

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG VÔ TÍNH *IN VITRO* CÂY CẨM CHƯỚNG NATALIE THÔNG QUA NUÔI CÂY ĐỈNH CHỒI

Lê Văn Tường Huân*

Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

TÓM TẮT

Cẩm chướng là một trong những loài hoa cắt cành có giá trị nhất trên thế giới. Đã có một số bài báo liên quan đến nhân giống vô tính *in vitro* cây cẩm chướng. Tuy nhiên, có rất nhiều giống cẩm chướng khác nhau và chưa có nghiên cứu nào về nhân giống vô tính *in vitro* thông qua nuôi cấy đỉnh chồi ở cây cẩm chướng Natalie. Nghiên cứu nhân giống vô tính *in vitro* cây cẩm chướng Natalie thông qua nuôi cấy đỉnh chồi đã được thực hiện và trình bày trong bài báo này. Nghiên cứu tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi của cây cẩm chướng Natalie được thực hiện trên môi trường cơ bản MS có 2% sucrose, 0,8% agar và bổ sung N⁶-Benzyladenine (BA) hoặc Kinetin ở các nồng độ khác nhau. Kết quả nghiên cứu đã cho thấy trong các môi trường có bổ sung BA, môi trường có bổ sung 0,2 mg/L BA là môi trường tốt nhất cho tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi. Trong các môi trường có bổ sung Kinetin, môi trường có bổ sung 3 mg/L Kinetin là môi trường tốt nhất cho tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi. Môi trường có chứa 0,2 mg/L BA là môi trường cho số lượng chồi trung bình tạo thành trên mẫu cây cao nhất (10,28 chồi/mẫu). Trong các môi trường cơ bản MS có 2% sucrose, 0,8% agar và bổ sung Indole-3-butyric acid (IBA) ở các nồng độ khác nhau, môi trường có bổ sung 1,2 mg/L IBA là môi trường thích hợp nhất để tạo rễ cho chồi *in vitro*. Cây con *in vitro* khi chuyển ra trồng ngoài điều kiện tự nhiên phát triển tốt và không có bất thường về hình thái. Các kết quả này có thể sử dụng trong nhân giống quy mô lớn cây cẩm chướng Natalie.

Từ khóa: Cây cẩm chướng Natalie, cụm chồi, đỉnh chồi, nhân giống vô tính *in vitro*, tạo rễ.

MỞ ĐẦU

Cẩm chướng (*Dianthus caryophyllus* L.) là một loài hoa đẹp có giá trị kinh tế cao. Hoa cẩm chướng là một trong những loại hoa cắt cành phổ biến nhất trên thế giới. Hoa đẹp, có nhiều màu sắc và lâu tàn. Cẩm chướng thường ra hoa vào mùa xuân hay mùa hè. Hiện nay, ở nước ta, hoa cẩm chướng được trồng ở một số nơi, chủ yếu là Đà Lạt, ngoài ra còn có ở Hà Nội, Đắk Lắk... Tuy nhiên, việc sản xuất vẫn còn khó khăn, chủ yếu liên quan đến vấn đề cung cấp cây giống cho sản xuất còn hạn chế. Phương pháp nhân giống truyền thống có hệ số nhân giống thấp, tốn nhiều công chăm sóc, dễ lây lan bệnh và phụ thuộc vào thời tiết.

Hiện nay, phương pháp nhân giống vô tính *in vitro* đã được ứng dụng trên nhiều loại cây trồng khác nhau và đạt được những thành tựu to lớn. Nhiều loài hoa đã được nhân giống vô tính *in vitro* với mục tiêu thương mại hóa trên quy mô lớn như: hoa lan, cúc, huệ, lay ơn, thủy tiên... Việt Nam với điều kiện khí hậu và đất đai thích hợp có thể trồng được nhiều loài hoa khác nhau, từ các loài hoa nhiệt đới đến các loài hoa ôn đới. Ngành trồng hoa Việt Nam đang ngày càng phát triển mạnh mẽ với sự phong phú và chất lượng vượt bậc của sản phẩm.

Đã có những công trình nghiên cứu liên quan đến nhân giống vô tính *in vitro* ở cây cẩm chướng (Nguyễn Thị Thu Hằng, 2013; Lê Đức Thảo *et al.*, 2008; Ali *et al.*, 2008; Casas *et al.*, 2010; Danial *et al.*, 2009; Jain *et al.*, 1997; Karami *et al.*, 2008; Watad *et al.*, 1996). Tuy nhiên, cẩm chướng có rất nhiều giống khác nhau nên việc nghiên cứu nhân giống vô tính *in vitro* ở từng giống hoa cẩm chướng cụ thể là cần thiết.

Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu nhân giống vô tính *in vitro* thông qua nuôi cấy đỉnh chồi cây cẩm chướng Natalie, một giống hoa cẩm chướng ngoại nhập có giá trị kinh tế cao, nhằm góp phần phục vụ nhu cầu sản xuất trong nước.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Nguyên liệu sử dụng trong các thí nghiệm là đỉnh chồi tách từ các chồi *in vitro* có nguồn gốc từ nuôi cấy đỉnh chồi của cây ngoài tự nhiên trên môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) và các chồi tách từ cụm chồi tạo thành.

Phương pháp

Môi trường và điều kiện nuôi cấy

Môi trường cơ bản dùng để nuôi cấy là môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng khác nhau tùy theo mục đích của từng thí nghiệm. Mẫu thí nghiệm được cấy trong các bình thủy tinh

chứa môi trường và đặt trong phòng nuôi cấy có nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, cường độ ánh sáng khoảng 2000 lux, thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày.

Nghiên cứu khả năng tạo cụm chồi *in vitro*

Đỉnh chồi (khoảng 1 cm) tách từ các chồi *in vitro* được cấy lên môi trường cơ bản MS có 2% sucrose, 0,8% agar và bổ sung N^6 -Benzyladenine (BA) với nồng độ từ 0,1 – 0,5 mg/L hoặc Kinetin với nồng độ từ 0,5 - 5 mg/L để thăm dò khả năng tạo cụm chồi của mẫu. Số liệu nghiên cứu được thu sau 6 tuần nuôi cấy về tỷ lệ mẫu tạo chồi, số chồi tạo thành trên mẫu và chiều cao chồi. Mỗi môi trường nuôi cấy 15 - 20 mẫu. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Nghiên cứu tạo rễ cho chồi *in vitro*

Các chồi (khoảng 1 cm) tách từ cụm chồi *in vitro* được cấy lên môi trường cơ bản MS có 2% sucrose, 0,8% agar và bổ sung Indole-3-butyric acid (IBA) với nồng độ từ 0,2 – 1,6 mg/L để thăm dò khả năng tạo rễ. Số liệu nghiên cứu được thu sau 4 tuần nuôi cấy. Các chỉ tiêu đánh giá là tỷ lệ chồi tạo rễ, số rễ trung bình trên chồi, chiều dài trung bình của rễ và chiều cao trung bình của chồi. Mỗi môi trường nuôi cấy 15 - 20 mẫu. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Chuyển cây con *in vitro* ra trồng ngoài điều kiện tự nhiên

Các cây con *in vitro* sau khi đã phát triển rễ đầy đủ được lấy ra khỏi bình nuôi và rửa sạch agar bám quanh rễ. Sau đó, cây được chuyển ra trồng trong chậu chứa giá thể gồm 2 cát + 1 đất. Các cây con sau khi trồng vào chậu được tưới nước và đặt ở nơi thoáng mát tránh ánh nắng trực tiếp. Tưới phun sương 2 lần/ngày. Đánh giá khả năng sống của cây sau hai tuần trên tổng số 250 cây *in vitro* chuyển ra trồng ngoài điều kiện tự nhiên.

Xử lý thống kê

Kết quả thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0 (SPSS Inc. Headquarters, United States, 2007) với mức xác suất có ý nghĩa $p < 0,05$.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Nghiên cứu ảnh hưởng của BA lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi

Mẫu đỉnh chồi được cấy lên môi trường cơ bản MS có bổ sung BA ở các nồng độ khác nhau để nghiên cứu khả năng tạo cụm chồi *in vitro*. Kết quả nghiên cứu thu được sau 6 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BA lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi

Nồng độ BA (mg/L)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi trung bình/mẫu cấy	Chiều cao trung bình chồi (cm)
0	100	2,46 ^d	4,18 ^a
0,1	100	7,64 ^c	3,14 ^b
0,2	100	10,28 ^a	3,05 ^b
0,3	100	9,11 ^b	2,14 ^c
0,4	100	8,98 ^b	2,05 ^c
0,5	100	7,96 ^c	2,01 ^c

Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Kết quả nghiên cứu cho thấy trên tất cả các môi trường nuôi cấy có tạo thành cụm chồi. Sau 5 ngày nuôi cấy, quan sát thấy có sự nảy chồi trên tất cả các môi trường. Sự bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy đã làm tăng khả năng tạo chồi từ mẫu cấy rõ rệt. Tuy nhiên, khả năng tạo chồi khác nhau ở các môi trường có nồng độ BA khác nhau.

Trên môi trường cơ bản MS không bổ sung BA, khả năng tạo chồi là kém nhất. Tuy nhiên, chiều cao trung bình của chồi đạt cao nhất trong các môi trường nuôi cấy. Chồi xanh và phát triển bình thường.

Ở môi trường có bổ sung 0,1 mg/L BA, khả năng tạo chồi tăng lên rõ rệt với số lượng chồi trung bình trên mẫu cấy tăng cao so với môi trường không bổ sung BA. Chồi phát triển tốt nhưng chiều cao trung bình bắt đầu giảm so với trên môi trường không bổ sung BA.

Môi trường có bổ sung 0,2 mg/L BA cho khả năng tạo cụm chồi tốt nhất với tỷ lệ mẫu tạo chồi là 100%. Số lượng chồi trung bình tạo thành trên mẫu cấy đạt cao nhất (10,28 chồi). Chồi phát triển tốt, lá xanh.

Khi nồng độ BA bổ sung vào môi trường nuôi cấy cao hơn thì khả năng tạo chồi bắt đầu giảm với số lượng chồi trung bình trên mẫu cấy giảm dần và chiều cao trung bình của chồi cũng giảm.

Như vậy, BA kích thích tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi rất tốt. Tuy nhiên, trong môi trường nuôi cấy, khi nồng độ BA cao hơn một ngưỡng nào đó thì cũng không thích hợp cho tạo chồi. Môi trường MS có bổ sung BA với nồng độ 0,2 mg/L là môi trường tốt nhất để tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi (hình 1).

Ali và đồng tác giả (2008) trong nghiên cứu tạo chồi ở cây cẩm chướng (*Dianthus caryophyllus*) đã sử dụng môi trường MS có bổ sung BAP (1-5 mg/L) và kết quả cho thấy khả năng tạo chồi tốt nhất là trên môi trường có bổ sung 1mg/L BAP. Trong khi, kết quả của nghiên cứu này đã cho thấy môi trường MS có bổ sung BA với nồng độ nhỏ hơn (0,2 mg/L) cho kết quả tạo chồi tốt nhất và khi nồng độ BA tăng lên thì khả năng tạo chồi lại giảm xuống.



Hình 1. Sự tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi trên môi trường có bổ sung 0,2 mg/L BA sau 6 tuần nuôi cấy

Nghiên cứu ảnh hưởng của Kinetin lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi

Các mẫu đỉnh chồi được cấy lên môi trường cơ bản MS có bổ sung Kinetin ở các nồng độ khác nhau để nghiên cứu khả năng tạo cụm chồi *in vitro*. Kết quả nghiên cứu thu được sau 6 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của Kinetin lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi

Nồng độ Kinetin (mg/L)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi trung bình/mẫu cấy	Chiều cao trung bình chồi (cm)
0	100	2,51 ^d	4,25 ^a
0,5	100	3,35 ^{cd}	4,17 ^a
1	100	4,29 ^c	3,91 ^{ab}
2	100	5,64 ^b	3,84 ^{ab}
3	100	7,15 ^a	3,78 ^{ab}
4	100	3,44 ^{cd}	3,07 ^b
5	100	2,73 ^d	2,98 ^b

Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Qua quá trình nghiên cứu, nhận thấy rằng trên tất cả các môi trường nuôi cấy đều có sự tạo chồi. Sau 5 ngày nuôi cấy, quan sát thấy có sự nảy chồi trên tất cả các môi trường. Sự bổ sung Kinetin vào môi trường nuôi cấy đã làm tăng khả năng tạo chồi từ mẫu cấy và sinh trưởng của chồi cũng tốt hơn. Tuy nhiên, khả năng tạo chồi khác nhau ở các môi trường có nồng độ Kinetin khác nhau.

Trên môi trường cơ bản MS không bổ sung Kinetin, khả năng tạo chồi kém nhất với số chồi trung bình trên mẫu cấy là thấp nhất trong các môi trường nuôi cấy. Chồi xanh, phát triển bình thường, cao nhưng mảnh hơn so với các chồi trên các môi trường nuôi cấy có bổ sung Kinetin.

Ở các môi trường có bổ sung 0,5-2 mg/L Kinetin, khả năng tạo chồi tăng lên so với môi trường không bổ sung Kinetin với số chồi trung bình trên mẫu cấy tăng dần. Chồi phát triển tốt nhưng chiều cao trung bình có giảm so với trên môi trường không bổ sung Kinetin.

Môi trường có bổ sung 3 mg/L Kinetin cho khả năng tạo cụm chồi *in vitro* tốt nhất với tỷ lệ mẫu tạo chồi là 100% và số lượng chồi trung bình tạo thành trên mẫu cấy cao nhất trong tất cả các môi trường, đạt 7,15 chồi. Chồi phát triển tốt, lá xanh.

Khi nồng độ Kinetin bổ sung vào môi trường nuôi cấy cao hơn (4-5 mg/L) thì khả năng tạo chồi lại giảm với số lượng chồi trung bình tạo thành trên mẫu cấy giảm khá nhanh. Chiều cao trung bình của chồi cũng giảm.

Như vậy, Kinetin cho hiệu quả tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi tốt. Tuy nhiên, khi nồng độ Kinetin trong môi trường nuôi cấy cao hơn một ngưỡng nào đó thì khả năng tạo chồi lại giảm. Môi trường có bổ sung Kinetin với nồng độ 3 mg/L là môi trường tốt nhất để tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi (hình 2).

Lê Đức Thảo và đồng tác giả (2008) khi nghiên cứu ở giống hoa cẩm chướng SP1 đã cho rằng Kinetin có khả năng kích thích tạo chồi *in vitro* và môi trường có bổ sung 0,5 mg/L Kinetin cho kết quả phát sinh chồi tốt nhất từ chồi non. Trong khi đó, kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của Kinetin lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi ở giống hoa cẩm chướng Natalie đã cho thấy nồng độ 3 mg/L Kinetin cho hiệu quả tạo chồi tốt nhất, cao hơn nhiều so với nồng độ 0,5 mg/L Kinetin, điều này có lẽ liên quan đến các giống cẩm chướng khác nhau.

Kết quả nghiên cứu ở giống hoa cẩm chướng Natalie đã cho thấy BA và Kinetin khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy đều cho hiệu quả tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi rất tốt nhưng BA cho số lượng chồi tạo thành cao hơn. Danial và đồng tác giả (2009) khi nghiên cứu nhân dòng hoa cẩm chướng cũng đã cho thấy cả BA và Kinetin đều kích thích tạo chồi nhưng BA cho hiệu quả cao hơn.



Hình 2. Sự tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi trên môi trường có bổ sung 3 mg/L Kinetin sau 6 tuần nuôi cấy

Nghiên cứu khả năng tạo rễ của chồi *in vitro*

Các chồi *in vitro* được tách từ các cụm chồi và cấy lên môi trường cơ bản MS có bổ sung IBA với các nồng độ khác nhau để nghiên cứu khả năng tạo rễ của chồi *in vitro*. Kết quả sau 4 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của IBA lên khả năng tạo rễ của chồi *in vitro*

Nồng độ IBA (mg/L)	Tỷ lệ chồi tạo rễ (%)	Số rễ trung bình/chồi	Chiều dài trung bình rễ (cm)	Chiều cao trung bình chồi (cm)
0	82,7	4,94 ^c	1,93 ^b	4,05 ^b
0,2	100	6,57 ^b	1,96 ^b	4,19 ^{ab}
0,4	100	6,75 ^b	1,98 ^b	4,21 ^{ab}
0,8	100	7,24 ^b	2,01 ^b	4,35 ^{ab}
1,2	100	9,38 ^a	3,17 ^a	4,95 ^a
1,6	100	6,86 ^b	1,12 ^c	4,32 ^{ab}

Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Kết quả nghiên cứu đã cho thấy ở tất cả các môi trường đều có sự tạo rễ của chồi *in vitro*. IBA đã kích thích sự hình thành rễ. Tuy nhiên, ở các môi trường có nồng độ IBA khác nhau thì khả năng tạo rễ khác nhau.

Ở môi trường cơ bản MS không bổ sung IBA, khả năng tạo rễ thấp nhất, rễ ngắn, mảnh và ít rễ phụ. Tỷ lệ mẫu tạo rễ chỉ đạt 82,7%. Chồi phát triển khá.

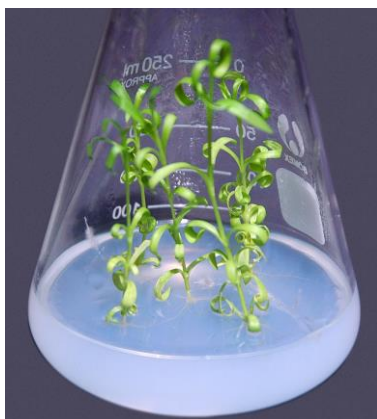
Ở các môi trường có bổ sung 0,2-0,8 mg/L IBA, khả năng tạo rễ tăng lên rõ rệt với tỷ lệ chồi tạo rễ là 100%. Số rễ trung bình tạo thành trên chồi tăng cao so với môi trường không bổ sung IBA. Rễ to hơn và nhiều rễ phụ hơn. Chồi phát triển tốt.

Môi trường cơ bản MS có bổ sung 1,2 mg/L IBA cho khả năng tạo rễ tốt nhất với tỷ lệ chồi tạo rễ là 100%. Số rễ trung bình tạo thành là 9,38 rễ/chồi và chiều dài trung bình của rễ là 3,17 cm, cao nhất trong tất cả các môi trường nghiên cứu. Rễ có nhiều rễ phụ. Chồi xanh, phát triển tốt và đều.

Khi nồng độ IBA tăng lên 1,6 mg/L, khả năng tạo rễ giảm. Số lượng rễ trung bình tạo thành và chiều dài trung bình của rễ đều giảm. Có lẽ nồng độ IBA cao đã ức chế khả năng tạo rễ của chồi.

Như vậy, môi trường cơ bản MS có bổ sung 1,2 mg/L IBA là môi trường tốt nhất để tạo rễ cho chồi *in vitro* (hình 3).

Lê Đức Thảo và đồng tác giả (2008) khi nghiên cứu quy trình nhân giống hoa cẩm chướng SP1 (*Dianthus caryophyllus* Topaz) bằng phương pháp nuôi cấy mô đã sử dụng α -Naphthaleneacetic acid (NAA) cho môi trường tạo rễ và kết quả cho thấy môi trường tạo rễ cho chồi *in vitro* tốt nhất là $\frac{1}{2}$ MS có bổ sung 0,2 mg/L NAA. Nguyễn Thị Lý Anh và đồng tác giả (2009) khi nghiên cứu ảnh hưởng của xử lý Ethylmethane Sulphonate *in vitro* đối với cây cẩm chướng (*Dianthus caryophyllus* L.) đã sử dụng môi trường tạo rễ là môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/L NAA. Theo kết quả nghiên cứu của Ali và đồng tác giả (2008), khi bổ sung 0,5-1 mg/L NAA vào môi trường MS để khảo sát khả năng tạo rễ của chồi cẩm chướng (*Dianthus caryophyllus*) thì 1 mg/L NAA cho hiệu quả tạo rễ tốt nhất. Trong một nghiên cứu khác của Pareek và đồng tác giả (2004) về tạo dòng *in vitro* một số loài hoa thuộc chi *Dianthus*, 3-Indoleacetic acid (IAA) đã được sử dụng cho nghiên cứu tạo rễ và kết quả cho thấy môi trường có bổ sung 0,5 mg/L IAA cho số rễ tạo thành cao nhất. Còn trong nghiên cứu này, IBA đã được sử dụng cho nghiên cứu khả năng tạo rễ của chồi *in vitro* ở cây cẩm chướng Natalie và kết quả cho thấy IBA có hiệu quả tạo rễ rất tốt.



Hình 3. Chồi *in vitro* tạo rễ trên môi trường có bổ sung 1,2 mg/L IBA sau 4 tuần nuôi cấy

Chuyển cây *in vitro* ra ngoài điều kiện tự nhiên

Cây con *in vitro* với chiều cao khoảng 4–5 cm sau khi đã tạo rễ hoàn chỉnh được chuyển ra trồng ngoài điều kiện tự nhiên. Sau khi rửa sạch agar bám trên rễ, cây được trồng vào chậu chứa giá thể gồm 2 cát + 1 đất. Tưới phun sương 2 lần/ngày và đặt ở nơi râm mát tránh ánh nắng trực tiếp. Sau hai tuần, tỷ lệ cây sống là 84%, cây phát triển xanh tốt và không có bất thường nào về mặt hình thái (hình 4).



Hình 4. Cây con *in vitro* chuyển ra trồng ngoài điều kiện tự nhiên sau hai tuần

KẾT LUẬN

BA hoặc Kinetin khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy đều cho hiệu quả tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi rất tốt ở cây cẩm chướng Natalie. Tuy nhiên, BA cho số lượng chồi tạo thành cao hơn. Trong các môi trường nghiên cứu,

môi trường cơ bản MS có bổ sung 0,2 mg/L BA là môi trường tốt nhất cho tạo cụm chồi *in vitro* từ đỉnh chồi với số chồi trung bình tạo thành trên mẫu cấy là 10,28. Các chồi tách từ cụm chồi *in vitro* tạo rễ tốt nhất trên môi trường cơ bản MS có bổ sung 1,2 mg/LIBA với số rễ trung bình trên chồi là 9,38. Các cây con *in vitro* phát triển tốt và không có bất thường nào về mặt hình thái khi chuyển ra trồng ngoài điều kiện tự nhiên. Các kết quả này có thể sử dụng để nhân giống vô tính *in vitro* ở cây cẩm chương Natalie.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Thị Lý Anh, Lê Hải Hà, Vũ Hoàng Hiệp (2009). Ảnh hưởng của xử lý Ethylmethane Sulphonate *in vitro* đối với cây cẩm chương (*Dianthus caryophyllus* L.). *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 7(2): 130-136.
- Nguyễn Thị Thu Hằng (2013). Nghiên cứu nhân giống cây hoa cẩm chương bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, 1: 3-7.
- Lê Đức Thảo, Nguyễn Hoàng Kim Lý, Hoàng Ngọc Thuận (2008). Nghiên cứu qui trình nhân giống hoa cẩm chương SP1 (*Dianthus caryophyllus* Topaz). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 1: 86-90.
- Ali A, Afrasiab H, Naz S, Rauf M, Iqbal J (2008). An efficient protocol for *in vitro* propagation of carnation (*Dianthus caryophyllus*). *Pak J Bot*,40(1): 111-121.
- Casas JL, Olmos E, Piqueras A (2010). *In vitro* propagation of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *In Vitro Propagation of Ornamental Plants*, 589: 109-116.
- Danial GH, Yousif AN, Omar MS (2009). Clonal propagation of *Dianthus caryophyllus* L. through tissue culture. *Journal of Dohuk University*, 12(1): 91-95.
- Jain A, Hussain S, Kothari SL (1997). Micropropagation of *Dianthus caryophyllus* L.– control of vitrification. *J Plant Biochemistry & Biotechnology*, 6: 35-37.
- Karami O, Deljou A, Kordestani GK (2008). Secondary somatic embryogenesis of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 92(3): 273–280.
- Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15: 473-497.
- Watat AA, Ahroni A, Zuker A, Shejtman H, Nissim A, Vainstein A (1996). Adventitious shoot formation from carnation stem segments: a comparison of different culture procedures. *Scientia Hort*, 65: 313-320.

IN VITRO PROPAGATION OF CARNATION NATALIE THROUGH SHOOT TIP CULTURE

Le Van Tuong Huan *

University of Sciences, Hue University

SUMMARY

Carnation is one of the most valuable cut flowers worldwide. There are some articles related with *in vitro* propagation of carnation. However, there are many cultivars of carnation and there are no articles about *in vitro* propagation of carnation Natalie through shoot tip culture. Study on *in vitro* propagation of carnation Natalie through shoot-tip culture was carried out and presented in this article. *In vitro* multiple shoot formation from shoot tips of carnation Natalie was examined on MS media containing 2% sucrose, 0.8% agar, and supplemented with N⁶-Benzyladenine (BA) or Kinetin at different concentrations. The results showed that among media supplemented with different concentrations of BA, the MS medium supplemented with 0.2 mg/L BA was the best for multiple shoot formation from shoot tips. Among media supplemented with different concentrations of Kinetin, the MS medium supplemented with 3 mg/L Kinetin was the best for multiple shoot formation from shoot tips. The medium containing 0.2 mg/L BA gave the highest number of shoots per explant (10.28 shoots/explant). Among MS media containing 2% sucrose, 0.8% agar, and supplemented with different concentrations of Indole-3-butyric acid (IBA), the medium supplemented with 1.2 mg/L IBA was found to be optimal for rooting of *in vitro* shoots. The *in vitro* plantlets with well-developed roots were acclimatized in the greenhouse. These plants exhibited good growth without any morphological variations. This system could be utilized for large-scale propagation of carnation Natalie.

Keywords: Carnation Natalie, *in vitro* propagation, multiple shoot formation, rooting, shoot tips.

* Author for correspondence: Tel: +84-905 382 333; Email: tuonghuanle@gmail.com or lvtuonghuan@hueuni.edu.vn