NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH IN VITRO CÂY HOA LOA KÈN (*Lilium poilanei* Gapnep)

Study on Rapid Micropropagation of *Lilium poilanei* Gapnep

Nguyễn Thị Phương Thảo[1], Nông Thị Huệ[1], Vũ Quang Khánh, Nguyễn Hữu Cường[2]

Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội
Khoa Nông học, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội
Địa chỉ email tác giả liên hệ: nthue86sh@gmail.com
Ngày gửi bài: 27.06.2011; Ngày chấp nhận: 25.10.2011

TÓM TẮT

Ở Việt Nam hiện có 3 loài hoa loa kèn hoang dại thuộc chi *Lilium* được ghi nhận là *Lilium brownii* F.E Brown, *Lilium poilanei* Gagnep và *Lilium arboricola*. Trong đó, *Lilium poilanei* Gapnep là một nguồn gen rất hiếm trên thế giới với nhiều đặc điểm quí và đây chính là những nguồn gen rất ý có nghĩa trong chọn tạo giống. Hơn thế nữa ở Việt Nam loài hoa này đã từng bị khai thác nghiêm trọng, do vậy việc bảo tồn và phát triển nguồn gen này trong chọn tạo giống *Lilium* là rất cần thiết. Nghiên cứu này nhằm tìm ra các thông số kỹ thuật thích hợp cho quy trình nhân in vitro cây *Lilium poilanei* Gapnep từ mô vẩy. Kết quả đã xác định được môi trường tái sinh chồi thích hợp cho mô nuôi cấy là MS + 0,5 mg/l BA + 0,5 mg/l αNAA + 30g/l sucrose, trên môi trường này tỷ lệ chồi tái sinh 83,33%, 2,67 chồi/mẫu sau 8 tuần. Hệ số nhân chồi đạt cao nhất 4,13 lần, chiều cao trung bình cụm chồi đạt 2,64 cm trên môi trường MS chứa 1 mg/l BA và 0,25 mg/l αNAA, Các chồi có chiều cao 4 - 5 cm được sử dụng tạo rễ in vitro. Tỷ lệ chồi ra rễ đạt được cao nhất (93,33%) trên môi trường MS chứa 1 g/l than hoạt tính sau 4 tuần.

Từ khóa: *Lilium*, *Lilium poilanei* Gapnep, nhân giống vô tính in vitro, BA, kinetin, than hoạt tính

SUMMARY

In Vietnam, the genus Lilium coposed of three wild species: Lilium brownii F.E Brown, Lilium poilanei Gagnep and Lilium arboricola. Among them, Lilium poilanei Gapnep is an extremely rare species with several good characteristics and presents a valuable germplasm for breeding program. Moreover, this species has been seriously exploited in Vietnam, thus, conservation and development strategy is necessary for this germplasm. This study was carried out on Lilium poilanei Gapnep in order to establish a protocol for rapid propagation from bulb scales for this species. The results indicated that MS medium containing 0.5 mg/l BA and 0.5 mg/l αNAA was found to be the most suitable medium for in vitro shoot regeneration, the rate of regenerated shoots was 83.33% with 2.67 shoots per explant after 8 weeks. The highest rate of shoot propagation was 4.13 times after 8 weeks, the average height of shoot was 2.64 cm on MS medium adding 1 mg/l BA and 0.25 mg/l αNAA. The shoots were transferred to rooting media by the addition of 1g/l activated charcoal and the rate of root formation was 93.33% after 4 weeks.

Keywords: Activated- charcoal, BA, *Lilium*, *Lilium poilanei* Gapnep, Kinetin; micropropagation.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Loa kèn (*Lilium*) là một loài hoa đẹp và là một trong những sản phẩm quan trọng của ngành công nghiệp hoa thế giới. Chi *Lilium* (*Lilium* ssp.) bao gồm khoảng 100 loài, được phân loại thành 7 nhóm (De Jong, 1974). Hơn một nửa số này có xuất xứ từ châu Á (Beattie và White, 1993), trong đó 2 nhóm quan trọng nhất là *Lilium longiflorum* (Easter Loa kèn) và *Lilium hybrids* (gồm Asiatic Loa kèn, Oriental Loa kèn) rất đa dạng, phong phú về hình thái, màu sắc. Hiện nay việc lai tạo giữa các nhóm *Lilium* để tạo

ra các giống có bản sắc riêng, phù hợp với điều kiện sinh thái, khí hậu mỗi vùng và cải thiện được các đặc tính của các giống lai đang là xu hướng trong công tác lai tạo giống Loa kèn. Theo thống kê của Đặng Văn Đông và Đinh Thế Lộc (2008) thì hiện nay Trung Quốc có khoảng 460 giống, 280 biến chủng (chiếm 1/2 tổng số hoa Loa kèn trên thế giới), Nhật bản có 145 giống trong đó khoảng 19 giống đặc trưng của Nhật, Hà Lan có 302 giống trong đó 80% giống là do chính Hà Lan tạo ra, Hàn Quốc có khoảng 110 giống trong đó 30 giống mang đặc trưng của nước này. Theo Phạm Hoàng Hộ, 1999 ở Việt Nam, ngoài 2 loài được trồng phổ biến là *L. longiflorum* Thunb và *L. lancifolium*, hiện có 3 loài hoa loa kèn hoang dại thuộc chi *Lilium* được ghi nhận là *Lilium brownii* F.E Brown) mọc hoang dại trên núi đá, các đồi cỏ ở Bắc Thái, Cao Lạng, loài *Lilium poilanei* Gagnep và *Lilium arboricola* có ở đồi cỏ Sapa, Lào Cai. Trong số này, *Lilium poilanei* Gapnep đang là một loài hoa rất hiếm trên thế giới, nguồn gen mang nhiều đặc điểm quí như màu sắc đa dạng, hoa bền đẹp và có hương thơm. Đây chính là những nguồn gen rất có nghĩa trong chọn tạo giống. Tuy nhiên, theo dữ liệu của Royal Horticulture Society (RHS) thì hiện nay chưa có công bố nào về việc sử dụng nguồn gen này làm vật liệu để tạo ra các giống thương mại. Hơn thế nữa, ở Việt Nam loài hoa này đã từng bị khai thác nghiêm trọng để bán sang Trung Quốc, chính vì vậy việc bảo tồn và phát triển nguồn gen này trong chọn tạo giống *Lilium* là rất cần thiết. Nghiên cứu này nhằm tìm ra các thông số kỹ thuật thích hợp cho quy trình nhân in vitro cây *Lilium poilanei* Gapnep làm cơ sở cho việc nhân nhanh các nguồn gen ưu tú phục vụ công tác chọn tạo giống mới.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu

Mô vảy củ hoa *Lilium poilanei* Gagnep (được thu thập ở Sapa - Lào Cai)

Hình 1. Lilium poilanei Gapnep

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Xử lý mẫu trước khử trùng: Củ hoa loa kèn được rửa sạch, bóc tách lấy các lớp vảy. Các vảy này được rửa sạch dưới vòi nước, ngâm trong xà phòng 15 phút, lắc, sau đó rửa sạch dưới vòi nước và đưa vào buồng cấy vô trùng.

Khử trùng: Trong buồng cấy vô trùng, tráng qua 1 lần bằng nước cất vô trùng, sau đó mẫu được xử lý với ethanol 70^0 trong 30 phút. Tiếp tục mẫu được xử lý bằng $HgCl_2$ 0,1% trong 15 phút, trong thời gian khử trùng lắc đều mẫu, sau đó tráng lại 4 - 5 lần bằng nước cất vô trùng. Cắt vảy củ thành các mẫu có kích thước 7-8 mm chiều rộng và 11-12 mm chiều dài cấy vào môi trường đã chuẩn bị sẵn.

Tất cả các thí nghiệm sử dụng môi trường nuôi cấy MS cơ bản có bổ sung sucrose, các chất điều tiết sinh trưởng ở các nồng độ khác nhau tuỳ từng thí nghiệm, pH điều chỉnh ở 5,7. Tách lấy từng chồi đơn thu được từ môi trường tái sinh chồi cấy vào môi trường nhân nhanh đã chuẩn bị. Chồi *Lilium poilanei* Gapnep sau giai đoạn nhân nhanh cao 4 -5 cm, sinh trưởng khỏe mạnh, lá

xanh, cụm chồi được chuyển sang môi trường ra rễ.

Điều kiện nuôi cấy: Nhiệt độ: 22 - 27^{0}C; cường độ ánh sáng 2000 lux; thời gian chiếu sáng: 16giờ sáng/ 8 giờ tối. Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần, mỗi lần 10 bình, mỗi bình 3 mẫu.

Chỉ tiêu theo dõi định kỳ 1 tuần/lần trong nghiên cứu bao gồm tỷ lệ sống (%), tỷ lệ tạo callus (%), tỷ lệ tạo rễ (%), tỷ lệ tạo chồi (%), số chồi/mẫu cấy (chồi), hệ số nhân (lần), chiều cao trung bình chồi (cm), số lá/ cây (lá).

Số liệu được xử lý trên phần mềm IRRRISTAT 4.0 và Excel, LSD ở mức ý nghĩa 5%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo vật liệu khởi đầu

Trong sản xuất giống hoa loa kèn có thể sử dụng nhiều bộ phận khác nhau để làm vật liệu khởi đầu trong nuôi cấy *in vitro* như vảy củ, đoạn thân, mô lá, cánh hoa...Một số nghiên cứu của Robb (1957), Hackett (1969), Allen (1974), Aderson (1977), Novak và Petru (1981), Takayama và Wasama (1983), Varshney & cs. (2000) đã kết luận rằng vảy củ loa kèn là vật liệu tốt nhất cho quá trình tái sinh chồi. Chính vì vậy vảy cú được sử dụng là nguồn mẫu đưa vào nuôi cấy.

Vanaartrijk và Blom-Barnhoorn (1984) đã nghiên cứu vai trò của α-NAA và BA trong khả năng phát sinh hình thái của vảy củ. Theo nhóm tác giả này, α-NAA đóng vai trò quyết định đến sự tái sinh chồi, số chồi/vảy và sự tăng trưởng về khối lượng của củ khi dùng ở nồng độ thấp. Ngược lại BA hoàn toàn không ảnh hưởng đến sự tái sinh chồi song lại thúc đẩy quá trình sinh trưởng của các chồi tái sinh. Vì vậy, nghiên cứu này tìm hiểu ảnh hưởng của α-NAA, BA đến khả năng phát sinh hình thái của mẫu cấy *Lilium poilanei* Gapnep.

3.1.1. Ảnh hưởng của α-NAA đến khả năng phát sinh hình thái của mô vẩy củ

Bảng 1. Ảnh hưởng của α-*NAA* đến khả năng phát sinh hình thái của mô vẩy củ *Lilium poilanei* Gapnep (sau 8 tuần nuôi cấy)

CT	α-NAA (mg/l)	Tỷ lệ sống (%)	Tạo callus (%)	Tạo rễ (%)	Tạo Chồi (%)	Số chồi /mẫu cấy (chồi)
1 (ĐC)	0	100	0	0	0	0
2	0,1	96,67	0	20,00	40,00	1,13
3	0,5	90,00	0	50,00	26,67	0,87
4	1,0	86,67	0	73,33	10,00	0,40
		LSD(5%)				0,18
		CV(%)				2,5

Ghi chú: Nền môi trường: MS + 30g/l đường + 6,5 g/l agar, pH: 5,7, CT: Công thức, ĐC: đối chứng

Sau 8 tuần theo dõi, α-NAA được bổ sung vào môi trường nuôi cấy đã có tác động đến sự phát sinh hình thái của mẫu cấy. Ở các công thức khác nhau thì mức độ tác động là khác nhau, công thức đối chứng không bổ sung α-NAA không có hiện tượng phát sinh hình thái (Bảng 1). Trên tất cả các công thức, không có sự phát sinh hình thái theo hướng tạo callus (tỷ lệ mẫu tạo callus là 0%). α-NAA kích thích khả năng tái sinh tạo rễ và tạo chồi ở mô vẩy củ. Công thức có bổ sung 0,1mg/l α-NAA, cho tỷ lệ tạo chồi cao đạt 40% và số chồi đạt 1,13 chồi/mẫu cấy. Khi tăng nồng độ α-NAA thì tỷ lệ mẫu tạo rễ tăng và tỷ lệ mẫu tạo chồi có xu hướng giảm. Ở công thức có bổ sung 1mg/l α-NAA tỷ lệ tạo chồi chỉ còn 10% với số chồi đạt 0,4 chồi/mẫu cấy. Như vậy việc bổ sung α-NAA ở nồng độ thấp vào môi trường nuôi cấy có tác dụng làm cho mẫu cấy phát sinh hình thái theo hướng tạo chồi, tuy nhiên tỷ lệ tạo chồi và số chồi trên một mẫu cấy thấp.

Công thức bổ sung α-NAA ở nồng độ thấp 0,1 mg/l cho mô vảy củ làtốt nhất. Ở công thức này cho số chồi trên mẫu cấy lớn nhất đạt 1,13 chồi/mẫu cấy sau 8 tuần nuôi cấy.

3.1.2. Ảnh hưởng của BA đến khả năng phát sinh hình thái của vẩy củ

BA là chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin có tác dụng làm tăng sự phân chia tế bào, kích thích mẫu nuôi cấy theo hướng tạo chồi. Bong Hee Han và cộng sự, 2004 đã chỉ ra rằng trên môi trường cơ bản MS có bổ sung 2,2 μM BA là thích hợp nhất cho sự tái sinh chồi của mô vảy củ. Trong thí nghiệm này, BA được sử dụng với dải nồng độ 0,1 - 1,0 mg/ bổ sung vào môi trường nuôi cấy cũng có tác động tới sự phát sinh hình thái của mẫu cấy (Bảng 2). Ở công thức đối chứng, không bổ sung BA thì không có sự phát sinh hình thái. Tất cả các công thức có bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy chỉ kích thích mẫu cấy phát sinh hình thái theo hướng tạo callus và tạo chồi. Khi tăng nồng độ BA từ 0,1 mg/l lên 1,0 mg/l thì tỷ lệ tạo callus và tạo chồi tăng tương ứng 26,67 - 56,67% (tạo callus) và 16,67 - 73,33% (tạo chồi), đồng thời số chồi/mẫu cấy cũng tăng lên và đạt cao nhất ở công thức có bổ sung 1mg/l BA với 2,03 chồi/mẫu cấy. Như vậy việc bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy có tác dụng khá tốt đối với sự phát sinh hình thái của mẫu cấy và tỏ ra thích hợp hơn bổ sung α-NAA (Auxin) cho việc tái sinh mô vẩy củ theo hướng tạo chồi.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BA đến khả năng tái sinh của mô vẩy củ *Lilium poilanei* Gapnep (sau 8 tuần nuôi cấy)

CT	BA (mg/l)	Tỷ lệ sống (%)	Tạo callus (%)	Tạo rễ (%)	Tạo Chồi (%)	Số chồi /mẫu cấy (chồi)
1 (ĐC)	0	100	0	0	0	0
2	0,1	93,33	26,67	0	16,67	0,60
3	0,5	93,33	40,00	0	60,00	1,77
4	1,0	83,33	56,67	0	73,33	2,03
		LSD(5%)				0,22
		CV(%)				1,4

Ghi chú: Nền môi trường: MS + 30g/l đường + 6,5 g/l agar, pH: 5,7, CT: Công thức, ĐC: đối chứng

Với mục đích kích thích mẫu cấy phát sinh hình thái theo hướng tạo chồi thì bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy cho kết quả khả quan. Công thức tối ưu là 1 mg/lBA và cho tỷ lệ mẫu cấy tái sinh tạo chồi cao đạt 2,03 chồi/mẫu cấy.

3.1.3. Ảnh hưởng của BA và α-NAA đến khả năng phát sinh hình thái của vẩy củ

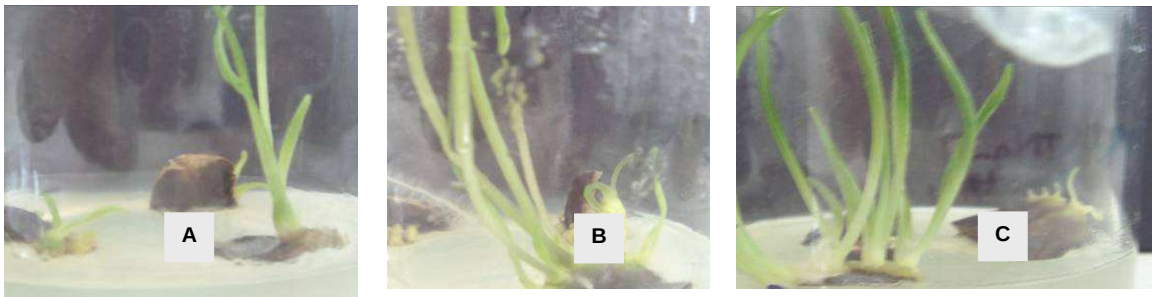
Năm 1974, Musashige đã chỉ ra rằng quá trình phát sinh hình thái mẫu cấy phụ thuộc vào tỷ lệ auxin/cytokinin trong môi trường nuôi cấy. Thí nghiệm này, sự kết hợp BA (0,1 mg/l và 0,5 mg/l) và α-NAA (0,1; 0,5 và 1,0 mg/l) đã cho kết quả trái ngược nhau về chỉ tiêu số chồi/mẫu cấy đối với sự phát sinh hình thái của mô vẩy củ (Bảng 3). Khi bổ sung BA ở nồng độ thấp 0,1mg/l kết hợp α-NAA từ 0,1 - 1mg/l thì số chồi trên một mẫu cấy sẽ giảm dần tương ứng giảm từ 1,10 chồi/mẫu còn 0,63 chồi/mẫu. Trong khi đó khi bổ sung BA ở nồng độ 0,5 mg/l kết hợp nồng độ α-NAA thì số chồi trên một mẫu cấy có xu hướng tăng dần. Công thức 0,5 mg/lBA + 0,5mg/l α-NAA cho số chồi trên một mẫu cấy cao nhất là đạt 2,67 chồi/ mẫu cấy. Tuy nhiên khi tiếp tục tăng nồng độ α-NAA lên 1mg/l thì số chồi trên một mẫu cấy giảm chỉ còn 2,40 chồi. Như vậy có thể thấy rằng, việc kết hợp BA ở nồng độ thấp với α-NAA không có tác dụng tốt đối với sự tạo chồi của mô vảy củ, và ngược lại BA ở nồng độ 0,5 kết hợp với α-NAA có tác dụng tốt đối với sự tạo chồi.

Như vậy công thức tốt nhất đối với sự tạo chồi của mẫu cấy là môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BA + 0,5mg/l α-NAA, số chồi trên một mẫu cấy đạt 2,67 chồi.

Bảng 3. Ảnh hưởng của BA và α-NAA đến khả năng phát sinh hình thái của mô vẩy củ *Lilium poilanei* Gapnep (sau 8 tuần nuôi cấy)

CT	BA (mg/l)	α-NAA (mg/l)	Tỷ lệ sống (%)	Tạo callus (%)	Tạo rễ (%)	Tạo Chồi (%)	Số chồi /mẫu cấy (chồi)
1	0,1	0,1	93,33	10,00	16,67	33,33	1,10
2		0,5	93,33	16,67	20,00	20,00	0,80
3		1,0	86,67	20,00	33,33	10,00	0,63
4	0,5	0,1	86,67	23,33	6,67	50,00	1,90
5		0,5	83,33	26,67	13,33	76,67	2,67
6		1,0	90,00	36,67	20,00	63,33	2,40
			LSD5%				0,25
			CV%				1,6

Ghi chú: Nền môi trường: MS + 30g/l đường + 6,5 g/l agar, pH: 5,7, CT: Công thức



Hình 2. Sự phát sinh hình thái của mô vẩy củ hoa Lilium poilanei Gapnep

Ghi chú: (A) MS + 0,1 mg/l α-NAA; (B) MS + 1 mg/l BA; (C) MS + 0,5 mg/l BA + 0,5 mg/l α-NAA

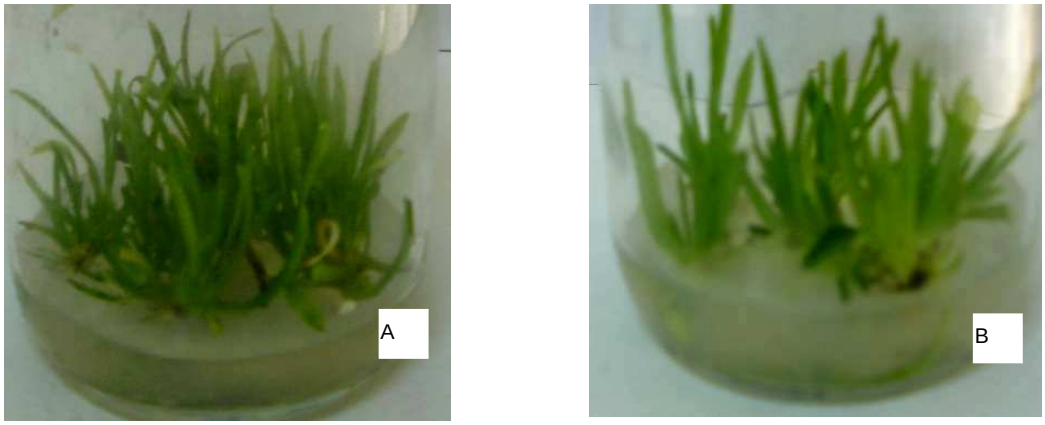
3.2. Giai đoạn nhân nhanh

Theo Murashige và cộng sự (1962) cytokinin được bổ sung càng cao trong môi trường nuôi cấy sẽ kích thích sự tạo chồi của mẫu cấy càng lớn. Đồng thời, sự phối hợp cytokinin và auxin ở nồng độ thấp cũng có tác dụng tích cực cho quá trình này. Hơn nữa, kết quả của thí nghiệm ảnh hưởng của α-NAA đến sự tạo chồi của mô vảy củ *Lilium poilanei* Gapnep trong bài báo cũng đã nhận định nồng độ thấp của α-NAA có tác dụng tốt hơn so với nồng độ cao đối với sự tạo chồi. Chính vì vậy sử dụng α-NAA ở nồng độ 0,25 mg/l kết hợp với dải nồng độ BA từ 0,5 - 1,5mg/l đã có tác dụng tốt đối với sự nhân nhanh chồi của *Lilium poilanei* Gapnep. Ở tất cả các công thức có sự kết hợp của hai chất này thì hệ số nhân cao hơn hẳn so với đối chứng, các chồi đều hình thành cụm chồi (Bảng 4). Khi cố định nồng độ α-NAA ở 0,25mg/l và tăng dần nồng độ BA thì hệ số nhân chồi cũng tăng lên tuy nhiên chiều cao trung bình cụm chồi cũng giảm xuống. Cụ thể hệ số nhân đạt 3,04 lần và chiều cao trung bình cụm chồi đạt 3,13 cm ở công thức chứa 0,5 mg/l BA + 0,25mg/l α-NAA. Hệ số nhân chồi cao nhất ở công thức chứa 1 mg/l BA + 0,25mg/l α-NAA, đạt 4,13 lần. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ BA lên 1,5mg/l thì hệ số nhân chồi có xu hướng giảm còn 3,76 lần và chiều cao trung bình cụm chồi cũng giảm chỉ còn 2,25 cm. Như vậy ở nồng độ BA cao kết hợp với α-NAA ở nồng độ thấp đã ức chế sự nhân chồi của *Lilium poilanei* Gapnep. Kết quả thu được cũng tương tự với kết quả của Nguyễn Quang Thạch và cộng sự (1999), nhóm tác giả đã nghiên cứu và kết luận rằng việc sử dụng kết hợp 1 mg/l BA +0,2 mg/l α-NAA là tối ưu cho sự nhân nhanh chồi tái sinh của giống hoa loa kèn trắng, cho hệ số nhân chồi đạt 4,4 lần. Bong Hee Han và cộng sự, 2004, đã tìm ra môi trường nhân nhanh thích hợp cho các chồi được hình thành từ lát cắt vảy củ đó là môi trường cơ bản MS có bổ sung 2,2 μM BA và 2,9 μM IAA cho hệ số nhân chồi khá cao hơn 9 chồi/mẫu cấy sau 8 tuần nuôi cấy. Như vậy môi trường tối ưu cho nhân nhanh chồi hoa *Lilium poilanei* Gapnep tái sinh MS có bổ sung 1mg/l BA + 0,25mg/l α-NAA, cho hệ số nhân của chồi đạt 4,13 lần, chiều cao trung bình cụm chồi đạt 2,64 cm.

Bảng 4. Ảnh hưởng của BA và α-NAA đến khả năng nhân nhanh của chồi hoa *Lilium poilanei* Gapnep tái sinh (sau 6 tuần nuôi cấy)

CT	α-NAA (mg/l)	BA (mg/l)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao TB cụm chồi (cm)
1	0,25	0	1,62	1,92
2		0,5	3,04	3,13
3		1,0	4,13	2,64
4		1,5	3,76	2,25
	LSD(5%)		0.26	
	CV(%)		4,40	

Ghi chú: Nền môi trường: MS + 30g/l đường + 6,5 g/l agar, pH: 5,7, CT: Công thức



Hình 3. Sự nhân nhanh của chồi Lilium poilanei Gapnep

(A) MS + 1 mg/l BA + 0,25 mg/l α-NAA; (B) MS + 1,5 mg/l BA + 0,25 mg/l α-NAA

3.3. Tạo rễ cho chồi

Việc sử dụng than hoạt tính đối với sự ra rễ của cây đã được nghiên cứu trên nhiều đối tượng như dưa hấu (Krug và cộng sự, 2005; Pirinc và cộng sự, 2003); cói *Juncus effusus* L., (Sarma và cộng sự, 2000) về vai trò của than hoạt tính đối với sự hình thành rễ *in vitro*. Dương Tấn Nhựt và cộng sự, (1998) đã công bố kết quả vềviệc bổ sung 1g/l than hoạt tính có tác dụng tốt cho sự phát triển bộ rễ của cây hoa loa kèn *Lilium longiflorum*.

Trong thí nghiệm này, bổ sung than hoạt tính vào môi trường tạo rễ với hàm lượng từ 0,25 g/l đến 1 g/l không những kích thích sự hình thành rễ mà còn có tác dụng tốt đối với sự sinh trưởng của chồi *Lilium poilanei* Gapnep. Ở công thức không bổ sung than hoạt tính thì tỷ lệ chồi ra rễ chỉ đạt 48,33%, trong khi đó với việc bổ sung than hoạt tính với nồng độ thấp (0,25g/l) thì tỷ lệ chồi ra rễ là 58,33%. Công thức tối ưu cho việc tạo rễ cho chồi *Lilium poilanei* Gapnep là 1g/l THT cho tỷ lệ tạo rễ là 93,33% (Bảng 5). Như vậy môi trường MS+ 30g/l đường+ 1g/l THT là môi trường tốt nhất để cảm ứng chồi loa kèn *in vitro* hình thành rễ.

Bảng 5: Ảnh hưởng của than hoạt tính (THT) đến khả năng ra rễ của chồi *Lilium poilanei* Gapnep (sau 4 tuần nuôi cấy)

CT	THT (g/lít)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Chiều cao TB (cm/cây)	Số lá/ cây (lá)
1 (ĐC)	0	48,33	4,4	5,86
2	0,25	58,33	4,4	5,63
3	0,50	70,00	4,3	5,23
4	0,75	81,66	4,2	5,14
5	1	93,33	4,2	5,03

Ghi chú: Nền môi trường: MS + 30g/l đường + 6,5 g/l agar, pH: 5,7, CT: Công thức, ĐC: đối chứng

4. KẾT LUẬN

Môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l BA và 0,5 mg/l α-NAA cho hiệu quả tốt nhất trong giai đoạn tái sinh chồi từ mô vảy củ với tỷ lệ chồi tái sinh là 83,33 số chồi/mẫu là 2,67 chồi sau 8 tuần.

Trên môi trường nhân nhanh, hệ số nhân cụm chồi cao nhất đạt 4,13 lần sau 6 tuần, chiều cao trung bình cụm chồi đạt 2,64 cm trên môi trường MS chứa 1 mg/l BA và 0,25 mg/l αNAA.

Sử dụng môi trường MS bổ sung 1g/l than hoạt tính cho tỷ lệ ra rễ đạt 93,33 sau 4 tuần.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Allen, T.C., (1974). Control of viruses in lilies. In: Lilies and other Liliaceae. *Royal Horticultural Society*.

Anderson, W.C., (1977). Rapid propagation of Lilium, cv, Red Carpet, Invitro 13: 145

Beattie D.J. and White J.W. (1993). *Liliumhybrids* and species. In: De Hertogh A. and Le Nard M. (eds), The Physiology of Flower Bulbs. Elsevier, Amsterdam, pp. 423-454.

Bong Hee Hana, Hee Ju Yu, Byeoung Woo Yae, Kee Yeoup Peak (2004). In vitro micropropagation of *Lilium longiflorum* 'Georgia' by shoot formation as influenced by addition of liquid medium. Scientia Horticulturae 103 (2004) 39-49

Đặng Văn Đông, Đinh Thế Lộc (2003). Công nghệ trồng hoa cho thu nhập cao. Cây hoa loa kèn. Nhà xuất bản Lao động xã hội, trang 7- 9

De Jong PC. (1974). Some notes on the evolution of lilies. North American Loa kèn Yearbook 27: 23-28.

Dương Tấn Nhựt, Bùi Văn Lê, Michico Tanaa, K. Trần Thanh Vân (2000). Effects of activated charcoal, explant size, explant position and sucrose concentration on plant and shoot regeneration of *Lilium longiflorum* via young stem culture. Plant Growth Regulation, 33: 59-65.

Hackett, W.P., (1969). Aseptic multiplication of loa kèn bublets of bulb sacle. Proc. Int.. Plant. Propag. Soc. 19: 105 - 108.

Krug MGZ, Stipp LCL, Rodriguez APM & Mendes BMJ (2005). "In vitro Organogensis in Watermelon cotyledons", Pesp agropec. Bras.Brasilia, 40, 9, pp.861 - 865.

Murashige (1974). "Plant propagation throwgh tissue cultures" Ann. Rev. Plant Physiol v.25, pp. 135-166.

Murashige and Skoog.F (1962). "Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures", Physiol plant v.15, pp. 473-497.

Nguyễn Quang Thạch, Nguyễn Thị Nhẫn (1999). Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô trong công tác nhân giống hoa loa kèn. Kết quả nghiên cứu khoa học 1995 - 1999. NXB Nông nghiệp

Novak, F.J., and Petru, E., (1981). Tissue culture propagation of *Lilium hybrids*. Scientia Horticulture, 14: 19 - 199

Phạm Hoàng Hộ (1999). Cây cỏ Việt Nam, quyển III, trang 480

Pirinc V, Onay A, Yildirim H, Adiyaman F, Isikalan C & Basaran D, (2003). "Adventitious shoot organogenesis and plant regeneration from cotyledons of diploid Diyarbakir watermelon (Citrullus lanatus cv. "Surme")", Turk 5 biol, 101 - 105.

Robb, S.M., (1957). The culture of excised tissue form bulb scale of *Lilium speciosum* Thun. Journal of Experimental Botany, 1957, vol. 8, no. 3, p. 348-352.

Sarma, K.S. and Rogers, S.M.D (2000). Plant regeneration from seedling explants of Juncus effuses. Aquatic Botany, Volume 68, Number 3, pp. 239-247(9)

Takayama, S., and Misawa, M.A., (1983). Scheme for mass propagation of *Lilium* in vitro. Physiologia Plantarum. 48: 121 - 125

Van Aartrijk, Blom. Barnhoorn (1984). "Interactions between NAA wounding temperature and TIBA in their effects on asventitions sprout formation on *Lilium* bulb tissue", Plant Tissue Culture, pp.131-132.

Vasrshney, A., Dahwan, V and Srivastava, P.S., (2000). A protocol for in vitro mass propagation of Asiatic hybrids of loa kèn through liquid stationary culture. In vitro Cellular and Development Biology - Plant. 36: 383 - 391.