ISSN: 2148-2306
e-ISSN: 2528-858X
dergipark.gov.tr/tutad

CİLT (VOLUME) : 4 | SAYI (NUMBER) : 3 | 2017

Turkish Journal of Agricultural Research

TÜTAD

TÜRKİYE TARIMSAL ARAŞTIRMALAR DERGİSİ

Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
University of Siirt, Faculty of Agriculture

SİİRT ÜNİVERSİTESİ 2007
bilimin ışığında

SİİRT ÜNİVERSİTESİ
ZİRAAT FAKÜLTESİ

Siirt University
Faculty of Agriculture

TÜRKİYE TARIMSAL ARAŞTIRMALAR DERGİSİ

Turkish Journal of Agricultural Research

ISSN: 2148-2306
e-ISSN: 2528-858X

Cilt Volume 4 Sayı Number 3 2017

EDİTÖRLER KURULU / EDITORIAL BOARD

Baş Editör, Yazı İşleri Sorumlusu / Editor-in-Chief

Yrd. Doç. Dr. / *Asst. Prof.* Mehmet Arif ÖZYAZICI
Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Siirt, TÜRKİYE
Siirt University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Siirt, TURKEY

Editör Yardımcısı / Associate Editor

Yrd. Doç. Dr. / *Asst. Prof.* Mustafa Cemal ÇİFTÇİ
Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Siirt, TÜRKİYE
Siirt University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Siirt, TURKEY

İngilizce Dil Editörü / English Language Editor

Yrd. Doç. Dr. / *Asst. Prof.* Harun BEKTAŞ
Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Siirt, TÜRKİYE
Siirt University, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Biotechnology, Siirt, TURKEY

Alan Editörleri / Subject Editors

Dr. Abdollah MOHAMMADI-SANGCHESHMEH	Molecular Biology and Genetic, University of Tehran, IRAN
Dr. Abdul WAHEED	Animal Science, Bahauddin Zakariya University, PAKISTAN
Doç. Dr. / *Assoc. Prof.* Abdulkadir SÜRÜCÜ	Toprak Bilimi ve Bitki Besleme, Bingöl Üniversitesi, TÜRKİYE *Soil Science and Plant Nutrition, Bingöl University, TURKEY*
Prof. Dr. Aivars ĀBOLTIŅŠ	Renewable Energy and Emissions in Agriculture, Latvia University, LATVIA
Prof. Dr. Amin ISMAYILOV	Agricultural Structures and Irrigation, Science Academy of Azerbaijan, AZERBAIJAN
Assoc. Prof. Apostolos KYRIAZOPOULOS	Grassland and Ecology, Democritus University of Thrace, GREECE
Yrd. Doç. Dr. / *Asst. Prof.* Arzu ÇIĞ	Bahçe Bitkileri, Siirt Üniversitesi, TÜRKİYE *Horticulture, Siirt University, TURKEY*
Yrd. Doç. Dr. / *Asst. Prof.* Arzu KOÇAK	Tarımsal Biyoteknoloji, Siirt Üniversitesi, TÜRKİYE *Agricultural Biotechnology, Siirt University, TURKEY*
Dr. Atanas GEORGIEV ATANASOV	Genetics and Animal Breeding, Institute of Genetics and Animal Breeding of the Polish Academy of Sciences, POLAND
Prof. Dr. Birhan KUNTER	Bağ Yetiştirme ve Islahı, Ankara Üniversitesi, TÜRKİYE *Grapevine Growing and Breeding, Ankara University, TURKEY*
Yrd. Doç. Dr. / *Asst. Prof.* Burak SALTUK	Biyosistem Mühendisliği, Siirt Üniversitesi, TÜRKİYE *Biosystem Engineering, Siirt University, TURKEY*
Prof. Dr. Cafer TURGUT	Entomoloji, Adnan Menderes Üniversitesi, TÜRKİYE *Entomology, Adnan Menderes University, TURKEY*
Prof. Dr. Dilek BAŞALMA	Yağlı Tohumlar, Ankara Üniversitesi, TÜRKİYE *Oil Seeds, Ankara University, TURKEY*
Dr. Eleni TSALIKI	Industrial Plants, Plant Breeding and Genetic Resources Institute, GREECE
Prof. Dr. Emine BAYRAM	Tıbbi ve Aromatik Bitkiler, Ege Üniversitesi, TÜRKİYE *Medical and Aromatic Plants, Ege University, TURKEY*
Doç. Dr. / *Assoc. Prof.* Emine KARADEMİR	Tarla Bitkileri, Siirt Üniversitesi, TÜRKİYE *Field Crops, Siirt University, TURKEY*
Yrd. Doç. Dr. / *Asst. Prof.* Esra UÇAR SÖZMEN	Tıbbi ve Aromatik Bitkiler, Cumhuriyet Üniversitesi, TÜRKİYE *Medical and Aromatic Plants, Cumhuriyet University, TURKEY*
Prof. Dr. Evgeny SHEIN	Soil Physics and Reclamation, Lomonosov Moscow State University, RUSSIA
Prof. Dr. Fazilet Nezahat ALAYUNT	Tarım Makinaları, Ege Üniversitesi, TÜRKİYE *Agricultural Machineries, Ege University, TURKEY*
Yrd. Doç. Dr. / *Asst. Prof.* Gülen ÖZYAZICI	Tarla Bitkileri, Siirt Üniversitesi, TÜRKİYE *Field Crops, Siirt University, TURKEY*

EDİTÖRLER KURULU / EDITORIAL BOARD

Prof. Dr. Güzin KABAN	Gıda Mühendisliği, Atatürk Üniversitesi, TÜRKİYE *Food Engineering, Atatürk University, TURKEY*
Prof. Dr. Ilgiz KHABIROV	Agronomy, Bashkir State Agricultural University, RUSSIA
Prof. Dr. Işık TEPE	Fitopatoloji, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, TÜRKİYE *Phytopathology, Yüzüncü Yıl University, TURKEY*
Prof. Dr. İlknur AYAN	Çayır Mera ve Yem Bitkileri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, TÜRKİYE *Grassland and Forage Crops, Ondokuz Mayıs University, TURKEY*
Prof. Dr. İsa TELCİ	Tıbbi ve Aromatik Bitkiler, Süleyman Demirel Üniversitesi, TÜRKİYE *Medical and Aromatic Plants, Süleyman Demirel University, TURKEY*
Dr. Ján HORÁK	Biometeorology and Hydrology, Slovak University of Agriculture in Nitra, SLOVAKIA
Asst. Prof. Markéta MIHÁLIKOVÁ	Water Resources, Czech University of Life Sciences, CZECH REPUBLIC
Prof. Dr. Mecit Ömer AZABAĞAOĞLU	Tarım Ekonomisi, Namık Kemal Üniversitesi, TÜRKİYE *Agricultural Economics, Namık Kemal University, TURKEY*
Yrd. Doç. Dr. / *Asst. Prof.* Mesut BUDAK	Toprak Bilimi ve Bitki Besleme, Siirt Üniversitesi, TÜRKİYE *Soil Science and Plant Nutrition, Siirt University, TURKEY*
Assoc. Prof. Milena MOTEVA	Land Management and Agricultural Development, University of Architecture, BULGARIA
Yrd. Doç. Dr. / *Asst. Prof.* Mine PAKYÜREK	Bahçe Bitkileri, Siirt Üniversitesi, TÜRKİYE *Horticulture, Siirt University, TURKEY*
Prof. Dr. Mohammad Masood TARIQ	Vaccinology and Biotechnology, University of Balochistan, PAKISTAN
Assoc. Prof. Mohsen HAMIDPOUR	Soil and Water Chemistry, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, IRAN
Yrd. Doç. Dr. / *Asst. Prof.* Muhammet Ali KARA	Zootekni, Siirt Üniversitesi, TÜRKİYE *Animal Science, Siirt University, TURKEY*
Prof. Dr. Murat ERMAN	Tarla Bitkileri, Siirt Üniversitesi, TÜRKİYE *Field Crops, Siirt University, TURKEY*
Prof. Dr. Mustafa GÜLER	Tahıllar ve Yemeklik Baklagiller, Ankara Üniversitesi, TÜRKİYE *Grains and Legumes, Ankara University, TURKEY*
Yrd. Doç. Dr. / *Asst. Prof.* Nazire MİKAİL	Zootekni, Siirt Üniversitesi, TÜRKİYE *Animal Science, Siirt University, TURKEY*
Prof. Dr. Nedim MUTLU	Bitki Biyoteknolojisi, Akdeniz Üniversitesi, TÜRKİYE *Plant Biotechnology, Akdeniz University, TURKEY*
Prof. Dr. Nesibe Ebru YAŞA KAFKAS	Meyve Yetiştirme ve Islahı, Çukurova Üniversitesi, TÜRKİYE *Fruit Growing and Breeding, Çukurova University, TURKEY*
Yrd. Doç. Dr. / *Asst. Prof.* Nizamettin TURAN	Tarla Bitkileri, Siirt Üniversitesi, TÜRKİYE *Field Crops, Siirt University, TURKEY*
Prof. Dr. Nuri YILMAZ	Tahıllar ve Yemeklik Baklagiller, Ordu Üniversitesi, TÜRKİYE *Grains and Legumes, Ordu University, TURKEY*
Prof. Dr. Orhan DENGİZ	Toprak Bilimi ve Bitki Besleme, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, TÜRKİYE *Soil Science and Plant Nutrition, Ondokuz Mayıs University, TURKEY*
Prof. Dr. Öner ÇETİN	Sulama, Dicle Üniversitesi, TÜRKİYE *Irrigation, Dicle University, TURKEY*
Assoc. Prof. Roger I. CUE	Animal Science, McGill University, CANADA
Asst. Prof. Serkan ATEŞ	Animal and Rangeland Sciences, Oregon State University, USA
Assoc. Prof. Yuriy Stanislavovich KRAVCHENKO	Soil Science and Soil Conservation, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, UKRAINE
Prof. Dr. Yusuf KONCA	Yemler ve Hayvan Besleme, Erciyes Üniversitesi, TÜRKİYE *Feeds and Animal Feeding, Erciyes University, TURKEY*

ÜRÜN BİLGİSİ / PRODUCT INFORMATION

Dergi Kapsamı: Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, Siirt Üniversitesi Ziraat Fakültesi tarafından yayınlanan bilimsel ve hakemli bir dergi olup; Bahçe Bitkileri, Tarla Bitkileri, Bitki Koruma, Tarımsal Yapılar ve Sulama, Tarım Ekonomisi, Tarım Makinaları, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme, Tarımsal Biyoteknoloji ve Zootekni alanları başta olmak üzere tüm tarımsal alanlarda yürütülen çalışmalardan üretilen orijinal makaleleri yayınlamaktadır. Ayrıca, özel öneme sahip güncel konulardaki derlemelere de yer verilmektedir.

Scope of the Journal: Turkish Journal of Agricultural Research is a peer-reviewed journal published by Siirt University, Faculty of Agriculture. Turkish Journal of Agricultural Research publishes original research articles generated from studies conducted in all agricultural areas especially in Horticulture, Field Crops, Plant Protection, Agricultural Structures and Irrigation, Agricultural Economics, Agricultural Machinery, Agrology and Plant Nutrition, Agricultural Biotechnology and Animal Science. In addition, reviews in current issues of particular importance are published.

Yayınlayan / Publisher	Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Siirt, TÜRKİYE *Siirt University, Faculty of Agriculture, Siirt, TURKEY*
Sahibi / Owner	Siirt Üniversitesi Ziraat Fakültesi Adına, Dekan *On the behalf of University of Siirt, Faculty of Agriculture, Dean* Prof. Dr. Galip BAKIR
Yayın Dili / Language	Türkçe / İngilizce *Turkish / English*
Basım Tarihi / Date of Publication	31/10/2017
Yayım Aralığı / Frequency	Yılda üç kez (Şubat-Haziran-Ekim) yayınlanır. *Published three times a year (February-June-October)*
Yayın Türü / Type of Publication	Yaygın süreli yayın *Widely distributed periodical*
Basımevi Adresi / Printing House	Siirt Çelik Matbaa, Bahçelievler Mahallesi, 1406. Sokak, No: 3/3, SİİRT Tel: 0 484 502 02 12 / Phone: +90 484 5020212

Tarandığı İndeksler / Indexed and Abstracted in

TÜBİTAK ULAKBİM

Yazışma Adresi

Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi
Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Kezer Yerleşkesi, 56100
Siirt / TÜRKİYE

Telefon: 0 484 212 11 11
Belge geçer: 0 484 254 20 57
E-posta: ttadeditor@siirt.edu.tr
Dergi ağ sayfası: dergipark.gov.tr/tutad

Correspondence Address

Turkish Journal of Agricultural Research
Siirt University, Faculty of Agriculture,
Campus of Kezer, 56100
Siirt / TURKEY

Telephone: +90 484 2121111
Fax: +90 484 2542057
E-mail: ttadeditor@siirt.edu.tr
Journal homepage: dergipark.gov.tr/tutad

Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi
dergipark.gov.tr/tutad
Araştırma Makalesi / Research Article

Turk J Agric Res
2017, 4(3): 296-301
© TÜTAD
ISSN: 2148-2306
e-ISSN: 2528-858X
doi: 10.19159/tutad.323431

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

Burcu TUNCER*, Büşra GÜNSAN

Van Yüzüncü 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)
orcid.org/0000-0002-4402-4536 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

ışkın bitkisinin mideyi kuvvetlendirdiği, kusma, şeker hastalığı ve hemoroidi önlediği belirtilmektedir (Munzuroğlu ve ark., 2000; Tabata ve ark., 2000). Nitekim, kurutulduktan sonra kaynatılarak içilen ışgın 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).

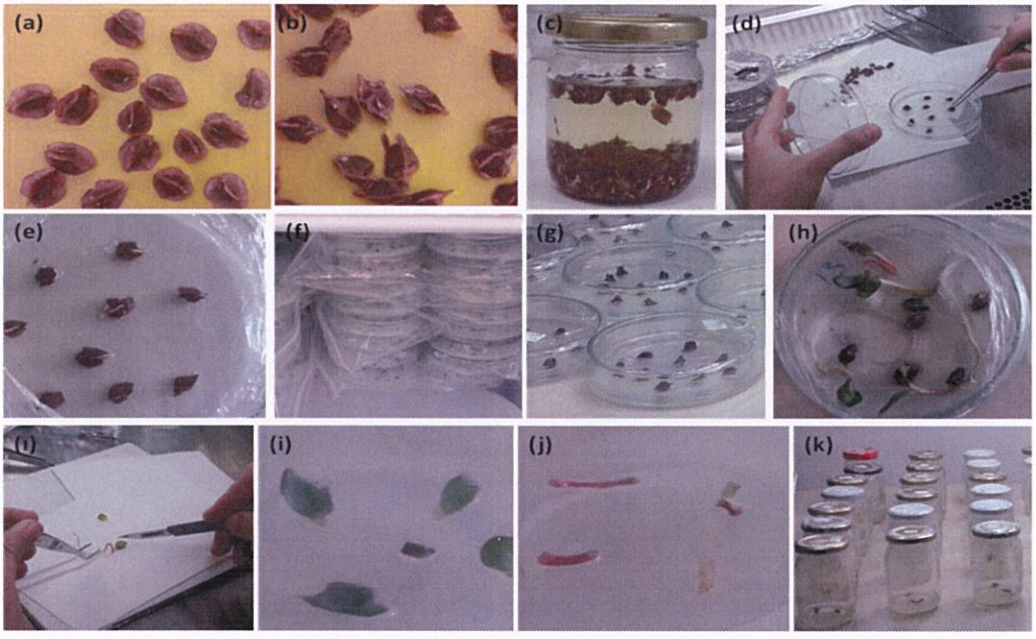
Henüz kültüre alma çalışmalarının yapılmadığı, tıbbi bitki olarak önem taşıyan yabani ravent (*Rheum ribes* L.)'in, yöre halkı tarafından doğal habitatlarından bilinçsiz olarak toplanması sırasında köklerinin tahrip edilmesi veya köklü olarak bitkilerin tamamen topraktan sökülmesi nedeniyle, bu türler 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. Yabani 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, yabani 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 tekniğin 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 büyümeyi 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, (ı) eksplantların hazırlanması, (i) 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 1ı-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 besi ortamı bileşimleri ve adları

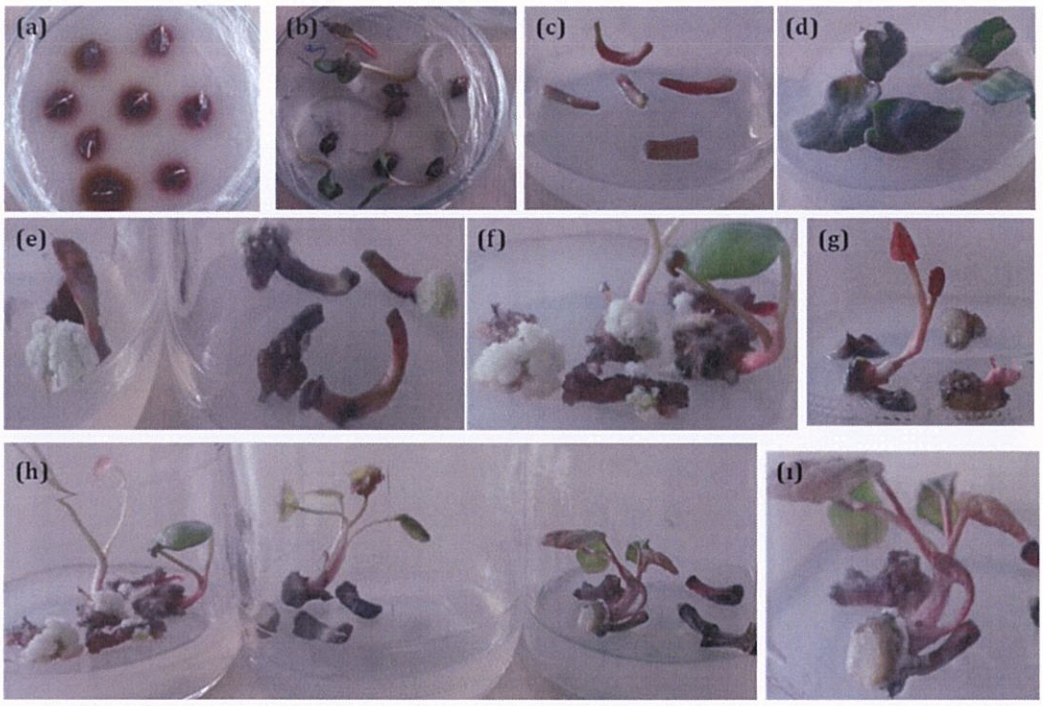
Besi ortamı adı	Büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonu (mg L^{-1})	
	BAP	IBA
MS1	0.0	0.0
MS2	0.0	1.0
MS3	1.0	0.0
MS4	1.0	1.0
MS5	2.0	0.0
MS6	2.0	1.0

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).

Besi 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) besi 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 esplantlarından kallus oluşumu, (f, g, h) MS4 (ı) 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 rhaponticurn* 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 interaksiyonunun 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 2ı'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 büyümeyi 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 interaksiyonunu göstermektedir (P<0.05)

alarak 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-dicholorophenoxy 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 büyümeyi 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 ışkın, 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*, Edinburg University Pres, Edinburg, 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., Omidi, M., Zare, A.R., Shahnazi, S., 2010. Callus induction and plant regeneration in *Dorem 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 rhaponticuin* 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 andq uantitative 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.