



## ***Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. Türünde Yapılan Doku Kültürü Araştırmaları Üzerinde Bir İnceleme**

Cevdet GÜMÜŞ<sup>1\*</sup> Ş. Şebnem ELLİALTIOĞLU<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bartın Üniversitesi, Bartın Meslek Yüksekokulu, Bartın

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara

\*Sorumlu Yazar:

E-posta:cgumus@bartin.edu.tr

Geliş Tarihi : 19 Eylül 2018

Kabul Tarihi: 22 Ekim 2018

### **Özet**

*Kalanchoe blossfeldiana* dünyada bilinen ve Hollanda mezarlarında satış oranı en yüksek iç mekan süs bitkilerinden biridir. Bu çalışmada *Kalanchoe blossfeldiana* türünde *in vitro* koşullarda yapılan mikroçoğaltım, somatik embriyogenezis, çiçeklenme ve ıslah araştırmaları derlenmiştir. Mikroçoğaltım çalışmalarında eksplant kaynağı olarak gövde (sürgün ucu, boğum ve boğum arası), yaprak (yaprak ayası ve yaprak sapı) ve çiçek kısımları (inflorescence); dezenfektan olarak NaOCl ve HgCl<sub>2</sub>; büyümeyi düzenleyici olarak BA, NAA, GA<sub>3</sub> ve TDZ'nin farklı dozlarının ve besin ortamı olarak farklı MS konsantrasyonlarının kullanıldığı görülmüştür. İncelenen çalışmalarda sürgün rejenerasyonu ve bitkicik oluşumunun meydana geldiği, elde edilen bitkiciklerin başarılı bir şekilde dış koşullara aktarıldığı bildirilmiştir. Somatik embriyogenezis çalışmalarında klonal çoğaltım ve suni tohum elde edilmesi üzerine çalışmaların yapıldığı anlaşılmıştır. *In vitro* çiçeklenme üzerine yapılan araştırmalarda kültür koşulları, besin elementleri, büyümeyi düzenleyiciler ve gallik asitin etkisi incelenmiş, ıslah araştırmalarında ise türler arası melezleme ile elde edilen hibrit embriyoların kurtarılması ve poliploid bitki elde edilmesi konularında çalışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Kalanchoe*, doku kültürü, bitki büyüme düzenleyicileri, çoğaltım, çiçeklenme, ıslah

## **A review on Tissue Culture Studies of *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln.**

### **Abstract**

*Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. is one of the ornamental pot plants known around the world and the highest selling rate in Dutch auctions. In this compilation, studies on micropropagation, somatic embryogenesis, *in vitro* flowering and *in vitro* breeding of *Kalanchoe blossfeldiana* is edited. In the micropropagation studies, stem (shoot-tip, node and internode), leaves (leaf blade and leaf stalk) and flower parts (inflorescence) as explant source; NaOCl and HgCl<sub>2</sub> as disinfectants; different doses of BA, NAA, GA<sub>3</sub> and TDZ as growth regulators and different concentrations of MS as nutrient medium were used. It has been reported in the examined studies that the plant regeneration and plantlets arisen from explants, and the plantlets were successfully transferred to external conditions. It has been understood that studies on somatic embryogenesis studies have been carried out on clonal propagation and artificial seed production. Investigations on *in vitro* flowering studies have examined the effects of culture conditions, nutrients, growth regulators and gallic acid. In breeding studies, hybrid embryos obtained by interspecies hybridization were rescued and polyploid plants were obtained.

**Keywords:** *Kalanchoe*, tissue culture, plant growth regulators, propagation, flowering, breeding

### **GİRİŞ**

Günümüzde yaklaşık 7,6 milyar insanın yaşadığı dünyada, hızlı nüfus artışının dolaylı etkisi sonucu sanayileşme ve globalleşme ile birlikte şehirleşme hızı da artmaktadır. Artan şehirleşme hızı fiziksel ve ekolojik çevre sorunlarını da beraberinde getirmekte şehirlerde yaşayan insanların yeşile, doğaya olan özlemi giderek artmaktadır. Gerek iç mekanda gerekse dış mekanda insanların bu gereksinimlerini karşılamada süs bitkileri zamanla vazgeçilmez bir unsur haline gelmiştir [15,22,44]. Süs bitkileri kesme çiçekler, geofitler, iç mekan ve dış mekan süs bitkileri olarak dört grupta incelenmekte olup, iç mekanda en fazla kullanılan süs bitkilerinden biri de kalanço (*Kalanchoe*)'dur.

*Crassulaceae* familyası içerisinde yer alan *Kalanchoe*, tek yıllık veya çok yıllık çalı, tırmanıcı veya küçük ağaç formunda; sukulent, otsu, otsu-odunsu karakterli yaklaşık 130 türe sahiptir. Türlerin çoğunluğu Afrika ve Madagaskar olmak üzere bazıları Asya ve bir türü de Güney Amerika kökenlidir [13,16,23,45,46]. Dünya'da en çok bilinen türü *Kalanchoe blossfeldiana*'dır [29]. *K. blossfeldiana*'nın 1932 yılında Robert Blossfeld tarafından tanıtılmasından sonra

üreticiler, hem tür içi hem de türlerarası melezleme ile elde edilen yeni çeşitleri piyasaya sunmuştur. Ana türde diploid kromozom sayısı  $2n = 34$  iken, türlerarası hibritlerde ploidi seviyeleri (triploid,  $2n = 51$  ve tetraploid,  $2n = 68$ ) daha yüksektir [49].

*Kalanchoe blossfeldiana* sukulent karakterli bitkilerdir. Yaprakları etli, parlak yeşil renkli, kenarları oymalı dişli; kimöz durumlu çiçekleri ise kırmızı, pembe, beyaz, sarı, turuncu ve mor renklerde, yalın kat veya katmerlidir [32,34]. Her infloresans 100'ün üzerinde çiçeğe sahiptir [46]. Kış aylarında açan çiçekleri 7-8 hafta canlı kalmaktadır [18,29].

*Kalanchoe blossfeldiana* kısa gün bitkisidir [31,32,38,39]. Kritik gün uzunluğu 12.5 saattir [46] ve bitkilerin çiçek tomurcuğu oluşumu için günlük karanlık periyot 14 saat olmalıdır [31]. Çiçeklenme için en az 2 kısa güne ihtiyaç duyar ve kısa gün sayısının artmasıyla çiçek sayısı da katlanarak artar. Bu nedenle fotoperiyot ile çiçek oluşumu arasındaki ilişkiyi araştırmada model bitki olarak kullanılır [32,38,39]. Optimum gelişme sıcaklığı 64-68 °F olan *Kalanchoe blossfeldiana* türünde en iyi çiçeklenme 70 °F'de meydana gelmektedir [46].

Avrupa ve Amerika'da ekonomik olarak önemi

gittikçe artan en önemli iç mekan süs bitkilerinden biridir [18,19,37]. Her iki kıtada da orkidelerden sonra en çok satılan bitkilerdir. Avrupa'nın en çok süs bitkisi ticareti yapılan ülkesi konumundaki Hollanda'nın en büyük mezarı olan FloraHolland'da 2015 ve 2016 yılında 90 milyon adet, 2017 yılında 100 milyon adet *Kalanchoe* satılırken, bu ticareten sırasıyla 62, 67 ve 69 milyon € gelir elde edilmiştir [47]. Kalanchoe bitkisine olan talep ülkemizde de her geçen yıl artmaktadır. Yılda ortalama 20 TL fiyat ile ortalama 5 milyon adet *Kalanchoe blossfeldiana* bitkisi sakı ile satılmakta olup bunların yarısına yakın bölümü doğrudan ithal edilmekte, diğer kısmı da ithal gelen bitki materyallerinin sera içerisinde büyütülmesiyle hazır hale getirilmekte ve iç piyasaya satılmaktadır. İthal edilen süs bitkileri kategorisinde yer alan *K. blossfeldiana*'nın Orta Anadolu İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği tarafından FloraHolland süs bitkileri borsasına göre belirlenen, 2017 Aralık ayı ithalat referans fiyatı 0.62 Avro'dur [48].

*Kalanchoe blossfeldiana*, farklı tip ve renkteki çiçeklerinin uzun süre canlı kalması ve bakım ihtiyacının az olması nedeniyle çokça tercih edilen ve en fazla ticareti yapılan iç mekan süs bitkilerinden biri olup ülkemize halen yurtdışından getirilmektedir. Bu nedenlerle yapılacak ıslah ve hızlı çoğaltım çalışmalarına temel oluşturmak üzere gerçekleştirilen kaynak araştırması kapsamında elde edilen bilgiler gözden geçirilerek bu derleme hazırlanmıştır.

#### ***Kalanchoe Blossfeldiana* Poelln. Türünde Yapılan Doku Kültürü Çalışmaları**

Doku kültürü, bitki gen kaynaklarının korunmasında en uygun üretim yöntemi olmakla birlikte, vejetatif olarak hızlı ve fazla miktarda bitki çoğaltılabilmesine olanak sağlayan bir üretim şeklidir [40]. Klonal çoğaltma amaçlı *in vitro* kültür tekniklerini ilk uygulayan araştırmacı Georges Morel olmuştur. Morel, 1985 yılında orkidelerde sürgün uçlarını kullanarak hızlı bir şekilde mikroçoğaltımı sağlamıştır. Morel' in bu başarısından sonra, ekonomik önemi olan bitkilerin *in vitro* kültür yoluyla çoğaltılması bu bitkilerin bilinen vejetatif (eşeysiz) yollarla çoğaltılmasına alternatif olarak görülmeye başlanmıştır. Bugün dünyada yaklaşık 156 süs bitkisi, doku kültürü yöntemi ile farklı ticari laboratuvarlarda üretilmektedir [14].

*Kalanchoe blossfeldiana* türünde yapılan doku kültürü çalışmaları, mikroçoğaltım, somatik embriyogenezis, *in vitro* çiçeklenme ve ıslah çalışmaları olmak üzere dört başlık altında gruplandırılmıştır.

#### **Mikroçoğaltım Çalışmaları**

Geleneksel vejetatif çoğaltım yollarıyla bitki materyalinin elde edilmesinde sınırlamalar bulunmaktadır. Ancak doku kültürü yöntemi kullanıldığında çoğaltım katsayısının yüksekliği sayesinde kısa sürelerde binlerce aynı genetik yapıya sahip bitki elde edilebilir. Doku kültürü teknikleri kullanılarak bitki üretilmesi (mikroçoğaltım), birçok bitki türünde olduğu gibi süs bitkilerinin de vejetatif olarak hızlı ve çok miktarda çoğaltılabilmesine olanak sağlayan bir üretim şeklidir.

Bitki doku kültürü işlemlerinde kullanılan temel sistem bitki rejenerasyonudur. Bitki rejenerasyonu meristematik hücreleri ihtiva eden somatik dokular ile meristematik olmayan somatik dokulardan ve mayoz bölünme geçirmiş gametik hücrelerden elde edilmektedir [3].

Avrupa ve Amerika kıtasının en önemli iç mekan süs bitkilerinden biri olan *Kalanchoe blossfeldiana* hibritleri

günümüzde ticari olarak tepe çelikleri ile çoğaltılmaktadır. Geleneksel olan yöntem sınırlı sayıda çoğaltıma izin vermektedir. Bu nedenle türün çoğaltım katsayısını artırmak, üretim süresini azaltmak amacıyla hızlı klonal çoğaltımı araştırılmış ve *in vitro* kültür tekniklerinin kullanıldığı çok sayıda mikroçoğaltım çalışmasına ulaşılmıştır.

*Kalanchoe blossfeldiana* türünde yapılan mikroçoğaltım çalışmaları kapsamında genellikle farklı doku tiplerinde sürgün rejenerasyonu ve elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine büyümeyi düzenleyici maddelerin etkileri araştırılmıştır. Yapılan değerlendirmelerde bu konu üzerinde genellikle Çin'li araştırmacıların yoğunlaştıkları görülmüştür. Türün mikroçoğaltımı konusunda yapılmış çok sayıda araştırma, doku kaynağı olarak kullanılan organlar esas alınarak gövde, yaprak ve çiçek kısımları ile yapılan mikroçoğaltım çalışmaları şeklinde sınıflandırılarak sunulmuştur.

#### **Gövde kısımları kullanılarak yapılan mikroçoğaltım çalışmaları**

Meristematik dokular bitkilerin büyüme bölgelerinde bulunan ve sürekli bölünebilme yeteneğine sahip hücrelerden oluşan bitkisel dokulardır. Kökenlerine göre primer meristem ve sekonder meristem olarak, bitkilerde buldukları yere göre ise apikal meristem ve lateral meristem olarak isimlendirilir. Sürekli bölünebilme yeteneğindeki hücrelerden oluşması sebebiyle rejenerasyon kabiliyeti yüksek olup vejetatif olarak bitki çoğaltımında en fazla kullanılan dokulardır. Meristematik dokuları içeren sürgün ucu, boğum ve boğumarası gibi gövde kısımlarının *Kalanchoe blossfeldiana* türünde de mikroçoğaltım amacıyla başlangıç materyali olarak kullanıldığı araştırmalara ulaşılmıştır.

*Kalanchoe blossfeldiana*'nın meristematik dokularla mikroçoğaltımı konusunda ilk araştırma Cui vd. [8,9] tarafından yapılmıştır. Araştırmacılar sürgün ucu, gövde ve yan tomurcuk eksplantlarını farklı NAA ve BA içeren besin ortamlarında kültüre almışlar ve her iki hormonun da sürgün proliferasyonu üzerine önemli etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Aylık üretim endeksinin 2.67 olarak belirlendiği araştırmada 1.0 mg/l BA ve 0.3 mg/l NAA ilave edilen MS ortamında kültüre alınan tüm eksplant tiplerinde farklılaşma katsayısı daha avantajlı olmuştur. Çalışmada NAA ile kombine edilen IBA'nın kök gelişimini teşvik ettiği belirlenmiş ve en iyi köklenme sonuçları ½ MS + 0.1 mg/l NAA + 0.5 mg/l IBA kombinasyonunda tespit edilmiştir. Bu ortamda elde edilen bitkiciklerin de daha kuvvetli olduğu belirtilmiştir. Yan tomurcuk, sürgün ucu ve gövde eksplantlarını BA ve NAA ilave edilmiş MS besin ortamında kültüre alarak aylık üretim katsayısını 5.8'e yükseltmişlerdir. IBA ile kombine edilen NAA'nın kök gelişimini teşvik ettiğini gözlemleyen araştırmacılar, 4 mg/l BA ve 0.2 mg/l NAA içeren MS ortamında kültüre alınan tüm eksplantlarda farklılaşmanın daha olumlu olduğunu, ½ MS + 0.4 mg/l IBA kombinasyonunda ise en iyi kök gelişiminin elde edildiğini rapor etmişlerdir.

Çinli araştırmacıların ilk sonuçlarından sonra İranlı araştırmacılar apikal meristem dokusunu içeren sürgün ucu eksplantlarını kullanarak *Kalanchoe blossfeldiana* türünde adventif sürgün rejenerasyonu ve elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi konusunda gelişmeler kaydetmiştir. Bunlardan Kordi vd. [24] tarafından yürütülen çalışmada *K. blossfeldiana*'nın sürgün ucu eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu ve elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi üzerine büyümeyi düzenleyici maddelerin etkisi araştırılmıştır. Araştırmada eksplantların 15 dakika

süre ile %15'lik NaOCl ile ardından 5 dakika %70'lik etanol uygulaması ile yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduğu ve 0, 0.5, 1 ve 2 mg/l BA ve NAA ilave edilen pH'sı 5.7-5.8'e ayarlanmış katı MS besin ortamında kültüre alındıkları bildirilmiştir. Kùltürler 25±2°C sıcaklık, %75-80 nem ve günlük 14 saat 50 µmol/m<sup>2</sup>/s ışık şiddeti koşullarında inkübe edilmiş, kültür başlangıcından 45 gün sonra bitkicik boyu, sürgün sayısı, kök sayısı ve kök uzunluğu ölçülmüştür. MS + 1 mg/l BA + 1 mg/l NAA içeren besin ortamından en iyi sonuçlar alındığı, buna göre en yüksek bitki boyunun 6.22 cm, kök sayısının 9.34 ve kök uzunluğunun ise 10.36 cm olarak tespit edildiği belirtilmiştir. Maksimum sürgün sayısı (5.39) ise MS + 1 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA uygulamasından elde edilmiştir. Doku kültüründe çoğaltılmış bitkiciklerin %85'i başarılı bir şekilde dış koşullara alıştırılmıştır.

Apikal meristem dokusunu içeren sürgün ucu eksplantlarının kullanıldığı benzer bir araştırma yine İranlı araştırmacılar Kaviani vd. [20] tarafından yapılmıştır. *K. blossfeldiana* cv. White çeşidinin mikroçoğaltımı üzerine farklı büyüme düzenleyici ve konsantrasyonlarının etkisinin araştırıldığı çalışmada, sürgün proliferasyonu ve köklenme elde etmek amacıyla serada muhafaza edilen ve aktif olarak büyüyen sürgünlerden hazırlanmış sürgün ucu eksplantları farklı dozlarda NAA ve BA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Araştırmada hem BA hem de NAA'in 0.0, 0.5, 1.0 ve 2.0 mg/l dozları kullanılmıştır. Eksplantlar 20 dakika %20'lik NaOCl ardından 3 dakika % 70 etanol ile yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Besin ortamının pH'sı 5.7-5.8'e ayarlanmıştır. Kùltürler 5 hafta süreyle 26±1 °C sıcaklık, %75-80 nem ve günlük 16 saat 50 µmol/m<sup>2</sup>/s ışık şiddeti koşullarında inkübe edilmiştir. Maksimum bitkicik boyu (7.012 cm), nod sayısı (4.516), kök sayısı (8.860 adet) ve kök uzunluğu (10.16 cm) 1 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir. Maksimum sürgün sayısı (5.886 adet), yaprak sayısı (8.98 adet) ve proliferasyon indeksi (1.791) 1 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA ilave edilen ortamda hesaplanmıştır. En düşük bitkicik boyu (1.988 cm), node (boğum) sayısı (1.283), kök sayısı (2.72), kök uzunluğu (3.016 cm), sürgün sayısı (1.221), yaprak sayısı (2.015) ve proliferasyon indeksi (0.405) büyüme düzenleyici içermeyen kontrol grubu bitkilerinde meydana gelmiştir. Mikroçoğaltılmış bitkiciklerin yaklaşık %85'i eşit oranda kum, torf ve perlit içeren ortamlarda başarılı bir şekilde dış koşullara aktarılmıştır.

*Kalanchoe blossfeldiana* türünün mikroçoğaltımına ilişkin apikal meristem içeren sürgün ucu eksplantları yanında, lateral meristem içeren boğum ve sekonder meristem içeren boğum arası gibi gövde eksplantlarının da kullanıldığı birçok çalışma elde edilmiştir.

*K. blossfeldiana*'da sürgün proliferasyonu, sürgünlerin köklendirilmesi ve bitkiciklerin dış koşullara aktarılması üzerine Deng vd. [10] tarafından yapılan çalışmalarda başlangıç materyali olarak boğum eksplantları kullanılmıştır. Araştırmada en uygun başlangıç ortamı olarak % 100 gelişme oranı ile MS + 0.5 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA ortam kombinasyonu tespit edilirken, sürgün çoğaltımında BA, NAA ve GA<sub>3</sub> kombinasyonlarının daha etkili olduğu ifade edilmiştir. MS + 2.0 mg/l BA + 0.2 mg/l NAA + 0.1 mg/l GA<sub>3</sub> besin ortamında 9.3 kat proliferasyon elde edilmiştir. Sürgünlerin çoğaltımı ve köklenmesi üzerine MS+ 2.0 mg/l BA+ 0.1 mg/l GA<sub>3</sub> + 2.0 g/l aktif kömür içeren yarı katı ortam katı ortama göre daha başarılı bulunmuştur. Eksplant başına 5.5'in üzerinde sürgünün elde edildiği çalışmada tüm sürgünler başarılı bir şekilde köklendirilmiş ve dış koşullara aktarılan bitkiciklerde canlılık oranının % 100 olduğu

vurgulanmıştır.

Boğum eksplantlarını başlangıç materyali olarak tercih eden Luo vd. [30], *K. blossfeldiana*'nın hızlı çoğaltımı ve çiçeklenmesi üzerine denemeler yapmışlardır. Çalışmada kontaminasyon oranı üzerine HgCl<sub>2</sub> konsantrasyonu ve süresi, üretim katsayısı ve elde edilen bitkiciklerin çiçeklenmesi üzerine ise büyüme düzenleyicilerin etkisi araştırılmıştır. Yüzeysel sterilizasyon denemelerinde en düşük kontaminasyon oranı 8 dakika HgCl<sub>2</sub> ile dezenfekte edilen örneklerden (%20) elde edilmiş, kontrol grubu örneklerinde ise bu oran %77.8 olarak gerçekleşmiştir. Sürgün proliferasyonu denemelerinde MS + 0.30 mg/L IAA + 2.1 mg/L BA + 0.6 mg/L GA<sub>3</sub>, bitkiciklerin çiçeklenmesi için ise MS + 2.5 mg/L NAA en uygun ortam kombinasyonu olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar GA<sub>3</sub>'in tek başına kullanıldığı örneklerde çiçeklenmeyi uyarıcı etkide bulunmadığını, ancak NAA ile birlikte kullanıldığında bitkiciklerin çiçeklenme süresini 15 gün öne aldığını rapor etmişlerdir.

*K. blossfeldiana*'da başarılı bir sürgün rejenerasyonu elde ettiklerini açıklayan Filipinli araştırmacılar Nieves vd. [33] de boğum eksplantlarından yararlanmıştır. Araştırmacılar "White" çeşidine ait boğum eksplantlarını paclobutrazol bulunan veya bulunmayan farklı dozlarda TDZ içeren ortamlarda kültüre aldıklarını, kültür başlangıcından 7 ila 11 gün sonra yeni sürgünlerin geliştiğini ve en yüksek sürgün proliferasyonunun (25 sürgün) kültürün 12. haftasında 10 µM TDZ uygulamasından elde edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmada besin ortamına ilave edilen paclobutrazolun gelişmeyi (sürgün proliferasyonu, yaprak sayısı, yaprak genişliği, gövde çapı, boğumarası uzunluğu ve sürgün uzunluğu) önemli ölçüde azalttığı, TDZ ile birlikte kombine edildiğinde ise sürgün proliferasyonunu önemli oranda engellediği belirlenmiştir. Kültür kaplarının en üst kısmındaki etilen yoğunluğunun (0.015-0.039 ppm) tüm uygulamalarda düşük düzeyde olduğunu tespit eden araştırmacılar, bu durumu etilenin *K. blossfeldiana*'nın boğum kültürleri üzerinde bir etkisinin olmadığı şeklinde yorumlamışlardır.

Yapraklı ve yapraksız olarak hazırladıkları gövde eksplantlarını kullanarak Kalanço'da bitkicik rejenerasyonu üzerine çalışan Huang vd. [17], kültürün 7-8. gününde eksplantlar üzerinde aksillar tomurcukların sürdüğünü, 30 günlük kültür sonucunda tomurcukların uyarılması için en uygun besin ortamı kombinasyonunun MS + 1 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA olarak belirlendiğini bildirmiştir. Araştırmada yapraksız gövde eksplantlarında sürme oranının yapraklı gövde eksplantlarından daha yüksek olduğu, yapraklı olarak hazırlanan kültürlerde kültürün 9-14.gününde yaprak sapı tabanında adventif tomurcukların oluşmaya başladığı ve bu sürenin kullanılan besin ortamına göre değiştiği belirtilmiştir. Araştırmacılar adventif tomurcuk rejenerasyonu için ½ MS + 1 mg/l BA, köklenme için ¼ MS'i en uygun ortam olarak tespit ettiklerini açıklamışlardır.

*Kalanchoe blossfeldiana* türünün mikroçoğaltımı üzerine yapılan araştırmalarında kullanılan bir diğer gövde kısmı da boğumalarıdır. İnternode eksplantlarını kullanarak beyaz çiçekli bir *K. blossfeldiana* çeşidinde hızlı çoğaltım tekniğinin optimizasyonu üzerine araştırmalar yapan Xinzhen vd. [52] çalışmalarında, tomurcukların proliferasyonu ve elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi için sırasıyla 2.0 mg/l BA + 0.1 mg/l IBA + 2.0 mg/L GA<sub>3</sub> + 40 g/l şeker ilave edilmiş MS ve 0.4 mg/l IBA + 0.1 mg/l BA + 1.5 mg/L GA<sub>3</sub> + 40g/l şeker ilave edilmiş MS'i en uygun ortam kombinasyonu olarak tespit ettiklerini, elde edilen bitkiciklerin de %99 oranında dış koşullara alıştırıldığını

rapor etmişlerdir.

*Kalanchoe blossfeldiana*'da boğumarası eksplantları kullanarak sürgün rejenerasyonunun optimizasyonu üzerine bir diğer araştırma Sanikhani vd. [37] tarafından yapılmıştır. Çalışmada 7 farklı *K. blossfeldiana* çeşidine ait (Debbie, Molly, Celine, Gold strike, Cora, Purple Jaqueline ve African Yellow) internode eksplantlarının % 2'lik NaOCI ile 9 dakika çalkalanarak yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra farklı konsantrasyonlarda NAA (0 ve 0.57 M) ve TDZ (0, 0.45, 4.5, 22.5 ve 67.5 µM) içeren MS besin ortamında kültüre alındığı ve 8 hafta boyunca 25±1 °C sıcaklıkta 16 saat 55 µmol m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> şiddetindeki serin beyaz floresan ışığı altında inkübe edildiğini, 5 hafta sonra ise alt kültüre alındığı bildirilmiştir. Araştırma sonucunda tüm çeşitlerde eksplant başına düşen sürgün sayısı ve sürgün rejenerasyonu frekansının TDZ konsantrasyonunun yükselmesi ile arttığı, maksimum rejenerasyon frekansı ve optimum TDZ konsantrasyonunun önemli ölçüde çeşide bağlı olduğu, en iyi sonuçların alındığı Purple Jaqueline çeşidinde 8 haftalık kültürün sonunda 0.45 µM TDZ içeren besin ortamından yaklaşık 10 adet adventif sürgün elde edildiği, bazı çeşitlerde ise büyümeyi düzenleyici olmaksızın da adventif sürgün elde edilebildiği belirtilmiştir.

#### Yaprak kısımları kullanarak yapılan mikroçoğaltım çalışmaları

Bazı sürekli doku hücreleri (özellikle parankima) özellikle bitki hormonlarının etkisiyle yeniden bölünme yeteneği kazanarak sekonder meristeme dönüşür. Parankimatik dokular bu özelliği nedeniyle *in vitro* koşullarda yapılan çoğaltım çalışmalarında başlangıç materyali olarak kullanılmaktadır. Sukulent karakterli *Kalanchoe blossfeldiana* türünde de mikroçoğaltım çalışmalarında parankimatik dokulardan oluşan yaprak kısımlarından (yaprak sapı ve yaprak ayası) hazırlanan eksplantlar çeşitli büyümeyi düzenleyici maddelerin ilave edildiği besin ortamlarında kültüre alınarak rejenerasyon elde edilmeye çalışılmıştır.

*Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. türünde ilk doku kültürü çalışması Hollanda'lı araştırmacılar Varga vd. [50] tarafından yapılmıştır. Süs bitkilerinin *in vitro* vejetatif çoğaltılmasında epigenetik varyasyonun temel problem olduğuna dikkati çeken araştırmacılar epigenetik varyasyon üzerine büyümeyi düzenleyicilerin etkisini belirlemek amacıyla "Yukatan" çeşidine ait yaprak eksplantlarını farklı oksin ve sitokinin içeren besin ortamlarında kültüre almışlardır. Araştırmada, 2,4-D'in sürgün taslaklarında deformasyonlara neden olduğü, IAA ve Zeatin içeren ortamlarda ise en hızlı kallus üretimi ile iyi gelişmiş sürgün rejenerasyonunun meydana geldiği gözlenmiştir. Her iki büyümeyi düzenleyici için de optimum konsantrasyonun 1 µM olarak belirlendiği çalışmada, büyümeyi düzenleyicilerin uygulama süresinin 6 haftadan 3 haftaya düşürülmesi ile epigenetik varyasyonun azaldığı vurgulanmıştır.

Yuliang vd. [53], *K. blossfeldiana*'nın bitkicik rejenerasyonunda yüksek verimlilik elde etmek amacıyla yaprak disk kültürünü kullanmıştır. Çalışmada 2.5 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA hormon kombinasyonunda % 86.6 oranında kallus, % 83.3 oranında ise sürgün rejenerasyonu meydana geldiği tespit edilmiş, yaprak diski yüzeylerinin kültür ortamı ile temas ettirilmesinin, eksplantların rejenerasyon oranını önemli oranda etkilediği belirtilmiştir. Araştırmada ayrıca yaprak disklerinin ortama inokulasyonu safhasında ortama 4 mg/l AgNO<sub>3</sub> ilave edilmesinin sürgün rejenerasyonu olumlu yönde direkt olarak etkilediği, kallus oluşumundan sonraki

süreçte sürgün rejenerasyon frekansını önemli derecede artırdığı bildirilmiştir. Son olarak rejenere olan sürgünlerin *in vitro*'da kolayca köklendirildiği ve saksılara aktarıldıktan sonra bitkilerin normal bir şekilde büyümelerine devam ettiği rapor edilmiştir.

*Kalanchoe* bitkisinde yaprak kısımlarından adventif sürgün rejenerasyonu üzerine yapılan bir diğer çalışmada *in vitro* koşullarda elde edilen yapraklar eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. Bu amaçla *K. blossfeldiana* cv. "Rako" çeşidinde yapılan araştırmalarda, besin ortamı içerisindeki hormon içeriği ve oranının yapraklardan rejenerasyon üzerine etkili olduğü, besin ortamı ile temas eden alt epidermis hücrelerinden üst epidermis hücrelerine nazaran daha kolay rejenerasyon meydana geldiği bildirilmiştir. Çalışmada genç yapraklarla oluşturulan bu kültürlerde %70 oranında rejenerasyon sağlandığı, bunların %95'inde köklenmenin meydana geldiği ve köklenen bitkiciklerin %95 oranında başarılı bir şekilde dış koşullara aktarıldığı diğer araştırma bulguları olarak açıklanmıştır [54].

Pembe çiçekli bir *K. blossfeldiana* çeşidinde yaprak eksplantlarından bitkicik rejenerasyonu üzerine farklı kültür koşullarının (besin ortamı, karanlık periyot ve büyümeyi düzenleyiciler) etkisini araştıran Linjian vd. [27], çalışmalarında en yüksek rejenerasyon oranının 5.2 ile MS + 2 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA besin ortamı kombinasyonunda meydana geldiğini, 2 haftalık karanlık periyot uygulamasının rejenerasyon oranını 5.47 ye çıkardığını ve elde edilen sürgünlerin 1 mg/L IBA ilave edilmiş MS ortamında köklendirildiğini bildirmişlerdir.

*K. blossfeldiana*'nın yaprak eksplantlarından adventif sürgünler ve bitkicikler elde etmek amacıyla Tang [43], MS + 2 mg/l BA + 0.3 mg/l NAA ortam kombinasyonunu en uygun proliferasyon ortamı olarak belirlemiştir.

Chen vd. [6], *K. blossfeldiana*'nın büyük ölçekli ticari üretimi için bilimsel bir temel oluşturduğünü belirten çalışmasında, genç yaprakları eksplant kaynağı olarak kullanmış, adventif tomurcuk oluşumu ve köklenme üzerine MS temel besin ortamına ilave edilen dört farklı NAA ve BA kombinasyonunun etkisini araştırmıştır. Her iki hormonun da rejenerasyon frekansı üzerine etkili olduğü araştırmada, adventif tomurcuk proliferasyonu için MS + 1 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA, köklenme için ise ½ MS + 0.5 mg/L NAA en uygun ortam kombinasyonu olarak belirlenmiştir. Çalışmada çoğaltım katsayısı 10'a ulaşmış, hem köklenme oranı hem de aktarılan bitkiciklerin canlılık oranı % 95 olarak gerçekleşmiştir. Araştırmada üretim sürecinin konvansiyonel çoğaltım yöntemlerine göre kısaldığı ifade edilmiştir.

*K. blossfeldiana*'nın büyük ölçekli üretimine temel oluşturmak amacıyla Penghui ve Xingze [36] yapılan çalışmada, yaprak eksplantlarından kallus ve bitkicik rejenerasyonu amaçlanmıştır. Eksplantların %0.1 oranındaki cıva klorürde 4 dakika süreyle muamele edilmesinin en etkili yüzey sterilizasyonunu sağladığını, bu uygulamada %12.5 oranında kontaminasyon ve % 2.5 oranında ölüm meydana geldiği belirlenmiştir. En yüksek kallus oluşumu (%95.8) MS + 1.0 mg/L BA + 0.1-0.3 mg/L NAA ortamından elde edilmiş, sürgün sayısını 12.2 kat artıran ½ MS + 1.0 mg /L BA + 0.1 mg /L NAA kombinasyonu en uygun proliferasyon ortamı olarak belirlenmiştir. Elde edilen bitkicikler de %99 oranında dış koşullara aktarılmıştır.

İspanyol araştırmacılar Castelblanque vd. [4], *K. blossfeldiana*'nın protoplastlarından bitki rejenerasyonu elde etmek için basit ve etkili bir protokol geliştirmiştir. Mezofil protoplastları bir ön kültür sonrası aksenik yapraklardan

izole edilmiştir. Dokunun enzimatik yıkımı %0.4 Cellulase Onozuka R-10 ve % 0.2 Driselase içeren bir solüsyon ile yapılmış ve gram taze ağırlık başına 6.0 x 10<sup>5</sup> protoplast elde edilmiştir. Protoplastlar, 320 mM mannitol, 130 mM sükröz, 2.3 µM 2,4-diklorofenoksi asetik asit (2,4-D), 5.4 µM' naftalenasetik asit (NAA) ve 2.2 µM 6-benzilamin (BA) içeren sıvı ortam içinde, mililitrede 1 x 10<sup>5</sup> yoğunluğunda ve karanlıkta kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 4 gün sonra hücre duvarı rejenerasyonu gözlenmiş, 5-7 gün sonra ise hücre bölünmesi başlamıştır. Protoplastlar 5.4 µM NAA ve 8.9 µM BA içeren sıvı bir ortamda kültüre alındığında, küçük gözle görülebilir kalluslar gelişmiş ve fotoperiyodik koşullara aktarıldığında ise adventif tomurcuklar ortaya çıkmıştır. Geliştirilen sürgünler, 0.6 µM indol-3-asetik asit (IAA) ilave edilen katı besin ortamında köklendirilmiş ve başarılı bir şekilde sera koşullarına adapte edilmiştir. 1 x 10<sup>5</sup> protoplast başına 6.4 bitkinin elde edildiği çalışmada protoplast izolasyonundan köklü bitki elde edilinceye kadar geçen süre 4 ay olmuştur. Araştırmacılar, çalışmanın *Crassulaceae* familyasında protoplastlardan bitki rejenerasyonu elde etmek amacıyla oluşturulan ilk protokol olduğunu bildirmiştir.

*K. blossfeldiana*'da parankimatik dokulardan sürgün rejenerasyonu çalışmaları çoğunlukla yaprak ayası kullanılmıştır. Peng vd. [35], bu amaçla turuncu renkli bir *K. blossfeldiana* çeşidinin yaprak sapı eksplantlarını kullandığı araştırmasında farklı gelişme aşamaları için en uygun ortam kombinasyonunu belirlemeye çalışmıştır. Bu amaçla yapılan denemelerde başlangıç ortamı olarak MS + 0.5 mg/L BA + 2.0 mg/L NAA; adventif tomurcuk oluşumu için MS + BA 0.5 mg/L + 0.4 mg/L NAA, köklenme için ise ½ MS + 0.2 mg/L IBA en uygun kombinasyonlar olarak tespit edilmiştir. Dış koşullara aktarılan bitkiciklerin ise %98 oranında canlılıklarını koruduğu belirtilmiştir.

Kırmızı çiçekli bir *Kalanchoe* çeşidinin mikroçoğaltımını araştıran Lin vd. [26] yaprak ve gövde kısımlarından rejenerasyon elde etmeyi amaçladığı çalışmada, her iki eksplant tipinde de direkt olarak tomurcuk oluşumunun uyarıldığını ve MS + 0.25 mg/L NAA + 1 mg/L BA + 2 mg/L GA kombinasyonunu aksillar tomurcuk oluşumu için en uygun ortam olarak belirlediklerini bildirmişlerdir. Araştırmada, sürgünlerin köklendirilmesi amacıyla yapılan denemelerde 0.25 mg/L NAA ilave edilmiş MS ortamından en yüksek köklenme oranı elde edilmiştir.

Liu vd. [28], *Kalanchoe blossfeldiana*'da hızlı çoğaltım çalışmalarında genç yaprak ve internode eksplantlarını kullanmıştır. Başlangıç ortamı olarak MS + 1.0 mg/l BA + 0.2 mg/l NAA kombinasyonunu kullanan araştırmacılar, daha sonra örnekleri yüksek bir çoğaltım katsayısı elde etmek amacıyla farklı hormonlar içeren alt kültür ortamına transfer etmişlerdir. Çalışmada en yüksek adventif tomurcuk oluşumu %95 gibi yüksek bir oran ile MS + 0.5 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA + 0.1 mg/l GA<sub>3</sub> besin ortamı kombinasyonunda tespit edilmiştir. Proliferasyon frekansının 20 olarak belirlendiği araştırmada elde edilen bitkiciklerin de kuvvetli olduğu bilgisi verilmiştir. Sürgünlerin köklendirilmesinde farklı bir yol izlediklerini belirten araştırmacılar çalışmalarında sünger kullanarak %95 oranında köklenme elde ettiklerini, dış koşullara aktardıkları bitkiciklerde ise canlılık oranının % 100 olduğunu bildirmişlerdir.

#### **Çiçek kısımları kullanılarak yapılan mikroçoğaltım çalışmaları**

Süs bitkilerinin mikroçoğaltımında başlangıç materyali olarak kullanılan bitki kısımlarından biri de çiçeklerdir. *Kalanchoe blossfeldiana*'nın mikroçoğaltımını

amacıyla çiçek kısımlarının kullanıldığı çalışmada, katmerli çiçek yapısına sahip bir *K. blossfeldiana* çeşidinden hazırlanan inflorescence eksplantları, BA ve IAA'ın 4 farklı konsantrasyonunun ilave edildiği MS besin ortamında kültüre alınarak çeşidin hızlı çoğaltımı amaçlanmış, farklılaşma için 2.5 mg/L BA ve 0.5 mg/L IAA ilave edilmiş MS besin ortamının tercih edilebileceği ifade edilmiştir [7].

*Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. türünde yapılan mikroçoğaltım çalışmalarında çoğunlukla sürgün proliferasyonu üzerine farklı eksplant kaynakları, büyümeyi düzenleyici cinsi ve konsantrasyonu ile kültür koşullarının etkisinin araştırıldığı gözlemlenmiştir. Araştırmalarda, eksplant kaynağı olarak gövde (node, internode, sürgün ucu), yaprak (yaprak sapı ve ayası) ve çiçek kısımlarının kullanıldığı, bunların NaOCl veya HgCl<sub>2</sub> ile yüzey sterilizasyona tabi tutulduğu belirtilmektedir. Karşılaşılan tüm çalışmalarda temel besin ortamı olarak farklı kuvvetlerde MS kullanılmıştır. Sürgün rejenerasyonu için genellikle oksin - sitokin kombinasyonları araştırılmış, en fazla kullanılan oksin olarak NAA, en fazla kullanılan sitokin olarak ise BA dikkati çekmiştir. Bunun yanında sürgün rejenerasyonu için diğer büyümeyi düzenleyicilerden (IAA, GA<sub>3</sub>, TDZ ve paclobutrazol) de yararlanılmıştır. Araştırmalarda *in vitro* koşullarda elde edilen sürgünlerin köklendirilmesinde genellikle IBA kullanıldığı, köklendirilen bitkiciklerin ise başarılı bir şekilde dış koşullara aktarıldığı belirlenmiştir. Çalışmalarda kültür koşulları hakkında bilgiler verilmiş, çeşitlere göre değişmekle birlikte genellikle sıcaklığın 25-26 °C, ışıklandırma süresinin 14-16 saat, ışık intensitesinin 40-50 µmol/m<sup>2</sup>/s ve hava nisbi neminin de %75-80 arasında olması gerektiği ifade edilmiştir. Araştırmalarda eksplant başına 5-25 arasında sürgün elde edildiği, bu sürgünlerin %95-100 oranında köklendirildiği ve aynı oranda bitkiciklerin dış koşullara aktarıldığı görülmüştür.

#### **Somatik Embriyogenezis Çalışmaları**

Bitki hücrelerinden embriyo elde edilmesi döllenmiş yumurta hücresi ile sınırlı değildir. *In vitro* kültür şartlarını ve özellikle de bitki büyüme düzenleyicilerini ayarlayarak bir bitkinin herhangi bir somatik hücre, doku veya organdan embriyo elde etmek mümkün olabilmektedir. Vejetatif hücrelerden gelişen embriyolar somatik embriyo olarak adlandırılmaktadır. Somatik embriyogenezis bitki doku kültürlerinde klonal çoğaltım, sentetik tohum üretimi ve gen aktarımı gibi amaçlarla kullanılmaktadır [3]. *K. blossfeldiana*'da klonal çoğaltım ve sentetik tohum üretimi amacıyla yapılmış sınırlı sayıda somatik embriyogenezis çalışmasına ulaşılmıştır.

*K. blossfeldiana*'nın klonal çoğaltımını amacıyla somatik embriyogenezis çalışmaları yapan Chao vd. [5], açık sarı renkli, dağınık halde bulunan tanecik şeklindeki yapıyı embriyonik kallus olarak tanımlamıştır. Embriyoid uyarımı sırasında, farklı konsantrasyonlarda büyümeyi düzenleyiciler içeren kültür ortamlarının kullanıldığı araştırmada, en yüksek redüksiyon sıklığının (185 embriyoid/ gram) MS + 2 mg/l BA + 0.2 mg/l NAA + 30 g/l sakaroz + 4 g/l aktif karbon kombinasyonunda belirlendiği, rejenerasyon ortamı olarak ise MS + 30 g/l sakaroz kullanıldığı bildirilmiştir. Araştırmacılar ayrıca embriyoidin globüler, kalp ve kotiledon evrelerinin kallusun parafin dilimleriyle aracılığıyla gözlemlendiğini ifade etmişlerdir.

*K. blossfeldiana* türünde sentetik tohum üretimi üzerinde de çalışılmıştır. Farklı ortamlar, büyümeyi düzenleyiciler ve konsantrasyonlarının kullanıldığı çalışmada, embriyonik

kallus teşviki için en uygun ortam olarak MS + 2 mg/l 2,4-D + 0.2 mg/l BA kombinasyonunun belirlendiği, en yüksek embriyo oluşum frekansının ise MS + 2 mg/l BA + 0.2 mg/L NAA + 4 g/l aktif karbon ortam kombinasyonundan elde edildiği bildirilmiştir. Somatik embriyoların sentetik tohuma dönüştürülmesinde katılaştırma (kaplama) maddesi olarak %4 oranında sodyum aljinat, birleştirme faktörü olarak ise %2 oranında CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O kullandıklarını belirten araştırmacılar, elde edilen sentetik tohumlarda çimlenme oranının büyüme düzenleyici içermeyen MS ortamı üzerinde %96'nın üzerinde olduğunu açıklamışlardır [51].

### Çiçeklenme Çalışmaları

Çiçeklenme, apikal meristemin çiçek meristemine dönüşmesiyle başlamaktadır. Apikal meristemin dönüşümünü etkileyen faktörler bitkinin olgunluğu, ışık, sıcaklık, fotoperiyot ve gece-gündüz uzunluğudur. Son yıllarda *in vitro* çiçeklenme, yeni geliştirilen çeşitlerin bir an önce piyasaya kazandırılmasında mikroçoğaltım yapan üreticilere yardımcı olan değerli bir araç haline gelmiştir [42].

*Kalanchoe blossfeldiana* türünde *in vitro* koşullarda çiçeklenme üzerine yapılan çalışmalarda genellikle besin elementleri ve büyüme düzenleyici maddeler ile ışık, sıcaklık ve kültür kaplarının havalandırılmasını içeren kültür koşullarının etkileri araştırılmıştır.

*K. blossfeldiana*'nın *in vitro* koşullarda çiçeklenmesi üzerine besin elementleri ve kültür koşullarının etkisini araştıran Dickens ve Van Staden [11], boğum ekplantlarını hormonsuz zayıf bir besin ortamında kültüre almıştır. Kısa gün koşullarında çiçeklenmenin başarılı olduğu araştırmada, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> ve KNO<sub>3</sub> formundaki azotun çiçeklenme ve vejetatif gelişmeyi farklı şekillerde teşvik ettiği, kültür kabı ve/veya besin ortamı hacminin azalmasını ise çiçeklenmeyi engellediği belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca ortamdaki sukroz içeriğinin artırılmasının, çiçeklenme ve yaprakta antosiyanin üretiminde bir miktar artışa neden olduğu ancak vejetatif gelişmenin birçok yönünü engellediği tespit edilmiştir. Araştırmacıların bir başka çalışmasında ise gallik asit ve büyüme düzenleyicilerin etkileri araştırılmış, yine boğum ekplantları hormonsuz zayıf bir besin ortamında kültüre alınmıştır. Çiçeklenmenin kısa gün koşullarında elde edildiği, bitki hormonlarının çiçeklenmenin farklı yönlerini etkilediği, hormon içermeyen besin ortamlarında vejetatif gelişmenin olumsuz etkilenmesine karşın çiçeklenme elde edildiği belirlenmiştir. Ayrıca fenolik bir bileşik olan gallik asitin *K. blossfeldiana*'nın çiçeklenmesinde spesifik bir inhibitör olmadığı ifade edilmiştir [12].

*Kalanchoe* bitkisinin *in vitro* çiçeklenmesi üzerine Amaki ve Higuchi [2] tarafından yapılan kapsamlı bir çalışmada çevre koşulları ve çeşitlerin etkisi araştırılmıştır. Araştırmacılar bu amaçla *K. blossfeldiana*'nın büyümesi ve çiçeklenmesi üzerine sıcaklık, gün uzunluğu, fotosentetik ışık yoğunluğu ve kültür kaplarının havalandırılması (saatte hava değişim sayısı) gibi kültür koşullarının etkilerini incelemiştir. Araştırmada *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında kültüre alınan bitkiler arasındaki çiçek tomurcuklarının farklılaşma ve gelişim sürelerindeki değişimler tartışılmıştır. Denemeye alınan kültürlerde *in vitro* çiçeklenme, kısa-gün koşullarında erkenci ve orta çiçeklenme grubunda yer alan 5 çeşitte meydana gelmiş, geçici olan diğer iki çeşitte (Sensation ve Rose Crown) ise, 25 hafta boyunca çiçek tomurcuğu oluşmamıştır. İlk çiçeklenme erkenci çeşitlerden Singapur ve Adagio'da tespit edilmiş, bunları orta-mevsim grubunda yer alan Oukan, Houkan ve Fortyniner çeşitleri izlemiştir.

Ortam sıcaklığı bakımından yapılan değerlendirmelerde, Singapur, Adagio, Houkan ve Fortyniner çeşitleri 20 °C'de çiçek tomurcuğu oluştururken, Oukan çeşidinde hem 20 °C hem de 25 °C'de çiçek tomurcukları meydana gelmiştir. *In vitro* çiçeklenme üzerine ışığın etkisi çarpıcı olmuş, çiçeklenme 40 µmol/m<sup>2</sup>/s ışık şiddetinde meydana gelmiştir. 10 ve 30 µmol/m<sup>2</sup>/s ışık şiddetinde, yukarıdaki çeşitlere ait bitkiler *in vitro* çiçek tomurcukları üretmekte başarısız olmuştur. Alüminyum folyo ile oluşturulan kapak kullanarak saatte 0.03 hava değişimi ile yapılan kültür kapları içindeki bitkilerde çiçek tomurcukları oluşmamış, buna karşılık silikon kauçuk bir tıpa ile kapatılan ve saatte 3.40 ile 3.75 hava değişimine sahip kültürlerde, gelişme ve çiçek tomurcuğu farklılaşması olumlu bulunmuştur. Çalışmada, çiçek tomurcuğu ayırma periyodundan çiçek tomurcuğu oluşumuna kadar geçen süre 35 gün olarak belirlenmiş, *in vitro* ve *in vivo* kültüre alınmış bitkilerde çiçek tomurcuğu gelişme oranının neredeyse eşit olduğu belirtilmiştir.

*Kalanchoe blossfeldiana*'da *in vitro* koşullarda çiçeklenme elde etmek için yapılan araştırmalardan, çiçeklenmenin kısa gün koşullarında meydana geldiği ve kritik uzunluğunun 12.5 saat olduğu, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> ve KNO<sub>3</sub> formundaki azotun çiçeklenmeyi teşvik ettiği, hormon ilave edilmeksizin de çiçeklenmenin elde edilebileceği, kültür kaplarında saatte 3.40 ile 3.75 hava değişimine ihtiyaç duyulduğu, genellikle 20 °C'lik sıcaklığın yeterli bulunduğu, ışık şiddetinin ise 40 µmol/m<sup>2</sup>/s olması gerektiği anlaşılmıştır.

### Islah Çalışmaları

Bitki ıslahı, herhangi bir bitki türünde istenilen özellikleri elde etmek için bitkilerin kalıtımının değiştirilmesi veya iyileştirilmesi bilim ve sanattır. Türler arası melezlemelerden sonra embriyo kültürü, haploid bitki üretiminde (polen) ve yumurtalık (ovül) kültürü, somaklonal varyasyon, *in vitro* seleksiyon, *in vitro* döllenme, *in vitro* germplazm muhafazası, somatik hücre melezlemesi (protoplast füzyonu) ve gen transferi doku kültürlerinin bitki ıslahındaki uygulama alanlarıdır [3]. *Kalanchoe blossfeldiana* türünde doku kültürü yöntemi ile yapılan ıslah çalışmaları hibrit embriyoların kurtarılması ve poliploid bitki elde etmek amacıyla yapılan somaklonal varyasyon çalışmaları ile sınırlıdır.

Izumikawa vd. [18], *K. blossfeldiana* ve birkaç yabancı *Kalanchoe* türü arasında tür içi ve türler arası melezlemeler sonucu elde ettikleri hibrit embriyoları kurtarmak amacıyla ovül kültürü tekniğini kullanmışlardır. Araştırmada, F1 hibritlerin analizi flow sitometri ve RAPD tekniği ile yapılmış, çalışmada 6 adet tür içi, 3 adet türler arası melez kombinasyon elde edilmiştir. Yalnızca 2 yabancı tür ile yapılan çaprazlamalarda karşılıklı uyum gözlemlendiği, diğer hibritlerin tamamının ana donör olarak *K. blossfeldiana* kullanılması durumunda elde edilebildiği bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca hibritlerin çiçek morfolojisi ve renginin, her iki ebeveyn tür arasında neredeyse orta düzeyde gerçekleştiği ve F1 hibritlerin doku kültüründe kromozomları katlanarak fertil hale getirildiği belirtilmiştir.

Somaklonal varyasyon bitki doku kültüründe genetik kararsızlık sonucunda ortaya çıkan kalıtsal değişikliklerdir [25]. Somaklonal varyabilenin meydana gelmesinden sorumlu olan kromozomlardaki sayısal varyasyonlardan en yaygın görüleni poliploididir [41].

*Kalanchoe*'de poliploidizasyon çalışmaları için yaprak segmentlerinden bitki rejenerasyonunun etkili bir metot olduğunu belirten Aida ve Shibata [1], *K. blossfeldiana*

cv. "Tetra Vulcan" çeşidinde yüksek frekansta poliploidi oluşturmak amacıyla yaptıkları çalışmalarda, yaprak segmentlerinden elde ettikleri rejenerantların yaklaşık % 80'ninde ploidi seviyelerinde artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. Araştırmada rejenerantların % 20.7'sinin (24 adet) 4x, % 75.0'inin (87 adet) 8x, % 0.9'unun (1 adet) 12x ve % 3.4'ünün (4 adet) ise 16x ploidi seviyesinde olduğu tespit edilmiş, bunlardan 4x ve 8x ploidi seviyesine sahip rejenerantların normal bir şekilde gelişerek ana bitkiye benzer oldukları, ancak 12x ve 16x ploidi seviyesindeki bitkilerde ise gelişmenin ciddi bir şekilde geciktiği gözlemlenmiştir. Araştırmacılar yaprak genişliği ve bitki boyu bakımından yapılan değerlendirmelerde çarpıcı sonuçlar elde ettiklerini belirtmiş, 4x ve 8x ploidi seviyesine sahip bitkilerin ana bitkilere benzer olduğunu, 12x ve 16x ploidi seviyesindeki bitkilerde bu değerlerin azaldığı, 8x ve daha yüksek ploidi seviyesine sahip bitkilerin yapraklarının ploidi seviyesi 4x olan bitkilere göre daha ince olduğu ve bu özelliğin ploidi seviyesi yükseldikçe artış gösterdiğini vurgulamışlardır.

*Kalanchoe blossfeldiana* türünde yapılan ıslah amaçlı çalışmalarda melezlemeler sonucu elde edilen hibrit embriyoların kurtarılması ve poliploid bitki elde etmek amacıyla doku kültüründen yararlanıldığı görülmektedir. Tür içi ve/veya türler arası melezlemelerde melez kombinasyonların elde edildiği, türler arası melezlemelerde daha ziyade ana donör olarak *K. blossfeldiana* kullanıldığında F1 hibritlerin elde edildiği belirtilmiştir. Poliploidi çalışmalarında ise rejenerantların yaklaşık %80'inin ploidi seviyesinde artış meydana geldiği, bunların % 95.7'sinin 4x ve 8x ploidi seviyesine sahip olduğu bilgisine ulaşılmıştır. 12x ve 16x ploidi seviyesine sahip bitkilerin yaprak genişliği ve bitki boyunun, ana bitkiden daha küçük ve ince olduğu sonucu dikkat çekici bulunmuştur.

Türkiye'de genelde süs bitkilerinde olduğu gibi kalanzo bitkisinde de ıslah çalışmaları yeni yeni ivme kazanmaktadır. Kalanzo türünde türler arası melezleme yapılarak hibrit bireylerin embriyo kültürü yöntemi kullanılmak suretiyle yaşatılması ve varyasyonlar elde edilmesi konusunda çalışmalar Çukurova Üniversitesi ve BATEM tarafından yürütülen ortak projeler ve tez çalışmaları ile başlatılmıştır [21]. Önümüzdeki yıllarda bu bitki türünde doku kültürü tekniklerinden de faydalanılarak ıslah edilmiş yerli çeşitlerin üreticinin kullanımına sunulacağı öngörülmektedir.

## SONUÇ

Bu derlemede, *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. türünde yapılan doku kültürü çalışmaları mikroçoğaltım, somatik embriyogenezis, çiçeklenme ve ıslah çalışmaları şeklinde gruplandırılarak özetlenmiştir. Genellikle farklı eksplant tipleri, büyümeyi düzenleyiciler ile kültür koşullarının etkisinin araştırıldığı mikroçoğaltım çalışmalarında, sürgün proliferasyonu için BA, NAA ve TDZ'in kullanıldığı, ekspant başına 5-25 adet arasında sürgün elde edildiği, bu sürgünlerin % 95-100 oranında köklendirildiği ve aynı oranda bitkiciklerin dış koşullara başarıyla aktarıldığı görülmüştür. *In vitro* çoğaltmada en uygun kültür koşulları olarak ise 25-26 °C sıcaklık, 14-16 saat ışıklandırma süresi, 40-50 µmol/m<sup>2</sup>/s ışık yoğunluğu ve % 75-80 hava nispi nemi olarak gösterilmiştir. Bitkide çiçeklenmenin kısa günde genellikle 20 °C sıcaklıkta ve 40 µmol /m<sup>2</sup>/s ışık şiddetinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Klonal çoğaltım ve sentetik tohum üretimi amacıyla yapılan somatik embriyogenezis çalışmalarında 185 embriyoid/gram redüksiyon sıklığına

ulaşmış, elde edilen suni tohumlar ise *in vitro*'da %96'nın üzerinde çimlenme oranına ulaşıldığı bildirilmiştir. Türler arası melezlemelerde daha ziyade ana donör olarak *K. blossfeldiana* kullanıldığında F1 hibritlerin elde edildiği, poliploidi çalışmalarında ise yüksek ploidi seviyelerine ulaşmakla birlikte bu bitkilerin boyunun ve yaprak genişliğinin ilginç bir biçimde ana bitkiden daha küçük ve ince olduğu bilgisine ulaşılmıştır.

Tüm bu çalışmalar *Kalanchoe blossfeldiana*'nın doku kültürüne cevap veren bir tür olduğunu göstermiştir. Türün *in vitro* çoğaltımında büyük ilerlemeler kaydedilmiş olması, Avrupa ile Amerika'da en çok ticareti yapılan saksı bitkilerinden biri olma özelliği taşıdığı halde ülkemiz ihtiyacının yaklaşık yarısının yurtdışından ithal edilmesi, diğer kısmının da patentli yabancı çeşitlerin yurt içinde üretilmesi şeklinde gerçekleştirilen bu tür ile ilgili ıslah ve çoğaltım çalışmalarına hız verilmesi, yeni yerli çeşitlerin hızla geliştirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] Aida, R. ve Shibata, M. (2002). High frequency of polyploidization in regenerated plants of *Kalanchoe blossfeldiana* cultivar 'Tetra Vulcan'. Plant Biotechnology, 19(5): 329-334.
- [2] Amaki, S.W., Higuchi, H. (1999). Effects of cultivars and ambient environments on *in vitro* flowering in *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 68:1170-1177.
- [3] Babaoğlu, M., Yorgancılar, M., Akbudak, M.A. (2001). Doku Kültürü Temel Laboratuvar Teknikleri. M. Babaoğlu, E. Gürel, S. Özcan (Ed.), *Bitki Biyoteknolojisi Doku Kültürü Uygulamaları* içinde (s.1-35). Konya: S.Ü. Vakfı Yayınları.
- [4] Castelblanque, L., García-Sogo, B., Pineda, B., Moreno, V. (2010). Efficient plant regeneration from protoplasts of *Kalanchoe blossfeldiana* via organogenesis. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), January, p.100-107.
- [5] Chao, C., Guilan, W., Limin, T., and Ruisheng, C. (2004). Embryoid Induction and Regeneration in Callus of *Kalanchoe blossfeldiana*. Acta Horticulturae Sinica, 2. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-YYXB200402029.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-YYXB200402029.htm).
- [6] Chen, M. et al. (2007). Study on *in vitro* Rapid Propagation of *Kalanchoe blossfeldiana*. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 32. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-AHNY200732072.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-AHNY200732072.htm).
- [7] Cheng, J. (2010). Research on *in vitro* Rapid Propagation of Inflorescence of Double-type *Kalanchoe blossfeldiana*. Northern Horticulture, 2. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-BFY201002069.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-BFY201002069.htm).
- [8] Cui, G., et al. (2003). Study on Tissue Culture of *Kalanchoe blossfeldiana*. Journal of Henan Vocational Teachers College, 1. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-HZXB200301015.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-HZXB200301015.htm).
- [9] Cui, G., Wei, B. (2003). Studies on Propagation and Rooting Rate of *Kalanchoe blossfeldiana* *in vitro*. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 4. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-TCYA200304004.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-TCYA200304004.htm).

- [10] Deng, Q., Zhang, Y., Wang, C. (2005). Study on in Vitro Propagation of *Kalanchoe blossfeldiana*. Journal of Sichuan Agricultural University, 2. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-SCND200502013.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-SCND200502013.htm).
- [11] Dickens, C.W.S., Van Staden, J. 1988. The In Vitro Flowering of *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz: I. Role of Culture Conditions and Nutrients. Journal of Experimental Botany, 39(4):461-71.
- [12] Dickens, C.W.S., Van Staden, J. (1990). The In Vitro Flowering of *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz. II. The Effects of Growth Regulators and Gallic Acid. Plant and Cell Physiology, 31(6):757-762.
- [13] Everett, T.H. (1981). *Kalanchoe*. The New York Botanical Garden illustrated encyclopedia of horticulture, vol. 6. Garland, New York, pp 1884-1889.
- [14] Hatiboğlu, R. (1999). Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi. Syf: 55.
- [15] Hekimoğlu, B., Altındeğer, M. (2012). Süs Bitkileri Sektör Raporu. Samsun Valiliği Gıda, Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü. Erişim adresi (01.05.2018): [http://samsuntarim.gov.tr/yayinlar/tarimsal\\_strateji/tarimsal\\_strateji\\_pdf/Süs\\_Bitkileri\\_Endüstrisi\\_Sektör\\_Raporu](http://samsuntarim.gov.tr/yayinlar/tarimsal_strateji/tarimsal_strateji_pdf/Süs_Bitkileri_Endüstrisi_Sektör_Raporu).
- [16] Herwig, R. (1984). The Hamlyn encyclopedia of house plants: *kalanchoe*. Hamlyn, London, pp 188-189.
- [17] Huang, H., Baoyin, L., Ping, L. (2004). Several Factors Influencing in Vitro Culture and Plantlet Regeneration of *Kalanchoe blossfeldiana*. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-ZNTB200402004.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZNTB200402004.htm).
- [18] Izumikawa, Y., Nakamura, I., Mii, M. (2007). Interspecific Hybridization between *Kalanchoe blossfeldiana* and Several Wild *Kalanchoe* Species with Ornamental Value. Acta horticulturae 743(743):59-65. DOI: 10.17660/ActaHortic.2007.743.7.
- [19] Jain, S.M., Ochatt, S.J. (2010). Springer Protocols, Humana Press.
- [20] Kaviani, B., Hashemabadi, D., Kordi, M. (2014). The Effect of Different Concentrations of Plant Growth Regulators on Micropropagation of *Kalanchoe blossfeldiana* cv. W hite. Journal of Ornamental Plants, 4(2):101-106.
- [21] Kahrman, M.U., Kösa, S., Boyacı, H.F., Karagüzel, Ö., Kaya, A.S., Gümrükçü, E., Aktaş, A., Kolak, B., Yalçın Mendi, Y. (2018). Kesme Çiçek ve İç Mekan Kalanço (*Kalanchoe blossfeldiana*) Çeşitlerinin Geliştirilmesi. TAGEM 2108 yılı Proje Değerlendirme Toplantıları, 5-10 Şubat 2018, Antalya. <https://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/pdgt/bbad/BBAD%202018%20YILI%20PDT%20K%C4%B0TAP%C3%87IKLAR.pdf>
- [22] Kelkit, A., Bulut, Y. (1998). Seralarda Süs Bitkileri Yetiştiriciliğinde Jeotermal Enerjinin Önemi. Çevre Koruma ve Araştırma Vakfı, 8(29), 21-24.
- [23] Khan, S., Naz, S., Ali, K., Zaidi, S. (2006). Direct organogenesis of *Kalanchoe tomentosa* (Crassulaceae) from shoot tip. *Pakistan Journal of Botany*, 38(4), 977-981.
- [24] Kordi, M., Kaviani, B., Hashemabadi, D. (2013). In vitro propagation of *Kalanchoe blossfeldiana* using BA and NAA. European Journal of Experimental Biology, 3(1):285-288.
- [25] Larkin, P.J., Scowcroft, W. (1981). Somaclonal variation - a novel source of variability from cell culture for plant improvement. Theor. Appl. Genet., 60: 197-214.
- [26] Lin, X., Lai, Z., Huang, S., Wu, J., Huang, Y., Huang, X., Ke, C. (2005). Study on in vitro culture and micropropagation from the stem sections and the leaves of *Kalanchoe blossfeldiana* with red flower. Sugar cane, 2. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-GZZZ200502001.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-GZZZ200502001.htm).
- [27] Linjian, F., Dongpo, J., Xinshuan, Z. (2006). Research of Different Culture Conditions on Plantlet Regeneration from Leaves of *Kalanchoe blossfeldiana*. Chinese Agricultural Science Bulletin, 5. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-ZNTB200605021.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZNTB200605021.htm).
- [28] Liu, H. et al. (2010). High Propagation and Tissue Culture System and Outside-tube Rooting Technology of *Kalanchoe blossfeldiana*. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 12. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-AHNY201012018.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-AHNY201012018.htm).
- [29] Love, J.W. (1980). *Kalanchoe*. In: Larson RA (ed) Introduction to floriculture. Academic Press, New York, pp 409-434.
- [30] Luo Y. et al. (2009). Study on Rapid Propagation of *Kalanchoe blossfeldiana* and Flowering of Its Plantlet. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 6. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-AHNY200906023.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-AHNY200906023.htm).
- [31] Martin, T. (1986). Flowers and Foliage Accent The Sturdy *Kalanchoes*. The New York Times, September, 28.
- [32] Morton, J.F. (1981). Atlas of medicinal plants of middle America. Charles C Thomas, Springfield Illinois, USA, pp 258-260.
- [33] Nieves, M.C., Evalour, T. Aspuria, E.T., Bernardo, E., Tayangona, M.A.D. (2016). Growth responses of in vitro-derived nodal sections of *Kalanchoe blossfeldiana* Poellnitz as influenced by benzylaminopurine, thidiazuron and paclobutrazol. Asia life sciences, 25(1):207-220.
- [34] Oral, N. (1999). İç Mekan Süs Bitkileri. Ezgi Kitabevi, 374 s.
- [35] Peng, C., Wang, L., Li, K., Xia, L., Lu, F. (2008). Research on Tissue Culture and Plantlet Reproduction From Leafstalk of *Kalanchoe blossfeldiana* with Orange Flower. Tropical Agricultural Science & Technology, 01. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-YNRJ200801012.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-YNRJ200801012.htm).
- [36] Penghui, D., Xingze, L. (2010). Study on the Callus Induction and Plantlet Regeneration from the Leaves of *Kalanchoe blossfeldiana*. Chinese Agricultural Science Bulletin, 1. Erişim adresi: [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-ZNTB201001039.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZNTB201001039.htm). 23.04.2018.
- [37] Sanikhani, M., Frello, S., Serek, M. (2006). TDZ induces shoot regeneration in various *Kalanchoe* *blossfeldiana* Poelln. cultivars in the absence of auxin. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 85: 75-82.
- [38] Schwabe, W.W. (1969). *Kalanchoe blossfeldiana* Poellniz. In: Evans LT (ed) The induction of flowering, Macmillan, Melbourne, Australia, pp 227-246.
- [39] Schwabe W.W. (1985). *Kalanchoe blossfeldiana*. In: Halevy AH (ed) CRC Handbook of flowering, vol III. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp 217-235.
- [40] Squires, W.M. & Langton, F.A. (1990). Potential and limitations of *Narcissus* micropropagation: An experimental evaluation. Acta Horticulturae, 266: 67-76.
- [41] Skirvin, R.M., (1978). Natural and induced variation in tissue culture. Euphytica, 27: 241- 266.
- [42] Sri Rama Murthy, K., Kondamudi, R., Chalapathi Rao, P.V., Pullaiah, T. (2012). In vitro flowering - A review. Journal of Agricultural Technology, 8(5): 1517-1536.



[43] Tang, J. (2007). Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Kalanchoe blossfeldiana* Leaves. Northern Horticulture, 10. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTotal-BFY200710093.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-BFY200710093.htm).

[44] Uludağ, A., Ertürk, Y. E. (2012). İthal Ev Hayvanları ve Süs Bitkilerinin Çevreye Etkileri. Tarih, Kültür ve Sanat Araştırmaları Dergisi, Tüketim Toplumu ve Çevre Özel Sayısı, I (4), ISSN: 2147-06261, DOI: 10. 7596/taksad.v1i4, Karabük Üniversitesi.

[45] URL (2018 a). <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=kalanchoe>. Erişim Tarihi: 24.02.2018.

[46] URL (2018 b). <https://aggie-horticulture.tamu.edu/floriculture/hort429/Lecture/kalanchoe.pdf>. Erişim Tarihi: 11.03.2016.

[47] URL (2018 c). Royal FloraHolland Annual Book 2015-2017. Erişim adresi (31.08.2018): <https://www.royalfloraholland.com/en/about-floraholland/who-we-are-what-we-do/facts-and-figures/annual-reports>.

[48] URL (2018 d). <http://www.cncgumruk.com/sus-bitkileri-aralik-2017-kiymeti-28-11-2017>. Erişim Tarihi:11.03.2018.

[49] Van Voorst, A., Arends, J.C. (1982). The origin and chromosome number of cultivars of *Kalanchoe blossfeldiana*. Euphytica 31:573–584.

[50] Varga, A, Thoma, L.H, Bruinsma, J. (1988). Effects of Auxins and cytokinins on epigenetic instability of callus-propagated *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 15:223-231.

[51] Wang, G., Chen, C., Tian, L., Cui, R. (2003). Studies on Tissue Culture and Artificial Seeds of *Kalanchoe blossfeldiana*. Journal of Beijing Agricultural College, 04. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-BNXB200304016.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-BNXB200304016.htm).

[52] Xinzheng, S., Qingwei, L., Mingqing, M. (2006). Research on the Technology of *Kalanchoe blossfeldiana* with White Flower Tissue Culture and Rapid Reproduction. Chinese Agricultural Science Bulletin, 3. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-ZNTB200603010.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZNTB200603010.htm).

[53] Yuliang, C., Xiaogang, Z., Yanping, Z., Zhengying, Z. (2004). Isolation Leaf Disks Culture and High Efficient Plantlet Regeneration of *Kalanchoe Blossfeldiana*. Chinese Agricultural Science Bulletin, 5. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-ZNTB200405008.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZNTB200405008.htm).

[54] Zhang, R., Guo, X. (2005). Study on Regeneration of Vitro Leaf of *Kalanchoe blossfeldiana*. Shanxi Forestry Science and Technology, 01. Erişim adresi (23.04.2018): [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTotal-SXLK200501003.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-SXLK200501003.htm).