



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)

<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>



Araştırma Makalesi (Research Article)

***In Vitro* Kültür Koşullarında Yabani Ravent (*Rheum ribes* L.) Tohumlarında Çimlenme ve Çıkış**

Burcu TUNCER*¹

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 65080, Van, Türkiye

*Sorumlu yazar: brctuncer@gmail.com

Makale Bilgileri

Geliş: 29.05.2019
Kabul: 13.07.2019
Online Yayınlanma 30.09.2019
DOI: 10.29133/yyutbd.569671

Anahtar kelimeler

Doku kültürü,
Rheum ribes L.,
Tohum.

Öz: Yabani Ravent (*Rheum ribes* L.), çiçek sürgünleri ve sapları sebze olarak tüketilebilen tıbbi öneme sahip çok yıllık yabani bir bitkidir. Doğal habitatlarından kontrolsüz toplanmaları durumunda, ileride yok olma tehlikesiyle karşı karşıya kalabilecek bu türlerin korunması ve sürdürülebilirliğinin sağlanması önem taşımaktadır. Doku kültürü teknikleriyle tohumla *in vitro* mikro çoğaltım çalışmalarının yapılabilmesi için, türün *in vitro* koşullarda optimum çimlenme mekanizmasının bilinmesi gerekmektedir. Bu çalışma, uçları kesilmiş ve kesilmemiş yabani ravent tohum gruplarının *in vitro* koşullarda çimlenme ve çıkış durumlarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu gruplar, 200 mg/l gibberellik asit (GA₃) ilavesi yapılmış veya yapılmamış, Murashige ve Skoog (MS), Gamborg (B5), White (WH) ve Schenk ve Hildebrandt (SH) ortam kombinasyonlarında *in vitro* olarak çimlendirilmiştir. Araştırma sonucunda, bu türün tohumlarında az şiddetli fizyolojik dormansinin görüldüğü ve tohum ucu kesilmemiş uygulamaların çimlenme ve çıkış parametreleri yönünden daha başarılı olduğu tespit edilmiştir. En yüksek çimlenme oranı (%84), MS+200 mg/l GA₃ besin ortamından, en iyi çıkış oranı ise (%44), WH+200 mg/l GA₃ ortamından sağlanmıştır.

Germination and Emergence of Wild Rhubarb (*Rheum ribes* L.) Seeds *In Vitro* Culture Conditions

Article Info

Received: 29.05.2019
Accepted: 13.07.2019
Online Published 30.09.2019
DOI: 10.29133/yyutbd.569671

Keywords

Tissue culture,
Rheum ribes L.,
Seed.

Abstract: *Rheum ribes* L. is a perennial wild plant that is of medical importance as flowers shoots and stalk can be consumed as vegetables. Due to their uncontrolled collection from their natural habitats, it is important to ensure the preservation and sustainability of these species that may be in danger of future extinction. In tissue culture techniques, *in vitro* micro-propagation studies with seed, *in vitro* optimum germination mechanism of the species should be known. This study was conducted to determine the *in vitro* germination and emergence of rhubarb seeds groups (seed tips were cut off or not). These groups were germinated in nutrient mediacombinations, including Murashige and Skoog (MS), Gamborg (B5), White (WH) and Schenk and Hildebrandt (SH) media with or without 200 mg/l gibberellic acid (GA₃). As a result of the research, it was determined that the seeds of this species have less severe physiological dormancy and the seed-tip cut applications are more successful in terms of germination and emergence parameters. The highest germination rate (84%) was obtained from MS+200 mg l⁻¹ GA₃ nutrient medium, and the best emergence rate (44%) was obtained from WH+200 mg l⁻¹ GA₃ medium.

1. Giriş

Yabani ravent, *Polygonaceae* familyasından *Rheum* cinsine giren, çok yıllık yabani bir bitkidir. Bu cins içerisinde 60'a yakın tür bulunmakla birlikte (Sun ve ark., 2012), ülkemizde yetişen tek türün *Rheum ribes* L. olduğu bildirilmektedir (Anjen ve ark., 2003; Tuncer ve Günsan, 2017). Çiçek sürgünleri ve sapları sebze olarak tüketilen bitki, ülkemizde Doğu Anadolu bölgesinde, Nisan-Mayıs aylarında doğadan toplanarak seyyar satıcı tezgâhlarında yerini almakta, besleyici ve tıbbi özelliğinin bulunması nedeniyle de halk arasında sevilerek tüketilmektedir. *Rheum* türlerinin, hemoroid (Çakılcıoğlu ve Türkoğlu, 2007), diyabet hastalıkları (Kaval ve ark., 2014) ve iltihap tedavisinde (Hu ve ark., 2014) kullanıldığı, böbrek taşlarının düşürülmesinde faydalı olduğu bildirilmektedir (Çakılcıoğlu ve Türkoğlu, 2008). Bu türlerin aynı zamanda, antialerjik (Matsuda ve ark., 2004), antimikrobiyal (Kosikowska ve ark., 2010), antiviral (Chang ve ark., 2014) özelliklere sahip olduğu, antioksidan özelliğinin yüksek olması nedeniyle bağışıklık sistemini güçlendirdiği bilinmektedir (Öztürk ve ark., 2007; Meral, 2017).

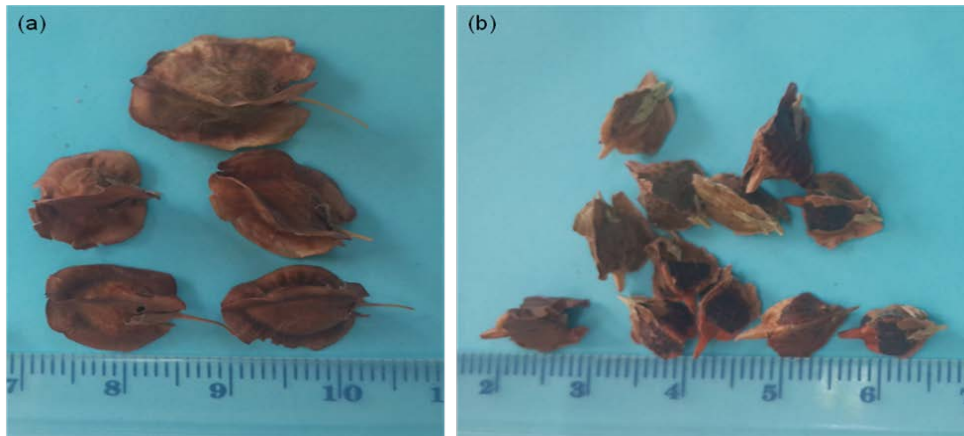
Bitki, vejetatif (rizom, gövde) ya da generatif yolla (tohumla) çoğalabilmektedir. Vejetatif yolla çoğaltımda, toprak altındaki rizom gövde üzerindeki gözler, kış aylarını uyur halde toprakaltında geçirmekte, soğuklama ihtiyacının giderilmesinin ardından, ilkbaharda bu gözlerin sürmesiyle oluşan vejetatif sürgünler toprak üstüne çıkmaktadır. Tohumla çoğaltım yapıldığında ise; düşük çimlenme oranı ya da tohum dormansisi yok olma tehlikesi altında bulunan endemik türlerin, tıbbi ve yabani bitkilerin çoğaltımını sınırlayan önemli bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle özellikle bu türlerin korunması, doku kültürü teknikleriyle tohumla çoğaltımının sağlanabilmesi ve tohum çimlenme mekanizmasının çözülmesi önem arz etmektedir. Bitki doku kültürü uygulamaları, çoğaltımı zor olan kıymetli türlerin çoğaltımında klasik ıslah metotlarına yardımcı ve ıslah sürecini kısaltıcı yöntemler olarak kullanılabilir. Farklı *in vitro* teknikler kullanılarak, *Rheum* türlerin mikro çoğaltımının yapıldığı birçok literatürde bildirilmektedir (Farzami Sepehr ve Ghorbanli, 2002; Farzami Sepehr ve Ghorbanli, 2005; Malik ve ark., 2010; Rashid ve ark., 2014; Tabin ve ark., 2014; Tabin ve ark., 2016; Tuncer ve Günsan, 2017).

Burada sunulan çalışma, henüz kültüre alma çalışmalarının yapılmadığı uçları kesilmiş ve kesilmemiş ravent tohumlarının, farklı besin ortamlarında *in vitro* koşullarda çimlenme ve çıkış olanaklarının belirlenmesi ve ileride bu tür üzerinde tohumdan çoğaltım yoluyla yapılacak olan *in vitro* çoğaltım çalışmalarına temel oluşturması amacıyla yapılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Tohumların toplanması

Araştırmada Van ili'nin Gürpınar ilçesinden temin edilen ravent tohumları kullanılmıştır (Şekil 1a-b). Arazideki bitkiler üzerinden tohumlar, 2017 yılının ağustos ayında hasat edilmiş, deneme kurulana kadar buzdolabı sıcaklığında ve kuru koşullarda muhafaza edilmiştir. Deneme kurulmadan önce, tohumlar kanatlarından ayrılmıştır (Şekil 1b).

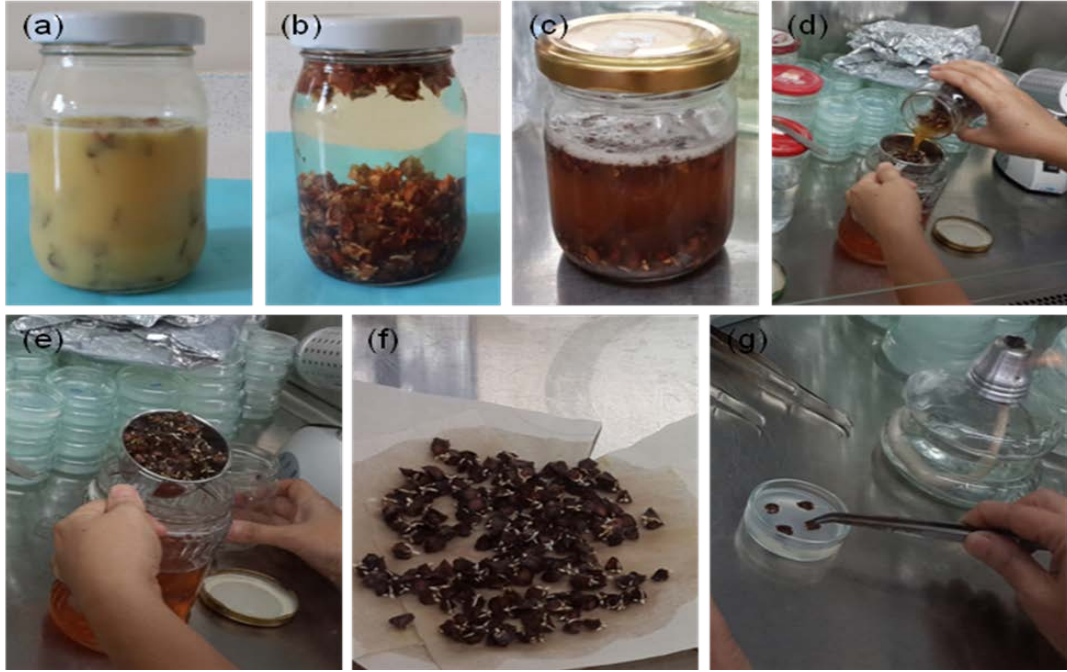


Şekil 1. Raventte (a) kanatlı tohumlar, (b) kanatlarından ayrılan tohumlar.

2.2. Tohumların sterilizasyonu

Tohumların sterilizasyonu 3 aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir:

- 1. Aşama:** Tohumlar fungal hastalık etmenlerini uzaklaştırmak amacıyla %0.3 benomil solüsyonunda 1 saat bekletilmiş, ardından 1 saat süreyle saf suyla çalkalanarak yıkanmıştır (Şekil 2a-2b).
- 2. Aşama:** Tohumlar ekim için steril kabin içine alınarak, %70'lik etil alkolde 30 sn bekletildikten sonra bidistile steril saf suyla çalkalanarak yıkanmıştır (Şekil 2).
- 3. Aşama:** Son olarak tohumlar, bakteriyel enfeksiyonu engellemek amacıyla kabin içinde, birkaç damla Tween-20 damlatılmış %50'lik çamaşır suyunda (%0.9 sodyum hipoklorit) 10 dakika süreyle bekletilmiş (Şekil 2c), ardından 3-5 kez 3'er dakika tohumlara durulama işlemi yapılmıştır (Şekil 2d-2e). Sterilizasyonu tamamlanan tohumlar, kabin içinde kurutma kâğıtları üzerine alınarak, fazla suları uzaklaştırılmıştır (Şekil 2f) (Farzami-Sepehr ve Ghorbanli, 2002; Tuncer ve Günsan, 2017).



Şekil 2. Tohumların sterilizasyon aşamaları; (a) benomil solüsyonunda bekletme, (b) saf suda durulama, (c) %50 çamaşır suyunda bekletme, (d ve e) bidistile su ile çalkalama, (f) tohumların fazla sularının uzaklaştırılması, (g) *in vitro* tohum ekimi.

2.3. *In vitro* çimlenme ve çıkış

Sterilizasyonu yapılan tohumlar, uçları kesilmiş ve kesilmemiş olarak gruplara ayrıldıktan sonra, 200 mg/l GA₃ içeren veya içermeyen farklı besin ortamlarına *in vitro* olarak ekilmiştir (Şekil 2g). MS (Murashige ve Skoog, 1962), B5 (Gamborg ve ark., 1968) ve SH (Shenk ve Hildebrandt, 1972) ortamlarına şeker ilâvesi yapılırken, WH (White, 1963) ortamına şeker ilavesi yapılmamıştır. Tüm besin ortamlarına 50 mg/l sitrik asit ilavesi yapılmış ve besin ortamlarının PH'sı 5.8 olarak ayarlanmıştır. Ekim yapılan petrilere, tohumların soğuklama gereksinimini karşılamak amacıyla 4°C'de karanlıkta bekletilmiştir. İlk çimlenmeler başlayınca (yaklaşık 30 gün sonra), petrilere 25°C sıcaklık 16/8 saat aydınlık/karanlık koşullardaki iklim odasına alınarak çimlendirilmiştir.

2.4. İncelenen çimlenme ve çıkış parametreleri

Çimlenme ve çıkış parametreleri aşağıdaki formüllerle hesaplanmıştır (Merreddy ve ark., 2000; Li ve ark., 2007; Mercedes ve ark., 2007):

$$\text{Çimlenme/Çıkış Oranı (Ç.O) (\%)} = (\text{Ç/T}) \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Ortalama Çimlenme/Çıkış Süresi (gün) (OÇS)} = [(1.\text{günde } \text{Ç} \times 1.\text{ gün}) + (2.\text{ günde } \text{Ç} \times 2.\text{gün}) + \dots + (n.\text{ günde } \text{Ç} \times n.\text{ gün})] / \text{Toplam } \text{Ç} \quad (2)$$

Ç: Çimlenen/Çıkan tohum sayısı

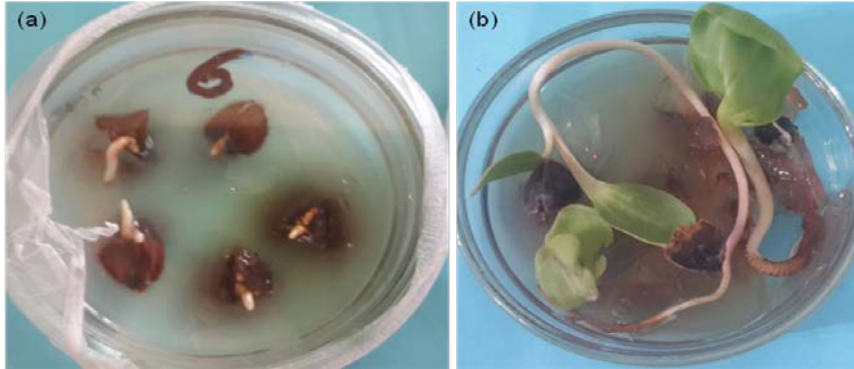
T: Kullanılan tohum sayısı

2.5. Deneme planı ve istatistik analiz

Deneme, her uygulama için 5 tekerrürlü ve her tekerrürde 8 petri (5 tohum/petri) olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Çimlenme ve çıkış parametrelerinin karşılaştırılmasında, varyans analizi yapılmıştır. Hesaplamalarda istatistik önemlilik düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için Statgraphics istatistik paket programı kullanılmıştır.

3. Bulgular

Çimlenme kriteri olarak kökçüğün 2 mm tohum kabuğundan dışarı çıkışı, çıkış kriteri olarak ise kotiledon yaprakların tam iriliğine ulaştığı dönem esas alınmıştır (Şekil 3). Çizelge 1’ de uçları kesilmemiş ravent (*Rheum ribes* L.) tohumlarının farklı *in vitro* besin ortam kombinasyonlarında çimlenme ve çıkış parametrelerine ait sonuçlar verilmiştir. GA₃ (200 mg/l) katılmış ortamlarda çimlenme ve çıkış oranları artış göstermiştir. Çimlenme oranı % 56-84 arasında değişim göstermiş, % 84 oranla en yüksek çimlenme 2 no’lu besin ortamından (MS + 200 mg/l GA₃), en iyi çıkış oranı (% 44) ise 4 no’ lu ortamdan (WH + 200 mg/l GA₃) sağlanmıştır. Ortalama çimlenme süresi 3.30-4.53 gün, çıkış süresi ise 0-12.68 gün arasında değişim göstermiştir. Özellikle GA₃ katılmış besin ortamlarında, çıkış oranlarının yüksekliği de dikkat çekmektedir (Çizelge 1).



Şekil 3. (a) çimlenme kriteri, (b) çıkış kriteri.

Çizelge 1. *Rheum ribes* L.’de uçları kesilmemiş tohumların farklı besin ortamlarında *in vitro* çimlenme ve çıkış değerleri

Besin Ortamı No	Besin Ortamı	Çimlenme oranı (%)	Ortalama çimlenme süresi (gün)	Çıkış oranı (%)	Ortalama çıkış süresi(gün)
1	MS	60.00 b	3.43 bc	0.00 e	0.00 e
2	MS + 200 mg/l GA ₃	84.00 a	3.76 a-c	20.00 c	4.93 d
3	WH	60.00 b	4.53 a	0.00 e	0.00 e
4	WH + 200 mg/l GA ₃	64.00 b	3.40 c	44.00 a	12.68 a
5	B5	44.00 c	3.66 a-c	8.00 d	5.20 d
6	B5 + 200 mg/l GA ₃	64.00 b	3.55 bc	24.00 bc	9.60 b
7	SH	56.00 bc	4.36 ab	8.00 d	5.20 d
8	SH + 200 mg/l GA ₃	60.00 b	3.30 c	28.00 b	8.00 c
F Değeri		7.04*	1.90*	44.79*	76.81*

Aynı sütunda farklı harfler besin ortamları arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05).

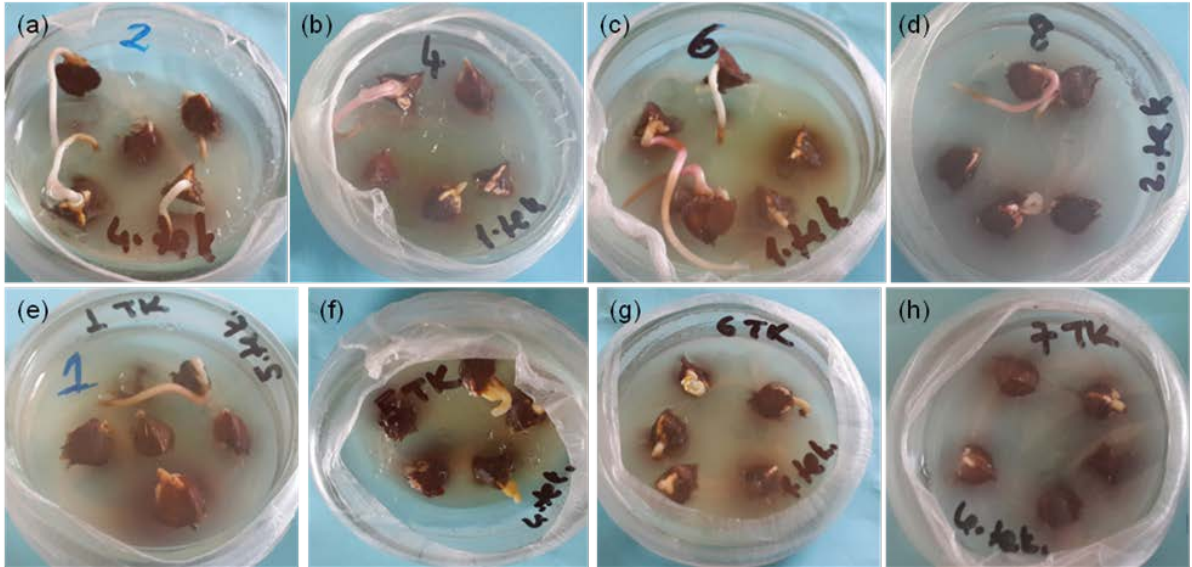
Tohum uçları kesilmiş uygulamada ise, *Rheum ribes* L. tohumlarının çimlenme ve çıkış değerleri Çizelge 2' de özetlenmiştir.

Çizelge 2. *Rheum ribes* L.' de uçları kesilmiş tohumlarının farklı besin ortamlarında *in vitro* çimlenme ve çıkış değerleri

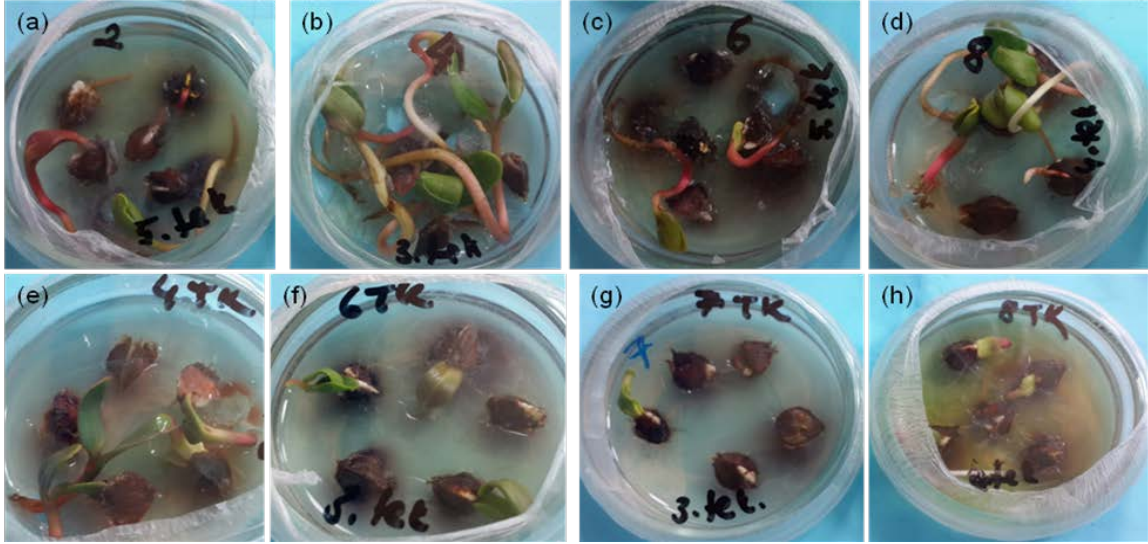
Besin Ortamı No	Besin Ortamı	Çimlenme oranı (%)	Ortalama çimlenme süresi (gün)	Çıkış oranı (%)	Ortalama çıkış süresi(gün)
1	MS	28.00 bc	4.60 c-e	8.00 e	4.40 d
2	MS + 200 mg/l GA ₃	20.00 c	3.40 e	12.00 de	5.80 bc
3	WH	28.00 bc	6.90 a	0.00 f	0.00 e
4	WH + 200 mg/l GA ₃	48.00 a	5.19 cd	28.00 b	9.26 a
5	B5	44.00 a	6.53 ab	16.00 cd	6.40 b
6	B5 + 200 mg/l GA ₃	52.00 a	4.63 c-e	36.00 a	8.33 a
7	SH	20.00 c	4.00 de	16.00 cd	6.60 b
8	SH + 200 mg/l GA ₃	32.00 b	5.53 bc	20.00 c	5.26 cd
F Değeri		15.35*	6.80*	35.48*	51.02*

Aynı sütunda farklı harfler besin ortamları arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Çimlenme ve çıkış oranı, ortalama çimlenme ve çıkış süresi sırasıyla, % 20-52, % 0-36, 3.40-6.90 gün ve 0-9.26 gün arasında farklılık göstermiştir. Çimlenme oranı yönünden 4, 5 ve 6 no'lu besin ortamlarında istatistik olarak önemli bir farklılık olmamakla birlikte, en yüksek çimlenme değeri (% 52) 6 no'lu (B5 + 200 mg/l GA₃) ortamdan elde edilmiştir (Çizelge 2). Çıkış oranı yönünden de; yine aynı ortamdan en yüksek çıkış değerine (% 36) ulaşılmıştır. Besin ortamlarına ilave edilmiş GA₃, özellikle çıkış üzerine olumlu etkide bulunmuştur. Şekil 4 ve 5' de iki farklı uygulama yapılmış (tohum uçları kesilmemiş ve kesilmemiş) tohumların, farklı besin ortamlarındaki *in vitro* çimlenme ve çıkışları görülmektedir.



Şekil 4. Tohum uçları kesilmemiş *Rheum ribes* L. tohumlarında *in vitro* çimlenmeler; (a) MS + 200 mg/l GA₃, (b) WH + 200 mg/l GA₃, (c) B5 + 200 mg/l GA₃, (d) SH + 200 mg/l GA₃, uçları kesilmiş tohumlarda *in vitro* çimlenmeler; (e) MS, (f) B5, (g) B5 + 200 mg/l GA₃, (h) SH.



Şekil 5. Tohum uçları kesilmemiş *Rheum ribes* L. tohumlarında *in vitro* çıkışlar; (a) MS + 200 mg/l GA₃, (b) WH + 200 mg/l GA₃, (c) B5 + 200 mg/l GA₃, (d) SH + 200 mg/l GA₃; uçları kesilmiş tohumlarda *in vitro* çıkışlar; (e) WH + 200 mg/l GA₃, (f) B5 + 200 mg/l GA₃, (g) SH, (h) SH + 200 mg/l GA₃.

4. Tartışma ve Sonuç

Tohumun uyku hali olarak bilinen dormansi; fiziksel, morfolojik, fizyolojik, morfofizyolojik ve kombine dormansi (fiziksel + fizyolojik) olmak üzere 5 farklı şekilde sınıflandırılmaktadır (Baskın ve Baskın, 2004; Mamut ve ark., 2014). Fizyolojik dormanside; embriyoda görülen içsel nedenlerden dolayı tohum çimlenememekte ve dormansinin ortadan kalkması için tohumlar mutlaka değişen sürelerde düşük sıcaklıkta nemli katlama uygulamalarına ihtiyaç duymaktadır. Fizyolojik dormansi; şiddetli, orta düzeyde ya da az şiddetli olabilmektedir. Şiddetli fizyolojik dormanside, tohumlar dormansiden çıkabilmek için genellikle 10-16 hafta, orta düzeyde dormanside 8-14 hafta, az şiddetli dormanside ise 2-8 hafta soğukta nemli katlamaya ihtiyaç duymaktadırlar (Baskın ve Baskın, 2004). Yaptığımız *in vitro* çimlendirme çalışmaları sonucunda, petrilere *in vitro* ekimi yapılan *Rheum ribes* L.'nin tohumlarının, dinlenmeden çıkabilmesi için 30 günden daha az süre düşük sıcaklıkta (4°C-8°C) bekletilmesi gerektiği belirlenmiştir. Tohumların dinlenmeden çıkabilmesi için gerekli süre, Baskın ve Baskın (2004)'ün belirttiğine göre 2-8 hafta arasında olduğu için *R. ribes* tohumlarında az şiddetli fizyolojik dormansi görüldüğünü söylemek mümkündür.

Tohum dormansisini ortadan kaldırmada soğukta nemli katlama uygulamalarının dışında (Keskiner ve Tuncer, 2019), dışsal GA₃ uygulamaları (Hassan ve Fardous, 2003), mekanik olarak tohum kabuğunu aşındırma, tohum ucunu kesme (Ma ve ark., 2006; Rahmanpour ve ark., 2007; Akdağ, 2019) gibi çok farklı uygulamalar da yapılabilmektedir. Akdağ (2019), çok yıllık yabani bir bitki olan *E. spectabilis* tohumlarının, dormansiden çıkabilmek için normal koşullarda uzun süreli soğukta nemli katlamaya ihtiyaç duyduğunu, ancak tohum uçları kesilen tohumlarda bu sürenin çok kısaldığını (<30 gün), dolayısıyla *E. spectabilis* tohumlarında fizyolojik ve morfofizyolojik dormansinin yanı sıra kombine dormansinin (fiziksel dormansi + fizyolojik dormansi) de mevcut olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda, bu literatür bildirişi dikkate alınarak, uçları kesilmiş *R. ribes* tohumlarıyla da *in vitro* çimlendirme denemeleri kurulmuş, ancak tüm besin ortamlarında, tohum uçları kesilmemiş uygulamaya göre oldukça düşük oranlarda çimlenme (% 20-52) ve çıkışlar (% 0-36) elde edilmiştir. Bu nedenle, *E. spectabilis* tohumlarının aksine, *R. ribes* tohumlarında tohum ucu kesme uygulamalarının yapılmasının, düşük başarısı nedeniyle gereksiz olduğu belirlenmiştir. GA₃ ilave edilmiş tüm besin ortamlarında, her iki uygulamada da daha yüksek oranda çimlenme ve çıkışlar elde edilmiştir. Tabin ve ark. (2016), yok olma tehlikesiyle karşı karşıya kalan ve tıbbi öneme sahip *Rheum spiciforme* tohumlarında en yüksek çimlenme oranının, 15.0 µM BAP +12.0 µM TDZ+10 µM 2,4-D içeren MS ortamından (% 70) elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bununla birlikte *Rheum ribes* L.

(Tuncer ve Günsan, 2017) ve *Rheum webbianum* Royle' de (Rashid ve ark., 2018) hormon katılmayan MS ortamından da çimlenmeler sağlandığı bildirilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışma ile; *in vitro* mikro çoğaltım çalışmalarının ilk aşaması olan *in vitro* çimlendirme denemelerinde, GA₃ ilavesi yapılmış olan MS ortamının, çıkış denemelerinde ise yine GA₃ ilavesi yapılmış düşük tuz konsantrasyonlu ve sakkaroz içermeyen WH ortamının daha başarılı olduğu ve doku kültürü çalışmaları için yeterli sayıda *in vitro* gelişmiş fidecik elde edildiği belirlenmiştir.

Kaynakça

- Akdağ, Ş. (2019). *Çiriş (Eremurus spectabilis M.Bieb.) tohumlarında çimlenme ve çıkış performansını artırmaya yönelik farklı kombinasyon uygulamaları*. (Yüksek lisans), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Van, Türkiye.
- Anjen, L., Alisa, E. G., Suk-pyo, H., McNeill, J., Hideaki, O., Park, C., & Liao, M. (2003). *Polygonum* (Polygonaceae). *Flora of China*, 5, 278–315.
- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2004). Germinating seeds of wildflowers, an ecological perspective. *Horttechnology*, 14 (4), 467-473.
- Çakılciöğlü, U., & Türkoğlü, I. (2007). Plants used for hemorrhoid treatment in Elazığ central district. *Int. Med. Aromat. Plants Conf. Culinary Herbs*, 826, 89–96.
- Çakılciöğlü, U., & Türkoğlü, I. (2008). Plants used for pass kidney stones by the folk in Elazığ. *Herb J. Syst. Bot.*, 14, 133–144.
- Chang, S. J., Huang, S. H., Lin, Y. J., Tsou, Y. Y., & Lin, C. W. (2014). Antiviral activity of *Rheum palmatum* methanol extract and chrysophanol against Japanese encephalitis virus. *Arch. Pharm. Res.*,
- Farzami, S. M., & Ghorbanli, M. (2002). Effects of nutritional factors on the formation of anthraquinones in callus cultures of *Rheum ribes*. *Plant Cell, Tissue and Organ culture*, 68, 171–175.
- Farzami, S. M., & Ghorbanli, M. (2005). Formation of catechin in callus cultures and micro propagation of *Rheum ribes* L. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(10), 1346-1350.
- Gamborg, O. L., Miller R. A., & Ojima, K. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.*, 60, 151–158.
- Hassan, M. A., & Fardous, Z. (2003). Seed germination, pollination and phenology of *Gloriosa superba* L. (Liliaceae). *Bangladesh Journal of Plant taxonomy*, 10 (1), 95–97.
- Hu, B., Zhang, H., Meng, X., Wang, F., & Wang, P. (2014). Aloe-emodin from rhubarb (*Rheum rhabarbarum*) inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW264. 7 macrophages. *Journal of ethnopharmacology*, 153(3), 846-853.
- Li, C., Feng, S., Shao, Y., Jiang, L., Lu, X., & Hou, X. (2007). Effects of arsenic on seed germination and physiological activities of wheat seedlings. *J. of Environmental Sciences*, 19(6), 725–732.
- Kosikowska, U., Smolarz, H. D., & Malm, A. (2010). Antimicrobial activity and total content of polyphenols of *Rheum* L. species growing in Poland. *Cent. Eur. J. Biol.*, 5 (6), 814–820.
- Kaval, I., Behcet, L., & Cakılcioglu, U. (2014). Ethnobotanical study on medicinal plants in Gecitli and its surrounding (Hakkari-Turkey). *J. Ethnopharmacol.*, 155, 171–184.
- Keskiner, K., & Tuncer, B. (2019). Dormancy breaking treatments for wild *Eremurus spectabilis* M.Bieb seeds. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28 (2A), 1156-1162.
- Ma, M., Fan, J.F., & Li, J. (2006). Effect of different breeding mechanism on seed viability of *Eremurus anisopterus* and *Eremurus inderiensis*. *Seed*, 25, 62–63 (in Chinese).
- 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. *J. of Plant Physiology*, 167 (9), 749-756.
- Mamut, J., Tan, D. Y., Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2014). Intermediate complex morphophysiological dormancy in seeds of the cold desert sand dune geophyte *Eremurus anisopterus* (Xanthorrhoeaceae; Liliaceae s.l.). *Annals of Botany*, 114, 991–999.
- Matsuda, H., Tewtrakul, S., Morikawaa, T., & Yoshikawa, M. (2004). Anti-allergic activity of stilbenes from Korean rhubarb (*Rheum undulatum* L.): structure requirements for inhibition of

- antigeninduced degranulation and their effects on the release of TNF- α and IL-4 in RBL-2H3 cells. *Bioorg. Med. Chem.*, 12, 4871–4876.
- Meral, R. (2017). Farklı sıcaklık derecelerinin uşkun bitkisinin antioksidan aktivitesi ve fenolik profili üzerine etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(1), 88–94.
- Mercedes, F., Carbonell, M. V., & Martinez, E. (2007). Exposure of maize seeds to stationary magnetic fields: Effects on germination and early growth. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 68-75.
- Mereddy, R., Wu, L., Hallgren, S.W., Wu, Y., & Conway, K. E. (2000). Solid matrix priming improves seedling vigor of okra seeds. *Proc. Okla. Acad. Sci.*, 80, 33-37.
- Mun, S. C., & Mun, G. S. (2016). Development of an efficient callus proliferation system for *Rheum coreanum* Nakai, a rare medicinal plant growing in Democratic People's Republic of Korea. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23, 488–494.
- Murashige, & T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, 15, 473-497.
- Ozturk, M., Aydogmus-Ozturk, F., Duru, M. E., & Topcu, G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): an edible medicinal plant. *Food Chem.*, 103, 623–630.
- Rahmanpour, A, Majd, A., & Chalabian, F. (2007). The effect of hormones and mechanical treatments on seed germination of *Eremurus olgae* Regel. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23, 1 (35), 111-120.
- 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, 515-518.
- Rashid, S., Kaloo, Z. A., Singh, S., & Bashir, I. (2018). In vitro plant regeneration from hypocotyl explants of *Rheum webbianum* Royle. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development*, 2(2), 1135-1139.
- Schenk, R. U., & Hildebrandt, A. C. (1972). Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Canadian Journal of Botany*, 50 (1), 199-204.
- Sun, Y. S., Wang, A. L., & Wan, D. S. (2012). Rapid radiation of *Rheum* (Polygonaceae) and parallel evolution of morphological traits. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 63, 150-158.
- Tabin, S., Kamili, A. N., & Gupta, R. C. (2014). In vitro micro propagation of *Rheum* explants supplemented with various types of growth hormones. *J. Agric Vet Sci (IOSR-JAVS)*, 7(3),97-100.
- 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.
- Tuncer, B., & Günsan, B. (2017). Yabani raventin (*Rheum ribes* L.) doku kültürü ile çoğaltım olanakları üzerine araştırma. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 4 (3), 296-301.
- White, P. R. (1963). Nutrient deficiency studies and improved inorganic nutrients for cultivation of excised tomato roots. *Growth*, 7, 53-65.