

- Nguyễn Nghĩa Thìn**, 2007. *Các phương pháp nghiên cứu thực vật*. NXB Đại học Quốc gia Hà Nội, 165 trang.
- Benzing DH, Ott DW, Friedman WE.**, 1982. Roots of *Sobralia macrantha* (Orchidaceae): structure and function of the velamen-exodermis complex. *Am J Bot.*, 69(4): 608-14.
- Chomicki G., Bidel LPR., Ming F., Coiro M., Zhang X., Wang Y., Baissac Y., Jay-Allemand C., Renner SS.**, 2015. The velamen protects photosynthetic orchid roots against UV-B damage, and a large dated phylogeny implies multiple gains and losses of this function during the Cenozoic. *New phytologist*, 205: 1330-1341.
- Chu C., Yin H., Xia L., Cheng D., Yan J., Zhu L.**, 2014. Discrimination of *Dendrobium officinale* and Its Common Adulterants by Combination of Normal Light and Fluorescence Microscopy. *Molecules*, 19: 3718-3730.
- Oliveira VC. and Sajo MG.**, 1999. Root Anatomy of Nine Orchidaceae Species. *Braz Arch Biol Technol.*, 42(4): 1-9.
- Stern WL., Morris MW., Judd WS.**, 1994. Anatomy of the thick leaves in *Dendrobium*, sections *Rhizobium* (Orchidaceae). *Int J Plant Sci.*, 155(6): 716-729.

Morphological and anatomical comparison of wild and *in vitro* *Rhynchostylis gigantea*

Banchar Keomek, Dang Van Dong,
Phung Thi Thu Ha, Nguyen Xuan Canh

Abstract

Rhynchostylis gigantea is one of the most popular and valuable orchid species of Vietnam. Both wild *R. gigantea* and *in vitro* *R. gigantea* are popular; however, many growers cannot distinguish between them because of a lack of description. This study focuses on morphological and anatomical characters in order to distinguish wild *R. gigantea* from 1, 2, 3-year-old *in vitro* *R. gigantea*. The results indicated that the growth parameters of wild *R. gigantea* were better than that of 2-year-old *in vitro* plants and lower that of 3-year-old *in vitro* ones. The leaf angle of wild plants was larger than that of *in vitro* plants. In addition, these wild *R. gigantea* had a sparser of flowers in inflorescence, shorter pedicle, smaller flower diameter, stronger flower scent than that of *in vitro* orchids. Tip of sepal and petal of *in vitro* plants are rounder and thicker than that of wild plants. Data on anatomical and morphological characters indicated that adaptation of *in vitro* *R. gigantea* to Gia Lam, Hanoi's climate were better than that of wild orchids.

Keywords: Anatomy, Flower structure, Morphology, *Rhynchostylis gigantea*

Ngày nhận bài: 22/9/2017
Ngày phản biện: 26/9/2017

Người phản biện: TS. Đinh Trường Sơn
Ngày duyệt đăng: 20/10/2017

XÂY DỰNG QUY TRÌNH TẠO CỦ *IN VITRO* DÒNG LAI HOA LAY ƠN

Nguyễn Thị Hồng Nhung¹, Bùi Thị Hồng¹, Đặng Văn Đông¹

TÓM TẮT

Hoa lay ơn là cây sinh sản hữu tính và có khả năng nhân giống vô tính. Nhân giống *in vitro* góp phần tạo ra số lượng lớn củ con lay ơn đồng đều, sạch bệnh. Nghiên cứu được thực hiện trên dòng lai J11, thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 3 lần lặp lại. Mẫu củ giống được khử trùng tốt nhất với NaDCC 1% trong thời gian 15 phút, tỷ lệ mẫu tái sinh đạt cao 76,7%. Tổ hợp môi trường 2 mg/l BAP + 0,25 mg/l α -NAA thích hợp cho nhân nhanh chồi, 80% mẫu cấy phát sinh chồi, số chồi hình thành đạt 4,8 chồi. Các chồi đơn hình thành củ con với tỷ lệ cao trên môi trường bổ sung 50 g/l đường + 1 mg/l IBA để điều kiện ánh sáng 16 giờ sáng/8 giờ tối, trọng lượng củ trung bình đạt 0,96 g, đường kính củ đạt 0,93 cm.

Từ khóa: Dòng, giống mới, lay ơn, nhân giống *in vitro*, tạo củ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa lay ơn (*Gladiolus* sp.) là một loài hoa đẹp, bền, màu sắc phong phú, cành gọn nhẹ dễ vận chuyển đi xa. Về diện tích và sản lượng hoa cắt trên

thế giới, hoa lay ơn xếp vị trí thứ 5 sau tulip (*Tulipa* spp.), lily (*Lilium* spp.), lan Nam Phi (*Freesia* spp.) và lan huệ (*Hippeastrum* spp.) (Kanika Malik and Krishan Pal, 2015). Ở một số quốc gia như Ấn Độ,

¹ Viện Nghiên cứu Rau quả

Brazil và Argentina, hoa lay ơn luôn đứng đầu về diện tích trồng và xuất khẩu (Buschman, 2005). Ở Việt Nam, hoa lay ơn rất được ưa chuộng (sản lượng chỉ đứng sau hoa cúc và hoa hồng) và là loại hoa có tiềm năng xuất khẩu cao. Hoa lay ơn được trồng từ rất lâu đời và đã hình thành nhiều vùng sản xuất lớn như Hải Phòng, Quảng Ninh, Bắc Giang, Sơn La, Phú Yên và Đà Lạt. Hiện nay diện tích trồng hoa lay ơn chiếm 14% tổng diện tích trồng hoa cả nước (Đặng Văn Đông, 2014).

Các nghiên cứu về quy trình trồng, chăm sóc hoa lay ơn đã được tiến hành và cải tiến rất nhiều về chất lượng hoa cắt. Tuy nhiên vấn đề gặp phải hiện nay là nguồn giống củ lay ơn không đảm bảo. Giống hoa lay ơn được nhân giống vô tính từ củ, củ con tạo ra không đồng đều, hư hỏng do nấm bệnh, số lượng củ con tạo ra phụ thuộc vào giống và môi trường nhiều. Hơn nữa, củ giống lay ơn yêu cầu phá ngủ sau mỗi thời kỳ sinh trưởng, do vậy, thời gian nhân giống *in vitro* thường kéo dài 2 - 3 năm. Trong khi đó, củ con *in vitro* có kích thước đồng đều, sạch bệnh, sinh trưởng nhanh rút ngắn thời gian nhân giống từ 1 - 2 năm để tạo ra củ thương mại.

Giai đoạn 2014 - 2016, Viện Nghiên cứu Rau quả đã lai tạo ra được nhiều dòng lai hoa lay ơn mới, các dòng lay ơn này đang cần được nhân nhanh để sớm đưa ra ngoài sản xuất.

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm ra các yếu tố tối ưu cho quá trình nhân nhanh củ *in vitro* của dòng lai hoa lay ơn J11 mới được tạo ra.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu: Củ con có đường kính 1 - 1,5 cm của dòng lai hoa lay ơn J11.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Khử trùng mẫu cấy: Mất ngủ được cắt với kích thước 0,5 - 1 cm và rửa nhiều lần bằng nước sạch. Ngâm ngập mẫu trong nước xà phòng loãng 5 - 7 phút, rửa sạch dưới vòi nước chảy và tráng lại bằng nước cất. Sau đó mẫu được rửa lại bằng nước cất vô trùng rồi rửa bằng cồn 70% trong 30 giây, tiếp đó khử trùng bằng dung dịch khử trùng ở các nồng độ và thời gian khác nhau, vừa ngâm vừa lắc sau đó tráng lại 3 - 4 lần bằng nước vô trùng.

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại.

Các thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện ánh sáng, nhiệt độ, độ ẩm ổn định: Cường độ chiếu sáng khoảng 2000 - 3000 lux, thời gian chiếu sáng 16

giờ sáng/8 giờ tối, nhiệt độ phòng khoảng 25 - 26°C, độ ẩm từ 70 - 75%.

Môi trường được điều chỉnh pH = 5,7 trước khi hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút; 1,0 atm.

+ Thí nghiệm 1: Xác định hóa chất khử trùng phù hợp nhất cho mẫu cấy: sử dụng H₂O₂ 10%, Javen 5,7%, NaDCC 1% (sodium dichloroisocyanurate 1%) trong 5 - 15 phút. Môi trường vào mẫu: MS + 1 mg/l BAP + 30 g/l đường + 6,0 g/l agar.

+ Thí nghiệm 2: Xác định môi trường thích hợp cho giai đoạn nhân nhanh: sử dụng tổ hợp BAP (1 - 2 - 3 mg/l) và α-NAA (0,25 - 0,5 - 0,75 mg/l).

+ Thí nghiệm 3: Xác định chế độ chiếu sáng đến khả năng tạo củ và chất lượng củ: CT1: 16 giờ sáng/8 giờ tối, CT2: Tối hoàn toàn, CT3: 16 giờ sáng/8 giờ tối trong 4 tuần, tối hoàn toàn, CT4: Tối hoàn toàn trong 4 tuần, 16 giờ sáng/8 giờ tối, Môi trường: MS + 70 g/l Sucrose + 1 mg/l IBA.

+ Thí nghiệm 4: Xác định hàm lượng đường bổ sung đến khả năng tạo củ và chất lượng củ hoa lay ơn tạo ra: sử dụng đường sucrose (30 - 50 - 70 - 90 - 110 g/l).

Mỗi công thức 15 bình tam giác, cấy 10 chồi đơn/bình.

- Các chỉ tiêu theo dõi:

+ Giai đoạn khởi động mẫu: Tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ tái sinh (%), tỷ lệ mẫu hóa nâu (%), tỷ lệ mẫu không phản ứng (%).

+ Giai đoạn nhân nhanh: Thời gian phát sinh chồi (ngày), tỷ lệ tạo chồi (%), số chồi/mẫu (chồi), đường kính chồi (cm).

+ Giai đoạn tạo củ: Tỷ lệ mẫu tạo củ (%), đường kính củ (cm), trọng lượng củ (g).

- Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm Minitab 16 và Excel 2013.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 7/2016 - 3/2017 tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Hoa, Cây cảnh - Viện Nghiên cứu Rau quả.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định hóa chất khử trùng phù hợp nhất cho mẫu cấy

Trong quá trình nuôi cấy *in vitro*, mẫu cấy vô trùng là điều kiện bắt buộc, quyết định thành công của thí nghiệm. Việc khử trùng phải đảm bảo tỷ lệ nhiễm thấp, tỷ lệ mẫu tái sinh cao, mô tồn tại và phát triển tốt. Ở thí nghiệm này, vật liệu là củ nhỏ với

đường kính từ 1 - 1,5 cm, sử dụng 3 loại hóa chất ở các mức thời gian khác nhau. Kết quả thí nghiệm thu được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của hóa chất khử trùng mẫu dòng lai J11 sau 4 tuần

CTTN	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu hóa nâu (%)	Tỷ lệ mẫu không phản ứng (%)	Tỷ lệ mẫu tái sinh (%)
CT1	10,0	20,0	6,7	63,3
CT2	23,3	33,3	10,0	33,3
CT3	16,7	20,0	16,7	46,7
CT4	13,3	10,0	26,7	50,0
CT5	6,7	13,3	3,3	76,7

Ghi chú: Môi trường nền MS + 3% Sucrose + 1 mg/l BA. CT1: H₂O₂ 10% lần 1 trong 10 phút, lần 2 trong 5 phút, CT2: H₂O₂ 10% trong thời gian 10 phút, CT3: H₂O₂ 10% trong thời gian 15 phút, CT4: Javen 5,7% trong thời gian 15 phút, CT5: NaDCC 1% trong thời gian 15 phút.

Tỷ lệ mẫu bị nhiễm ở tất cả các công thức tương đối thấp từ 6,7 - 23,3%. Sử dụng hoạt chất NADCC 1% có tỷ lệ mẫu bị nhiễm ở mức thấp nhất, tiếp đến là sử dụng H₂O₂ 10% khử trùng kép trong thời gian 15 phút.

Đối với cùng một hoạt chất khử trùng H₂O₂ 10%, khi tăng thời gian khử trùng thì tỷ lệ mẫu nhiễm và tỷ lệ mẫu hóa nâu giảm xuống đáng kể.

Đối với CT1 và CT3 ở cùng một thời gian xử lý 15 phút, hiệu quả làm sạch mẫu của CT1 (khử trùng kép) tốt hơn với tỷ lệ mẫu không phản ứng thấp 6,7%. Trong khi đó ở CT3 thời gian mẫu ngâm liên tục kéo dài làm cho hóa chất khử trùng thẩm thấu vào trong gây chết mẫu đạt 16,7%.

Sử dụng Javen 5,7% trong 15 phút có tác dụng khử trùng bề mặt khá tốt, tỷ lệ mẫu nhiễm và hóa nâu tương ứng là 13,3% và 10%. Tuy nhiên số mẫu không có khả năng tái sinh lại cao nhất 26,7%.

Như vậy, khử trùng mẫu cấy với NADCC1% trong 15 phút cho tỷ lệ mẫu tái sinh cao nhất 76,7%, tỷ lệ mẫu nhiễm thấp 6,7%.

3.2. Xác định môi trường thích hợp cho giai đoạn nhân nhanh

Với mục đích tạo cụm chồi từ mắt ngủ, việc cảm ứng ngủ nghỉ đóng vai trò rất quan trọng. Nhiều nghiên cứu cho thấy các chất điều tiết sinh trưởng là nhân tố thiết yếu trong cảm ứng ngủ nghỉ. Mỗi tương tác giữa auxin và cytokinin đối với sự hình thành chồi lay ơn được tiến hành giữa tỷ lệ BA và α-NAA khác nhau.

Bảng 2. Ảnh hưởng của tổ hợp BA/ α-NAA đến khả năng nhân nhanh chồi hoa lay ơn (sau 6 tuần)

CTTN	Thời gian phát sinh chồi (ngày)	Tỷ lệ mẫu hình thành chồi (%)	Tỷ lệ biến dị (%)	Số chồi/mẫu (chồi)	Đường kính chồi (cm)	Hình thái
CT1	13,2	83,3	0,0	3,3 ± 0,84e	0,26 ± 0,01a	Chồi mập, màu xanh đậm
CT2	16,5	66,7	6,7	2,1 ± 1,04fg	0,22 ± 0,02a	Chồi trung bình, màu xanh nhạt
CT3	23,5	43,3	16,7	1,2 ± 0,89gh	0,14 ± 0,02c	Chồi nhỏ, màu xanh nhạt
CT4	12,6	80,0	0,0	4,8 ± 1,21d	0,25 ± 0,02a	Chồi mập, màu xanh đậm
CT5	16,9	70,0	0,0	6,1 ± 1,01c	0,19 ± 0,02b	Chồi nhỏ, màu xanh đậm
CT6	17,1	56,7	23,3	2,7 ± 1,24ef	0,14 ± 0,01c	Chồi nhỏ, màu xanh nhạt, xuất hiện biến dị dạng lá
CT7	12,7	70,0	13,3	19,3 ± 2.2a	0,12 ± 0,02c	Chồi nhỏ, yếu, màu trắng xanh
CT8	15,4	43,3	26,7	12,1 ± 1,98b	0,12 ± 0,01c	Chồi nhỏ, yếu, màu trắng xanh
CT9	19,5	36,7	43,3	0,8 ± 0,67h	0,11 ± 0,01c	Chồi nhỏ, yếu, màu trắng xanh, xuất hiện biến dị dạng lá và callus
CV (%)				6,1	8,6	
LSD _{0,05}				1,21	0,03	

Ghi chú: CT1: MS + 1mg/l BA + 0,25mg/l α-NAA; CT2: MS + 1mg/l BA + 0,5mg/l α-NAA; CT3: MS + 1mg/l BA + 0,75mg/l α-NAA; CT4: MS + 2mg/l BA + 0,25mg/l α-NAA; CT5: MS + 2mg/l BA + 0,5mg/l α-NAA; CT6: MS + 2mg/l BA + 0,75mg/l α-NAA; CT7: MS + 3mg/l BA + 0,25mg/l α-NAA; CT8: MS + 3mg/l BA + 0,5mg/l α-NAA; CT9: MS + 3mg/l BA + 0,75mg/l α-NAA.

Thời gian phát sinh chồi rất sớm ở CT1, CT4 và CT7 là 12,6 - 12,7 - 13,2 ngày, dài nhất ở CT3 là 23,5 ngày, các công thức còn lại dao động từ 15,4 - 19,5 ngày. Ở cùng nồng độ BA, thời gian phát sinh chồi dài hơn khi tăng nồng độ NAA. Mặt khác ở các công thức BA khác nhau cần thời gian tương đương nhau để hình thành chồi.

Tỷ lệ phát sinh chồi ở các công thức có nồng độ BA từ 1 - 2 mg/l là khá cao khoảng 43,3 - 83,3%. Tuy nhiên tăng nồng độ NAA thì tỷ lệ này giảm dần, xuất hiện nhiều biến dị dạng lá và callus. Cụ thể CT1, CT2, CT3 (cùng nồng độ BA và tăng NAA) có tỷ lệ hình thành chồi là 83,8; 66,7; 43,3% và tỷ lệ biến dị tương ứng là 0; 6,7; 16,7%. Như vậy nồng độ auxin α NAA thấp cho kết quả tạo chồi từ mắt ngủ cao hơn.

Số chồi/mẫu nhiều nhất ở CT7 là 19,3 chồi. Hàm lượng BA cao kích thích mẫu phát sinh nhiều chồi nhưng chồi nhỏ, đường kính chồi 0,12 cm, yếu, màu trắng xanh. Đồng thời tăng cả lượng NAA làm cho mẫu cấy phát sinh nhiều thể không định hình (callus), không hình thành chồi hoặc số lượng ít.

Xét về chất lượng chồi thì CT1 và CT4 ở mức tương đương nhau: Chồi xanh, mập, đường kính 0,25 - 0,26 cm. Tuy nhiên số chồi phát sinh ở CT4

nhiều hơn CT3 tương ứng là 4,8 và 3,3 chồi.

Như vậy công thức tốt nhất cho sự tạo chồi từ mắt ngủ là: MS + 3% sucrose + 2 mg/l BA + 0,25 mg/l α NAA. Với tỷ lệ mẫu tạo chồi là 80%, số chồi/mẫu là 4,8 chồi.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của chế độ chiếu sáng đến khả năng tạo củ và chất lượng củ

Cường độ chiếu sáng ảnh hưởng nhiều tới khả năng hình thành củ, lượng ánh sáng khác nhau tác động kích thước và trọng lượng củ khác nhau. Năm 1981, Shillo và Halevy đã đưa ra kết luận: Đối với lay ơn thì sự phát triển của hoa và củ chịu ảnh hưởng mạnh mẽ của quang chu kỳ, điều kiện ngày ngắn là nguyên nhân làm giảm kích thước và trọng lượng củ. Còn trong nhân giống *in vitro* thì Steinitz và cộng tác viên (1991) lại chỉ ra rằng phản ứng tạo củ trong điều kiện chiếu sáng và trong tối là như nhau. Tuy nhiên theo các kết quả mà Dantu và Bhojwani (1995) đưa ra là điều kiện tối đã ức chế sự hình thành củ, khi chiếu sáng không những kích thích chồi phát triển mà còn hình thành củ. Vì vậy thí nghiệm xác định chế độ chiếu sáng thích hợp để tạo củ lay ơn *in vitro* được tiến hành.

Bảng 3. Ảnh hưởng của chế độ chiếu sáng đến khả năng tạo củ từ chồi đơn hoa lay ơn (sau 6 tuần)

CTTN	Tỷ lệ mẫu tạo củ (%)				Trọng lượng củ (g)	Đường kính củ (cm)
	3 tuần	4 tuần	5 tuần	6 tuần		
CT1	56,7	66,7	76,7	93,3	0,77 ± 0,09a	0,81 ± 0,08a
CT2	23,3	36,7	50,0	53,3	0,34 ± 0,07d	0,45 ± 0,07d
CT3	53,3	63,3	70,0	83,3	0,61 ± 0,11b	0,62 ± 0,06b
CT4	33,3	43,3	66,7	76,7	0,45 ± 0,06c	0,51 ± 0,08c
CV (%)					5,9	3,1
LSD _{0,05}					0,07	0,04

Ghi chú: CT1: 16 giờ sáng/8 giờ tối, CT2: Tối hoàn toàn, CT3: 16 giờ sáng/8 giờ tối trong 4 tuần, tối hoàn toàn, CT4: Tối hoàn toàn trong 4 tuần, 16 giờ sáng/8 giờ tối. Bảng 1, 4: Những chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất 0,05.

Chế độ chiếu sáng khác nhau ảnh hưởng tới tỷ lệ mẫu tạo củ và chất lượng củ khác nhau. Trong tất cả các công thức, chồi hoa lay ơn sau khi để ngoài sáng trước cho tỷ lệ mẫu tạo củ khá cao từ 53,3 - 56,7%. Nguyên nhân là để ngoài sáng với cường độ ánh sáng mạnh giúp chồi có thể quang hợp, sinh trưởng nhanh, bộ rễ sớm phát triển, từ đó hình thành củ vì sau giai đoạn hình thành rễ là đến giai đoạn phát sinh củ.

Điều kiện nuôi cấy tối hoàn toàn có tỷ lệ mẫu hình thành củ thấp nhất 23,3% sau 3 tuần và chỉ được 53,3% sau 6 tuần. Củ con tạo ra nhỏ trọng lượng đạt 0,34 g, đường kính củ 0,45 cm.

Về chất lượng củ con tạo ra, công thức có chiếu sáng trước có trọng lượng và đường kính củ lớn hơn. Cụ thể, trọng lượng củ con của CT1 và CT3 là 0,77; 0,61 g; đường kính củ tương ứng là 0,81; 0,62 cm. Trong khi đó công thức để tối có trọng lượng củ tương ứng là 0,34; 0,45 g và đường kính củ là 0,45; 0,51 cm.

Như vậy, sau khi hình thành củ cây lay ơn *in vitro* vẫn cần ánh sáng để tổng hợp dinh dưỡng nuôi củ lớn hơn. Chế độ chiếu sáng thích hợp nhất tạo củ hoa lay ơn là 16 giờ sáng/8 giờ tối. Cho tỷ lệ tạo củ là 93,3%; trọng lượng củ đạt 0,77 g; đường kính củ đạt 0,81 cm.

3.4. Xác định hàm lượng đường bổ sung đến khả năng tạo củ và chất lượng củ hoa lay ơn tạo ra

Đường sucrose được sử dụng thường xuyên trong hầu hết các môi trường nuôi cấy mô tế bào, kể cả mẫu cấy là chồi xanh có khả năng quang hợp. Nhiều nhà nghiên cứu đã sử dụng nồng độ đường từ 6 - 10% tùy từng giống. Nghiên cứu của Ioanna Staikidou và cộng tác viên (2005) trên đối tượng cây *Narcissus* cũng cho thấy vai trò quan trọng của đường sucrose trong phản ứng tạo củ. Trên cơ sở đó, chúng tôi tiến hành thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng đường đến kích thước củ *in vitro* của hoa lay ơn.

Bảng 4. Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến kích thước củ (tuần 7)

Nồng độ đường (g/l)	Tỷ lệ mẫu hình thành củ (%)	Trọng lượng củ (g)	Đường kính củ (cm)
30 (ĐC)	90,7	0,75 ± 0,06c	0,78 ± 0,05c
50	91,3	0,96 ± 0,03a	0,93 ± 0,04a
70	87,5	1,02 ± 0,05a	0,96 ± 0,05a
90	81,5	0,87 ± 0,07b	0,85 ± 0,03b
110	72,7	0,71 ± 0,08c	0,8 ± 0,06bc
CV (%)		6,2	5,9
LSD _{0,05}		0,07	0,05

Ở tất cả các công thức, tỷ lệ mẫu phát sinh củ đạt khá cao từ 72,7 - 91,3%.

Khi tăng hàm lượng đường từ 30 g/l đến 50 g/l, trọng lượng củ tăng từ 0,75 g đến 0,96 g, đồng thời kích thước củ cũng tăng từ 0,78 cm đến 0,93 cm. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Dantu và Bhojwani (1995), nồng độ đường cao giúp tăng khả năng tích lũy tinh bột trong củ.

Ở mức đường 70 g/l, củ lay ơn tạo ra cũng có kích thước tương đương với công thức có lượng đường 50 g/l. Cụ thể trọng lượng củ đạt 1,02 g; đường kính củ đạt 0,96 cm.

Khi tăng nồng độ đường lên 90 - 110 g/l, tỷ lệ hình thành củ bắt đầu giảm 81,5% và 72,7%. Mặc dù củ vẫn phát triển đều, nhưng kích thước củ có xu hướng giảm xuống, củ nhỏ rể dài, mảnh. Điều này cho thấy, hàm lượng đường cao đã ức chế hình thành củ.

Như vậy hàm lượng đường thích hợp để tạo củ hoa lay ơn là 50 và 70 g/l, trọng lượng củ trung bình

trên 0,96 - 1,02 g, đường kính củ đạt từ 0,93 - 0,96 cm. Xét về giảm giá thành khi sản xuất thì nên sử dụng hàm lượng đường ở mức 50 g/l.

IV. KẾT LUẬN

- Chế độ khử trùng thích hợp đối với mắt ngủ của củ giống hoa lay ơn là: Khử trùng bằng NADCC 1% trong 15 phút, cho tỷ lệ mẫu sạch và tái sinh cao nhất đạt 76,7%.

- Môi trường tối ưu cho việc tái sinh chồi từ mắt ngủ là MS + 3% Sucrose + 2 mg/l BA + 0,25 αNAA. Tỷ lệ mẫu phát sinh chồi đạt 80%, số chồi/mẫu đạt 4,8 chồi cho chất lượng chồi tốt, chồi mập, xanh đậm.

- Môi trường thích hợp cho tạo củ là: MS + 50 g/l Sucrose + 1 mg/l IBA. Tỷ lệ mẫu tạo củ đạt trên 91,3%, trọng lượng củ trung bình trên 0,96 g, đường kính củ đạt từ 0,93 cm.

- Chế độ chiếu sáng tốt nhất đến khả năng tạo củ hoa lay ơn là điều kiện 16 giờ sáng/ 8 giờ tối.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đặng Văn Đông**, 2014. Thực trạng và định hướng nghiên cứu, phát triển hoa, cây cảnh ở Việt Nam. *Kỷ yếu hội thảo “Thực trạng và định hướng nghiên cứu, sản xuất và xúc tiến thương mại ngành hoa, cây cảnh ở Việt Nam”*. Viện Nghiên cứu Rau Quả, tháng 12/2014.
- Buschman J.C.M.**, 2005. Globalisation - Flower - Flower Bulbs - Bulb Flowers. *ISHS Acta Horticulturae 673: IX International Symposium on Flower Bulbs*. Nguồn: http://www.actahort.org/books/673/673_1.htm.
- Dantu, P.K., Bhojwani, S.S.**, 1995. *In vitro* corm formation and field evaluation of corm derived plants of *Gladiolus*. *Scientia Horticulturae* 61: 115- 129.
- Ioanna Staikidou, Sally Watson, Barbara M.R. Harvey & Christopher Selby**, 2005. *Narcissus* bulblet formation *in vitro*: effects of carbohydrate type and osmolarity of the culture medium. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (2005) 80: 313-320.
- Kanika Malik and Krishan Pal**, 2015. The Genetic Divergence among 22 *Gladiolus* Genotypes Using D2 Analysis. *African Journal of Basic & Applied Sciences*, 2015, ISSN 2079-2034, 7 (3): 153-159.
- Shillo, R. and A.H. Halevy**, 1981. Flower and corm development in *Gladiolus* as affected by photoperiod. *Sci. Hortic.*, 15:187-196.
- Steinitz, B., Cohen, A., Goldberg, Z., Kochba, M.**, 1991. Precocious *Gladiolus* corm formation in liquid shake culture. *Plant Cell Tissue Org. Cult.* 26:63-70.

Establishment of protocol for *in vitro* cormel production of *Gladiolus* hybrid lines

Nguyen Thi Hong Nhung, Bui Thi Hong, Dang Van Dong

Abstract

Gladiolus is sexual and asexual reproductive plant. *In vitro* propagation contributes to make a large number of *Gladiolus* cormels, uniform and free - disease. The study was carried out on J11 hybrids; experiment design was completely randomized with 3 replications. Explants were well sterilized with NaDCC 1% for 15 minutes with a high regeneration rate of 76.7%. Medium combination composed of 2 mg / l BAP + 0,25 mg / l α -NAA which was suitable for multiple shoots. 80% of explants produced new shoots; the number of shoots reached 4.8 shoots per explant. The single shoots formed cormels with high rate on medium supplemented with 50 g / l sucrose + 1 mg / l IBA; 16 hours lighting/8 hours darkening. The average bulb weight was 0.96 g, bulb diameter was 0.93 cm.

Keywords: Line, new variety, *Gladiolus*, *in vitro* propagation, cormel production

Ngày nhận bài: 14/11/2017
Ngày phản biện: 21/11/2017

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Tinh
Ngày duyệt đăng: 11/12/2017

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ α -NAA VÀ THỜI VỤ ĐẾN KHẢ NĂNG GIÂM CÀNH CỦA MỘT SỐ GIỐNG CÂY CÓ MÚI DỪNG LÀM GỐC GHÉP

Nguyễn Thị Thúy¹, Nguyễn Thị Ngọc Ánh¹,
Cao Văn Chí¹, Phạm Ngọc Lin¹

TÓM TẮT

Thí nghiệm “Nghiên cứu ảnh hưởng của α -NAA và thời vụ đến khả năng giâm cành của một số giống cây có múi làm gốc ghép” được tiến hành tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển cây có múi. Vật liệu nghiên cứu gồm 4 giống gốc ghép là Poncustrifoliata, Citrang troyer, Citrang carizo và Citrumelo, dung dịch α -NAA ở các nồng độ α -NAA: 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, 2500 ppm. Kết quả nghiên cứu cho thấy cả bốn giống gốc ghép đều có tỷ lệ sống, khả năng ra rễ và bật mầm tốt nhất khi tiến hành giâm cành vào vụ Xuân và xử lý trước giâm bằng dung dịch α -NAA ở nồng độ 2000 ppm. Tỷ lệ sống của các giống gốc ghép khi nhân giống bằng giâm cành đạt 56,76% - 85,27%, thời gian từ khi giâm cành đến khi ra ngôi là 104,7 - 118,0 ngày.

Từ khóa: Giống gốc ghép, dung dịch α -NAA, thời vụ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gốc ghép có vai trò quan trọng đối với cây ăn quả nói chung và cây ăn quả có múi nói riêng. Các giống gốc ghép cây có múi gồm Poncirus trifoliata, Citrang troyer, Citrang carizo và Citrumelo đang được sử dụng phổ biến trên thế giới có rất nhiều ưu điểm (Castle *et al.*, 1993), tuy nhiên trong điều kiện khí hậu Việt Nam, các giống gốc ghép này khó ra hoa đậu quả, khó khăn cho việc nhân giống bằng phương pháp nhân giống hữu tính để phục vụ sản xuất.

Nhân giống bằng giâm cành là phương pháp nhân giống vô tính có nhiều ưu điểm như cho tỷ lệ nhân giống cao, đơn giản, rẻ tiền và duy trì được đặc điểm di truyền của cây mẹ (Hartman, 1983). Đây

là hướng nhân giống thích hợp đối với bốn giống gốc ghép cây có múi nói trên. Tuy nhiên trong thực tế sản xuất, cây có múi rất khó ra rễ khi giâm cành (Trần Thế Tục và Hoàng Ngọc Thuận, 2001), vì vậy ngoài tuân thủ nghiêm ngặt quy trình nhân giống thì giâm cành đúng thời vụ và sử dụng chất kích thích sinh trưởng đúng nồng độ thích hợp với từng loại cành giâm cũng có vai trò đặc biệt quan trọng, quyết định tỷ lệ thành công của biện pháp giâm cành. Xuất phát từ thực tế đó “Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ α -NAA và thời vụ đến khả năng giâm cành của một số giống cây có múi làm gốc ghép” nhằm tăng tỷ lệ sống, tăng khả năng ra rễ và bật mầm, rút ngắn thời gian từ giâm cành đến ra ngôi của các loại cành giâm được tiến hành.

¹ Trung tâm nghiên cứu và Phát triển Cây có múi - Viện Nghiên cứu Rau quả