarından elde edilen kallus ve sürgün oluşumları görülmektedir. Farzami Sepehr ve Ghorbanli (2002), *Rheum ribes* L.'de, 5 günlük *in vitro* gelişmiş fidelerden hipokotil eksplantlarını

Tablo 2. *Rheum ribes* L.'de eksplant tipi ve besi ortamına ilave edilen farklı büyüme düzenleyici madde kombinasyonlarının kallus ve sürgün oluşumu üzerine etkisi*

Besi ortamı adları	Eksplant tipi	Kallus sayısı (adet)	Kallus oranı (%)	Sürgün sayısı (adet eksplant ⁻¹)	Sürgün oranı (%)
MS1	Hipokotil	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 e
	Kotiledon	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 e
Ortalama		0.0 ± 0.0 D	0.0 ± 0.0 D	0.0 ± 0.0 D	0.0 ± 0.0 D
MS2	Hipokotil	3.6 ± 0.3 cd	30.5 ± 4.8 cd	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 e
	Kotiledon	3.0 ± 0.4 d	24.8 ± 8.6 d	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 e
Ortalama		3.3 ± 0.8 BC	27.6 ± 7.0 BC	0.0 ± 0.0 D	0.0 ± 0.0 D
MS3	Hipokotil	4.3 ± 0.3 cd	36.1 ± 4.8 cd	1.3 ± 0.3 c	19.0 ± 5.1 d
	Kotiledon	1.0 ± 0.2 e	8.1 ± 2.2 e	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 e
Ortalama		2.6 ± 1.9 C	22.1 ± 9.2 C	0.6 ± 0.2 C	9.5 ± 4.2 C
MS4	Hipokotil	10.6 ± 1.5 a	88.8 ± 10.7 a	2.6 ± 0.3 b	49.9 ± 8.3 b
	Kotiledon	5.0 ± 0.8 c	41.5 ± 8.5 c	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 e
Ortalama		7.8 ± 2.1 A	65.2 ± 9.1 A	1.3 ± 0.9 B	24.9 ± 9.8 B
MS5	Hipokotil	7.0 ± 1.0 b	58.3 ± 8.3 b	1.0 ± 0.0 c	27.7 ± 4.7 c
	Kotiledon	1.0 ± 0.4 e	8.1 ± 2.4 e	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 e
Ortalama		4.0 ± 1.8 B	33.2 ± 8.6 B	0.5 ± 0.3 C	13.8 ± 8.2 C
MS6	Hipokotil	10.0 ± 1.0 a	83.3 ± 8.3 a	4.0 ± 0.89 a	66.6 ± 8.3 a
	Kotiledon	6.6 ± 0.3 b	55.5 ± 4.8 b	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 e
Ortalama		8.3 ± 1.9 A	69.4 ± 10.1 A	2.0 ± 0.2 A	33.3 ± 6.9 A
Eksplant ortalaması	Hipokotil	5.9 ± 2.1 ¹	49.5 ± 6.9 ¹	1.5 ± 0.9 ¹	27.2 ± 5.8 ¹
	Kotiledon	2.7 ± 1.2 ²	23.0 ± 9.8 ²	0.0 ± 0.0 ²	0.0 ± 0.0 ²

Aynı sütunda farklı büyük harfler besin ortamları arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05), aynı sütunda farklı rakamlar eksplant tipi ortalamaları arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05), aynı sütunda farklı küçük harfler eksplant tipi x besin ortamı interaksyonunu göstermektedir (p<0.05)

olarak 1 mg L⁻¹ BA ve 1 mg L⁻¹ IBA ilavesi yapılmış MS ortamında kallus üretmişlerdir. Wang ve ark. (2011), *Rheum franzenbachii* Munt.'da yaprak eksplantlarından en yüksek kallus uyartımının % 58.3 oranla 2.0 mg L⁻¹ BAP ve 0.5 mg L⁻¹ naphthaleneasetik asit (NAA) ilave edilmiş MS ortamından elde edildiğini, kallus çoğaltımı yönünden ise 0.5-4.0 mg L⁻¹ TDZ ve 0, 0.2 mg L⁻¹ NAA kombinasyonunun 0.5-4.0 mg L⁻¹ TDZ + 0, 0.2 mg L⁻¹ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy asetik asit) + 0, 0.2 mg L⁻¹ IAA (Indole-3-asetik asit) kombinasyonuna göre daha başarılı olduğunu belirlemişlerdir.

Kotiledon eksplantlarından meydana gelen kallus sayısı 0.0-6.6 adet, kallus oranı ise % 0.0-55.5 arasında değişim gösterirken, kotiledon eksplantlarından hiçbir ortam bileşiminde sürgün oluşumu sağlanamamıştır. Eksplant başına en yüksek sürgün sayısı (4.0 adet eksplant⁻¹) ve oranı (% 66.6) hipokotil eksplantlarından MS6 ortamından elde edilirken, kallus oluşum oranı açısından ise MS4 (% 88.8) ve MS6 (% 83.3) ortamları daha başarılı bulunmuştur. Her iki eksplant tipinde de en başarısız ortam ise hiç hormon ilave edilmeyen MS1 ortamı olmuştur (Tablo 2).

Malik ve ark. (2010), *Rheum emodi* Wall.'ın rizom eksplantlarından en yüksek sürgün rejenerasyonunun 10 µM BAP ve 5 µM IBA katılmış sıvı MS ortamından sağlandığını

bildirmişlerdir. Bunun aksine Rashid ve ark. (2014), *Rheum webbianum* Royle'de rizom eksplantlarından en yüksek kallus oluşumunun (% 100) kültürün 30. gününde 0.5 mg L⁻¹ 2,4-D ilave edilmiş ortamdan, elde edilen kalluslardan maksimum sürgün rejenerasyonunun (2.8 adet sürgün) ise kültürün 16. gününde katı MS + BAP (5.0 mg L⁻¹) + IAA (2.0 mg L⁻¹) ortamından sağlandığını bildirmişlerdir.

Araştırmamızda yaklaşık 2 cm uzunluğuna ulaşan sürgünler 6 hafta sonra 0.5 mg L⁻¹ IBA içeren 1/2 MS köklendirme ortamına alınmış ve bu ortamda yüksek oranda kök oluşumu sağlanmıştır. Bu bulgumuz Farzami Sepehr ve Ghorbanli (2005)'nin bulgularıyla uyum göstermektedir.

4. Sonuçlar

Farklı *Rheum* cinsine ait türlerde *in vitro* mikroçoğaltım çalışmaları bulunmasına rağmen, *Rheum ribes* L. türünde yapılmış olan *in vitro* rejenerasyon çalışmalarının yok denecek kadar sınırlı sayıda olduğu belirlenmiştir. Burada sunulan çalışmada, tıbbi öneme sahip olan *Rheum ribes* L.'de farklı eksplant tipi ve MS besin ortamına ilave edilen farklı büyüme düzenleyici madde kombinasyonlarının *in vitro* rejenerasyon üzerine etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonucunda hipokotil eksplantları kallus ve sürgün oluşumu yönünden daha başarılı bulunmuştur. Hipokotil eksplantlarında ortam kombinasyonlarına göre

değişen oranlarda sürgün oluşumu sağlanırken, kotiledon eksplantlarından hiçbir ortam kombinasyonundan sürgün elde edilememiştir. En yüksek kallus oluşumu hipokotil eksplantlarında MS6 (MS + 2 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA) ve MS4 (1 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA) ortamlarından elde edilirken, sürgün oluşumu bakımından MS6 ortamı en başarılı ortam olarak belirlenmiştir. Burada sunulan çalışma bir ön çalışma niteliğinde olup, ileride yapılması planlanan çalışmalarda, 2 mg L⁻¹ BAP ve üzeri dozların daha düşük oksin konsantrasyonlarıyla birlikte uygulanmasının yanı sıra, farklı oksin-sitokinin grubu hormonların denenmesinin ve eksplant tipi olarak hipokotil eksplantlarının yanı sıra *in vitro* bitkiciklerden alınan kök eksplantlarının da kullanılmasının sürgün rejenerasyonu açısından faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Alan, R., Padem, H., 1989. Erzurum yöresinde sebze olarak kullanılan yabani otlardan ışık, uzun yemlik, madımak, tel pancarı ile ebegümeci üzerine araştırmalar. *Gıda*, 14(5): 281-287.
- Cullen, J., 1966. *Rheum L.* In: P.H. Davis (Ed), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh University Press, Edinburgh, pp. 268-269.
- Dhandapani, M., Kim, D.H., Hong, S.B., 2008. Efficient plant regeneration via somatic embryogenesis and organogenesis from the explants of *Catharanthus roseus*. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 44(1): 18-25.
- Guo, B., Gao, M., Liu, C.Z., 2007. In vitro propagation of an endangered medicinal plant *Saussurea involucrata* Kar. et Kir. *Plant Cell Reports*, 26(3): 261-265.
- Farzami Sepehr, M., Ghorbanli, M., 2002. Effects of nutritional factors on the formation of anthraquinones in callus cultures of *Rheum ribes L.* *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 68(2): 171-175.
- Farzami Sepehr, M., Ghorbanli, M., 2005. Formation of catechin in callus cultures and micropropagation of *Rheum ribes L.* *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(10): 1346-1350.
- Irvani, N., Solouki, M., Omid, M., Zare, A.R., Shahnazi, S., 2010. Callus induction and plant regeneration in *Doreum ammoniacum D.*, an endangered medicinal plant. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 100(3): 293-299.
- Kozak, D., Salata, A., 2011. Effect of cytokinins on in vitro multiplication of rhubarb (*Rheum rhaponticin L.*) karpow lipskiego' shoots and ex vitro acclimatization and growth. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 10(4): 75-87.
- Lal, N., Ahuja, P. S., 1993. Assessment of liquid culture procedures for *in vitro* propagation of *Rheum emodi*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 34(2): 223-226.
- Malik, S., Sharma, N., Sharma, U.K., Singh, N.P., Bhushan, S., Sharma, M., Sinha, A.K., Ahuja, P.S., 2010. Qualitative and quantitative analysis of anthraquinone derivatives in rhizomes of tissue culture-raised *Rheum emodi* Wall. plants. *Journal of Plant Physiology*, 167(9): 749-756.
- Martin, K.P., 2002. Rapid propagation of *Holostemma ada-kodien* Schult., a rare medicinal plant, through axillary bud multiplication and indirect organogenesis. *Plant Cell Reports*, 21(2): 112-117.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(43): 473-497.
- Munzuroğlu, Ö., Karataş, F., Gür, N., 2000. A study of the levels of vitamins A, E and C and selenium in rhubarb (*Rheum ribes L.*). *Turkish Journal of Biology*, 24(3): 397-404.
- Paunescu, A., Hololobiuc, I., 2005. Preliminary researches concerning micropropagation of some endemic plants from Romanian flora. *Acta Horti Botanici Bucurestiensis*, 32: 103-108.
- Sahrawat, A.K., Chand, S., 2002. Somatic embryogenesis and plant regeneration from root segments of *Psoralea corylifolia L.*, an endangered medicinally important plant. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 38(1): 33-38.
- Rashid, S., Kaloo, Z.A., Singh, S., Bashir, I., 2014. Callus induction and shoot regeneration from rhizome explants of *Rheum webbianum* Royle- a threatened medicinal plant growing in Kashmir Himalaya. *Journal of Scientific and Innovative Research*, 3(5): 515-518.
- Tabata, M., Sezik, E., Honda, G., Yesilada, E., Fuki, H., Goto, K., Ikeshiro, Y., 2000. Traditional medicine in Turkey III. Folk medicine in East Anatolia, Van and Bitlis provinces. *International Journal of Pharmacognosy*, 32: 3-12.
- Tabin, S., Kamili, A.N., Gupta, R.C., 2016. Novel study on in vitro culture of *Rheum spiciforme* Royle: An endangered medicinal plant of Gurez valley. *International Journal of Current Research*, 8(4): 28971-28979.
- Thomas, T.D., Jacob, A., 2004. Direct somatic embryogenesis of *Curculigo orchioides* Gaertn., an endangered medicinal herb. *Journal of Plant Biotechnology*, 6(3): 193-197.
- Thomas, T.D., Maseena, E.A., 2006. Callus induction and plant regeneration in *Cardiospermum halicacabum* Linn. an important medicinal plant. *Scientia Horticulturae*, 108(3): 332-336.
- Wang, J.L., Wang, J., Liu, K., Xiao, X., Gong, W.Z., Lu, Y., Liu, M.F., Xu, D.T., 2010. An efficient plant regeneration system with in vitro flavonoid accumulation for *Hylotelephium tatarinowii* (Maxim.) H. Ohba. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 46(5): 445-450.
- Wang, J., Lu, Y., Wang, Q., Liu, K., Song, Y., Bi, K., 2011. An efficient callus proliferation protocol and rhaponticin accumulation of *Rheum franzenbachii* Munt., a medicinal plant. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 20(2): 252-257.