

Kalanşoda (*Kalanchoe Blossfeldiana* Poelnn.) *In Vitro* Mutasyon Islahı *In Vitro* Mutation Breeding in *Kalanchoe* (*Kalanchoe Blossfeldiana* Poelnn.)

 K. Yaprak Kantoğlu^{1,*},  Okan Sarıtoprak²,  Ebru Akyüz Çağdaş²,
 Evrim Okutan³,  Hakan Aktaş³,  Ş. Şebnem Ellialtıoğlu⁴

Özet

Kalanşo (*Kalanchoe blossfeldiana* Poelnn.) son yıllarda iç mekân süs bitkisi olarak kullanımının yanında dış mekân ve kesme çiçek olarak da değerlendirmek üzere üzerinde ıslah çalışmaları yapılan katma değeri yüksek olan bir bitki türüdür. Bu nedenle ıslah çalışmaları her geçen gün yeni kalanşo çeşitlerinin geliştirilmesi için yoğunlaşmaktadır. Farklı ıslah yöntemleri uygulamada kullanılmakla birlikte, mutasyon ıslahına da yakın olan bu türde yeni varyasyonların oluşturulabilmesi için *in vivo* ve *in vitro* mutasyon ıslahı çalışmaları değer arz etmektedir. Bu çalışmada, fiziksel mutagen olan kobalt 60 (Co^{60}) kaynaklı gama ışını kullanılarak *in vitro* mutasyon ıslahı ile yeni çeşit adaylarının geliştirilmesi ve ıslah sürecinin *in vitro* tekniklerden yararlanılarak kısaltılması hedeflenmiştir. Çalışmanın sonucunda 119 Gy'lik ışınlama dozu ticari kalanşo çeşidi için etkili mutasyon dozu (EMD_{50}) olarak belirlenmiştir. EMD_{50} ile bu dozun %10 alt ve üst sınırlarındaki dozlarda *in vitro* sürgün kültürleri ışınlanarak ana mutant popülasyon oluşturulmuştur. M1V4 aşamasında dış koşullara aktarılan 296 adet mutant klonlarda bitki ve çiçek gözlemi yapılarak ön seleksiyon gerçekleştirilmiştir. Buna göre %28.38 oranında farklılık gösteren 70 adet klon belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kalanşo, *in vitro* mutasyon, fiziksel mutagen, gama ışını

Abstract

Kalanchoe (*Kalanchoe blossfeldiana* Poelnn.) is a plant species with high added value, on which breeding studies have been carried out in recent years in order to evaluate it as an outdoor ornamental plant and cut flowers in addition to conventional use as potted plants. Breeding research to create new kalanchoe kinds is therefore getting more intense every day. Although different breeding methods are used in practice, *in vivo* and *in vitro* mutation breeding studies are valuable in creating different variations for this species, which is also responsive to mutation breeding. In this study, it was aimed to develop new variety candidates by *in vitro* mutation breeding using gamma rays from cobalt 60 (^{60}Co), a physical mutagen, and to shorten the breeding process by utilizing *in vitro* techniques. As a result of the study, an irradiation dose of 119 Gy was determined as the effective mutation dose (EMD_{50}) for commercial kalanchoe cultivars. *In vitro* shoot cultures were irradiated at doses of EMD_{50} and 10% lower and upper limits of this dose, and the main mutant population was established. At the M1V4 stage, pre-selection was carried out on 296 mutant clones by plant and flower observation in mutant clones transferred to external conditions. Accordingly, 70 clones were identified, differing by 28.38%.

Keywords: *Kalanchoe*, *in vitro* mutation, physical mutagen, gamma ray

Geliş Tarihi: 26.08.2024, Düzeltme Tarihi: 24.10.2024, Kabul Tarihi: 13.11.2024

Adres: ¹Türkiye Enerji Nükleer ve Maden araştırma Kurumu, Nükleer Enerji Araştırma Enstitüsü

Adres: ²Has Biotech Araştırma ve Geliştirme Tarım Sanayi ve Tic. A.Ş.

Adres: ³Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü

Adres: ⁴DOQUTECH Academy Ltd. Şti., Ankara Üniversitesi Teknokent.

E-Mail: kadriyeyaprak.kantoğlu@tenmak.gov.tr

1. Giriş

Kalanşo (*Kalanchoe blossfeldiana* Poelnn.), *Crassulaceae* familyasında yer alan bir süs bitkisi türüdür. Afrika orijinli olan bu tür saksılı süs bitkileri grubunda göz alıcı farklı çiçek rengi, çiçek ve yaprak yapısı ile öne çıkan bir türdür. Bitkinin tarihçesi incelendiği zaman, 1979'da Rus uzay istasyonu Salyut1'e gönderilen ilk türler arasında yer aldığı görülmektedir. Geleneksel tıpta enfeksiyon, romatizmal ve iltihabi hastalıklara karşı kullanılmış olduğu bilinmektedir (Anonymous 2024). Bunun dışında içermiş olduğu bufadienolid bileşiklerinin belirgin sedatif etkisi olduğu bildirilmiştir (Vargas et al., 2022). Özellikle kardiyak glikozitlerle ilişkili güçlü pozitif bir inotropik etkisi de mevcuttur (Wagner et al., 1985). İçerdiği Bryophilin C'nin ise böcek öldürücü özelliği de Sufatman et al. (2001) tarafından saptanmıştır. Son yıllarda ise içermiş olduğu antioksidantlar nedeni ile kanser tedavisi ile ilgili çalışmalar açısından önem kazanan bir türdür (Stefanowicz-Hajduk et al., 2022). Dünya süs bitkileri sektöründe saksılı süs bitkileri satışı sıralamasında, Royal FloraHolland'ın 2019 yılı verilerine göre ikinci sırada yer almaktadır (Kahraman and Boyacı 2021). Kısa gün bitkisi olan tür, yapay aydınlatma ve karartma ile yıl boyunca çiçekli olarak üretilebilme özelliğine sahiptir. Uzun çiçeklenme süresine (en az 6 hafta) sahip olması nedeniyle diğer saksılı bitkilere göre talebi her geçen gün daha da artan bir süs bitkisidir. Saksılı bitki olarak değerlendirilmesinin yanı sıra son yıllarda kesme çiçek (Kahraman and Boyacı, 2021) ve dış mekân süs bitkisi olarak değerlendirilmesine yönelik bir eğilim de mevcuttur (Kahraman et al., 2022). Bütün bu nedenler kapsamında ve piyasanın istekleri doğrultusunda; albenisi ve farklı değerlendirme koşullarına adaptasyonu yüksek, çiçeklenme süresi uzun yeni çeşitler geliştirmek üzere ıslah çalışmaları yapılmaktadır. 1930'lu yılların başından itibaren çeşit geliştirmeye yönelik yapılan çalışmalar içinde klasik melezleme ıslahı halen önemini korumakla birlikte teknolojik ilerlemelere de bağlı olarak iç, dış mekan süs bitkisi ve kesme çiçek kullanımına uygun yeni çeşitleri geliştirmek için doku kültürü tekniklerinden yaprak ayası kültürü (Bejaoui et al., 2023), protoplast kültürü (Cui et al., 2019), embriyo kurtarma, genetik transformasyon (Christensen et al., 2008 Favero et al., 2021), moleküler tarama ve ilgili entegre biyoteknolojik yöntemlerden (Jácome-Blásquez and Kim, 2023) yararlanılmaktadır. Bunların yanı sıra özellikle türler arası melezleme çalışmalarında karşılaşılan sorunları aşmak ve alternatif genetik varyasyon oluşturmak üzere mutasyon ıslahı da yararlanılan ıslah yöntemlerinden biridir. Nitekim fiziksel (X ışını, gama ışını gibi) ve kimyasal (Ethyl metanesulfonate –EMS-, Diethyl sulphate –DES-) mutagen uygulamaları yapılarak geliştirilen dört mutant çeşit Uluslararası

Atom Enerjisi Ajansı Mutant Çeşit Veri Bankasında yer almaktadır (MVD, 2024). Bunların dışında özellikle yaprak lekeli (Brown spot- *Stemphylium lycopersici*) hastalığına karşı toleranslı hatların *in vitro* mutagen (EMS) uygulaması sonucunda geliştirildiği Li et al., (2019) tarafından bildirilmiştir. Günümüze kadar gerek hastalık direnci gerekse arzu edilen morfolojik karakterlerin geliştirilmesine yönelik olarak mutasyon ıslahı yöntemlerinin kalanso için uygulamada kullanıldığı görülmektedir (Brojerties and Leffury 1972; Krupa-Malkiewicz 2010; Li and Fan 2019). Türün ticari üretimi klasik yöntem olan yaprak çeliği ile yapılmakla birlikte son yıllarda daha büyük hacimli ve hızlı üretim yapmak üzere doku kültürü yöntemleri ile üretim gerçekleştirilmektedir (Deng et al., 2005; Bejaoui 2022; Bejaoui et al., 2023). Bitkisel üretim dışında ıslah çalışmalarında embriyo kurtarma çoklukla kullanılan bir doku kültürü yöntemi olup; poliploidi ve transgenik bitki elde etme çalışmalarında da doku kültürü teknikleri etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Kahraman et al., 2022). Burada sonuçları sunulan çalışmada kitlesel bitki üretiminde etkin olarak kullanılan doku kültürü yöntemlerinden yararlanılarak gama ışını ile *in vitro* mutagen uygulaması sonrasında kalanso için EMD50 dozu belirlenmiştir. Bu doz baz alınarak yeni çeşit geliştirmeye yönelik *in vitro* mutant populasyon oluşturulması hedeflenmiştir. Bu amaçla *in vitro* koşullarda M1V4 aşamasına kadar çoğaltılan mutant klonlar bu aşamadan sonra dış koşullara aktarılarak M1V4 bitkilerinde bitki gözlemleri yapılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

Bu çalışmada yerli üreticiden temin edilen ve çeşit ismi bilinmeyen beyaz renkli bir genotipe ait yaprak ayaları *in vitro* koşullarda kültüre alınmak üzere kullanılmıştır (Şekil 1). Klonal çoğaltım ve ışınlama denemesi için ise yaprak ayalarından rejenere edilen sürgünler kullanılmıştır. M1V4 aşamasında dış koşullara transfer edilen bitkilerde farklı çiçek yapısına (petal rengi, şekli, sayısı, katmerlilik, korolla kenarında kesi durumu vb.) sahip olan genotiplerin *in vitro* çoğaltımı için ise çiçeklere ait petal yapraklar kültüre alınmıştır.



Şekil 1. Kontrol olarak kullanılan kalanso bitkisi

2.2. Metot

Ana stok materyalin in vitro çoğaltımı

In vitro mutasyon ıslahı çalışmasının başlangıcında öncelikle hızlı ve etkili *in vitro* çoğaltım yönteminin çalışmada kullanılacak olan genotipe göre belirlenmesi gerekmektedir (Van Harten 2008). Bu amaçla Bejaoui (2023) tarafından kalanşo için belirlenen metot baz alınarak yaprak ayası eksplantları bitki rejenerasyonu için kullanılmıştır. Eksplantların sterilizasyonu için %15 ticari sodyum hipoklorit ve 3 damla Tween 20 içeren sterilizasyon solüsyonu uygulanan eksplantlar, bu solüsyon içinde 12 dakika bekletildikten sonra 5'er dakika süre ile steril saf su ile yıkanmıştır. Bunu takiben eksplant yüzeyinde kalabilecek su, eksplantların steril filtre kâğıdı arasına alınması ile uzaklaştırılmıştır. Steril edilen eksplantlar %3 sakkaroz, %0,7 agar, 1 mg/L BAP ve 0,5 mg/L NAA içeren, pH'sı 5.7 olan Murashige Skoog (1962) (MS) besin ortamında kültüre alınmıştır. Kültüre alınan yaprak eksplantları, 3 hafta süre ile $25\pm 2^\circ\text{C}$ 'de karanlık koşullarda inkübe edilmiştir. Rejenerasyon sonrası izole edilen sürgünler 30 g/L sakkaroz, 6 g/l agar içeren, pH değeri 5.7 olan büyüme düzenleyici içermeyen MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Kültürler 16/8 h aydınlatma rejiminde 8000 Lux ışık şiddetinde dört hafta süre ile geliştirilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *In vitro*'da çoğaltılan ve etkili ışın dozu denemesinde kullanılan sürgünler

In vitro mutagen uygulaması ve EMD50'nin belirlenmesi

Aynı gelişme döneminde olan *in vitro* bitkiler (en fazla 3 adet boğum bulunduran= 3 nod'lu) (Şekil 2) EMD50'nin belirlenmesi için her dozda 30 bitki olacak şekilde, Türkiye Enerji Nükleer ve Maden Araştırma Kurumu-Nükleer Enerji Araştırma Enstitüsü bünyesinde bulunan Kobalt 60 gama ışın (Kaynak gücü: 233 Gy/h) kaynağı ile Kantoğlu et al., (2010) tarafından elde edilen bulgular gözönüne alınarak 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 180 ve 220 Gy dozlarında olacak şekilde 10 farklı dozda ışınlanmıştır. Işınlama sonrasında gama ışını kaynaklı besin ortamında oluşacak radikallerin olumsuz etkilerinden *in vitro* bitkileri korumak üzere, bitkiler taze besin ortamına (0 MS) transfer edilmiştir. Işınlamadan

30 gün sonra EMD50'yi (Van Harten 1998; Kantoğlu ve Kunter 2021) belirlemek üzere *in vitro* bitkilerde bitki boyu ölçümleri yapılmıştır. Ortalama bitki boyu verileri ile yapılan Lineer Regresyon Analizi sonucunda EMD50 dozu belirlenmiştir.

Ana mutant in vitro populasyonun oluşturulması

Belirlenen EMD50 (119 Gy) ve bu dozun %10 alt ve üst değerleri (130 ve 107 Gy) ile her doz için 1000 adet 2-3 nod'lu *in vitro* eksplant ışınlanmıştır. Işınlama sonrası bir önceki uygulamada olduğu gibi bitkiler her bir nod ayrı olacak şekilde nod bazında taze MS ortamında kültüre alınarak, M1V1 mutant populasyonu oluşturulmuş ve her bitki kodlanarak kimliklendirilmiştir. Dört hafta sonra 3-4 nod'lu olarak gelişen bitkiler alt kültüre alınarak mutant klonların oluşturulmasına başlanmıştır. Alt kültürler ile çoğaltma işlemi M1V4 aşamasına kadar devam ettirilerek 296 adet klon mutant hat oluşturulmuştur.

Mutantların M1V4 aşamasından sonra dış koşullara aktarımı ve gözlemler

Kök ve sürgün gelişimi itibarı ile tam bir bitki haline gelen *in vitro* mutant bitkilerin (ana mutant populasyon) dış koşullara aktarılması için Bejaoui et al. (2023)'ün bildirdiği sistem uygulanarak iklimlendirme odası koşullarında pişkinleşen bitkiler sera koşullarına aktarılmıştır. Sera koşullarında kullanılan yetiştirme ortamı, iklimsel koşullar ve süre hakkında bilgi veriniz. Aktarılan bitki sayısı çok olduğu için *ex vitro* bitkilerde aşağıda sunulan temel morfolojik kriterler göz önüne alınarak ilk ön seleksiyon yapılmıştır.

1. Habitus (dik, yatık)
2. Çiçek yapısı (yalın kat, katmerli gonca, bol katmerli, büyük katmerli, minik katmerli, katmerli)
3. Her bir bitkideki çiçek sürgünü sayısı (buket yoğunluğu) (normal, çok ve az)
4. Petal rengi (beyaz, ekru, pembemsi, pembemsi somon, pembemsi ekru, beyaz pembemsi ve kırmızı pembe)
5. Petal şekli (oval, karanfilimsi, büyük oval, yuvarlağımsı oval, sivri oval, uzun oval, tırtıklı oval, kıvrık oval)
6. Renkli petalin daldaki sayısı (bütün bitkide, 3 dalda, 2 dalda ve 1 dalda)

İstatistiksel Analiz

EMD50'yi belirlemek üzere denemeler üç tekerrürlü ve her tekerrürde 10 eksplant olacak şekilde kurulmuştur. Sonuçlar, Lineer Regresyon Analizi yapılarak değerlendirilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

Etkili mutasyon dozu

In vitro koşullarda çoğaltılan ve tam bitkicik olarak gelişen bitkiler EMD50 dozunu belirlemek üzere on farklı dozda (0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 180 ve 220 Gy) ışınlanmış ve takip eden 30. günde yapılan sürgün boyu ölçümleri sonucunda elde edilen ortalama veriler kullanılarak Lineer Regresyon analizi yapılmıştır. Analiz sonucuna göre, kontrol sürgün uzunluğunun %50'si oranında gelişmenin sağlandığı EMD₅₀ değeri 119 Gy olarak belirlenmiştir (Tablo 2, Şekil 5).

Tablo 2. EMD₅₀'yi belirlemek üzere farklı dozlarla yapılan ışınlama sonrası 30. günde sürgün gelişimi ve EMD₅₀ değeri

Işınlama dozu (Gy)	0	20	40	60	80	100	120	140	180	220
Ortalama <i>in vitro</i> bitki sürgün uzunluğu (cm)	2.2	2.3	1.7	1.1	1.3	1.0	0.8	1.0	0.8	0.6
EMD ₅₀ $y = -0,0075x + 1,9957$ ($r^2 = 0,78$)	x=119 Gy									

(y: kontrol sürgün uzunluğunun %50 değerini, x: EMD₅₀ dozunu temsil etmektedir)

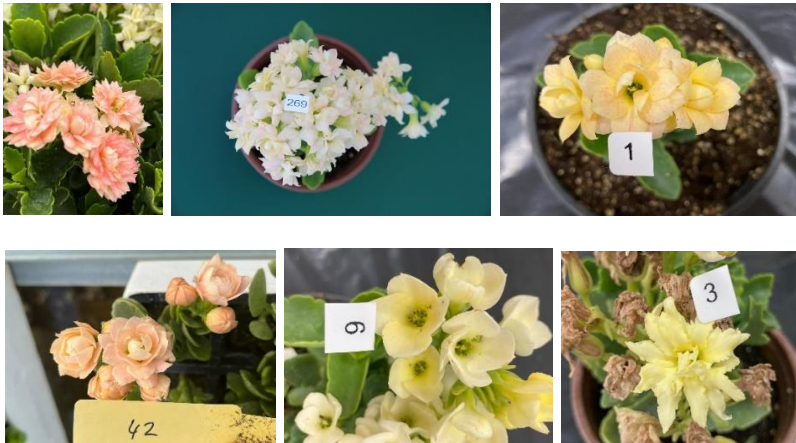


Şekil 5. Artan ışın dozunun sürgün gelişimi üzerine etkisi (Soldan sağa 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 180, 220 Gy)

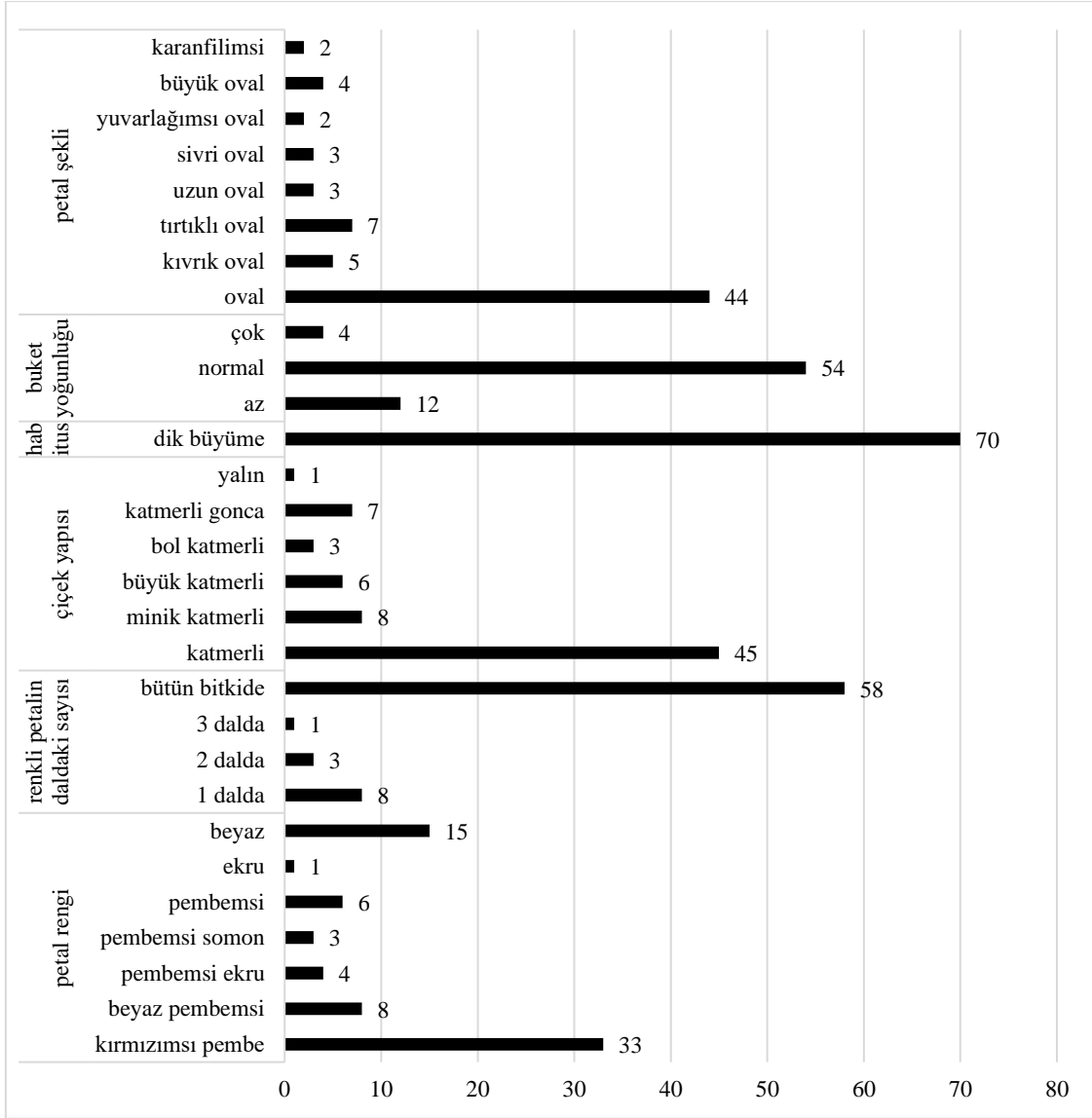
Elde edilen verilerden de görüleceği gibi artan ışın dozuna bağlı olarak sürgün gelişimi azalmıştır. Elde edilen bulgu kalanço türünde yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında bu zamana kadar yapılan çalışmalarda *in vitro* kimyasal mutagen uygulamalarının ağırlıklı olarak uygulandığı görülmektedir (Krupa-Malkiewicz 2010; Li et al., 2019). Yapılan çalışmalarda kullanılan eksplant ve kimyasal mutagen tipine göre değişmekle birlikte, EMS için LD50 dozu 2 saat süreyle %0.8'lik doz ve kallus için ise 1,5 mM DES dozu etkili bulunmuştur. *Ex vivo* materyal (yaprak ayası) kullanılarak yapılan *in vivo* denemelerde ise 2 krad'lık X ışını dozu EMD50 olarak belirlenmiştir (Broertjes and Leffring 1972). Yine farklı süs bitkileri türlerinden krizantem türü için yapılan bir başka çalışma *in vitro* sürgün kültürü için EMD50 dozu gama ışını uygulamasında 20 Gy olarak belirlenmiştir (Haspolat 2024). Bu çalışma için kalançoya ait sürgün eksplantları için belirlenen EMD50 dozu *in vitro* çalışmalar adına önemlidir.

In vitro 'da geliştirilen mutant bitkilerden elde edilen popülasyona ait veriler

EMD₅₀ (119 Gy) ve bu dozun %10 alt ve üst değerleri ile yapılan gama ışını uygulaması sonrasında, M1V4 aşamasına kadar çoğaltılan toplam 296 adet mutant klon sera koşullarına transfer edildikten dokuz hafta sonra bitkilerde ön seleksiyon amaçlı altı kritere (habitus, çiçek yapısı, buket yoğunluğu, petal şekli, petal rengi ve renkli petallere sahip çiçeklerin bitkideki dağılımı) göre gözlemler alınmıştır. Bu kriterlere göre yapılan gözlemler sonucunda kontrole göre farklılık gösteren ana popülasyon içinde %23.65 oranında farklılık gösteren 70 adet (% oranı: yani seçilen /aktarılan tüm mutant) mutant klon belirlenmiştir (Şekil 6 ve Şekil 7). Kontrol olarak kullanılan bitkilerde ön seleksiyon kriterlerine bağlı kalınarak yapılan karakterizasyon çalışması sonucunda; habitus gelişiminin dik, çiçek yapısının katmerli, petal renginin beyaz, petal şeklinin oval ve buket yoğunluğunun normal olduğu belirlenmiştir. Elde edilen veriler incelendiği zaman; habitus gelişimi olarak kontrol ile mutant klonlar arasında bir farklılığın olmadığı ve tüm klonların dik bir gelişme gösterdiği belirlenmiştir. Çiçek yapısı olarak kontrolün gösterdiği katmerli yapıya karşılık bir mutant klonun yalın kat (%1.43), 3 klonun bol katmerli (%4.29), 6 klonun büyük katmerli (%8.57), 8 klonun küçük katmerli (%11.43), 45 klonun kontrolle aynı katmerli yapıyı gösterdiği (%64.29) ve 7 klonun ise az katmerli yapıya (%10.00) sahip olduğu görülmüştür. Çiçek buketi yoğunluğu açısından yapılan gözlemlerde yoğunluğun kontrole göre 4 klonda daha fazla, 54 klonda kontrolle aynı, 12 klonda ise daha az olduğu belirlenmiştir. Petal şekli açısından yapılan değerlendirmede; kontrolde oval olarak seyreden petal şeklinin 2 klonda korolla kenarında kesi (karanfile benzer yapı) (%2.86), 4 klonda büyük oval (%5.71), 2 klonda yuvarlağımsı oval (%2.86), 3 klonda sivri oval, 3 klonda uzun oval (%4.29), 7 klonda tırtıklı oval (%10.00), 5 klonda kıvrık oval (%7.14), 44 klonda ise kontrolle aynı (%62,86) gelişime sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 6. *In vitro* mutasyon uygulaması sonucunda elde edilen varyasyon



Şekil 7. M1V4 generasyonundaki mutant klonlarda gözlenen farklılıklar

Petal rengi açısından yapılan incelemede ise; kontrolde beyaz olan petal renginin 1 mutant klonda ekru, 6 mutant klonda pembemsi (%8.57), 3 mutant klonda pembemsi somon (%4.29), 4 klonda pembemsi ekru (%5.71), 8 klonda beyaz pembemsi (%11.43) ve 33 klonda (% 47.14) ise kırmızımsı pembemsi renkte olduğu saptanmıştır (Şekil 7). Renkli petallere sahip çiçeklerin bitkideki dağılımı incelendiğinde, 58 mutant klonda tüm bitkide aynı renkte petallere sahip çiçeklerin, 1 klonda 3 dalda aynı renge sahip çiçeğin, 3 klonda ise 2 dalda ve 1 klonda da 1 dalda aynı renge sahip çiçeğin bulunduğu görülmüştür. Toplamda farklılıkları nedeniyle 296 adet mutant klon gözlem altına alınarak değerlendirilmiş ve bu klonlar içerisinde 119 Gy dozunda ışınlanan mutantların 4 tanesi stabilitesi açısından öne çıkmıştır. Elde edilen sonuçlar belirlenen EMD₅₀ doğrultusunda yapılan ışınlama sonucunda geniş bir varyasyonun elde edildiğini ortaya koymaktadır (Şekil

7). Kalanşo üzerine yapılan mutasyon ıslahı çalışmaları sonuçları ile burada sunulan çalışma sonuçları çiçek morfolojik yapısında elde edilen varyasyon açısından paralellik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda özellikle çiçek rengi, şekli ve büyüklüğü açısından geniş varyasyon elde edildiği (Broertjes and Leffring 1972; Anonymous 1988; Krupa-Malkiewicz 2010) görülmektedir. Kullanılan ana genotipin çiçek rengi ve şekli mutasyon çalışmaları sırasında farklı renklerin ve şekillerin açığa çıkmasında etkili olmakla birlikte kalanşoda yürütülen bu çalışmada, ana renk olan beyazdan kırmızımsı pembe rengine kadar bir açılım olduğu saptanmıştır. Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı Mutant Veri Bankası incelendiği zaman kayıtlı olan dört mutant kalanşo çeşidinin (Flores, Lombok, Sumba ve Harvest Moon) sırası ile 10-30 Gy dozlarındaki X ve gama ışını uygulamaları sonucunda elde edildiği görülmektedir. Belirgin olarak EMD50 dozu olarak belirlenen 119 Gy'lik dozda yapılan ışınlama sonucunda çiçek şekli ve renginde değişim sağlanmıştır (MVD 2024). Bunun yanı sıra bu araştırmanın konusu kapsamında olmamasına rağmen hastalıklara tolerans açısından kalanşo için yürütülen çalışmada kahverengi leke hastalığına tolerant 3 klon kimyasal mutagen (EMS) uygulaması sonrasında kallus kültürü ile elde edilmiştir (Li et al., 2019).

4. Sonuçlar

Islah çalışmalarının süresini hızlandırmak ve gen havuzunu genişletmek amacı ile *in vitro* mutasyon ıslahı çalışmaları halen popülerliğini korumaktadır. Kalanşo türünde *in vitro* mutasyon ıslahı çalışması kapsamında yürütülen ve sonuçları sunulan bu çalışmada, *in vitro* sürgün kültürü için 119 Gy'lik gama ışın dozu EMD50 olarak belirlenmiştir. Belirlenen doz doğrultusunda yapılan *in vitro* mutagen uygulaması sonucunda, M1V4 aşamasına kadar kimliklendirilerek çoğaltılan 296 adet mutant klon içinde 70 tane klonda yalnızca katmerli yapıya, beyazdan kırmızımsı pembe rene, farklı petal şekillerinde ve çiçek yoğunluğuna sahip mutantlar elde edilmiştir. Bu araştırma ile kalanşo türünde *in vitro* mutasyon ıslahı çalışmalarının yaklaşık 20 aylık bir süre içinde sonuca gidebilecek verileri sağladığı belirlenerek yöntemin kullanılan genotip özelinde etkili olduğu ortaya konulmuştur. Öte yandan farklı genotip ve çeşitler özelinde etkili mutasyon dozunun değişim gösterebileceği göz ardı edilmemelidir. Krizantemde *in vitro* mutagen uygulaması sonucunda elde edilen populasyon içinde çiçek rengi değişimi üzerinde gama ışını uygulaması sonucunda geniş bir varyasyon elde edilebileceği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Mandal et al., 2004; Shafiei et al., 2019; Haspolat 2022; Haspolat 2024). Benzer sonuçlar gülde (Ryu et al., 2020) ve karanfilde (Roychowdhury and Tah 2011; MVD 2024) yürütülen mutasyon ıslahı

alışmalarında da elde edilmiştir.Yapılan alışma, son yıllarda ivme kazanan süs bitkileri ıslahı alanında mutasyon tekniklerinin kullanılabilceğini; yurtdışından ithal edilen ss bitkileriyle rakip edebilecek ve/veya yerini alabilecek potansiyele sahip yerli çeşitlerin geliştirilmesinin mümkün olabildiğine işaret etmektedir. Bitki türlerine özelleşerek çeşit ıslahına girecek özel sektör firmalarının da çoğalması ile birlikte önümüzdeki 10 yıllık projeksiyonda yerli süs bitkisi tür ve çeşitlerinin artacağı, ithal ürünlerin yerine yerli çeşitlerin piyasada yer alabileceği umulmaktadır.

Teşekkür

Bu alışma VIII. Ulusal Süs Bitkileri Kongresinde bildiri olarak sunulmuştur.

Kaynaklar

- Anonymous, (1988). List of mutant cultivars. *Mutation Breeding Newsletter*, 31,25.
- Anonymous, (2024). Kalancho. <https://en.wikipedia.org/wiki/Kalanchoe> Erişim Tarihi 18.04.2024
- Bejaoui, R., Gümüő, C., Sönmez, K., Kırbay, E., Ellialtıoğlu, Ő. Ő. (2023). *The effects of different PGR contents on in vitro organogenesis and shoot proliferation in kalanchoe (Kalanchoe blossfeldiana Poelln.)*. 11th International Conference on Agriculture, Animal Sciences and Rural Development, 995-1010. Muő.
- Bejaoui, R., Özdemir, G.E., Ellialtıoğlu, Ő.Ő. (2023). *In vitro* or *ex vitro* rooting and acclimatization of *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. shoots propagated by tissue culture technique. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi* 10(4): 843–853. Doi: <https://doi.org/10.30910/turkjans.1288919>
- Broertjes, C., Leffring, L. (1972). Mutation breeding of Kalancho. *Euphytica* 21: 415-423.
- Christensen, B., Sriskandarajah, S., Serek, M., Muller, R. (2008). Transformation of *Kalanchoe blossfeldiana* with rol-genes is useful in molecular breeding towards compact growth. *Plant Cell Rep* 27:1485–1495. DOI 10.1007/s00299-008-0575-0
- Cui, J., Kuligowska Mackenzie, K., Eeckhaut, T. *et al.* (2019). Protoplast isolation and culture from *Kalanchoe* species: optimization of plant growth regulator concentration for efficient callus production. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 138, 287–297. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01624-4>
- Haspolat, G. (2024). Variations in flower color of mutant Chrysanthemums. *Horticulturae* 10, 385. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10040385>
- Haspolat, G. (2022). Induction of mutagenesis on Chrysanthemums. *Ornamental Horticulture* <https://doi.org/10.1590/2447-536x.v28i4.2523>
- Jácome-Blásquez, F., Kim, M. (2023). Meristem genes are essential for the vegetative reproduction of *Kalanchoe pinnata*. *Frontiers in Plant Science* 14, 1157619. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1157619>.
- Krupa-Mańkiewicz, M. (2010). Influence of chemical mutagens on morphological traits in kalanchoe (*Kalanchoe Hybrida*). *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin. 2010, Agric., Aliment., Pisc., Zootech.* 279 (15), 11–18.
- Kahraman, M.U, Boyacı, F. (2021). *Kalanşo. Süs Bitkileri Islahı (Türler)*. Gece Kitaplığı, Ankara.

- Kahraman, M.U., Yalçın Mendi, Y., Karabıyık, Ş., Lütken, H.V., Favero, B.T. (2022). Kalanchoë Breeding: Past, Present and Future. *Ornamental Horticulture* 28, 1: 19-35. <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v28i1.2403>
- Kantoğlu, K.Y., ve Kunter, B. (2021). *Mutasyon Islahı. Süs Bitkileri Islahı (Klasik ve Biyoteknolojik Yöntemler)*, Gece Kitaplığı, Ankara.
- Kantoğlu, Y., Seçer, E., Erzurum, K., Tutluer, İ., Kunter, B., Peşircioğlu, H., Sağel, Z. (2010). *Improving tolerance to Fusarium oxysporum f. sp. melonis in melon using tissue culture and mutation techniques. Mass screening techniques for selecting crops resistant to disease*. IAEA, Vienna.
- Li, R., Fan, L., Lin, J., Li, M., Liu, D., Sui, S. (2019). *In vitro* mutagenesis followed by polymorphism detection using start codon targeted markers to engineer brown spot resistance in kalanchoe. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 144(3):193–200. 2019. <https://doi.org/10.21273/JASHS04571-18>
- Malaure, R. S., Barclay, G., Power, J. B. Davey, M. (1991). The production of novel plants from florets of *Chrysanthemum morifolium* using tissue culture. I. shoot regeneration from ray florets and somaclonal variation exhibited by the regenerated plants. *J Plant Physiol* 139:8-13.
- Mandal, A.K., Chakrabarty, D., Datta, S.K. (2004). Application of *in vitro* techniques in mutation breeding of chrysanthemum. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 60, 33-38.
- MVD, (2024). IAEA Mutant Variety Data Base. <https://nucleus.iaea.org/sites/mvd/SitePages/Search.aspx> Erişim Tarihi: 18.04.2024
- Roychowdhury, R. and Tah, J. (2011). Mutation breeding in *Dianthus caryophyllus* for economic traits. *Electronic Journal of Plant Breeding*, 2(2):282-286
- Ryu J, Lyu JI, Kim D-G, Kim J-M, Jo YD, Kang S-Y, Kim J-B, Ahn J-W, Kim SH. (2020). Comparative Analysis of Volatile Compounds of Gamma-Irradiated Mutants of Rose (*Rosa hybrida*). *Plants* 9(9):1221. <https://doi.org/10.3390/plants9091221>
- Shafiei, M.R., Hatamzadeh, A., Azadi, P., Lahiji, H.S. (2019). Mutation Induction in Chrysanthemum Cut Flowers Using Gamma Irradiation Method. *Journal of Ornamental plants*, 9, 143-151.
- Stefanowicz-Hajduk J., Hering A., Gucwa M., Sztormowska-Achranowicz K., Kowalczyk M., Soluch A., Ochocka J.R. (2022). An *in vitro* anticancer, antioxidant, and phytochemical study on water extract of *Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet and H. Perrier. *Molecules*. 31;27(7):2280. <https://doi.org/10.3390/molecules27072280>

- van Harten, A.M. (1998). *Mutation Breeding: Theory And Practical Applications*. Cambridge University Press, UK.
- Vargas A, Herrera I, Nualart N, Guézou A, Gómez-Bellver C, Freire E, Jaramillo Díaz P, López-Pujol J. (2022). The Genus *Kalanchoe* (Crassulaceae) in Ecuador: From Gardens to the Wild. *Plants* 11(13):1746. <https://doi.org/10.3390/plants11131746>