

Марија Марковић
Михаило Грбић
Ана Шинделић

UDK: 635.03+9
Оригинални научни рад

МОГУЋНОСТ МИКРОПРОПАГАЦИЈЕ *DIANTHUS GIGANTEIFORMIS* SUBSP. *KLADOVANUS* (DEGEN) SÓO МЕТОДОМ ПРОЛИФЕРАЦИЈЕ БОЧНИХ ИЗБОЈАКА

Извод: Испитана је могућност микропропагације кладовског каранфила (*Dianthus giganteiformis* subsp. *kladovanus*) методом пролиферације бочних избојака. Микропропагација је извршена на медијуму са 1/2 MS минералним раствором, уз додатак 3% сахарозе, 0,8% агара, $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ мио-инозитола, $0,025 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ тиамина, $0,125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ никотинске киселине и $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ глицина. За индукцију развоја бочних избојака коришћен је 6-бензил-аминопурин (BAP) и α -нафтилсирћетне киселине (NAA). Најбољи резултати постигнути су на медијуму са $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BAP и $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA. Ожиљавање је успешно спроведено на медијуму без хормона, а проценат аклиматизације износио је 83%.

Кључне речи: кладовски каранфил, угрожене врсте, микропропагација

POSSIBILITY OF MICROPROPAGATION OF *DIANTHUS GIGANTEIFORMIS* SUBSP. *KLADOVANUS* (DEGEN) SÓO BY THE METHOD OF PROLIFERATION OF LATERAL SHOOTS

Abstract: The micropropagation of *kladovanus* carnation (*Dianthus giganteiformis* subsp. *kladovanus*) was tested by the lateral shoot proliferation method. Micropropagation was performed on the medium with 1/2 MS mineral solution, supplemented with 3% sucrose, 0.8% agar, $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ mio-inositol, $0.025 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ thiamin, $0.125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ nicotinic acid and $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ glycine. The development of lateral shoots was induced on 6-benzyl-aminopurine (BAP) and α -naphthaleneacetic acid (NAA). The best results were achieved on the medium with $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BAP and $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA. Rooting was successful on the medium without hormones, and the percentage of acclimatisation was 83%.

Key words: *kladovanus* carnation, endangered species, micropropagation

дijл. инж. Марија Марковић, асистент ириравник, Шумарски факултет Универзитет у Београду, Београд

др Михаило Грбић, ред. професор, Шумарски факултет Универзитет у Београду, Београд

дijл. инж. Ана Шинделић, Београд

1. УВОД

Врста *Dianthus giganteiformis* subsp. *kladovanus* (Degen) Sóo (кладовски каранфил) је ендемит Балканског полуострва. Њено једино станиште у Србији је на подручју Кладовске пешчаре, заузима површину од свега неколико хектара и налази се под јаким антропогеним утицајем. Због тога, број индивидуа ове врсте има тенденцију сталног опадања и она је сврстана у групу крајње угрожених таксона у Србији, а расте још једино у Бугарској и Румунији, где има статус ретког таксона (Дилић *et al.*, 1999).

Кладовски каранфил је и врста изразите декоративности и скромних захтева - одлично успева на песковитим и слабо хумусним земљиштима и добро подноси сушу. Због тога би се успешно могла примењивати у хортикултури, нарочито за алпинетуме. Како се данас велики број врста рода *Dianthus* успешно гаји за добијање резаног цвета, као саксијска култура, баштенско цвеће или се користи у озелењавању насеља (паркови и друге јавне површине), масовном производњом кладовског каранфила би се обогатио асортиман, а створиле би се и могућности за стварање нових хибрида између ове и других врста каранфила.

Због свега наведеног, у циљу повећања бројности кладовског каранфила на природном станишту, за обогаћивање фонда ботаничких башти, као и ради његовог коришћења у хортикултури, потребно га је размножити. При том, најпогоднији метод размножавања представља микропропагација јер се за кратко време од мале количине полазног материјала добија велики број биљака, чиме је притисак на природну популацију минималан. Она се последњих година често користи приликом размножавања великог броја угрожених врста, укључујући и *Dianthus* spp. (Faу, 1992, Kovács, 1995, Радојевић *et al.*, 1997, Mikulík, 1999, Benson *et al.*, 2000, Мишић, 2004).

Због тога је циљ овог рада испитивање могућности увођења кладовског каранфила у културу *in vitro*, мултипликације избојака методом пролиферације бочних пупољака, ожиљавања добијених избојака, као и аклиматизације добијених биљака на услове *ex vitro*.

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

За заснивање културе *in vitro* коришћено је семе сакупљено августа 2004. године на локалитету Кладовска пешчара. Оно је у лабораторији површински стерилисано коришћењем 4% раствора NaOCl (комерцијални препарат Варикина) уз додатак 2-3 капи препарата Tween 20 у трајању од 20 минута и потом испирано три пута по пет минута стерилном дестилованом водом.

Семе је постављено на медијум без хормона, укупно 120 семена, и после четири недеље, са добијених клијаваца исецане су вршине и нодусне резнице и постављане

на медијум са додатком хормона у циљу пролиферације и умножавања бочних избојака, 6-бензил-аминопурина (ВАР) и α -нафтил-сирћетне киселине (NAA).

Семе, нодусне и вршне резнице постављане су у теглице ($5 \times 5 \times 12$ cm), по 5 експланата у сваку, које су садржале по 30-35 mL медијума и затворене су затварачима од алуминијумске фолије, газе и вате. Четири недеље после постављања вршних и нодусних резница, одређен је број избојака по експланту, њихова дужина, као и број нодуса и дужина интернодија. Ожиљавање избојака обављено је на медијуму без хормона, у теглама (85×180 mm) које су садржале по 75 mL медијума и по 10 експланата, током четири недеље, затим је утврђен проценат ожиљених избојака, као и дужина и број коренова.

Сви медијуми коришћени током огледа садржали су 1/2 MS минерални раствор (Murashige, Skoog, 1962), 3% сахарозу, 0,8% агар, $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ мио-инозитола, $0,025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ тиамина, $0,125 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ никотинске киселине и $0,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ глицина. За испитивање утицаја баланса цитокинина и ауксина на пролиферацију бочних избојака у основни медијум додат је ВАР у концентрацији $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ и NAA у концентрацијама $0,1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $0,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ и $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. При том је рН вредност медијума подешена на 5,8 додавањем 0,1 N HCl и 0,1 N NaOH пре аутоклавирања на температури од 120°C и притиску од 1,5 атмосфера током 20 минута.

Културе су гајене на температури $25 \pm 2^\circ\text{C}$, са фотопериодом од 16^{h} , при светлости флуоресцентних белих цеви „Тесла” - Панчево и густином фотонског флукса $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

Аклиматизација ожиљених биљака одвијала се на застакљеној тераси Шумарског факултета, на којој услови температуре и влажности ваздуха нису контролисани. Супстрат се састојао из тресета и песка у односу 1:1, а пре употребе је третиран фунгицидом „Previcur” (у концентрацији од 0,15%). Током прве две недеље аклиматизације, посуде са биљкама су покриване слабо перфорираним пластичним кесама, а проветравање је вршено једном дневно.

Статистичка обрада података извршена је у одговарајућем статистичком програму. Значајност разлика између средњих вредности утврђена је анализом варијансе (ANOVA, $p < 0,05$) и методом најмање значајне разлике. У фази мултипликације избојака сваки третман је обухватао 3 понављања са по 25 експланата, а у фази ожиљавања и аклиматизације постављено је по 30 избојака и ожиљеница у три понављања.

3. РЕЗУЛТАТИ СА ДИСКУСИЈОМ

3.1. Иницијална фаза

In vitro култура кладовског каранфила успешно је успостављена. Процент контаминације био је низак и од постављених 120 семена било је контаминирано свега 8,3%. Клијавост семена *in vitro* била је висока и износила је 88%, што одговара

результатима добијеним и са врстама *Dianthus pinifolius* и *D. serotinus*, које су гајене у истој лабораторији (непубликовани резултати), а сличне резултате са *D. zeyheri* чија клијавост је достигла 80% су добили Crouch и Van Staden (1993).

3.2. Мултипликација

После 28 дана по постављању експланата, утврђен је број пропалих и нормално развијених бусенова. Витрификованих експланата није било. Притом су у пропале експланте сврстани и они који су од момента постављања остали непромењени, без манифестација раста. Удео нормално развијених експланата кретао се од 91-100%, у зависности од типа експланта и медијума, при чему добијене разлике посматрано у односу на састав медијума и тип експланта нису биле статистички значајне.

Код одређеног броја експланата дошло је и до појаве калуса, најчешће испод првог пара листова, на површини медијума, ређе и дуж тих листова. Количина калуса била је незнатна, углавном пречника до 5 mm, врло ретко до 1 cm. Удео калусиралих нодусних резница био је знатно већи него вршних и кретао се од 16% на медијуму са 0,1 mg·L⁻¹ NAA до чак 48% на медијуму са 1 mg·L⁻¹ NAA.

Највећи проценат калусиралих вршних резница (18%), такође, јавио се на медијуму са 1 mg·L⁻¹ NAA, док на контроли - медијуму без хормона, калусиралих резница уопште није било. Како је количина ВАР-а била константна (1 mg·L⁻¹), добијени резултати указују на директну везу између концентрације NAA и интензитета калусирања. Сличне резултате добио је и Mikulík (1999) радећи са врстом *Dianthus superbus* subsp. *superbus*. Код ове врсте каранфила, такође, није било калусиралих експланата на медијуму без хормона, а на медијуму са концентрацијом 1 mg·L⁻¹ ВАР и 1 mg·L⁻¹ NAA, као и у нашем случају, проценат калусиралих експланата био је највиши.

Дејство ауксина на формирање и раст калуса је у литератури већ познато (Винтерхалтер, Винтерхалтер, 1996), али се концентрација при којој се јавља калус јако разликује зависно од врсте. С друге стране, код врсте *D. zeyheri* до појаве калуса је дошло и на медијуму без хормона (Crouch, Van Staden, 1993).

Како је дужина избојака прилично варијала код појединачних експланата, одлучено је да се направе одговарајуће дужинске категорије и дужина избојака изрази као процентуално учешће у свакој од њих (табела 1).

Вршне резнице су, углавном, имале дуже избојке у односу на нодусне (табела 1). На медијуму без хормона избојци су најдужи и већина спада код нодусних у групу од 11-20 mm, а код апикалних преко 20 mm. На медијумима са хормонима већина избојака спада у дужинску групу од 1-10 mm код оба типа експланата. Сличне резултате забележио је и Mikulík (1999) приликом микропропагације *D. superbus*. Такође, и утицај NAA на издуживање избојака је присутан, мада је слабије изражен. У табели 1 може се уочити да се на медијумима са хормонима најдужи избојци јављају на медијуму са 1 mg·L⁻¹ NAA.

Табела 1. Дужина избојака

Table 1. Shoot length

| Концентрација хормона Hormone concentration | | Дужина избојака вршних резница Shoot length of tip cuttings | | | Дужина избојака нодусних резница Shoot length of nodal cuttings | | |
|--|-----|--|-------------------|-------------------|--|-------------------|-------------------|
| BAР | NAA | mm | | | mm | | |
| mg·L ⁻¹ | | 1-10 | 11-20 | >20 | 1-10 | 11-20 | >20 |
| 0 | 0 | 12,5 ^a | 37,5 ^a | 50,0 ^b | 28,7 ^a | 43,1 ^b | 28,2 ^b |
| 1 | 1,0 | 64,3 ^b | 23,2 ^a | 12,4 ^a | 80,1 ^b | 18,6 ^a | 1,2 ^a |
| 1 | 0,5 | 49,5 ^b | 50,5 ^b | 0,0 ^a | 84,1 ^b | 14,3 ^a | 1,6 ^a |
| 1 | 01 | 71,8 ^b | 24,4 ^a | 3,8 ^a | 85,6 ^b | 14,4 ^a | 0,0 ^a |

Табела 2. Број избојака по експланту

Table 2. Number of shoots per explant

| Концентрација хормона Hormone concentration | | Вршне резнице Tip cuttings | | | Нодусне резнице Nodal cuttings | | |
|--|-----|-------------------------------|-----|-------------------|-----------------------------------|-----|-------------------|
| BAР | NAA | | | | | | |
| mg·L ⁻¹ | | min | max | \bar{x} | min | max | \bar{x} |
| 0 | 0 | 1 | 2 | 1,1 ^a | 1 | 5 | 2,6 ^a |
| 1 | 1,0 | 1 | 6 | 2,7 ^b | 1 | 9 | 3,0 ^{ab} |
| 1 | 0,5 | 1 | 11 | 3,8 ^b | 1 | 12 | 3,3 ^{ab} |
| 1 | 0,1 | 1 | 7 | 2,6 ^{ab} | 1 | 8 | 3,9 ^b |

Поред дужине, одређен је и укупан број избојака по експланту, а минималан, максималан и просечан број избојака за оба типа резница приказани су у табели 2.

На медијуму без хормона број избојака по експланту био је најмањи код оба типа експланата, али су нодусне резнице имале двоструко више избојака него вршне. Пошто је утицај хормона био искључен, ова разлика се може објаснити присуством два бочна пупољка на експланту (јер су листови наспрамни) и спреченом апикалном доминацијом код нодусних резница.

На медијумима са хормонима, број избојака по експланту се повећао и између нодусних и вршних експланата разлике су много мање, јер дејство BAР-а спречава апикалну доминацију вршних резница. Међутим, разлика између различитих медијума са хормонима нема јер NAA нема утицај на број избојака.

Слични резултати су добијени и у радовима са другим каранфилима (Kovács, 1995, Mikulík, 1999, Радојевић *et al.*, 1997, Fraga *et al.*, 2004), али се притом

јављао и велики проценат хиперхидричних експланата на медијумима који су садржали цитокидине. Због тога, иако су F га га и сарадници (2004), радећи са *D. gartianopolitanus* 'Spotti' на медијуму са $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ВАР и $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA добили 4,4 избојка по експланту, због високе хиперхидричности (40%) они за микропропагацију поменутог култивара препоручују медијум без хормона на коме су добили само 1,3 избојка по експланту, али није било појаве аберантних биљака.

Међутим, како се као експланте користе нодусне и вршне резнице, поред броја избојака, који одговара броју потенцијалних вршних експланата за наредну субкултуру, значајно је утврдити и број нодуса по експланту као број потенцијалних нодусних резница. Минималан, максималан и просечан број нодуса по експланту приказан је у табели 3.

Табела 3. Број нодуса по постављеном експланту

Table 3. Number of nodes per explant

| Концентрација хормона Hormone concentration | | Вршне резнице Tip cuttings | | | Нодусне резнице Nodal cuttings | | |
|--|-----|-------------------------------|-----|-------------------|-----------------------------------|-----|------------------|
| ВАР | NAA | min | max | \bar{x} | min | max | \bar{x} |
| $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ | | | | | | | |
| 0 | 0 | 2 | 4 | 3,5 ^b | 1 | 12 | 5,8 ^a |
| 1 | 1,0 | 2 | 9 | 5,3 ^{ab} | 1 | 15 | 5,4 ^a |
| 1 | 0,5 | 2 | 21 | 7,6 ^a | 1 | 15 | 4,7 ^a |
| 1 | 0,1 | 2 | 10 | 5,3 ^{ab} | 1 | 16 | 6,1 ^a |

Вршне резнице на медијуму без хормона имале су најмањи број нодуса по експланту. На осталим медијумима разлике у просечном броју нодуса вршних експланата су слабо изражене, али се највећи број њих (7,6 нодуса) развио на медијуму са $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA. За разлику од вршних, код нодусних резница разлике у броју нодуса по експланту на свим медијумима, укључујући и контролу, нису биле значајне и кретале су се између 4,7 и 6,1 нодуса (табела 3).

Полазећи од добијених резултата, уколико би се од једног клијавца са три нодуса поставили експланте на медијум са $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA и $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ВАР, након једног пасажа (28 дана), добило би се просечно 13,7 избојака и 21,7 нодуса, док се на медијуму са $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA добија просечно 14,3 избојка и 23,6 нодуса. Због тога, како ни на једном од наведена два медијума није било нежељених појава (витрификација, епинастије, розетаст раст) које би могле довести до добијања аберантних биљака, оптимална подлога за мултипликацију избојака кладовског каранфила садржи $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ВАР и $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA.

Током огледа утврђен је и утицај ВАР-а на смањење дужине интернодија избојака. Међутим, и поред статистички значајних разлика између контроле и медијума

са хормонима (табела 4), у практичном смислу добијене разлике су занемарљиве, јер није дошло до појаве розетастог раста и аберантних биљака.

3.3. Ожиљавање

Током мултипликације избојака дошло је до спонтаног ожиљавања великог броја биљака на медијуму без хормона. Ова појава није ретка и забележена је и у радовима са другим врстама каранфила (Kovács, 1995, Mikulík, 1999, Радојевић *et al.*, 1997, Fraga *et al.*, 2004). Због тога смо, у нашем огледу ожиљавање избојака извршили на медијуму без хормона, при чему је проценат њиховог ожиљавања износио 94%, а коренов систем био је добро развијен. Већина ожиљених експаната (преко 70 %) оформила је 5-15 коренова, а код више од 80% свих ожиљеница дужина коренова се кретала између 10 и 30 *mm*.

Како је добијени проценат ожиљавања висок, није било потребе за спровођењем даљих огледа који укључују додавање ауксина у медијум. Додавање ауксина требало би да повећа проценат ожиљавања избојака, али дужина формираних коренова била би мања (Винтерхалтер, Винтерхалтер, 1996).

3.4. Аклиматизација

Аклиматизација биљака је успешно спроведена, а проценат аклиматизације је износио 83%. Међутим, током аклиматизације ни температура, ни влажност ваздуха нису били регулисани, а температура је варирала између 8°C и 36°C (зависно од временских прилика и доба дана).

У појединим радовима са другим врстама каранфила, добијени су и знатно бољи резултати, где је проценат аклиматизације био близу 100% (Радојевић *et al.*, 1997, Fraga *et al.*, 2004), али је аклиматизација спроведена у стакленицима у којима су регулисани микроклиматски услови.

4. ЗАКЉУЧЦИ

In vitro култура кладовског каранфила успешно је успостављена. Висок фактор мултипликације (највећи број потенцијалних вршних и нодусних резница за субкултуру) добијен је на медијуму са 0,5 $mg \cdot L^{-1}$ NAA при постављању вршних експаната, док је највећи фактор мултипликације нодусних резница био на медијуму са 0,1 $mg \cdot L^{-1}$ NAA.

Процент ожиљавања избојака кладовског каранфила на медијуму без хормона је висок (94%), због чега додавање ауксина није потребно.

Аклиматизација добијених ожиљеница је током огледа успешно спроведена, али се препоручује да се убудуће ова фаза спроводи у стакленику у коме су контролисани микроклиматски услови.

Метода приказана у овом раду успешно се може користити у размножавању кладовског каранфила. Њеном применом, од само једног клијавца, за 6 месеци, добило би се преко 22.000 аклиматизованих биљака.

ЛИТЕРАТУРА

- Benson E., Danaher J.E., Pimbley I.M., Anderson C.T., Wake J.E., Daley S., Adams K. (2000): *In vitro propagation of Primula scotica: a rare Scottish plant*, Biodiversity and Conservation 9 (711-726)
- Винтерхалтер Д., Винтерхалтер Б. (1996): *Култура in vitro и микропропагација биљака*, Ахиа П.О., Београд
- Диклић Н., Никетић М., Томовић Г. (1999): *Dianthus giganteiformis Borbás subsp. kladovanus (Degen) Sós*, „Црвена књига флоре Србије”, Министарство за животну средину Републике Србије, Биолошки факултет Универзитета у Београду, Завод за заштиту природе Републике Србије, Београд (249-251)
- Ковач Ј. (1995): *Micropropagation of Dianthus arenarius subsp. bohemicus - an endangered endemic from the Czech Republic*, Botanic Gardens Micropropagation News 8 (106-108)
- Мишић Д. (2004): *Микропропагација риањске мейвице (Nepeta ranjensis Diklić & Milojević) као ефикасан начин ex situ заштите*, магистарски рад у рукопису, Биолошки факултет Универзитет у Београду, Београд
- Микулик Ј. (1999): *Propagation of endangered plant species by tissue cultures*, Acta Universitatis Palackianae Olomucensis, Biologica 37 (27-33)
- Murashige T., Skoog F. (1962): *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*, Physiologia Plantarum 15 (473-497)
- Радојевић Љ., Маринковић Н., Јевремовић С. (1997): *Вегетативно размножавање у култури мерисеме и семената сјабла Dianthus petraeus Waldst. et Kit. subsp. paeanus*, Гласник института за ботанику и Ботаничке баште Универзитета у Београду 31, Институт за ботанику - Ботаничка башта, Београд (73-77)
- Fay M.F. (1992): *Conservation of rare and endangered plants using in vitro methods*, In Vitro Developmental Biology 28 (1-4)
- Fraga M., Mertxe A., Ellul P., Borja M. (2004): *Micropropagation of Dianthus gratianopolitanus*, HortScience 39 (4) (112-115)
- Crouch N.R., Van Staden J. (1993): *In vitro culture of Dianthus zeyheri subsp. natalensis, a South African carnation*, Plant Cell Tissue and Organ Culture 35 (81-85)

Marija Marković
Mihailo Grbić
Ana Šindelić

POSSIBILITY OF MICROPROPAGATION OF *DIANTHUS GIGANTEIFORMIS* SUBSP. *KLADOVANUS* (DEGEN) SÓO BY THE METHOD OF PROLIFERATION OF LATERAL SHOOTS

Summary

The species *Dianthus giganteiformis* subsp. *kladovanus* (Degen) Sóo is a Balkan Peninsula endemic which is classified in a group of maximally endangered taxa in Serbia. It grows also only in Bulgaria and Romania, where it has the status of a rare taxon (Diklić *et al.*, 1999). Thanks to its ornamentalness and modest requirements, it is suitable for horticultural application. Therefore, it was decided to test its propagation by the micropropagation method, because by this method the pressure on natural population is minimal.

The culture in vitro was established from the seeds, and the explants in the multiplication stage were nodal and tip cuttings. All media used in the experiment consisted of 1/2 MS mineral solution, 3% sucrose, 0.8% agar, 50 mg·L⁻¹ mio-inositol, 0.025 mg·L⁻¹ thiamin, 0.125 mg·L⁻¹ nicotinic acid and 0.5 mg·L⁻¹ glycine. The development of lateral shoots was induced on 6-benzyl-aminopurine (BAP) and α -naphthaleneacetic acid (NAA). The best results were achieved on the medium with 1 mg·L⁻¹ BAP and 0.1 mg·L⁻¹ NAA. There were no undesired symptoms (vitrification, epinasty, rosette growth) which could lead to aberrant plants.

Shoots were successfully rooted on the medium without hormones, rooting percentage was 94%, and the root system was well developed. Rooted plants were acclimatised in the mixture of peat and sand (1:1), microclimate conditions were not controlled, and the acclimatisation percentage was 83%.

Based on the study, *kladovanus* carnation can be successfully propagated by micropropagation, using the method presented in this paper.

