

VI NHÂN GIỐNG TỪ VẢY HÀNH CỦA CÂY HUỆ TRẮNG (*Lilium longiflorum* Thunb)

Phan Hoàng Anh, Phan Ngô Hoang, Bùi Trang Việt

Khoa Sinh học, Trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên - Đại Học Quốc Gia Hồ Chí Minh
(Bài nhận ngày 28 tháng 03 năm 2005, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 10 tháng 08 năm 2005)

TÓM TẮT: Sự tái sinh thực vật từ lát cắt vảy hành *Lilium longiflorum* Thunb được thực hiện trên môi trường MS có bổ sung cytokinin và auxin ở các nồng độ thay đổi. Sự phối hợp của NAA và BA với nồng độ thích hợp cho phép tạo mới các chồi và rễ sau đó. Chồi phát triển tốt nhất khi sử dụng vảy hành có chiều dài 1cm, trên môi trường MS có bổ sung BA 1mg/l và NAA 1mg/l. Sơ khởi chồi xuất hiện sau 12 ngày nuôi cấy. Sự gia tăng hoạt tính auxin, cytokinin và cường độ hô hấp cùng với sự giảm hoạt tính gibberelin và acid abscisic được quan sát trong quá trình phát sinh chồi. Các chồi được chuyển sang môi trường MS có bổ sung 2mg/l IAA để tạo rễ.

Từ khoá: *Lilium longiflorum*, sự tái sinh thực vật, vảy hành, chất điều hòa tăng trưởng thực vật.

1. Mở đầu

Cây Huệ trắng được nhiều người ưa chuộng và quan tâm nghiên cứu bởi màu trắng thanh khiết, hương thơm mát dịu, độ bền hoa cao và có nhu cầu rất lớn trên thị trường trong và ngoài nước (Pandya and Saxena 2003; Sindhu and Pathania 2003). Cây Huệ trắng thường được nhân giống từ củ dạng hành, tuy nhiên phương pháp này chưa đáp ứng được nhu cầu sản xuất, không khắc phục được bệnh virus, đồng thời củ giống lại thoái hoá qua nhiều năm sản xuất. Khảo cứu này góp phần tìm hiểu về sự tạo chồi, rễ và tăng trưởng cây con Huệ trắng qua sự nuôi cấy *in vitro* từ vảy hành.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

Các vảy được tách từ củ Huệ trắng được thu hoạch ở các vườn trồng hoa Đà Lạt (ảnh 1).

2.2. Phương pháp

Quan sát hình thái giải phẫu: Các lát cắt ngang và dọc qua vảy hành, nốt chồi được nhuộm hai màu (đỏ carmin- xanh iod) và quan sát dưới kính hiển vi.

Nuôi cấy *in vitro*: Các vảy hành được rửa sạch, khử trùng bằng HgCl₂ 0,1%, cắt từng miếng dài 1cm và đặt mặt lưng tiếp xúc với môi trường MS (Murashige & Skoog 1962) có bổ sung BA và NAA ở các nồng độ khác nhau để giúp sự tạo chồi (Bùi Trang Việt 2000). Các chồi từ vảy hành sau 45 ngày nuôi cấy được chuyển sang môi trường MS có bổ sung IAA (0,5; 1 và 2 mg/l) để giúp sự tạo rễ. Sự nuôi cấy được thực hiện ở 3000±500lx, 2±2⁰C và ẩm độ tương đối 53±2%.

Đo cường độ hô hấp: Mô cấy trên môi trường MS có bổ sung NAA 1mg/l và BA 1mg/l được dùng để đo cường độ hô hấp theo thời gian, trong tối, ở 25⁰C, bằng máy Warburg.

Ly trích và đo chất điều hòa tăng trưởng thực vật: Mô cấy trên môi trường MS có bổ sung NAA 1mg/l và BA 1mg/l theo thời gian được dùng để ly trích và xác định hoạt tính các chất điều hòa tăng trưởng thực vật (theo Bùi Trang Việt 1992).

Sự tăng trưởng cây con trong vườn ươm: Các cây *in vitro* sau 9 tuần nuôi cấy được trồng trong túi nylon có chứa tro trấu, xơ dừa và cát được trộn theo tỉ lệ 2:1:1, trong nhà lưới có ánh sáng $30.000 \pm 500\text{lux}$, nhiệt độ $32 \pm 2^{\circ}\text{C}$, ẩm độ $61 \pm 5\%$ (đo lúc 8-9giờ).

3. Kết quả và Thảo luận

3.1. Sự tạo chồi:

Lát cắt dọc qua chồi không cho thấy các chồi ngủ ở nách lá (ảnh 2). Vì lý do này, chúng tôi quan tâm tới sự nghiên cứu tạo mới chồi từ vảy hành. Chồi phát triển mạnh từ vảy được nuôi cấy trên môi trường có xử lý phối hợp BA 1mg/l và NAA 1mg/l (bảng 1). Trên môi trường này, sau 2 tuần nuôi cấy, các nốt li ti xuất hiện trên bề mặt vảy. Dưới kính hiển vi, qua lát cắt dọc, nốt là các phát thể chồi xuất hiện từ vùng ngoại vi của vảy (ảnh 3-8).

Bảng 1: Tác động của NAA và BA trên sự phát triển chồi.

Thành phần chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong môi trường MS (mg/l)	Số nốt chồi / mẫu cấy		
	2 tuần	4 tuần	6 tuần
Chuẩn	0	$1,0 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,3$
NAA 0,02	$1,4 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,2$	$3,8 \pm 0,4$
NAA 0,2	0	$2,4 \pm 0,2$	$4,3 \pm 0,6$
NAA 2	0	$1,0 \pm 0,4$	$2,8 \pm 0,4$
NAA 0,02 + BA 1	$1,6 \pm 0,2$	$3,2 \pm 0,3$	$4,2 \pm 0,3$
NAA 0,1 + BA 1	$1,5 \pm 0,5$	$6,3 \pm 0,2$	$7,3 \pm 0,6$
NAA 0,2 + BA 1	$2,6 \pm 0,2$	$5,6 \pm 0,3$	$5,8 \pm 0,4$
NAA 1 + BA 1	$6,8 \pm 0,6$	$7,8 \pm 0,4$	$8,0 \pm 0,3$
NAA 2 + BA 1	$2,4 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,3$

3.2. Hoạt tính các chất điều hoà tăng trưởng thực vật

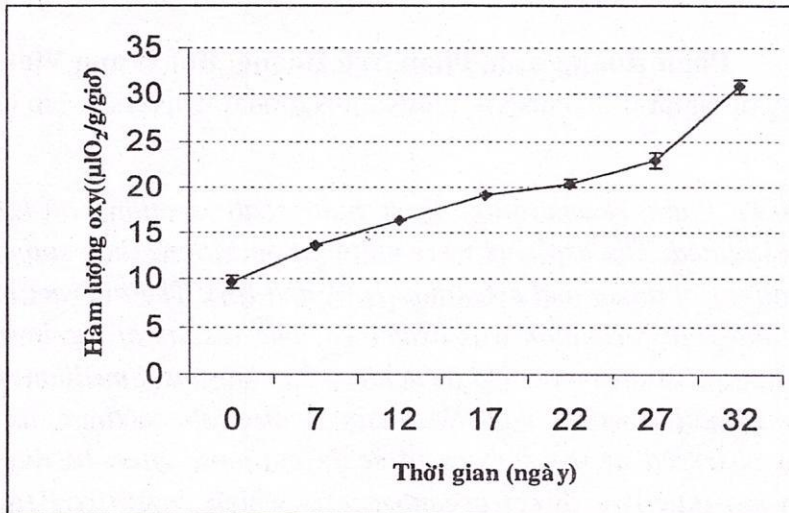
Trước khi các nốt chồi xuất hiện rõ sau 2 tuần nuôi cấy, nếu gibberelin và acid abscisic có khuynh hướng giảm thì auxin và cytokinin lại gia tăng rõ rệt (bảng 2). Điều này cho thấy sự cần thiết của auxin và cytokinin trong sự phát triển chồi từ vảy hành Huệ trắng.

Bảng 2: Hoạt tính của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong mẫu cây theo thời gian.

Hoạt tính chất điều hòa tăng trưởng thực vật (mg/l)	Thời gian (ngày)		
	0	7	12
Auxin	1,59 ± 0,00	1,46 ± 0,01	1,94 ± 0,00
Cytokinin	2,2 ± 0,01	2,24 ± 0,02	2,37 ± 0,03
Giberelin	3,21 ± 0,00	0,44 ± 0,04	0,71 ± 0,03
Acid abscisic	0,69 ± 0,01	0,66 ± 0,01	0,46 ± 0,00

3.3. Cường độ hô hấp

Cường độ hô hấp của mô cây gia tăng theo sự phát triển chồi từ vảy hành được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung NAA 1mg/l và BA 1mg/l (hình 1). Môi trường này vừa kích thích chức năng hô hấp (tạo ATP và các tiền chất cho các sinh tổng hợp) vừa kích thích khả năng tạo mới chồi của mô cây.

**Hình 1: Biểu đồ chỉ cường độ hô hấp của mô cây theo thời gian.**

3.4. Sự tạo rễ

Trên môi trường có bổ sung IAA 2 mg/l, các chồi tạo rễ mạnh nhất. Các rễ này phát triển theo thời gian, giúp các cây *in vitro* có bộ rễ đủ mạnh trước khi được đưa ra vườn ươm (bảng 3, ảnh 10).

Bảng 3: Sự tạo rễ từ chồi trên các môi trường có bổ sung IAA.

Môi trường	Số rễ / cây con	
	Sau 14 ngày	Sau 21 ngày
MS (Đối chứng)	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1
MS + IAA 0,5mg/l	1,8 ± 0,3	2,0 ± 0,6
MS+ IAA 1mg/l	1,6 ± 0,3	2,0 ± 0,4
MS + IAA 2mg/l	2,6 ± 0,7	3,0 ± 0,9

3.5. Sự tăng trưởng cây con trong vườn ươm

Ban đầu các cây *in vitro* cao khoảng 1-1,5cm, rễ dài 1-2cm. Sau 1 tháng trong nhà lưới, các cây cao 2-3 cm, có thêm 2-3 lá mới xanh tốt, rễ dài 2-4cm và phát triển bình thường (ảnh 11) so với các cây trồng từ củ (ảnh 9).

4. Kết luận

- Chồi phát triển từ vảy củ Huệ trắng tốt nhất trên môi trường MS có bổ sung BA 1mg/l và NAA 1 mg/l.
- Cây con *in vitro* tạo rễ tốt trên môi trường MS có bổ sung IAA 2 mg/l.
- Trên giá thể tro trấu, cát, xơ dừa được trộn theo tỉ lệ 2:1:1, các cây *in vitro* tăng trưởng tốt trong nhà lưới.

Trong tương lai, nếu điều kiện cho phép, chúng tôi sẽ tiếp tục nghiên cứu sự phát sinh hình thái trực tiếp từ các tế bào vùng vỏ của vảy hành.

IN VITRO PLANT REGENERATION FROM BULB SCALE SECTIONS OF *LILIUM LONGIFLORUM* THUNB.

Phan Hoang Anh, Phan Ngo Hoang, Bui Trang Viet

University of Natural Sciences – VietNam National University Ho Chi Minh City

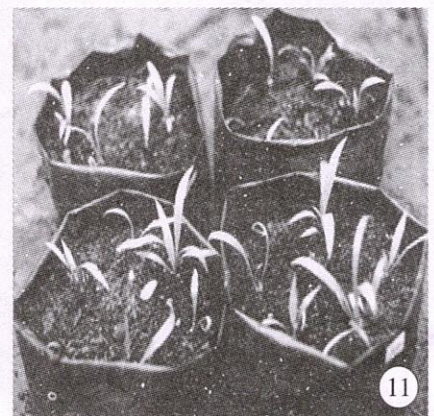
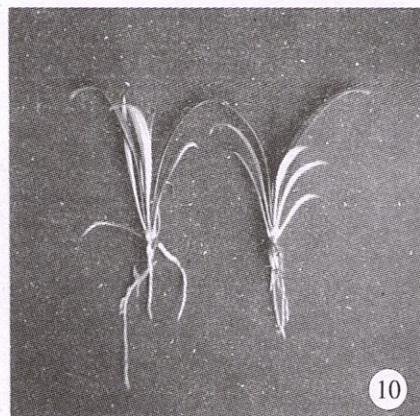
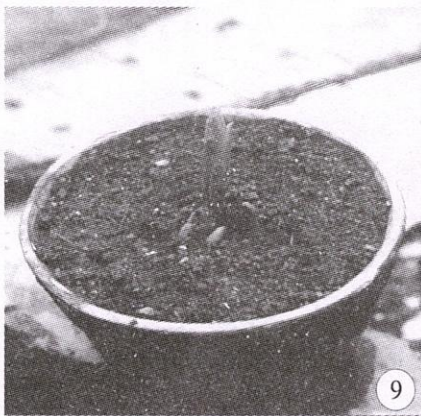
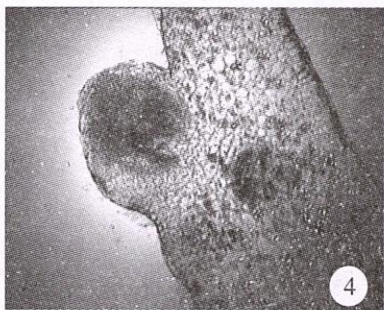
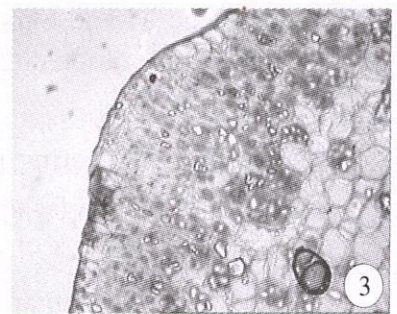
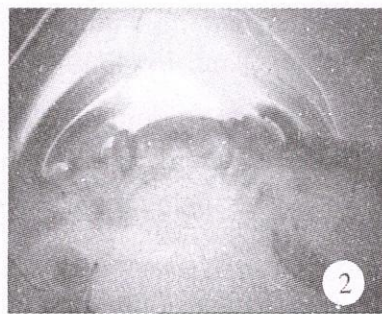
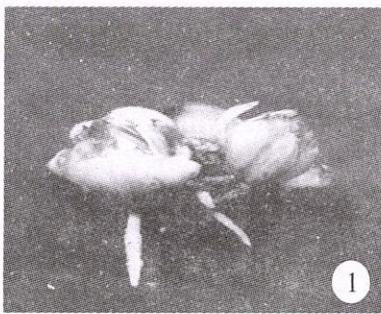
ABSTRACT: *Plant regeneration from bulb scale sections of Lilium longiflorum Thunb. was investigated. The explants were cultured on MS medium supplemented with the various combinations of auxin and cytokinin (NAA and BA). The interaction of NAA and BA on new bulblet and root formation was examined. The results of the investigation showed that maximum shoot development could be achieved on MS basal medium supplemented with 1 mg/l BA in combination with 1 mg/l NAA using bulb scale sections as explant. The bud primordia were observed at the surface of scale cuttings, after 12 days in culture. The explants underwent intensive direct organogenesis which could lead to the formation of shoots. An increase in auxin and cytokinin content and respiratory intensity, and a decrease in gibberellin and abscisic acid content were observed during this shoot formation. The bulblets obtained were transferred to MS medium supplemented with 2 mg/l IAA to facilitate the regeneration of normal roots.*

Keywords: *Lilium longiflorum*, plant regeneration, bulb scale, plant growth regulators.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Trang Việt, 2000. “Nuôi cấy mô thực vật“, tài liệu Cao học và Nghiên cứu sinh, Khoa Dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, 96 trang .
2. Bùi Trang Việt 1992. Tìm hiểu hoạt động của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật thiên nhiên trong hiện tượng rụng “bông” và “trái non” Tiêu (*Piper nigrum* L.). Tập san khoa học Đại học Tổng hợp TP.Hồ Chí Minh, số 1: 155-165.

3. Murashige T. and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*. 15: 473- 497.
4. Pandya H and Saxena OP. 2003. Differentiation of plantlets from callus and subsequent flowering in Lily. The 2nd international congress of Plant Physiology on Sustainable plant productivity under changing environment (8-12 January, 2003, New Delhi, India). Book of Abstracts, p. 312.
5. Sindhu SS and Pathania NS. 2003. Effect of certain plant growth regulators and their method of application on flower and bulb production in hybrid asiatic Lily. The 2nd international congress of Plant Physiology on Sustainable plant productivity under changing environment (8-12 January, 2003, New Delhi, India). Book of Abstracts, p. 314.



Ảnh 1: Củ Huệ trắng trước khi trồng trong vườn ươm

Ảnh 2: Mô phân sinh ngọn chồi củ Huệ trắng

Ảnh 3, 4 và 5: Lát cắt dọc qua chồi phát triển trên môi trường MS với NAA 1mg/l + BA 1mg/l sau 2, 4 và 6 tuần

Ảnh 6, 7 và 8: Sự phát triển chồi trên môi trường MS với NAA 1mg/l+BA 1mg/l sau 2, 4 và 6 tuần.

Ảnh 9: Cây con trồng từ củ Huệ trắng sau 1 tháng trồng trong chậu đất

Ảnh 10: Cây con từ vẩy, sau 1 tháng trong bịch nylon với giá thể tro trấu/ xơ dừa/cát

Ảnh 11: Rễ của các cây con từ vẩy, sau 1 tháng trong bịch nylon với giá thể tro trấu/ xơ dừa/cát