

ẢNH HƯỞNG CỦA SUCROSE, IBA VÀ ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY LÊN SỰ HÌNH THÀNH CỤ *IN VITRO* TỪ CHỒI CỦA CÂY HOA LAY-ON (*GLADIOLUS* SPP.)

Dương Tấn Nhật¹, Lê Thị Diễm¹, Đặng Thị Thu Thủy¹, Nguyễn Duy²

¹Phân Viện Sinh học tại Đà Lạt

²Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam

TÓM TẮT

Các kỹ thuật nhân giống cây hoa Lay-on *in vitro* đã được nghiên cứu và ứng dụng khá thành công trên thế giới. Một trong những phương pháp hiệu quả đã được ứng dụng nhằm nhân nhanh nguồn giống là phương pháp tạo củ *in vitro* với tỷ lệ sống sót cao ở giai đoạn vườn ươm. Ngoài ra, củ *in vitro* còn có ưu điểm là dễ bảo quản và vận chuyển nên giúp cho những nhà trồng hoa có thể chủ động được nguồn củ giống. Mặt khác, củ *in vitro* cho tỷ lệ này mầm rất cao, cây con tăng trưởng và phát triển tốt ngoài vườn ươm. Vì vậy, việc nghiên cứu cải thiện phương pháp này là một hướng phát triển rất có tiềm năng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát ảnh hưởng của sucrose, acid indole-3-butyric (IBA), cường độ ánh sáng và hệ thống bình nuôi cấy lên khả năng hình thành củ từ chồi hoa Lay-on có nguồn gốc *in vitro*. Môi trường sử dụng cho các thí nghiệm là môi trường khoáng Murashighe và Skoog (1962) có nồng độ các nguyên tố đa lượng và vi lượng giảm đi một nửa (môi trường 1/2 MS) bổ sung sucrose và IBA ở các nồng độ khác nhau. Kết quả thí nghiệm cho thấy: nồng độ sucrose cao (60 - 100 g/l) ảnh hưởng tốt đến sự hình thành và sự tăng kích thước của củ *in vitro*, IBA ở nồng độ 0,375 mg/l có tác dụng kích thích sự hình thành củ *in vitro*. Ngoài ra, những chồi được nuôi cấy trong điều kiện chiếu sáng với cường độ 3000 lux trong bình nuôi cấy trên 500 ml cho khả năng hình thành củ cao và củ có trọng lượng tươi cao hơn so với các công thức còn lại.

Từ khóa: Củ *in vitro*, *Gladiolus*, hình thành củ, IBA, sucrose

ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ khoảng thế kỷ XVIII, con người đã biết thuần hóa và chọn lọc cây hoa Lay-on (*Gladiolus*) một loài hoa hoang dại có nguồn gốc tự nhiên ở Nam Phi, thuộc họ hoa Diên vĩ (Iridaceae) để trồng. Họ Iridaceae có khoảng 300 loài, với khoảng 250 loài hoang dại và khoảng 50 loài được trồng ở vườn. Đến nay, các giống hoa Lay-on hiện đại có rất nhiều màu và có thể giữ được hoa tươi trong một khoảng thời gian dài nên được nhiều người ưa chuộng. Ở nước ta, hoa được trồng tại những vùng chính là Đà Lạt và Hải Phòng. Tuy nhiên, việc nhân giống hoa Lay-on hiện nay còn gặp nhiều khó khăn. Các quá trình nhân giống theo phương pháp truyền thống không đáp ứng đủ nhu cầu thị trường, lại gặp phải một số khó khăn như hệ số nhân củ thấp, cây giống thường bị nhiễm bệnh do virus... Phương pháp tạo chồi và sản xuất cây giống Lay-on bằng kỹ thuật nuôi cấy mô đã được sử dụng để nhân giống số lượng lớn. Tuy nhiên, những cây con tạo ra có tỷ lệ sống ở giai đoạn vườn ươm thấp. Do Lay-on là một loài cây thân củ nên khi trồng trực tiếp từ cây *in vitro* không mang củ thì cây không thể phát triển thành cây khỏe mạnh

ngay được mà cần có một khoảng thời gian để tạo củ. Để khắc phục các nhược điểm trên, một phương pháp mới được sử dụng trong nhân giống hoa Lay-on là tạo củ *in vitro*. So với phương pháp nhân giống bằng chồi, phương pháp nhân giống bằng củ có những ưu điểm như tỷ lệ cây con sống sót sau khi đưa ra môi trường *ex vitro* cao, củ dễ chăm sóc, dễ bảo quản và có thể chủ động nguồn giống khi cần. Nhiều nghiên cứu nhằm cải thiện khả năng tạo củ Lay-on *in vitro* đã có những kết quả đáng khích lệ. Dantu và Bhojwani (1987) ghi nhận rằng nồng độ đường cao (6 - 10%) thích hợp cho sự hình thành củ có kích thước lớn. Steinitz và đồng tác giả (1991) cũng ghi nhận khi thêm sucrose (60 g/l) và paclobutrazol (10 mg/l) vào môi trường lỏng sẽ kích thích sự tạo củ Lay-on. Họ cho rằng paclobutrazol là yếu tố quan trọng kích thích phát triển củ ở giai đoạn sớm. Steinitz và Lilien (1989) cho rằng sự tạo củ Lay-on ngoài cánh đồng cần đến 2 - 3 mùa tăng trưởng. Trong khi đó, Begum (1995) ghi nhận sau khi rễ phát triển, củ được tạo ra từ phần chồi trong môi trường tạo rễ sau khoảng 6 - 10 tuần nuôi cấy. Như vậy, việc cảm ứng để hình thành củ cho cây Lay-on là một việc làm rất có ý nghĩa trong nghiên

cứ cũng như thực tiễn. Phương pháp này sẽ tạo ra một hướng tích cực trong công tác nhân giống.

Trong đề tài này, chúng tôi khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng lên sự hình thành củ từ chồi của cây hoa Lay-on *in vitro*. Từ đó tạo cơ sở khoa học để đưa ra những biện pháp nhân giống hiệu quả hơn nhằm nâng cao khả năng tạo củ và chất lượng củ *in vitro*, chủ động nguồn giống, nhân nhanh giống tốt, giống quý và hạ giá thành sản phẩm, góp phần đem lại hiệu quả kinh tế cho công nghệ sản xuất hoa cắt cành Việt Nam. Đồng thời phương pháp này có thể được ứng dụng để phục tráng nhiều giống đã bị thoái hóa, thuần hóa một số giống Lay-on hoang dại làm phong phú hơn nguồn giống hoa Lay-on nói riêng và hoa cắt cành ở Việt Nam nói chung.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Đối tượng nghiên cứu là cây hoa Lay-on (*Gladiolus spp.*) có màu hồng san hô được bán trên thị trường (Hình 4o).

Phương pháp

Mẫu được khử trùng như sau: cành hoa Lay-on được cắt rời thành các đoạn, bóc vỏ bao ngoài của hoa, rửa nhẹ dưới vòi nước chảy, tiếp theo rửa bằng xà phòng và để dưới vòi nước chảy từ 1 - 2 h. Mẫu sau đó được xử lý với ethanol 70° trong vòng 30 giây và rửa lại bằng nước cất vô trùng. Tiếp tục khử trùng bề mặt mẫu cây trong tủ cấy vô trùng bằng HgCl₂ 0,05% kết hợp với 1 - 2 giọt Tween trong 8 phút, sau đó rửa kỹ mẫu bằng nước cất vô trùng.

Mẫu được cắt thành bốn phần: lỏng, mắt, cuống, đế hoa và được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/l BA, 30 g/l sucrose và 8 g/l agar. Những chồi phát sinh từ mẫu cấy ban đầu được nhân lên trong môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BA, 30 g/l sucrose và 8 g/l agar để tạo nguồn nguyên liệu cho việc khảo sát sự hình thành củ *in vitro*.

Các chồi đồng nhất có chiều cao khoảng 1,0 - 1,5 cm được cấy vào bình nuôi cấy (3 chồi/bình) chứa các môi trường khác nhau: môi trường 1/2 MS bổ sung 20 - 100 g/l sucrose để khảo sát ảnh hưởng của sucrose lên sự hình thành củ, môi trường MS bổ sung 60 g/l sucrose và 0,125 - 2,0 mg/l IBA để khảo sát ảnh hưởng của IBA lên sự hình thành củ. Đồng thời, sự hình thành củ *in vitro* từ chồi của cây hoa Lay-on còn được khảo sát trong những điều kiện

chiếu sáng khác nhau, trạng thái môi trường khác nhau: môi trường rắn (bổ sung thêm 8 g/l agar) và môi trường lỏng và các hệ thống bình nuôi cấy có thể tích khác nhau.

Các công thức nuôi cấy *in vitro* đều được đặt trong điều kiện như nhau: nhiệt độ phòng là 25 ± 2°C, độ ẩm tương đối của không khí là 75 - 80%, thời gian chiếu sáng là 12 h/ngày với cường độ 2000 - 2500 lux. Riêng ở thí nghiệm khảo sát tác động của ánh sáng lên sự tạo củ, cường độ ánh sáng được điều chỉnh cho phù hợp với mục đích của thí nghiệm.

Sau ba tháng nuôi cấy, củ hoa Lay-on *in vitro* được đưa ra ngoài vườn ươm trồng trên giá thể là đất bán sẵn trên thị trường trộn với cát theo tỷ lệ 3 : 1 trong điều kiện nhiệt độ 23 ± 2°C và độ ẩm tương đối 80 - 85%.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của sucrose lên sự hình thành củ *in vitro* của cây hoa Lay-on

Sau ba tháng nuôi cấy, kết quả cho thấy nồng độ sucrose có ảnh hưởng rất lớn đến sự hình thành củ và chất lượng của củ *in vitro*. Số củ/mẫu tỷ lệ thuận với nồng độ sucrose (Bảng 1). Ngoài ra, môi trường có nồng độ sucrose cao giúp tạo củ với trọng lượng tươi cao (Bảng 1) và môi trường đặc hiệu quả hơn so với môi trường lỏng trong việc tạo củ từ chồi của cây hoa Lay-on với các chỉ tiêu vượt trội.

Vai trò của đường đối với sự hình thành củ đã được nghiên cứu trên nhiều đối tượng; đường là nguồn carbon cần thiết trong môi trường nuôi cấy và đồng thời là nguồn nguyên liệu quan trọng trong việc tích lũy tinh bột dẫn đến sự tạo củ và sự phình to của củ *in vitro*. Dantu và Bhojwani (1987) ghi nhận rằng nồng độ sucrose cao (60 - 100 g/l) thích hợp cho sự hình thành củ có kích thước lớn (đường kính 10 - 23 mm). Chồi cây hoa Lay-on nuôi cấy trên môi trường 1/2 MS bổ sung 100 g/l sucrose (Hình 4a1, 4a2) hình thành nhiều củ với trọng lượng củ lớn nhất (lần lượt là 2,57 củ/chồi, 0,58 ± 0,029 g). Ở nồng độ sucrose thấp (20 g/l), sự hình thành củ của chồi trên cả hai dạng môi trường lỏng và đặc đều kém hơn.

Nồng độ sucrose cao trong môi trường giúp tăng khả năng tích lũy tinh bột trong củ. Ở nồng độ sucrose thấp, khả năng tích lũy tinh bột thấp dẫn đến khả năng tạo củ hạn chế và trọng lượng tươi của củ thấp. Sucrose là nguồn carbon có ảnh hưởng nhiều

nhất cho quá trình tăng trưởng củ *in vitro*, nồng độ thích hợp nhất là khoảng 60 - 80 g/l (Dantu, Bhojwani, 1995). Kết quả thí nghiệm phù hợp với

nghiên cứu trên, nhưng đối với giống Lay-on màu hồng san hô, nồng độ sucrose 100 g/l là thích hợp cho sự hình thành củ có trọng lượng tươi cao.

Bảng 1. Ảnh hưởng của sucrose lên sự hình thành củ của cây hoa Lay-on.

NT	Nồng độ sucrose (g/l)	Tỷ lệ tạo củ (%)		Số củ/mẫu		TLT* của củ (g)	
		MT** đặc	MT lỏng	MT đặc	MT lỏng	MT đặc	MT lỏng
1	20	33,3	20,0	0	0,20	0	0,11
2	40	46,6	32,0	0,50	0,95	0,13	0,15
3	60	93,3	53,3	1,85	0,50	0,33	0,31
4	100	93,1	73,3	2,57	2,10	0,58	0,42

*TLT: trọng lượng tươi, **MT: Môi trường.

Ảnh hưởng của IBA lên sự hình thành củ *in vitro* của cây hoa Lay-on

Để khảo sát ảnh hưởng của IBA lên sự hình thành củ *in vitro* của cây hoa Lay-on, chồi được nuôi cấy trên môi trường 1/2 MS bổ sung 60 g/l sucrose và IBA ở các nồng độ khác nhau. Sau ba tháng nuôi cấy, kết quả thí nghiệm cho thấy, nồng độ IBA bổ sung trên môi trường đặc và môi trường lỏng có ảnh hưởng khác nhau lên sự hình thành củ Lay-on *in vitro*. Trên môi trường nuôi cấy đặc, việc bổ sung IBA hiệu quả hơn trên môi trường lỏng do sự hình thành củ và sự tăng trưởng của củ *in vitro* tốt hơn với tỷ lệ số củ/mẫu hình thành lớn, củ có kích thước và trọng lượng tươi cao (Bảng 2).

Chồi hình thành củ tốt nhất trên môi trường đặc 1/2 MS bổ sung 60 g/l sucrose, 0,375 mg/l IBA và 8 g/l agar (Hình 4b1 và 4b2) với tỷ lệ mẫu tạo củ cao (94,4%), đồng thời số củ hình thành trên mỗi mẫu và trọng lượng tươi của củ cũng cao nhất (lần lượt là 3,00 củ/mẫu và 0,84 ± 0,025 g). Trong khi đó, trên cùng một loại môi trường nhưng ở trạng thái lỏng, nồng độ IBA tốt nhất cho sự tạo củ *in vitro* lại cao hơn (0,5 mg/l). Điều này chứng tỏ, môi trường lỏng không phù hợp cho việc tạo củ từ chồi của cây hoa Lay-on do hiệu quả kém và cần sử dụng chất điều hòa sinh trưởng ở nồng độ cao hơn và điều này sẽ gây tổn kém nhiều chi phí hơn cho việc tạo củ giống thương mại.

Bảng 2. Ảnh hưởng của IBA lên sự hình thành củ của cây hoa Lay-on.

NT	Nồng độ IBA (mg/l)	Tỷ lệ tạo củ (%)		Số củ/mẫu		TLT* của củ (g)	
		MT** đặc	MT lỏng	MT đặc	MT lỏng	MT đặc	MT lỏng
1	0,125	52,9	13,3	2,10	0,16	0,38	0,11
2	0,250	57,7	17,6	2,22	0,25	0,78	0,13
3	0,375	94,4	47,1	3,00	0,18	0,84	0,15
4	0,500	82,3	47,3	1,43	0,79	0,75	0,48
5	1,000	76,4	40,5	0,42	0,95	0,49	0,34
6	2,000	62,5	78,9	0,63	1,80	0,35	0,20

*TLT: Trọng lượng tươi, **MT: Môi trường.

Kết quả cũng cho thấy nồng độ IBA cao không có lợi cho sự hình thành củ cây hoa Lay-on, vì khi càng tăng nồng độ IBA trong môi trường nuôi cấy vượt quá 0,375 mg/l, tất cả các chỉ tiêu đánh giá khả năng hình thành củ của chồi đều giảm. Trong khi đó,

Weaver và Johnson (1985) đã chứng minh rằng auxin giúp cho sự tăng trưởng củ, lượng auxin cao sẽ giúp phân chia và tăng rộng tế bào đồng thời thu hút các chất dinh dưỡng về phía nó. Nghiên cứu của Grewal và đồng tác giả (1995) cho thấy môi trường

1/2 MS lỏng bổ sung 4 mg/l IBA và 6% sucrose tốt nhất cho quá trình tạo củ ở một số giống hoa Lay-on. Đối với một quá trình sinh lý, auxin có thể có hiệu ứng đối nghịch nhau tùy thuộc vào nồng độ và nhiều yếu tố liên hệ khác. Trên môi trường đặc, sự tăng trưởng của thân, lá và rễ tốt. Do đó, lượng auxin và lượng cytokinin nội sinh được tạo ra nhiều nên chỉ cần lượng nhỏ auxin ngoại sinh cũng tạo điều kiện tối ưu cho sự tạo củ, nếu nồng độ auxin cao sẽ gây

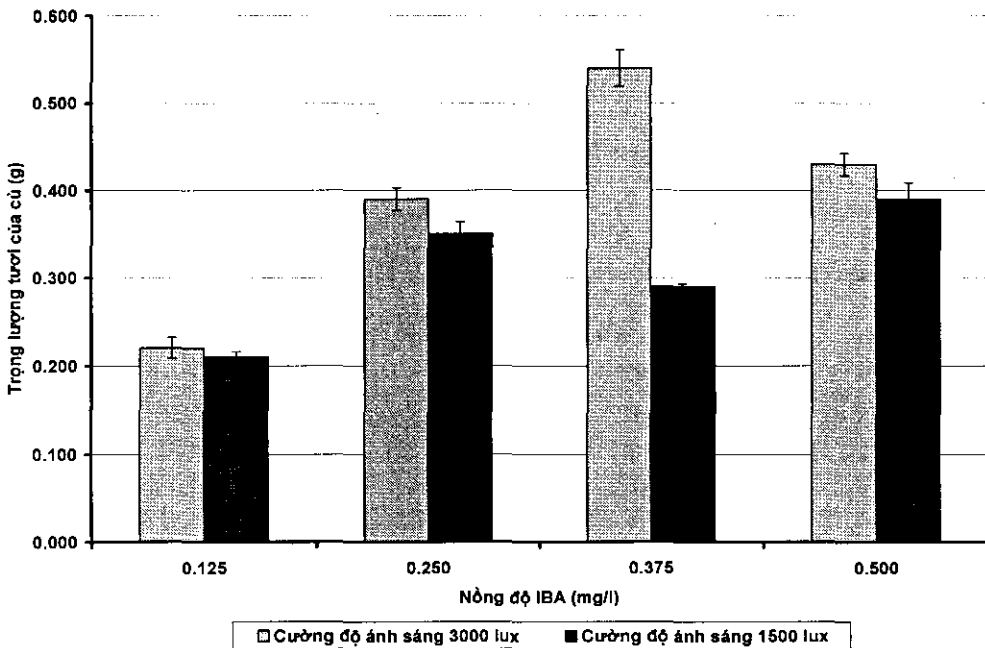
ức chế cho quá trình tạo củ.

Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự hình thành củ *in vitro* của cây hoa Lay-on

Cường độ chiếu sáng được điều chỉnh ở hai mức độ là 3000 lux và 1500 lux để khảo sát ảnh hưởng của chúng lên sự hình thành củ từ chồi của cây hoa Lay-on nuôi cấy trên môi trường 1/2 MS bổ sung sucrose và IBA như bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên sự hình thành củ của cây hoa Lay-on.

N T	Nồng độ IBA (mg/l)	Tỷ lệ tạo củ (%)				Số củ / mẫu			
		60 g/l sucrose		80 g/l sucrose		60 g/l sucrose		80 g/l sucrose	
		3000 lux	1500 lux	3000 lux	1500 lux	3000 lux	1500 lux	3000 lux	1500 lux
1	0,125	89,4	80,0	95,8	92,5	3,8	3,5	4,5	2,5
2	0,250	95,0	82,6	93,9	94,4	5,0	4,8	4,9	4,0
3	0,375	91,6	90,4	95,0	90,4	5,7	4,0	5,8	4,4
4	0,500	93,7	84,0	90,2	91,2	3,5	3,0	5,2	3,5



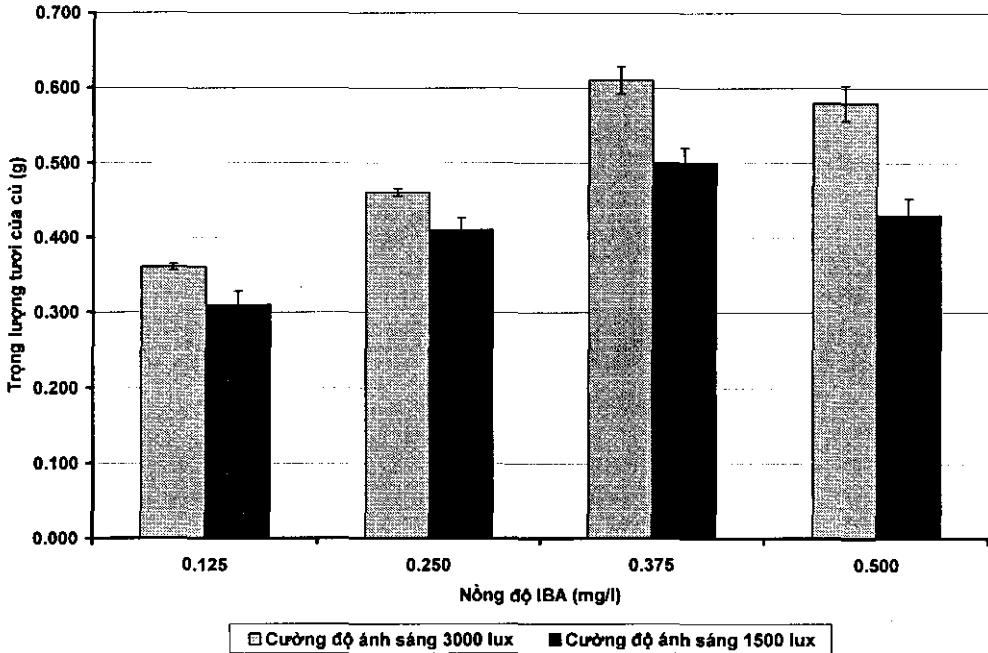
Hình 1. Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên trọng lượng tươi của củ cây hoa Lay-on hình thành *in vitro* trên môi trường bổ sung 60 g/l sucrose.

Kết quả thí nghiệm sau ba tháng nuôi cấy cho thấy, tỷ lệ chồi tạo củ và số củ tạo ra trên mỗi chồi cao nhất ở các chồi được nuôi cấy trên môi trường 1/2 MS bổ sung 0,375 mg/l IBA. Nồng độ sucrose 80 g/l cho hiệu quả tốt hơn so với nồng độ 60 g/l.

Khi so sánh các chỉ tiêu như: số củ/mẫu, trọng lượng trung bình của củ, kích thước của củ giữa môi trường 1/2 MS bổ sung 60 g/l sucrose và 0,375 mg/l IBA và môi trường 1/2 MS bổ sung 80 g/l sucrose và 0,375 mg/l IBA cũng có sự khác biệt.

Trên môi trường 1/2 MS + 80 g/l sucrose + (0,125 - 0,5 mg/l) IBA, trọng lượng trung bình của củ cao hơn ($0,61 \pm 0,018$ g so với $0,54 \pm 0,021$ g (Hình 1, Hình 2). Hàm lượng sucrose tăng trong môi trường cung cấp nguồn dinh dưỡng cho quá trình tăng trưởng của củ. Sự gia tăng lượng đường trong môi trường có tác dụng cải thiện hàm lượng tinh bột trong củ, phù hợp với những kết quả đã đạt được ở

các thí nghiệm trước. Đồng thời, ta cũng nhận thấy rằng cường độ ánh sáng 3000 lux thích hợp hơn cho cây hoa Lay-ơn trong việc hình thành củ (Hình 4c1, 4c2). Vì ánh sáng đóng vai trò quan trọng trong việc quang hợp tạo năng lượng tích lũy, nên cường độ ánh sáng cao sẽ giúp cho chồi quang hợp mạnh hơn, tạo nhiều tinh bột hơn cho việc hình thành và tăng trưởng của củ.



Hình 2. Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng lên trọng lượng tươi của củ cây hoa Lay-ơn hình thành *in vitro* trên môi trường bổ sung 80 g/l sucrose.

Ảnh hưởng của hệ thống bình nuôi cấy lên sự hình thành củ *in vitro* của cây hoa Lay-ơn

Trong thí nghiệm này, ba loại bình nuôi cấy được thử nghiệm để khảo sát ảnh hưởng của thể tích bình lên sự hình thành củ của cây hoa Lay-ơn là bình tròn 500 ml, bình erlen 250 ml và bình tròn 250 ml. Môi trường sử dụng trong thí nghiệm này là 1/2 MS bổ sung 60 g/l sucrose và 0,375 mg/l IBA. Đối với bình 250 ml, lượng môi trường được dùng là 40 ml mỗi bình, với bình 500 ml là 60 ml môi trường/bình. Kết quả cho thấy việc sử dụng bình tròn 500 ml cho hiệu quả cao nhất với tất cả các chỉ tiêu đánh giá đều cao hơn so với những công thức còn lại: 100% mẫu tạo củ với tỷ lệ trung bình là 4,0 củ/mẫu và trọng lượng tươi của củ là $0,73 \pm 0,022$ g (Bảng 4, Hình 3). Bình tròn loại 250 ml có số củ/mẫu không cao, kích

thước củ nhỏ và phát triển không đồng đều. Bình erlen loại 250 ml có số củ/mẫu thấp nhất (Hình 4d1, 4d2, 4d3).

Trong thí nghiệm này, chúng tôi cũng khảo sát ảnh hưởng của mật độ mẫu cấy. Hệ thống bình loại 500 ml được cấy trung bình 3 - 4 mẫu/bình, hệ thống bình erlen và bình loại 250 ml được cấy trung bình từ 2 - 3 mẫu/bình. Dựa trên kết quả thu được ta nhận thấy mật độ 3 - 4 mẫu/bình trong bình tròn 500 ml là phù hợp nhất cho việc nuôi cấy tạo củ cây hoa Lay-ơn, vì tạo được nhiều củ có kích thước và trọng lượng tươi cao.

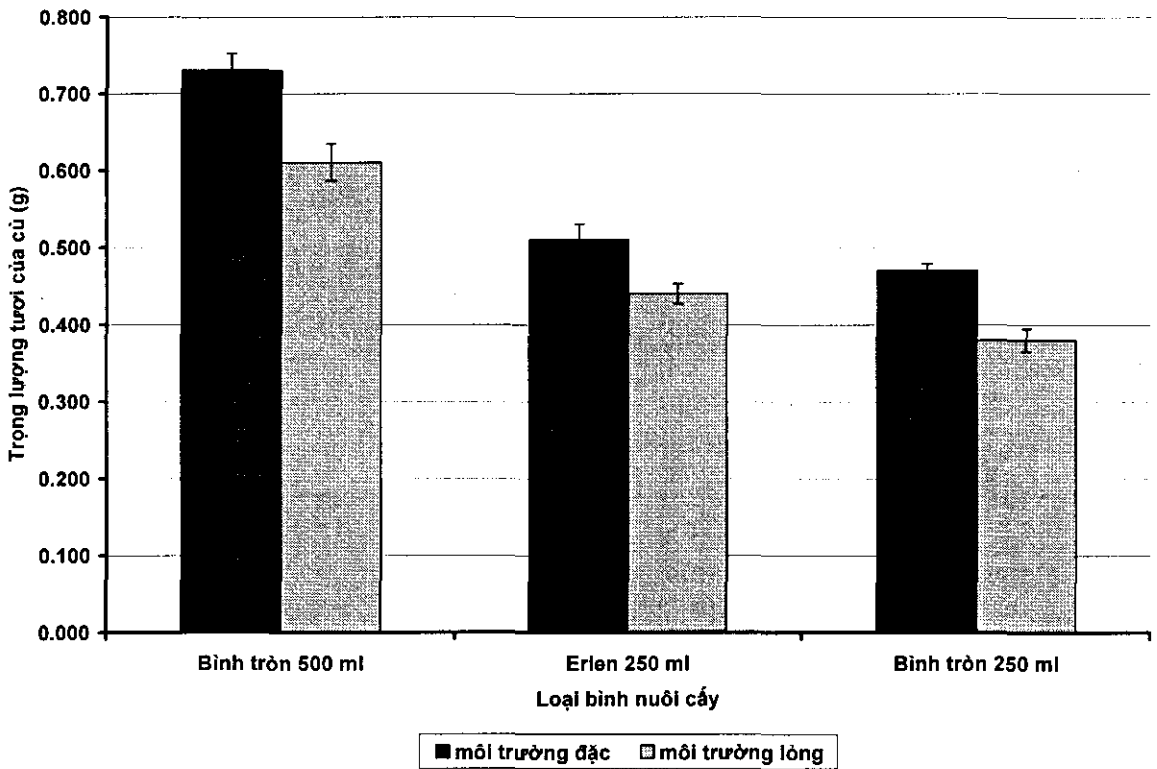
Ở hệ thống bình 500 ml, bộ rễ của cây *in vitro* phát triển rất tốt, rễ hình thành có nhiều rễ nhánh, rễ mọc dài và có sự tăng trưởng tốt. Trong hệ thống bình erlen, rễ cũng có sự tăng trưởng khá tốt, tuy

nhiên không đồng đều và có ít rễ nhánh. Trong hệ thống bình tròn 250 ml, rễ phát triển không tốt,

mảnh, không có nhiều rễ nhánh và thường hóa đen trong môi trường.

Bảng 4. Ảnh hưởng của hệ thống bình nuôi cấy lên sự hình thành và tăng trưởng *in vitro* của củ ở cây hoa Lay-ơn.

Hệ thống bình	Môi trường	Tỷ lệ tạo củ (%)	Số củ/mẫu
Bình tròn 500 ml	đặc	100	4,0
	lỏng	100	3,6
Erlen 250 ml	đặc	94,4	3,0
	lỏng	93,7	2,5
Bình tròn 250 ml	đặc	80,0	3,3
	lỏng	73,3	2,5



Hình 3. Ảnh hưởng của hệ thống bình nuôi cấy lên trọng lượng tươi của củ cây hoa Lay-ơn hình thành *in vitro*.

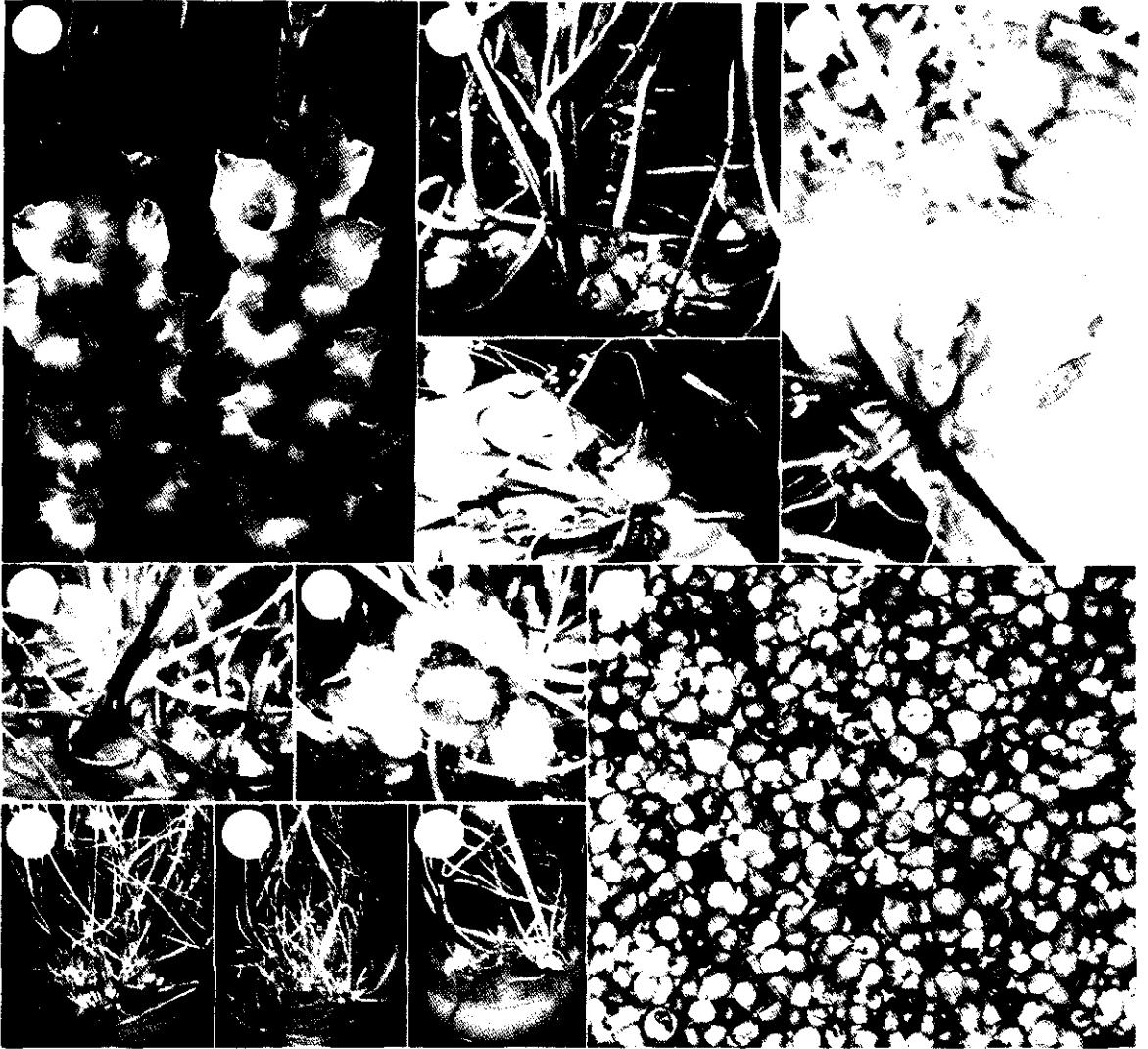
Ở những bình nuôi cấy có kích thước nhỏ, cây không có đủ không gian để tăng trưởng, vì thế sự tăng trưởng của cây *in vitro* về sau có chậm hơn giai đoạn đầu. Trong hệ thống bình nuôi cấy có thể tích lớn, không gian nuôi cấy thuận lợi nên bộ rễ của cây phát triển tốt, thân cây to, có bộ lá phát triển tốt, điều này đồng nghĩa với việc hàm lượng hormone nội sinh của cây được tạo ra nhiều hơn nên tạo thuận lợi cho các quá trình biến dưỡng của cây trong đó có quá trình tích lũy chất dinh dưỡng trong củ. Hơn

nữa, ở bình nuôi cấy có thể tích lớn, hàm lượng khí CO₂ ban đầu cao hơn nên quá trình quang hợp của cây diễn ra tốt hơn.

Trong các hệ thống nuôi cấy kín, sự tích lũy những hợp chất phóng thích là điều tất yếu xảy ra. Sự trao đổi khí trong những hệ thống bình nuôi cấy kín rất hạn chế, vì vậy song song với sự giảm nồng độ khí có trong bình nuôi cấy thì nồng độ của các chất độc cho mẫu cấy lại tăng lên. Khí ethylene được

mô thực vật tạo ra và tích tụ ngày càng nhiều trong bình nuôi cấy; chất này có thể gây ảnh hưởng đến sự tăng trưởng và sự phát triển bình thường của mô tế

bào cũng như của cây. Sự gia tăng thể tích bình nuôi cấy là cách làm giảm nồng độ khí độc đối với sự sinh trưởng của cây *in vitro*.



Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ sucrose, IBA và các điều kiện nuôi cấy khác nhau lên sự hình thành củ *in vitro* từ chồi của cây hoa Lay-on. o: Giống hoa Lay-on màu hồng san hô; a: Môi trường 1/2 MS + 100 g/l sucrose ở dạng đặc (a1) và lỏng (a2); b: Môi trường 1/2 MS + 60 g/l sucrose + 0,375 mg/l IBA ở dạng đặc (b1) và lỏng (b2); c: Môi trường 1/2 MS + 60 g/l sucrose + 0,375 mg/l IBA + 8 g/l agar được chiếu sáng ở cường độ 3000 lux (c1) và 1500 lux (c2); d: Môi trường 1/2 MS + 100 g/l sucrose đựng trong bình 500 ml (d1), bình erlen 250 ml (d2) và bình tròn 250 ml (d3); e: Củ *in vitro*.

Kết quả *ex vitro*

Sau khi kết thúc giai đoạn trong ống nghiệm, củ *in vitro* (Hình 4e) được chuyển ra ngoài vườn ươm và trồng trên đất pha cát với tỷ lệ 3 : 1. Những củ *in*

vitro có đường kính trong khoảng 7 - 12 mm và trọng lượng tươi khoảng 0,35 - 1,04 g cho tỷ lệ này mầm rất cao (100%), củ này mầm nhanh, cây *ex vitro* cho tăng trưởng tốt. Củ *ex vitro* sau năm tháng

trồng ngoài vườn ươm đạt kích thước lớn (2,1 cm). Mỗi củ *ex vitro* có kích thước lớn sinh nhiều củ con (4 - 8 củ con). Những củ *in vitro* có đường kính 2 - 6 mm, trọng lượng tươi 0,10 - 0,31 g cho tỷ lệ nảy mầm cũng khá cao (90%) nhưng củ *ex vitro* sinh ít củ con (1 - 4 củ con). Như vậy, từ nguồn củ *in vitro* ban đầu sau một khoảng thời gian ngắn trồng ra ngoài vườn ươm thì có thể tạo ra được một lượng lớn củ giống. Đây là nguồn củ giống có chất lượng tốt, sạch bệnh, cho hoa đẹp và có thể trồng liên tục nhiều thế hệ mang lại hiệu quả kinh tế cao cho người trồng trọt. Hơn nữa, lượng củ con được tạo ra từ các củ mẹ có nguồn gốc *in vitro* là rất lớn, các củ con này được trồng tiếp để tạo củ có kích thước lớn và được sử dụng làm nguồn củ giống.

KẾT LUẬN

Môi trường nuôi cấy đặc thích hợp cho sự hình thành và sự tăng trưởng của củ *in vitro*. Sucrose có ảnh hưởng đến sự hình thành củ và chất lượng củ *in vitro*. Môi trường 1/2 MS bổ sung 100 g/l sucrose thích hợp cho sự hình thành củ có kích thước lớn. Môi trường 1/2 MS đặc bổ sung 60 - 80 g/l sucrose và 0,375 mg/l IBA thích hợp cho sự hình thành củ trong điều kiện chiếu sáng với cường độ 3000 lux. Tỷ lệ hình thành củ/mẫu, kích thước và trọng lượng tươi của củ cao.

Hệ thống bình nuôi cấy thủy tinh loại 500 ml giúp nâng cao hiệu quả hình thành củ tốt hơn so với những bình nuôi cấy có thể tích 250 ml, củ có kích thước và trọng lượng tươi cao, phù hợp cho nuôi trồng *ex vitro*. Củ *in vitro* cho tỷ lệ nảy mầm rất cao, cây và củ *ex vitro* tăng trưởng và phát triển tốt.

Lời cảm ơn: Các tác giả xin chân thành cảm ơn

EFFECTS OF SUCROSE, IBA AND OTHER CULTURE CONDITIONS ON *IN VITRO* CORM FORMATION OF *GLADIOLUS* SPP.

Dương Tấn Nhứt^{1*}, Lê Thị Diem¹, Dang Thi Thu Thuy¹, Nguyễn Duy²

¹Dalat Affiliate Institute of Biology

²Institute of Agricultural Sciences of Southern Vietnam

SUMMARY

Gladiolus propagation using ensuring *in vitro* corm formation is a high rate of induced corms that survive and develop well in the greenhouse. Moreover, these corms are more appropriate to preserve and

Phòng Công nghệ Thực vật (Phân Viện Sinh học tại Đà Lạt) đã hỗ trợ kinh phí cho chúng tôi hoàn thành đề tài nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Begum S (1995) *In vitro* rapid shoot proliferation and corm development on *Gladiolus grandiflorus* cv. Redbrand. *Plant Cell Tiss Cult* 5: 7-12.

Dantu PK, Bhojwani SS (1987) *In vitro* propagation and corm formation in *Gladiolus*. *Gartenbauwissenschaft* 52: 90-93.

Dantu PK, Bhojwani SS (1995) *In vitro* corm formation and field evaluation of corm-derived plants of *Gladiolus*. *Sci Hort* 61: 115-129.

Grewal MS, Arora JS, Gosal SS (1995) Micropropagation of *Gladiolus* through *in vitro* cormlets production. *Plant Cell Tiss Org Cult* 5: 27-33.

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiol* 15: 473-479.

Steinitz B, Cohen A, Golberg Z, Kochba M (1991) Precocious *Gladiolus* corm formation in liquid shake cultures. *Plant Cell Tiss Org Cult* 26: 63-70.

Steinitz B, Lilien-Kipnis H (1989) Control of precocious *Gladiolus* corm and cormel formation in tissue culture. *J Plant Physiol* 135: 495-500.

Weaver RJ, Johnson JO (1985) *Relation of hormones to nutrient mobilization and the internal environment of the plant: The supply of mineral nutrients and photosynthetic*. In Pharis RP, Reid OM, eds. *Hormonal regulation of development III. Encyclopedia of plant physiology*. New series, Vol.1.1. Springer Verlag, Berlin: 3-36.

* Author for Correspondence: Tel: 84-63-831056; Fax: 84-63-831028; E-mail: duongtannhut@yahoo.com

transport than plantlets in order to ensure that seedling source is delivered to farmers timely and sufficiently. In this study, the effects of sucrose, IBA concentrations, and culture conditions such as light intensity and culture vessels were studied. The results indicated that high concentrations of sucrose (60 - 100 g l^{-1}) and 0,375 mg l^{-1} IBA in 1/2 MS medium induced the formation of corms from bright red *Gladiolus* shoots and increased the quality of those corms as well. Besides, shoots cultured in 500 ml vessels and illuminated by 3000 lux light source formed more and better corms, which survived and developed well when transferred to *ex vitro* condition. Corms weighing more than 0.35 g form plantlets to 100%, while the others also have a high rate of plant establishment (about 90%). This advance is being applied successfully in Dalat Affiliate Institute of Biology, and could be disseminated to help producing a great amount of *in vitro* corms with high quality and survival rate in order to supply the materials for growers.

Keywords: *Corm formation, Gladiolus, IBA, in vitro corm, sucrose*