

セイロンベンケイソウにおける不定芽及び不定根の形成

久留戸涼子, 竹田真人, 神村昌孝, 大浦 健

The Formation of Adventitious Buds and Roots in *Kalanchoe pinnata*

Ryoko KURUTO, Masato TAKEDA, Masataka KAMIMURA,
Takeshi OHURA

2018年11月13日受理

抄 録

セイロンベンケイソウは、葉を茎から切断すると鋸歯と呼ばれる窪みから不定芽・不定根を形成する。本研究では、この不定芽や不定根の形成・成長に関して、様々な条件の影響を調べた。水分量については、葉を水に浸けた方が、不定芽・不定根の形成が早まるが、成長速度に影響はなかった。また、葉を分割しても不定根は形成されるが、葉の切片の大きさによっては30日以内に形成されず、大きい葉の方が形成されやすいことがわかった。切片では、切り口から水分が逃げるためか、水分を与えないと不定根が形成されなかった。また、葉の鋸歯の位置によって、不定根の形成に差は認められなかったが、成長は下部の方が良い場合もあった。植物ホルモンのジベレリンでは 10^{-5} M、オーキシンでは 10^{-7} Mが最適濃度で、カイネチンでは高濃度で根の成長が抑制された。また、環境汚染物質の一つであるベンズアントラセン (BaA) では、不定根の成長が阻害されると考えられた。

キーワード：セイロンベンケイソウ、不定芽、不定根、ジベレリン、BaA

1. 研究の背景

セイロンベンケイソウ *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. は、バラ目ベンケイソウ科リュウキュウベンケイ属の植物で、南アフリカ原産の多年生草本植物である (1)。耐暑性の高い多肉質の植物で、日本では「葉から芽」という俗称で呼ばれることもあり、その名のとおり葉から芽が出るという無性生殖も行う。葉を茎から切断すると、鋸歯 (きょし) と呼ばれる葉の周辺部にある窪みから、不定芽および不定根を形成する。生じた芽は成長すると自然に葉

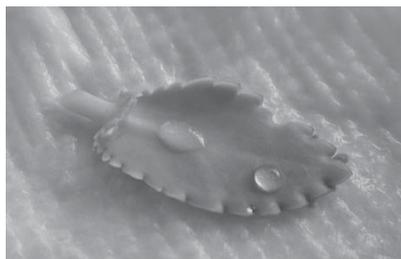


Fig. 1 セイロンベンケイソウの葉

から外れていき、芽が外れた箇所からは再び不定芽と不定根の形成が始まる。

茎から切断したセイロンベンケイソウの葉は (Fig. 1)、2 日後には葉の先端部 (茎から最も遠い部分) から上方向に次々と芽が出てくる (Fig. 2A)。また、葉の裏側は Fig. 2B のようになっているおり、この後は、根元にある膨らみから発根が始まり、芽と根が自然に葉から外れていく。そして芽が外れた箇所から、再び不定芽の形成と発根が始まるといったサイクルになっている。

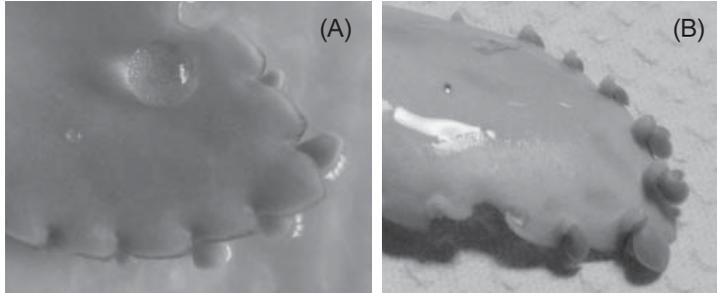


Fig. 2 2 日後の葉の先端部 (A) とその裏側 (B)

この葉の鋸歯からの不定芽と不定根の形成は、様々な条件によって変わると考えられた。これまでに Mohan Ram らが葉の鋸歯から不定芽の発生及びカルス形成の条件を検討した報告があるが、必ずしも研究が尽くされているとは言えない (2, 3)。また、溝延により、セイロンベンケイソウの葉の周縁部を取って、鋸歯以外の部位からの器官形成を制御する条件については報告があった (4 - 8)。本研究では、基本的な条件から検討を行うことにした。

2. 研究の目的

本研究では、セイロンベンケイソウの無性生殖において、どのような条件下で鋸歯から不定芽や不定根が形成するのか、不定芽や不定根が形成された位置とその成長の様子、成長速度にも注目し、様々な条件の影響を調べることを目的とした。

セイロンベンケイソウはエアープランツの一種であり、空気中の水分を吸収することで生きていくことができる。したがって、特に水を与えなくとも不定芽・不定根の形成は行われるが、水を与えた場合と与えなかった場合で不定芽・不定根の形成に差があるのかははっきりしていない。そこで、葉に与える水分量が、不定芽・不定根の形成にどのような影響を与えるのか調べることにした。

また、セイロンベンケイソウは生命力が強く、葉を分割しても不定芽・不定根が形成される。しかし、不定芽・不定根が形成される最低限の葉の大きさは明確ではない。同時に、葉の鋸歯の位置によって、その形成に差が生じるのかについてもはっきりしていない。そこで、葉の分割の程度、鋸歯の位置により、不定芽・不定根の形成、成長に違いがみられるのか調べることにした。

また、不定芽・不定根の成長を促進させる方法として、植物の成長を促す作用を持つ植物ホルモンを与えるということが考えられた (9)。ジベレリン (GA3) には、

植物の成長を促す効果があり、花芽形成、開花促進が認められている。オーキシンは、ギリシャ語で成長を意味し、茎・根の伸長成長、頂芽の成長、果実の肥大、発根、組織分化などの促進、側芽の成長、果実、葉の離脱などを阻害する。カイネチンは、細胞分裂を促進する化合物で、カルスの形成、根の成長阻害、側芽の成長、細胞の拡大、クロロフィル合成促進、種子発芽と休眠打破、老化と離層形成と制御、単為結実の促進、果実の成長促進の作用がある。今回は、GA3、オーキシン、カイネチンを用いて、不定芽・不定根の成長を促進する濃度を調べた。

さらに、環境汚染物質の影響については、これまで主にヒトや動物に対して報告され、植物にどのような影響を与えるのかは、ほとんど報告されていない。筆者らは、環境汚染物質の一つである多環芳香族炭化水素（PAHs）の中のベンズアントラセン（Benz[*a*]anthracene, BaA）について、ヒト乳がん細胞を用いてその影響を調べてきた（10）。今回、BaAの植物への影響を調べるため、セイロンベンケイソウの不定芽・不定根の形成過程を観察することにした。

3. 方法

3-1. 水分量

- (1) 沼津産のセイロンベンケイソウの同一株から切り取った4枚の葉をA～Dとした。
- (2) AとBを水道水が入っていないシャーレに入れ、CとDを水道水60 mLの入っているシャーレに入れた。
- (3) 室温で不定芽・不定根の長さや形成位置を30日間観察した。水道水は10日に一回交換した。

3-2. 分割実験

3-2-1. 6分割実験

- (1) 沼津産のセイロンベンケイソウの同一株から切り取った縦4 cm程度の4枚の葉をA～Dとし、不定芽の形成される鋸歯にそれぞれ番号を振った。
- (2) 葉を6分割し、切片をつくった（Fig. 3）。
- (3) AとBを水道水が入っていないシャーレに入れ、CとDを水道水の入っているシャーレに入れた。水道水は、葉が水没しないように40 mL入れた。
- (4) 3-1. (3)と同様に観察した。

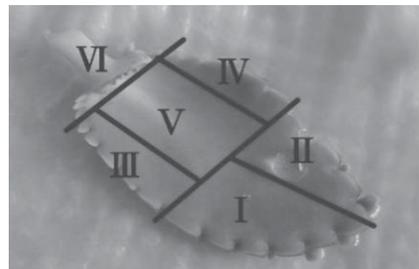


Fig. 3 6分割の方法

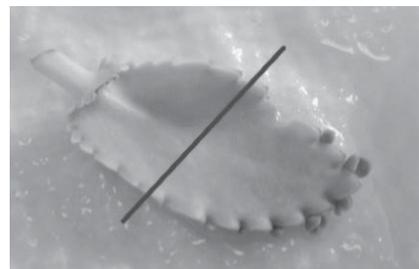


Fig. 4 2分割の方法

3-2-2. 2分割実験

- (1) 群馬産のセイロンベンケイソウの同一株か

ら切り取った縦 10 cm 程度の 2 枚の葉をそれぞれ「水あり」「水なし」とし、不定芽の形成される鋸歯にそれぞれ番号を振った。以下、特に記載のない場合は、全て群馬産のセイロンベンケイソウを使用した。

- (2) 葉を 2 分割し、切片をつくった (Fig. 4)。
- (3) 「水なし」を水道水が入っていないシャーレに入れ、「水あり」を水道水の入っているシャーレに入れた。水道水は、葉が水没しないように 40 mL 入れた。
- (4) 3-1. (3)と同様に観察した。

3-3. 鋸歯の位置

- (1) 縦 10 cm 程度の 2 枚の葉をそれぞれ「水あり」「水なし」とし、不定芽の形成される鋸歯にそれぞれ番号を振った (Fig. 5A, B)。
- (2) 「水なし」を水道水が入っていないシャーレに入れ、「水あり」を水道水の入っているシャーレに入れた。水道水は、葉が水没しないように 40 mL 入れた。

- (3) 3-1. (3)と同様に観察した。

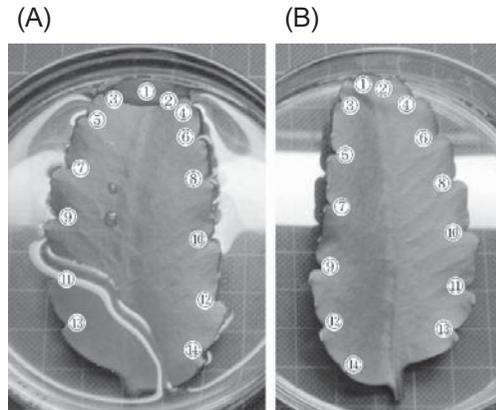


Fig. 5 鋸歯の位置と番号
(A: 水あり B: 水なし)

3-4. 植物ホルモンの影響

3-4-1. ジベレリンの影響

- (1) ジベレリン (GA3) を水道水に溶解し、 10^{-3} M GA3 水溶液を 100 mL 作製した。
- (2) 順次系列希釈し、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} M の 4 通りの GA3 水溶液を約 90 mL ずつ用意した。
- (3) 各 GA3 水溶液をシャーレに 40 mL 入れた。対照として水道水を入れたシャーレも用意した。
- (4) 同一株から葉を切り取り、それぞれのシャーレに入れ、ラップで蓋をした (Fig. 6)。
- (5) 最も成長した不定芽・不定根の長さを 30 日間観察した。GA3 水溶液は 10 日に一回交換した。



Fig. 6 観察初日のセイロンベンケイソウの様子

3-4-2. オーキシシンとカイネチンの影響

- (1) 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} M のオーキシシン又はカイネチン水溶液を用意し、シャー

レに入れた。

- (2) 常葉大学瀬名校舎にあったセイロンベンケイソウの同一の葉から鋸歯を1箇所含むような切片(0.7 cm × 0.7 cm)を作製し、3片ずつ各シャーレに入れた (Fig. 7)。
- (3) 各切片の不定芽や不定根の形成を観察し、その長さを測定した。



Fig. 7 作製した切片

3-5. ベンズアントラセンの影響

- (1) BaA をジメチルスルホオキシド (DMSO) に溶解し、 10^2 M 溶液を作製した。
- (2) 水道水 50 mL に 10^2 M BaA 溶液を 50 μ L を加え、 10^5 M BaA 水溶液を作製した。
- (3) 順次系列希釈し、 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 M の 4 通りのジベレリン水溶液を 50 mL ずつ用意した。
- (4) 各 BaA 水溶液をシャーレに 40 mL 入れた。対照として水道水を入れたシャーレも用意した。
- (5) 同一株から葉を切り取り、それぞれのシャーレに入れ、ラップで蓋をした。
- (6) 最も成長した不定芽・不定根の長さを 30 日間観察した。BaA 水溶液は 10 日に一回交換した。

4. 結果

4-1. 水分量

形成された不定芽の数は、Aが1本、Bが4本、Cが3本、Dが6本となっており、葉によって形成された本数に違いはあったが、水を与えた葉の方が不定芽の形成が早まるという結果になった (Fig. 8A - D)。水を与えたC、Dは平均で11日目に不定芽が形成され始め、与えなかったA、Bは平均でその5日後に不定芽の形成が始まった (Fig. 8E)。不定芽形成後はA～Dの成長速度に大きな違いはなかった。しかし、20日目には長期間水に漬かっていたC、Dの脱色が見られ、23日目に不定芽が脱色した葉から自然に外れた。これは、葉が水に完全に浸かっていたため、葉の組織が弱ったのではないかと考えられた。葉に水を与える際には、葉が完全に水没しないように水分量を調節する必要があると考えられた。これにより、最終的には水を与えなかったA、Bの不定芽の方が大きく成長し、茎や葉が肉厚になった。

不定根については、C、Dが20日目に発根し、A、Bは30日目までに発根せず、33日目に発根した (データ示さず)。不定芽の形成開始日の違いを考慮しても、A、Bの発根は8日遅れていることになり、水を与えられた葉の方が不定根の形成が早まるという結果が得られた。

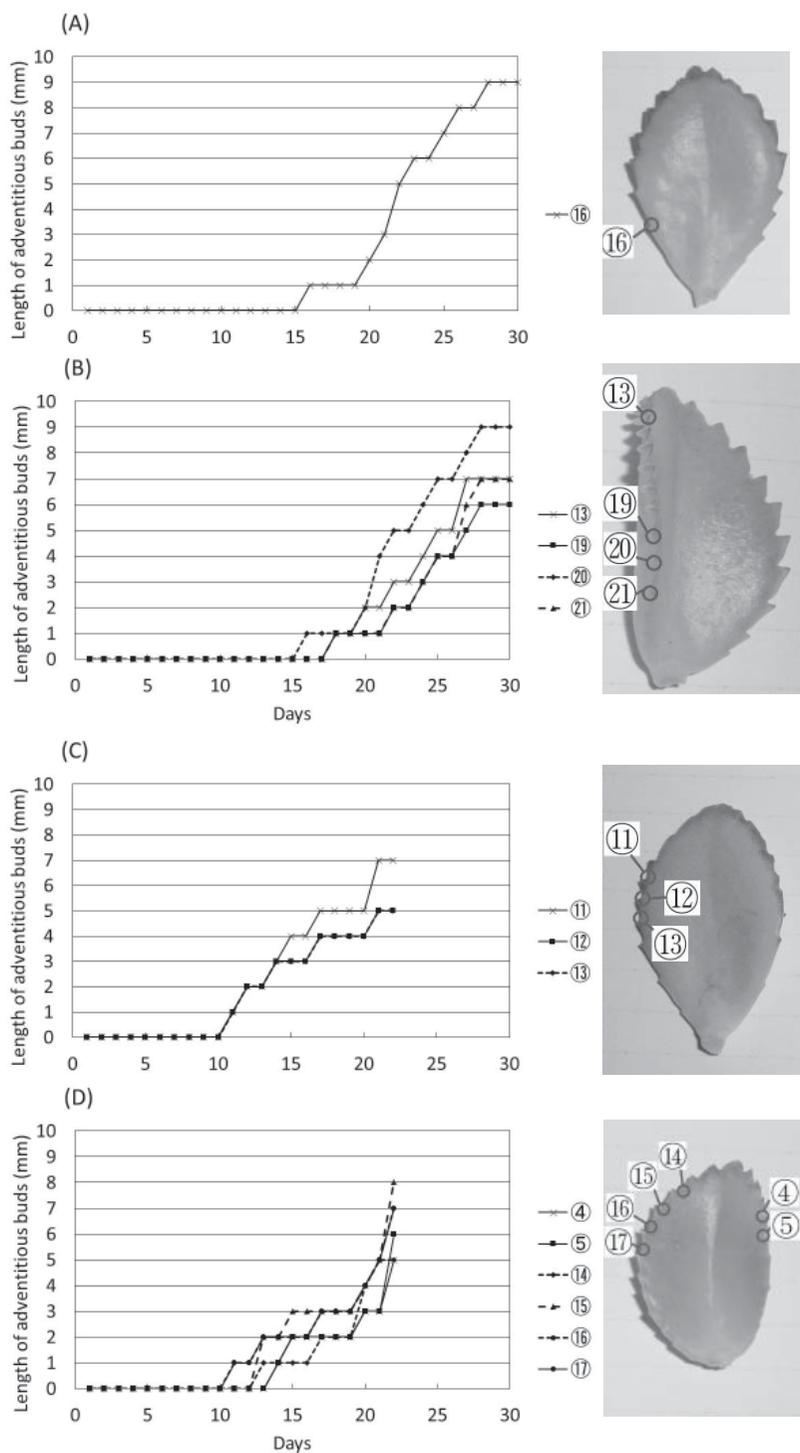


Fig. 8 不定芽の成長 (A, B: 水なし C, D: 水あり)

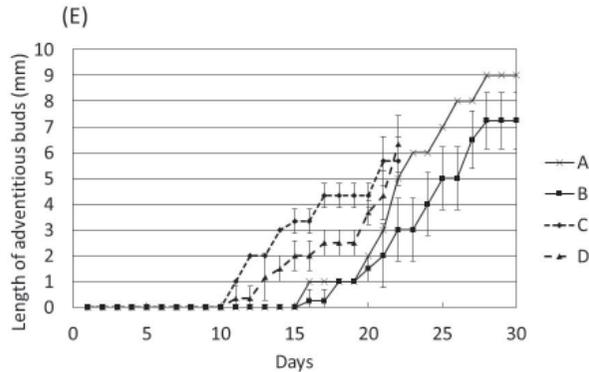


Fig. 8 不定芽の成長（平均）（A, B：水なし C, D：水なし）

4-2. 分割実験

4-2-1. 6分割実験

30日間が経過してもA～Dいずれから不定芽・不定根は形成されなかった。

4-2-2. 2分割実験

水あり（上部）では、11の鋸歯のうち不定根が①、③、⑦、⑨の4箇所から形成され、不定根の成長速度はほぼ一定だった（Fig. 9A）。また、水あり（下部）では、10の鋸歯のうち不定根が②、④、⑥、⑧、⑩の5箇所から形成され、不定根の成長速度もほぼ一定だった（Fig. 9B）。なお、水に漬けていたことによる葉の脱色は見られなかった。これは、葉が完全に水没しないように水の量を40 mLにしたためだと考えられた。

水なし（上部）では不定根が⑥の1箇所から形成され、その成長速度も水ありの葉に比べ遅かった（Fig. 9C）。水なし（下部）からは、不定根が形成されなかった。これは、葉を切断した切り口から水分が逃げ、不定根の形成に必要な水分を葉の内部に溜め込められなくなったためではないかと考えた。実際に、水なしの葉は上下とも水分を失い、干乾びてしまっていた。

分割実験より、縦4 cmほどの葉を6分割した場合には、不定芽・不定根が30日以内に形成されなかったが、縦10 cmほどの葉を2分割した場合には、不定根が30日以内に形成された。沼津産と群馬産の違いはあるが、葉を分割した切片の大きさによっては、30日以内に不定根が形成されないという結果になった。

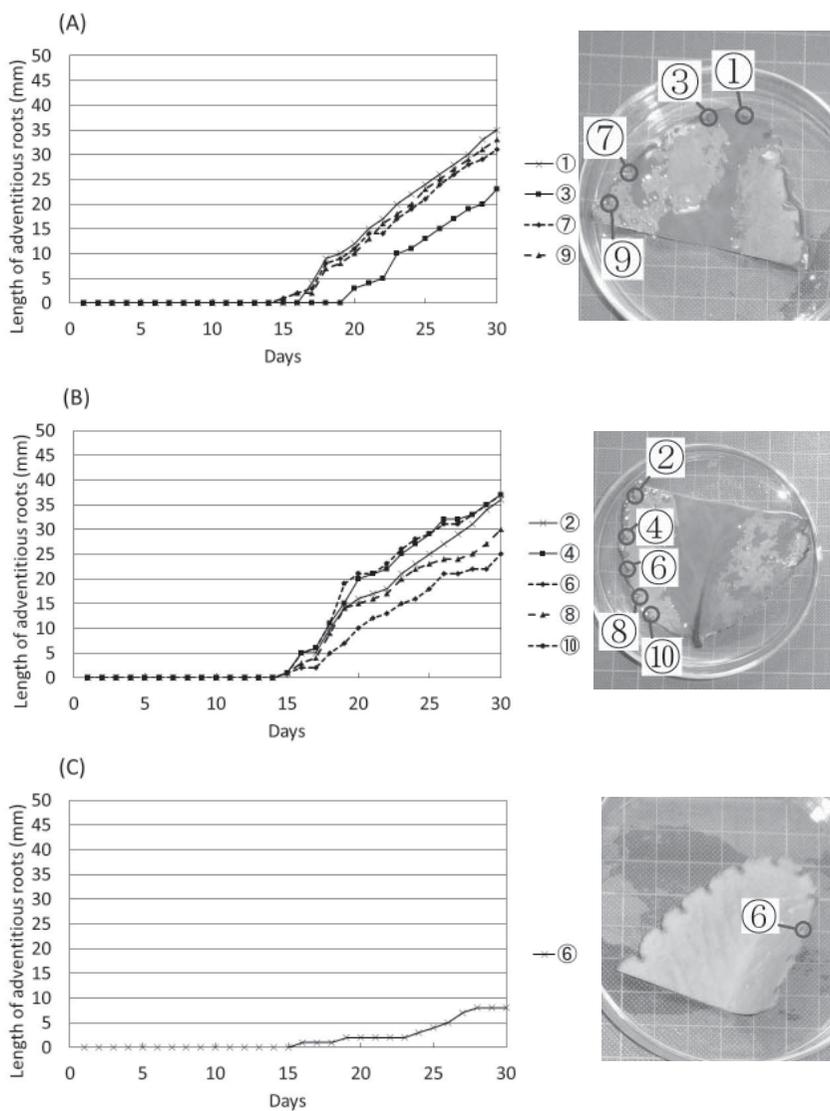


Fig. 9 不定根の成長 (A: 水あり上部 B: 水あり下部 C: 水なし上部)

4-3. 鋸齒の位置

水ありでは、14箇所の鋸齒の内13箇所から不定根が形成され、⑭の鋸齒からのみ形成されなかった (Fig. 10 A)。③、④、⑥、⑦の鋸齒から形成された不定根は観察期間中に成長が止まった。他の不定根の成長については差は認められなかった。観察結果を、葉の上部・中部・下部に分けて整理すると、上部・中部の場合には、形成され

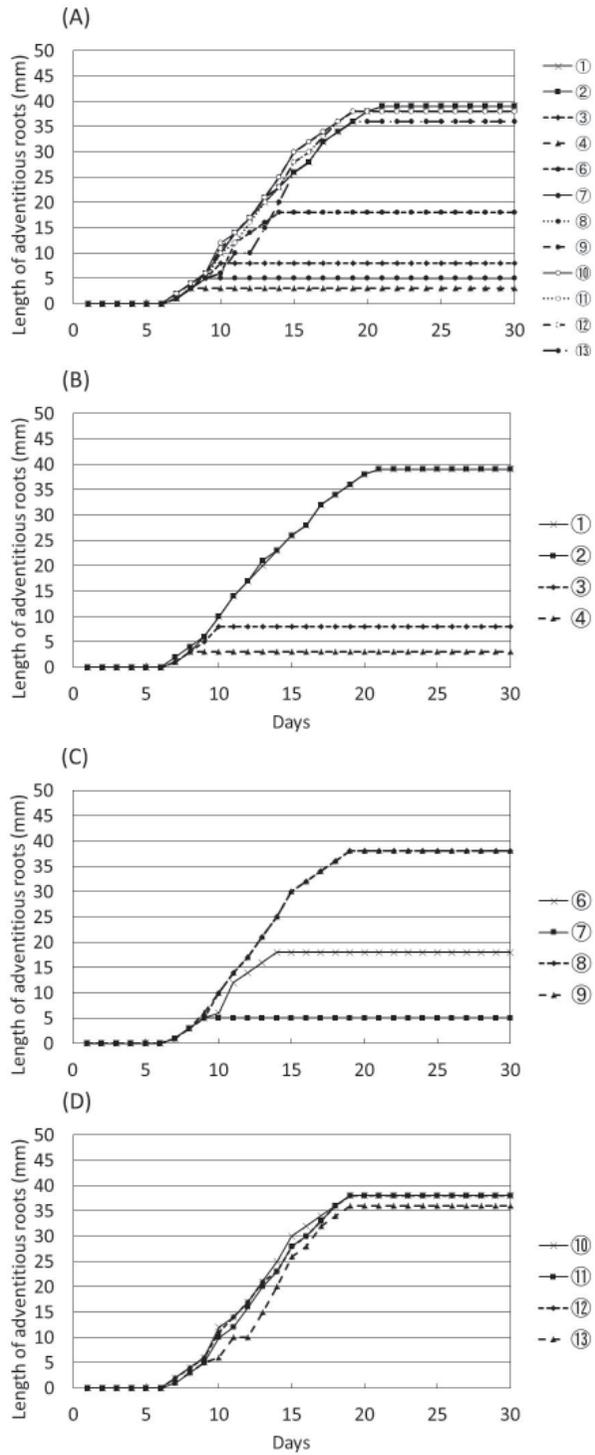


Fig. 10 不定根の成長(水あり A:全体 B:上部 C:中部 D:下部)

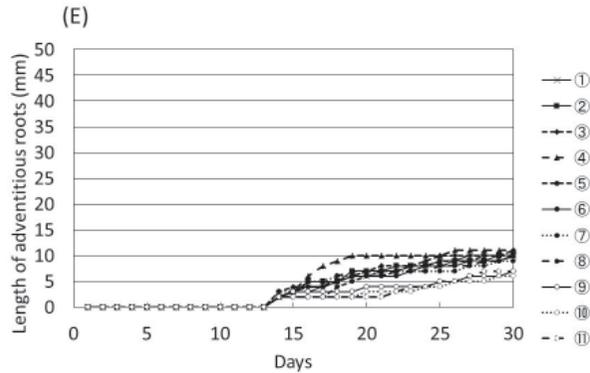


Fig. 10 不定根の成長（水なし E：全体）

た不定根の成長が止まったものがあり、葉の鋸歯が下部の場合に、不定根の成長が最も良いという結果となった（Fig. 10B - D）。水なしにおいては、水ありに比べて不定根の形成が遅く、成長も悪く、鋸歯の位置による差はあまりわからなかった（Fig. 10E）。不定芽については、いずれもあまり成長しなかった。

4 - 2 - 2. の 2 分割実験においては、水あり（上部）と水あり（下部）の不定根の形成と成長に差が認められなかった（Fig. 9A, B）。

4 - 4. 植物ホルモンの影響

4 - 4 - 1. ジベレリンの影響

実験 1（Fig. 11A, C）、実験 2（Fig. 11B, D）と 2 回実験を行った。いずれも、不定根については、前半は 10^{-6} M において、一番成長が速かった（Fig. 11A, B）。しかし、30 日目では不定根の大きさが、 10^{-5} M > 10^{-6} M > 水 > 10^{-4} M > 10^{-3} M の順となり、 10^{-4} 、 10^{-3} M の高濃度では、水よりも成長が悪いことがわかった。不定芽については、実験 2 では実験 1 に比べ、不定芽の形成が 5 日ほど遅れていたが、いずれも 30 日目まで不定芽の大きさが、 10^{-5} M > 水 > 10^{-4} M > 10^{-3} M > 10^{-6} M の順に成長が速かった（Fig. 11C, D）。特に 10^{-5} M では急激な成長が認められたが、それより低濃度でも高濃度でも水より成長は遅かった。したがって、不定芽・不定根の成長促進に最適な GA3 濃度は、共に 10^{-5} M であると考えられた。なお、実験 1 では、対照として用いた水道水は自宅のものであったが、実験 2 では、GA3 の溶解及び希釈に使用した大学の水道水（Fig. 11B, D, waterU）も対照として実験を行ったが、両者に差は認められなかった。

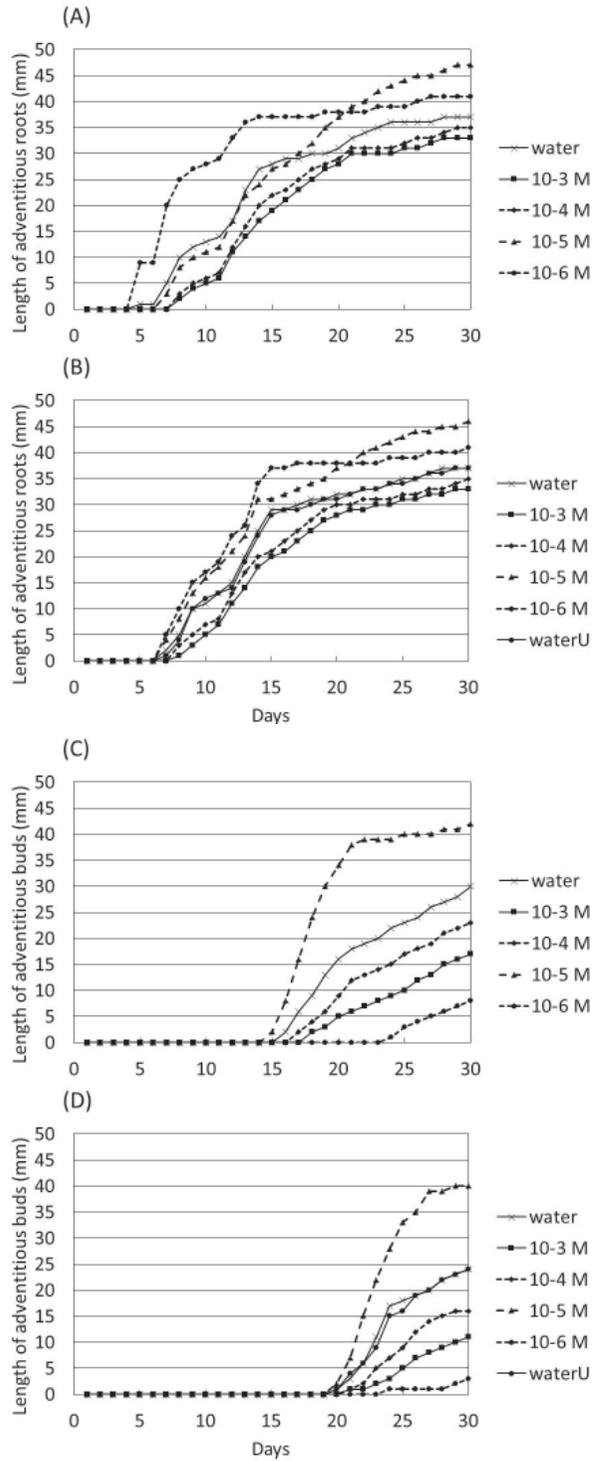


Fig. 11 不定根 (A, B) と不定芽 (C, D) の成長に及ぼす GA3 の影響

4-4-2. オーキシンの影響

ここでは大学瀬名校舎にあったセイロンベンケイソウを用いて、同一の葉から鋸齒を1箇所含むような切片を作製し、各シャーレに3片ずつ入れ、実験1 (Fig. 13A)、実験2 (Fig. 13B) と2回実験を行った。4、8、12、17日後に測定した各切片の不定根の長さを平均して、グラフ化した (Fig. 12)。 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} M のオーキシン濃度で行ったが、 10^{-7} M で最も成長が良く、これより薄くても濃くても成長は水と変わらなかった。したがって、不定根の形成には 10^{-7} M が最適であると考えられた。

また、オーキシンの最適濃度は一般的に根、芽、茎において異なっているが、今回の実験では切片 ($0.7\text{ cm} \times 0.7\text{ cm}$) にして実験をしたため、これ以上日数が経過してもほとんど成長がみられず、芽におけるオーキシンの最適濃度については明らかにすることができなかった。

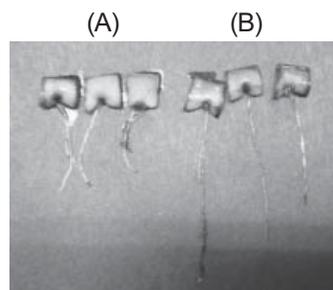


Fig. 12 不定根の成長
(A: 10^{-6} M B: 10^{-7} M)

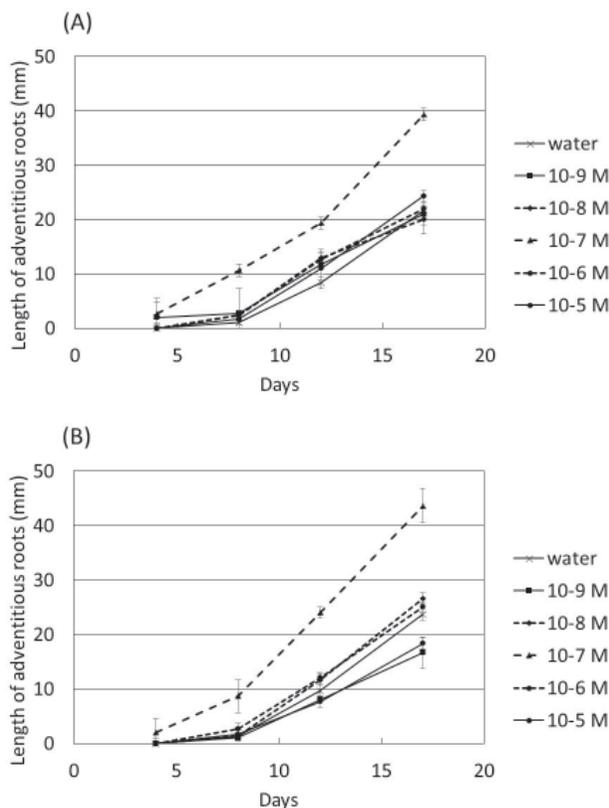


Fig. 13 不定根の成長に及ぼすオーキシンの影響

4-4-3. カイネチンの影響

オーキシンと同様に実験1 (Fig. 14A)、実験2 (Fig. 14B) と2回実験を行った。4、8、12日後に測定した各切片の不定根の長さを平均して、グラフ化した。カイネチンについては、どの濃度においても水と比較して、成長を早めることはなく、むしろ 10^{-6} M以上の濃度においては、根の成長が抑制されることが分かった。したがって、少なくともカイネチン単独では、不定芽・不定根の形成において促進的な働きを示さないことがわかった。

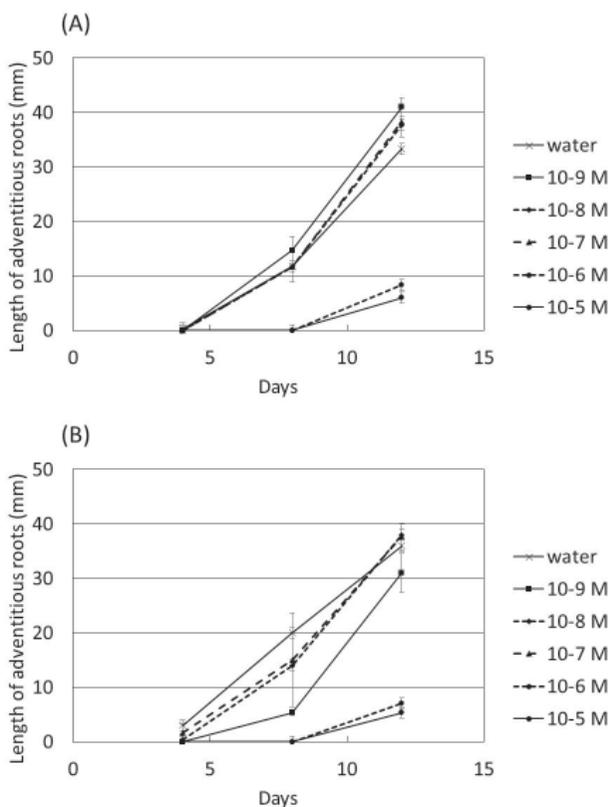


Fig. 14 不定根の成長に及ぼすカイネチンの影響

4-5. ベンズアントラセンの影響

実験1 (Fig. 15A)、実験2 (Fig. 15B) と2回実験を行った。いずれも、不定根については、 10^{-8} 、 10^{-7} M BaA 水溶液では、対照として行った水のみや BaA を溶解した DMSO を同量加えた水と、不定根の成長に違いが認められなかった。しかし、 10^{-6} 、 10^{-5} M の BaA 水溶液を与えた場合は、不定根の成長が遅れた。30日後では、前者が 35 mm 程度だったのに対し、後者は 10 mm ほどだった。したがって、BaA 水溶液の濃度が 10^{-6} M 以上になると、不定根の成長が阻害されると考えられた。不定芽については、いずれもあまり成長しなかった。

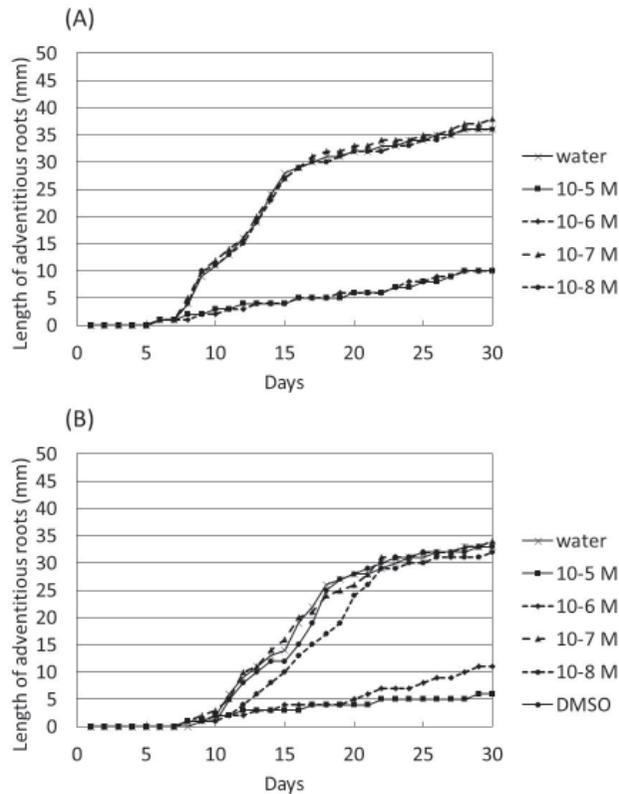


Fig. 15 不定根の成長に及ぼす BaA の影響

5. 考察

本研究では、セイロンベンケイソウの不定芽や不定根の形成・成長に関して、様々な条件の影響を調べた。水分量については、葉を水に浸けた方が、不定芽・不定根の形成開始が早まった一方、不定芽の成長速度に水分量は影響しないと考えられた。また、葉を分割しても不定芽・不定根は形成されるが、葉の切片の大きさによっては30日以内に形成されず、大きい葉の方が形成されやすいことがわかった。したがって、実験に使用する葉はなるべく大きいものが望ましいと考えられた。切片では、切り口から水分が逃げるためか、水分を与えないと不定根が形成されなかった。また、葉の鋸歯の位置によって、不定根の形成に差は認められなかったが、成長は下部の方が良い場合もあった。最後まで成長した不定根に関しては、成長速度に差が認められなかった。溝延は、周縁部を取った葉を、葉柄近傍部、中間部、先端部と3等分してカルス形成を比較したが、葉のいずれから同じように形成されたと報告している(4)。このことから、基本的には葉の部位による成長の差はないのではないかと考えられた。

植物ホルモンのジベレリン、オーキシシン、カイネチンでは、濃度によって不定芽・不定根の成長に及ぼす影響が異なっていた。GA3は、 10^{-5} Mで不定芽・不定根の成長を促進させることがわかった。特に不定芽について、成長を早めるのに、効果的であることがわかった。セイロンベンケイソウの若芽期では、ジベレリンによって開花が誘導されることも知られている(11)。オーキシシンは、不定根の形成には 10^{-7} Mが最適であった。オーキシシンの最適濃度は一般的に、根、芽、莖において異なるが、今回の実験は小切片で行ったためか、日数が経過してもほとんど成長がみられず、芽におけるオーキシシンの最適濃度は明らかにすることができなかった。カイネチンは、 10^{-6} M以上の濃度において、根の成長を抑制することが分かり、促進的に働くことはなかった。オーキシシンなどとの共存下での作用も調べる必要があると考えられた。

また、環境汚染物質の一つであるBaAでも、 10^{-6} M以上の濃度で、不定根の成長が阻害されると考えられた。したがって、BaAは高濃度では植物の成長を阻害することがわかり、環境中に存在した場合に、植物の成長に影響を及ぼすことが考えられた。他のPAHsについても同様のことが考えられた。このセイロンベンケイソウの葉の不定芽・不定根の成長過程を観察する方法は、植物における様々な物質の影響を調べるのに有効ではないかと考えられた。

また、実験全体を通して、不定根よりも不定芽が形成されない場合の方が多かった。これは、水のつかり具合などが関係している可能性も考えられた。セイロンベンケイソウは、比較的扱いやすいので、理科の教材として用いることも検討されている(12, 13)。実験を行う際には、再現性の高い適切な条件で行うことが必要であると考えられた。

セイロンベンケイソウは、近年糖尿病などをはじめとする様々な病気の治療薬として注目され、インドなどでは絞汁を薬として飲用している地域もある(14 - 16)。また、光条件など培養条件によって、有効成分の含有量が異なるという報告もある(17)。したがって、セイロンベンケイソウは、今後培養条件を検討することにより、

有効成分を増やし、治療薬としての更なる活用が期待される。今後さらに研究していく必要がある。

参考文献

1. González de León, S., Herrera, I., Guevara, R. : Mating system, population growth, and management scenario for *Kalanchoe pinnata* in an invaded seasonally dry tropical forest. *Ecol. Evol.*, 6, 4541-4550, 2007.
2. Mohan Ram, H.Y. : *In vitro* modification of regeneration in foliar embryos of *Bryophyllum calycinum* Salisb. In Plant Tissue and Organ Culture Symposium, 159-167, 1961.
3. Mridul, W., Mohan Ram, H.Y. : Morphogenesis in the leaf callus of *Kalanchoe pinnata* Pers. *Phyton*, 21, 143-147, 1964.
4. Mizonobe, G. : Basic Research on Culture of *Kalanche pinnata* Pers.;Part 2, Examination of characteristics and cultivation conditions of callus formation from leaves. *J. Environ. Sci. Lab., Senshu Univ.*, 8, 357-364, 2001.
5. Mizonobe, G. : Basic Research on Culture of *Kalanche pinnata* Pers.;Part 3, Cultivation conditions for root formation from leaf explants. *J. Environ. Sci. Lab., Senshu Univ.*, 9, 175-186, 2002.
6. Mizonobe, G. : Basic Research on Culture of *Kalanche pinnata* Pers.;Part 4, Cultivation conditions for stem and leaf formation from leaf explants. *J. Environ. Sci. Lab., Senshu Univ.*, 11, 37-45, 2004.
7. Mizonobe, G. : Basic Research on Culture of *Kalanche pinnata* Pers.;Part 5, Studies of conditions for acclimatization of growth of cultured plantlets. *J. Environ. Sci. Lab., Senshu Univ.*, 12, 43-52, 2005.
8. Mizonobe, G. : Basic Research on Culture of *Kalanche pinnata* Pers.;Part 6, Cultivation conditions to promote organogenesis from leaf explants. *J. Community Cooperative Reseach Center, Senshu Univ.*, 1, 25-34, 2006.
9. 石川統ら編 生物学入門第2版 東京化学同人 2013.
10. Kuruto, R., Aburame, M., Sakurai, S., Ohura, T. : The effects of plant leaves on the action of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Tokoha University Research Review (Faculty of Education)*, 37, 239-253, 2017.
11. 日向猛 セイロンベンケイソウ (*Bryophyllum pinnatum*) を用いたジベレリンによる花芽形成の実験観察 生物教育 29, 106-112, 1989.
12. 日向猛 セイロンベンケイソウ (*Bryophyllum pinnatum*) の不定芽を使った植物の形態形成の探究的学習 生物教育 30, 134-142, 1990.
13. 秋吉博之 セイロンベンケイソウ (*Kalanchoe pinnata*) の理科教材としての有効性の検討 就実論叢 37, 9-20, 2007.

14. Patil, S.B., Dongare, V.R., Kulkarni, C.R., Joglekar, M.M., Arvindekar, A.U. : Antidiabetic activity of *Kalanchoe pinnata* in streptozotocin-induced diabetic rats by glucose independent insulin secretagogue action. *Pharm. Biol.*, 51, 1411-1418, 2013.
15. de Araújo, E.R.D., Guerra, G.C.B., Araújo, D.F.S., de Araújo, A.A., Fernandes, J.M., de Araújo Júnior, R.F., da Silva, V.C., de Carvalho, T.G., Ferreira, L.S., Zucolotto, S.M. : Gastroprotective and Antioxidant Activity of *Kalanchoe brasiliensis* and *Kalanchoe pinnata* Leaf Juices against Indomethacin and Ethanol-Induced Gastric Lesions in Rats. *Int. J. Mol. Sci.*, 19, 1265, 2018.
16. Yadav, N.P., Dixit, V.K. : Hepatoprotective activity of leaves of *Kalanchoe pinnata* Pers. *J. Ethnopharmacol.*, 86, 197-202, 2003.
17. Muzitano, M.F., Bergonzi, M.C., De Melo, G.O., Lage, C.L., Bilia, A.R., Vincieri, F.F., Rossi-Bergmann, B., Costa, S.S. : Influence of cultivation conditions, season of collection and extraction method on the content of antileishmanial flavonoids from *Kalanchoe pinnata*. *J. Ethnopharmacol.*, 133, 132-137, 2011.

