

NGHIÊN CỨU TẠO CỦ *IN VITRO* Ở CÂY HOA LAYƠN *GLADIOLUS* 'CARTAGO'

In vitro Corm Production of *Gladiolus* 'Cartago'

Nông Thị Huệ, Nguyễn Thị Phương Thảo

Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Địa chỉ email tác giả liên lạc: nthue86sh@gmail.com

TÓM TẮT

Kỹ thuật nhân giống *in vitro* đã được nghiên cứu và ứng dụng thành công trên nhiều đối tượng thực vật. Đối với hoa layơn, phương pháp tạo củ *in vitro* là một trong những phương pháp nhân giống hiệu quả đã được ứng dụng để nhân nhanh nguồn giống với số lượng lớn, đồng đều và đạt chất lượng tốt. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã khảo sát ảnh hưởng của sucrose, IBA, kiểu nuôi cấy đến sự hình thành củ *in vitro* từ chồi hoa layơn. Kết quả đã xác định được môi trường tạo củ thích hợp cho mô nuôi cấy là MS + 70 g/l sucrose + 1 mg/l IBA. Nên môi trường đặc thích hợp cho tạo củ *in vitro*, cho tỷ lệ hình thành củ từ cụm chồi đạt 100%, củ có chất lượng tốt, hệ số tạo củ cao nhất so với các kiểu nuôi cấy khác (bán lỏng, lỏng, lỏng lác), đạt 4,38 củ/mẫu.

Từ khoá: Củ *in vitro*, *Gladiolus*, hình thành củ, IBA, nuôi cấy lỏng lác, sucrose, vi nhân giống.

SUMMARY

Micropropagation techniques have been studied and applied successfully to a variety of plants. For *Gladiolus*, *in vitro* corm formation is one of the efficient methods which was applied to rapid multiplication of the tuber seed with large quantities, uniform and good quality. In this study, the effects of sucrose, IBA concentrations and cultural types on the *in vitro* corm formation were investigated. The results indicated that MS medium containing 1 mg/l IBA and 70 g/l sucrose was found to be the most suitable medium for *in vitro* corm formation. *In vitro* corms formation was high on solid MS medium and the rate of corm formation was the highest among all other culture methods including semiagar medium, liquid medium, and liquid shake medium, with 4.38 corms per explant after 12 weeks.

Key words: Corm formation, *in vitro* corm, *Gladiolus*, IBA, liquid shake medium, micropropagation, sucrose.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi layơn (*Gladiolus* L.) có khoảng 260 loài, trong đó 250 loài có nguồn gốc từ châu Phi, 10 loài từ Âu - Á, với trên 10.000 giống khác nhau. Ở Việt Nam có khoảng 90 giống đang được trồng làm hoa cắt (Đặng Văn Đông và cs., 2004). Theo Viện Nghiên cứu Rau quả Trung ương năm 2001, trong tập

đoàn giống được đưa vào trồng thử nghiệm, giống layơn "Cartago" có nguồn gốc từ Hà Lan là một trong những giống rất có triển vọng. Về đặc điểm hình thái, giống có thân mập, lá thẳng đứng, to bản, màu đỏ đẹp. Giống cho năng suất cao, chất lượng tốt, khả năng chống chịu tốt với sâu bệnh, đáp ứng được nhu cầu thị trường. Hiện nay, giống

hoa này được trồng nhiều tại Hoàn Bồ (Quảng Ninh), thành phố Bắc Giang (Bắc Giang)... và bước đầu được trồng thử nghiệm tại Gia Lâm (Hà Nội) (Đặng Văn Đông và cs., 2001). Điều này cho thấy, nhu cầu về giống hoa này ngày càng tăng và cần được nhân nhanh. Tuy nhiên, ở Việt Nam, các qui trình sản xuất củ giống hoa layon nói chung còn chưa được đề xuất, nguồn giống cung cấp cho sản xuất hiện nay chủ yếu dựa vào nhập nội, chất lượng củ giống thường rất kém do bị nhiễm sâu bệnh, đặc biệt kiến thức để điều khiển ngủ nghỉ, xử lý củ giống khi thu hoạch còn rất hạn chế. Nghiên cứu về nhân nhanh *in vitro* giống hoa layon đã được Dantu và Bhojwani (1987); Sen & cs., (1995); Grewal & cs., (1995); Kumar & cs., (1999); Priyakumari và Sheela (2005) thực hiện. Các nghiên cứu của Sutter (1986); Dickens & cs., (1986); Steinitz và Lilien - Kipnis (1989); Steinitz & cs., (1991); De Bruyn và Ferreira (1992); Dantu & cs., (1995); Dương Tấn Nhựt và cs. (2004, 2007) về tạo củ *in vitro* của hoa layon đã tạo được cây, củ sạch bệnh, hệ số nhân giống cao và rút ngắn được thời gian nhân giống. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm hiểu ảnh hưởng của một số yếu tố trong nuôi cấy đến khả năng tạo củ *in vitro* của giống 'Cartago', làm cơ sở cho việc đề xuất qui trình nhân nhanh giống hoa mới triển vọng này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Củ giống hoa layon *Gladiolus* 'Cartago' có nguồn gốc từ Hà Lan, do Viện Nghiên cứu Rau quả Trung ương cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp khử trùng mẫu

Củ giống được rửa bằng xà phòng rồi xả dưới vòi nước chảy nhiều lần. Sau đó mẫu

được xử lý với ethanol 70° trong 30 giây và rửa lại một lần bằng nước cất vô trùng. Tiếp tục khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,1% trong 20 phút, trong thời gian khử trùng lắc đều mẫu, sau đó rửa lại 4 - 5 lần bằng nước cất vô trùng.

Mẫu (chứa mắt ngủ) được cắt 0,5 - 1 cm theo chiều rộng và chiều dài của mẫu, rồi cấy mẫu vào môi trường nuôi cấy để tạo nguồn vật liệu ban đầu.

Các chồi đơn đồng nhất, cao 3 - 4 cm, có trạng thái sinh trưởng tốt và các cụm chồi (4 - 5 chồi đơn nhỏ) được sử dụng cho thí nghiệm tạo củ.

2.2.2. Môi trường nuôi cấy

Tất cả các thí nghiệm sử dụng môi trường MS cơ bản có bổ sung sucrose, các chất điều tiết sinh trưởng ở các nồng độ khác nhau tùy từng thí nghiệm, pH điều chỉnh ở 5,7.

Các loại môi trường sử dụng trong thí nghiệm tạo củ:

- Môi trường đặc: MS cơ bản có bổ sung 6,8 g/l agar.

- Môi trường bán lỏng: MS cơ bản có bổ sung 1/2 lượng agar so với môi trường đặc.

- Môi trường lỏng: MS cơ bản không bổ sung agar.

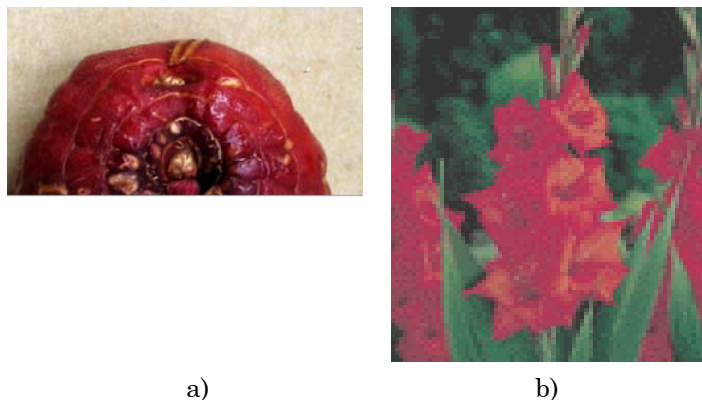
- Môi trường lỏng lác: MS cơ bản không bổ sung agar, được đặt trên máy lắc với tốc độ 100 vòng/phút.

2.2.3. Điều kiện nuôi cấy

Nhiệt độ 22 - 27°C; cường độ ánh sáng 2000 lux; thời gian chiếu sáng từ 16 giờ sáng đến 8 giờ tối.

Các thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi thí nghiệm được nhắc lại 3 lần, mỗi lần 6 bình, mỗi bình 3 mẫu.

Số liệu nghiên cứu được xử lý trên phần mềm IRRISTAT 4,0 và Excel.



Hình 1. Củ giống (a) và hoa Cartago (b)

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng sucrose đến sự tạo củ *in vitro* từ chồi đơn của hoa layon

Sau 12 tuần nuôi cấy, kết quả cho thấy nồng độ sucrose có ảnh hưởng khá tốt tới sự hình thành củ và chất lượng củ *in vitro* từ chồi layon. Ở tất cả các công thức thí nghiệm đều cho hệ số tạo củ (HSTC) cũng như kích thước củ cao hơn so với đối chứng (ĐC) (Bảng 1).

Khi tăng nồng độ sucrose từ 3 - 7%, hệ số tạo củ cũng tăng lên từ 1,0 - 1,41 củ/chồi, đồng thời kích thước củ cũng tăng lên từ 0,58 - 0,85 cm. Ở nồng độ sucrose cao 70 - 90 g/l, củ hình thành sớm hơn, tuần thứ 4 mẫu bắt đầu hình thành củ trong khi các công thức (CT) khác phải sau 5, 6 tuần nuôi cấy củ mới hình thành.

Kết quả chỉ ra ở nồng độ sucrose 70 g/l thì tỷ lệ hình thành củ và hệ số tạo củ đạt cao nhất đạt 66,67% và 1,41 củ/chồi, chất lượng chồi, củ tốt. Khi tăng nồng độ sucrose lên 90 g/l, HSTC lại giảm tuy nhiên không đáng kể. Điều này cho thấy, ở nồng độ đường cao đã ức chế sự hình thành củ. Các kết quả này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu của Dantu và Bhojwani (1995). Các tác giả đã nhận định 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, trọng lượng tươi của củ thấp và sucrose là nguồn cacbon có ảnh hưởng nhiều nhất cho quá trình tăng trưởng củ *in vitro*, nồng độ thích hợp nhất là khoảng 60 - 80 g/l. Tương tự, Grewal và cs. (1995) sử dụng những chồi đơn nuôi cấy trên môi trường lỏng có chứa 6 - 9% sucrose thì tất cả các chồi đều hình thành củ, đường kính củ 3 - 13 mm sau 4 tuần nuôi cấy.

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của IBA đến sự tạo củ *in vitro* từ chồi đơn và cụm chồi của hoa layon

Các loại chồi khác nhau cũng có ảnh hưởng nhất định đến sự tạo củ *in vitro* đặc biệt là hệ số tạo củ. Kết quả nghiên cứu sau 12 tuần cho thấy, IBA có ảnh hưởng tốt đến sự tạo củ *in vitro* ở cả chồi đơn và cụm chồi. Ở cả hai loại chồi đều có phản ứng giống nhau về sự tạo củ khi tăng nồng độ IBA từ 0,0 - 2 mg/l. Hầu hết các công thức có bổ sung IBA đều có hệ số tạo củ cao hơn so với đối chứng, chất lượng củ tốt và ở nồng độ IBA 1 mg/l đều cho hệ số tạo củ đạt cao nhất, tương ứng 4,38 củ/mẫu và 1,67 củ/mẫu khi sử dụng cụm chồi và chồi đơn. Kết quả cũng cho thấy nồng độ IBA cao không có lợi cho sự hình thành củ *in vitro* của hoa layon ở cả hai loại chồi vì khi tăng nồng độ IBA lên 2 mg/l thì các chỉ tiêu đánh giá sự hình thành củ *in vitro* đều giảm (Bảng 2a và 2b) (Hình 2a và 2b).

Bảng 1. Ảnh hưởng của hàm lượng sucrose đến sự tạo củ *in vitro* từ chồi đơn của hoa layon (sau 12 tuần)

CT	Tuần 4		Tuần 6		Tuần 8		Tuần 10		Tuần 12		Kích thước củ sau 12 tuần (mm)
	Nồng độ sucrose (g/l)	Tỷ lệ mẫu hình thành củ (%)	Hệ số tạo củ (củ)	Tỷ lệ mẫu hình thành củ (%)	Hệ số tạo củ (củ)	Tỷ lệ mẫu hình thành củ (%)	Hệ số tạo củ (củ)	Tỷ lệ mẫu hình thành củ (%)	Hệ số tạo củ (củ)	Hệ số tạo củ (củ)	
30 (ĐC)	0	0	5,56	1,00	11,17	1,00	16,67	1,00	22,22	1,00	58
50	55,60	1,00	27,78	1,20	38,89	1,14	50,00	1,11	55,56	1,30	67
70	16,67	1,33	33,33	1,33	50,00	1,22	61,11	1,36	66,67	1,41	85
90	16,67	1,33	27,78	1,20	38,89	1,14	55,56	1,30	55,56	1,39	78
CV%										5,30	
LSD5%										0,13	

Ghi chú : Nền môi trường: MS, pH : 5,7

Bảng 2a. Ảnh hưởng của nồng độ IBA đến hệ số tạo củ từ chồi đơn của hoa layon (sau 12 tuần)

Công thức	IBA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo củ (%)	Hệ số tạo củ (củ)	Củ nhỏ ≤ 50 mm		Củ nhỏ > 50 mm và < 90 mm		Củ lớn ≥ 90 mm		Đánh giá chất lượng củ
				(%)	mm	(%)	mm	(%)	mm	
1 (ĐC)	0,0	88,89	1,38	13,64	27	59,09	74	27,27	94	++
2	0,25	94,44	1,47	24,00	26	28,00	64	28,00	96	++
3	0,5	100,00	1,56	21,43	30	17,86	86	60,71	96	+++
4	1	100,00	1,67	10,00	34	26,67	58	63,33	98	+++
5	2	88,89	1,29	10,00	35	75,00	68	15,00	93	+
Loại củ (%)				16,80		38,40		44,80		
CV %			4,3							
LSD 5%			0,11							

Ghi chú : Nền môi trường: MS, pH : 5,7;

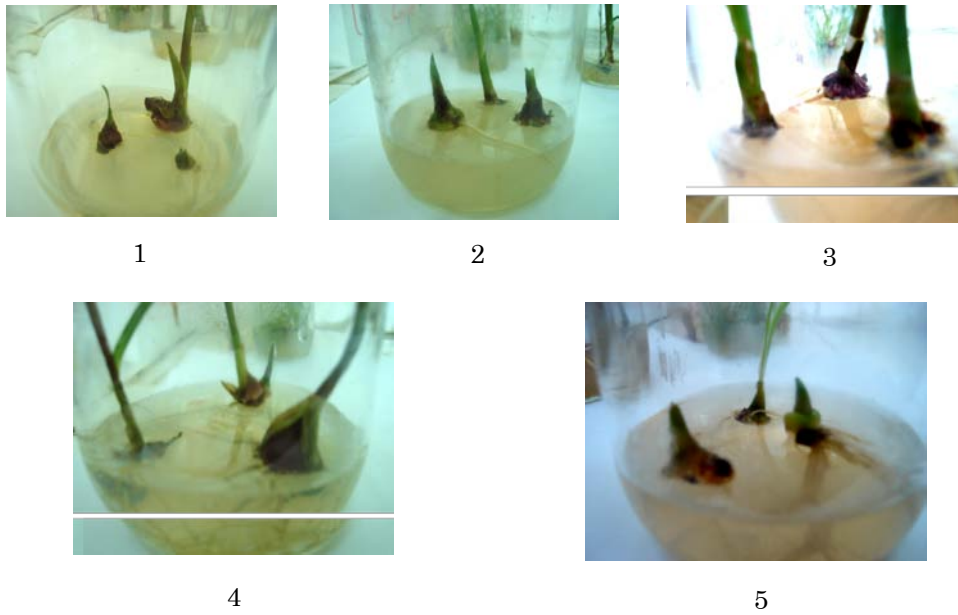
+++ : Củ tròn, to, màu sắc đặc trưng cho giống; ++ : Củ tròn, nhỏ, màu tím; + : Củ có dạng méo, màu tím nhạt

Bảng 2b. Ảnh hưởng của nồng độ IBA đến hệ số tạo củ từ cụm chồi của hoa layon (sau 12 tuần)

Công thức	IBA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo củ (%)	Hệ số tạo củ (củ)	Củ nhỏ ≤ 50 mm		Củ nhỏ > 50 mm và < 90 mm		Củ lớn ≥ 90 mm		Đánh giá
				(%)	mm	(%)	mm	(%)	mm	
1 (ĐC)	0,0	100	2,67	37,50	23	56,25	64	6,25	90	++
2	0,25	100	3,22	39,66	29	50,00	67	10,34	92	++
3	0,5	100	3,56	34,38	30	51,56	76	14,06	96	+++
4	1	100	4,38	31,65	46	53,16	79	15,19	97	+++
5	2	100	2,39	39,53	41	55,81	70	4,65	90	++
Loại củ (%)				35,96		53,08		10,96		
CV %			0,15							
LSD 5%			2,7							

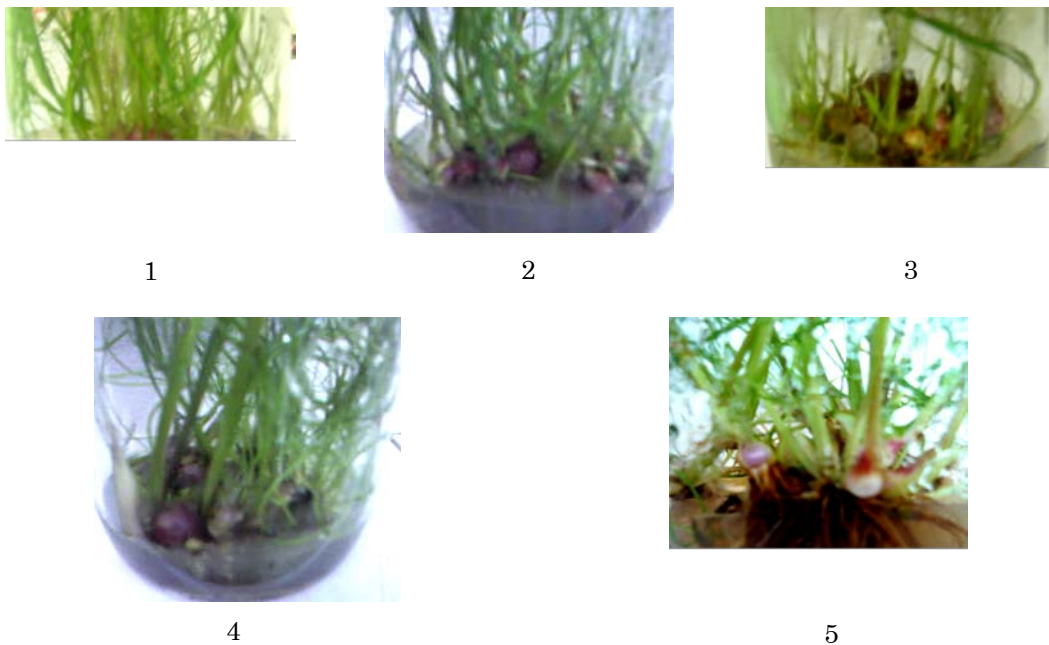
Ghi chú : Nền môi trường : MS , pH: 5,7

+++ : Củ tròn, to, màu sắc đặc trưng cho giống; ++ : Củ tròn, nhỏ, màu tím; + : Củ có dạng méo, màu tím nhạt



Hình 2a. Sự tạo củ từ chồi đơn của hoa layơn trên các môi trường khác nhau

1- Môi trường MS; 2- Môi trường MS + 0,25 mg/l IBA; 3- Môi trường MS + 0,5 mg/l IBA;
4- Môi trường MS + 1 mg/l IBA; 5- Môi trường MS + 2 mg/l IBA



Hình 2b. Sự tạo củ từ cụm chồi của hoa layơn trên các môi trường khác nhau

1- Môi trường MS; 2- Môi trường MS + 0,25 mg/l IBA; 3- Môi trường MS + 0,5 mg/l IBA;
4- Môi trường MS + 1 mg/l IBA; 5- Môi trường MS + 2 mg/l IBA

Kết quả cũng cho thấy, ở cả hai loại chồi đều hình thành các loại củ có kích thước khác nhau, nhưng tỷ lệ các loại củ này cũng khác nhau. Dựa vào kích thước củ hình thành đã phân ra 3 nhóm như sau: Củ nhỏ (≤ 50 mm); củ nhỏ (>50 mm và <90 mm); củ lớn (≥ 90 mm). Tiêu chuẩn để đưa củ trồng ngoài vườn ươm đó là củ tròn đều, màu tím đặc trưng cho giống, kích thước lớn hơn 50 mm, sự hình thành củ như vậy tạo điều kiện rất thuận lợi cho quá trình nhân giống bằng củ. Theo một số kết quả nghiên cứu, những củ con khỏe mạnh đạt kích thước trên 19,6 mm, được xử lý lạnh vài tuần trước khi trồng thì 90% số củ đều nảy mầm và sinh trưởng (Dantu và cs., 1995); (Roy và cs., 2006).

Đối với thí nghiệm này, việc sử dụng 2 loại chồi khác nhau đã tạo ra sự khác biệt rất rõ rệt về khả năng hình thành củ và loại củ. Hệ số tạo củ khi sử dụng chồi đơn cao nhất chỉ đạt 1,67 củ/mẫu thì ở thí nghiệm sử dụng cụm chồi, tất cả các công thức đều cho hệ số tạo củ cao hơn nhiều, đều đạt trên 2 củ/mẫu, kể cả CT 5 (2 mg/l) cho hệ số tạo củ thấp nhất cũng đạt 2,39 củ/mẫu.

Tỷ lệ các loại củ với kích thước khác nhau ở 2 loại chồi này cũng thay đổi lớn. Đối với thí nghiệm cụm chồi: tỷ lệ củ lớn thu được đạt thấp nhất 10,96%, cao nhất là củ nhỏ đạt 53,08%, tiếp là củ nhỏ đạt 35,96%. Trong khi đó, thí nghiệm sử dụng chồi đơn lại cho kết quả khác biệt nhiều: tỷ lệ củ lớn,

củ nhỏ cao nhất đạt 63,33% (tăng 53,08 - 63,33%) và 26,67% (tăng 10,96 - 26,67), củ nhỏ chỉ chiếm 10% (giảm 35,96 - 10%). Sự hình thành củ ở thí nghiệm cụm chồi diễn ra chậm hơn so với thí nghiệm chồi đơn nhưng củ ra nhanh và tập trung hơn. Qua đó cho thấy, việc sử dụng cụm chồi trong tạo củ *in vitro* của hoa layon cho hiệu quả cao hơn so với khi sử dụng chồi đơn (Hình 2a và Hình 2b).

Như vậy đối với tạo củ *in vitro* của hoa layon thì việc sử dụng cụm chồi cho kết quả tốt và công thức tạo củ tối ưu là MS + 1 mg/l IBA + 70 g/l sucrose, cho hệ số tạo củ cao 4,38 củ/mẫu sau 12 tuần, củ tròn đẹp.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của kiểu nuôi cấy đến sự hình thành củ *in vitro* từ chồi hoa layon

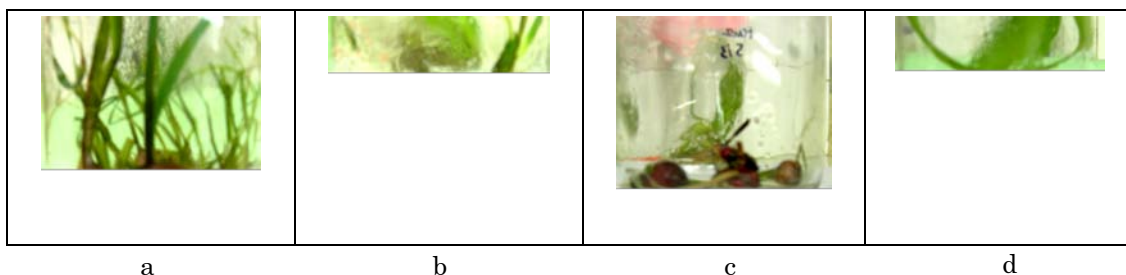
Thí nghiệm sử dụng chồi đơn được nuôi cấy trên môi trường tạo củ tối ưu MS + 1 mg/l IBA + 70 g/l sucrose trên các kiểu môi trường: đặc, bán lỏng, lỏng và lỏng lác.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, do thí nghiệm sử dụng chồi đơn nên ở các môi trường hầu như không nhân củ mà chỉ tăng về kích thước củ. Khi nuôi cấy trên môi trường đặc, sự hình thành củ diễn ra chậm hơn so với nuôi cấy trên các kiểu môi trường khác, nhưng lại cho hệ số tạo củ cao hơn, chất lượng củ cũng tốt hơn. Trên tất cả các môi trường, chồi đều sinh trưởng mạnh, rễ hình thành nhiều (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của các kiểu nuôi cấy đến sự hình thành củ *in vitro* từ chồi đơn của hoa layon (sau 12 tuần)

MT	Tỷ lệ hình thành củ (%)	HSTC (củ/mẫu)	Chiều cao chồi (cm)	Chiều dài rễ (cm)	Củ nhỏ ≤ 50 mm		Củ nhỏ > 50 mm và < 90 mm		Củ lớn ≥ 90 mm	
					(%)	mm	(%)	Mm	(%)	mm
Đặc	100	1,56	9,33	5,83	29,63	23	33,33	77	37,04	92
Bán lỏng	88,89	1,00	10,31	4,89	-	-	68,75	69	31,25	94
Lỏng	100	1,00	6,44	3,50	-	-	31,25	74	68,92	100
Lỏng lác	100	1,00	16,67	5,67	-	-	72,27	70	27,78	98

Ghi chú :MT : môi trường, HSTC : Hệ số tạo củ, (-) : không tạo thành củ



Hình 3. Sự tạo củ *in vitro* từ chồi đơn của hoa layơn trong các kiểu nuôi cấy khác nhau (sau 12 tuần)

3a- Môi trường đặc; 3b- Môi trường bán lỏng;

3c- Môi trường lỏng; 3d- Môi trường lỏng lác

Trên môi trường đặc hệ số tạo củ đạt 1,56 củ, hình thành nên các loại củ có kích thước khác nhau trong đó tỷ lệ củ lớn đạt cao nhất 37,04%. Củ hình thành khá muộn song chất lượng củ tốt, rắn chắc, củ màu tím đặc trưng cho giống.

Ở các kiểu môi trường khác, sự hình thành củ diễn ra nhanh hơn, khoảng tuần thứ 4 sau nuôi cấy đã bắt đầu hình thành củ, không tạo ra củ con, trong đó sự hình thành củ sớm nhất trên môi trường lỏng khoảng tuần thứ 3 sau nuôi cấy và 100% các chồi đều tạo củ sau 7 tuần. Một điều đặc biệt, các chồi sinh trưởng rất mạnh mẽ về kích thước trên môi trường nuôi cấy lỏng lác, điều này đã gợi ý sử dụng kiểu môi trường này trong nghiên cứu nhân chồi *in vitro* của hoa layơn.

Như vậy, trong các kiểu môi trường khác nhau thì môi trường đặc tuy nuôi cấy trong thời gian dài nhưng lại có phản ứng tốt nhất đối với sự tạo củ *in vitro* của giống hoa layơn “Cartago”, cho số lượng củ lớn nhiều và chất lượng tốt nhất. Theo nhiều tác giả khác, môi trường lỏng mới cho kết quả tốt nhất. Grewal và cs. (1995) cho thấy, môi trường 1/2 MS lỏng + 4 mg/l IBA +6% sucrose tốt nhất cho quá trình tạo củ ở một số giống hoa layơn. Theo Dantu và Bhojwani (1995), môi trường lỏng chứa 6% đường, trong điều kiện chiếu

sáng thì 96% chồi hình thành củ. Dương Tấn Nhật và cs. (2007) cho rằng, chồi hình thành củ tốt nhất trên môi trường đặc 1/2 MS + 0,375 mg/l IBA + 60 g/l sucrose + 8 g/l agar, còn môi trường lỏng không phù hợp cho việc tạo củ.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Sử dụng dạng cụm chồi nuôi cấy trên môi trường có bổ sung 70 g/l sucrose và 1 mg/l IBA cho hiệu quả cao nhất trong việc hình thành củ *in vitro*, cho tỷ lệ hình thành củ đạt 100%, hệ số tạo củ cao đạt 4,38 củ/mẫu, củ tròn, màu sắc đẹp.

Sucrose có ảnh hưởng đến sự hình thành củ và chất lượng củ *in vitro*, kết quả chỉ ra ở nồng độ 70 g/l sucrose tỷ lệ hình thành củ và HSTC đạt cao nhất đạt 66,67% và 1,41 củ/chồi, chất lượng chồi, củ tốt.

Kiểu nuôi cấy đặc thích hợp cho sự tạo củ *in vitro* của hoa layơn, củ tạo thành có chất lượng tốt, màu sắc đặc trưng cho giống.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục nghiên cứu nâng cao hệ số nhân *in vitro* và đánh giá củ *in vitro* ở giai đoạn vườn ươm nhằm tiến tới xây dựng quy trình nhân giống cây hoa Layơn “Cartago”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Conhen, A., Barzilay (1991). Miniature *Gladiolus* cultivars bred for winter flowering. *Hort Scientia*. 26:2, p.216- 218.
- Dantu, P.K., Bhojwani, S.S. (1987). *In vitro* rapid shoot proliferation and corm development on *Gladiolus grandiflorus* cv. Redbrand. *Plant Cell Tiss Cult* 5 : 7 - 12
- 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.
- Dương Tấn Nhật, Lê Thị Diễm, Đặng Thị Thu Thủy, Nguyễn Duy (2007). Ảnh hưởng của succarose, IBA, điều kiện nuôi cấy lên sự hình thành củ *in vitro* từ chồi hoa layon (*Gladiolus* spp.). *Tạp chí Công nghệ sinh học*, tập 5, số 1, tr. 67 -75.
- Đặng Văn Đông, Đinh Thế Lộc (2004). Công nghệ trồng hoa cho thu nhập cao - Hoa Lily. NXB. Lao động – Xã hội.
- Đặng Văn Đông, Đỗ Thị Lưu (2001). Báo cáo kết quả lai tạo một số giống layon ở Hà Nội. Viện Nghiên cứu Rau quả.
- Grewal, M.S., Arora, J.S., Gossal, S.S. (1995). Micropropagation of *Gladiolus* through *in vitro* cormlets production. *Plant cell tissue and organ culture* 5(1): 27- 33.
- Kumar, A., Sood, A., Palni, L.M.S., Gupta, A.K. (1999). *In vitro* propagation of *Gladiolus hybridus* Hort: Synergistic effect of heat shock and sucrose on morphogenesis. *Plant cell tissue and organ culture* 57: p.105 – 112.
- Nhut, D.T., Jaime, A., Teixeira da Silva, Huyen, P.X., Paek, K.Y. (2004). The importance of explant source on regeneration and micropropagation of *Gladiolus* by liquid shake culture. *Scientia Horticulturae* 102, p.407 – 414.
- Prasad, V.S.S., Gupta, S.D. (2006). *In vitro* shoot regeneration of *Gladiolus* in semi – solid agar vesus liquid cultures with support systems. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Vol.87, Number 3, December 2006, p.263-271(9).
- Priyakumari, Sheela.V.L. (2005). Micropropagation of *Gladiolus* cv. “Peach Blossom” through enhanced release of axillary buds. *Journal of Tropical Agriculture* 43(1- 2), p.47- 50.
- Roger, Alan (1998). Cut flowers, study of marior market international trade - Centre unetad/WTO.Geneve
- Sen, J., Sen., S., (1995). Two-step bud culture technique for a high frequency regeneration of *Gladiolus* corms. *Scientia Horticulture* 64 : 133 - 138.
- Roy, S.K., Gaurab, G., Tanoy B., Binoy K.M., Siraj D., Kalyan, K.M., (2006). Enhancement of *in vitro* micro corm production in *Gladiolus* using alternative matrix. *African Journal of Biotechnology*, Vol.5 (12), pp. 1204 - 1209
- Steinitz, B., Cohen, A., Golberg, Z., Kochba , M. (1991). Precocious *Gladiolus* corm formation in liqid shake cultures. *Plant cell tissue and organ culture* 26 : 63- 70
- Steinitz, B., Lilien- Kipnis H (1989). Control of precocious *Gladiolus* corm and cormel formation in tissue culture. *J. of Plant Physiol* 135 : 495 – 500.