

NÂNG CAO CHẤT LƯỢNG CỦA CÁC CÂY GIỐNG HOA CÚC VÀ HỒNG NUÔI CÂY *IN VITRO* THÔNG QUA NUÔI CÂY THOÁNG KHÍ

DƯƠNG TẤN NHỰT, NGUYỄN QUỐC THIÊN, VŨ QUỐC LUẬN

Phân viện Sinh học tại Đà Lạt

Sự sinh trưởng và phát sinh hình thái của cây trồng *in vitro* và *ex vitro* bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố của môi trường [1]. Trong tự nhiên, thành phần khí CO₂ trong không khí rất quan trọng, nó cung cấp cho cây nguồn cacbon để quang hợp. Công trình nghiên cứu của Ando [2] chỉ ra rằng lượng khí CO₂ tạo ra trong quá trình nuôi cấy *in vitro* thì ít hơn lượng khí CO₂ ngoài tự nhiên. Sự giảm khí CO₂ trong môi trường nuôi cấy có đường dẫn dần làm cho cây quang hợp kém và dẫn tới tỷ lệ sống của cây thấp ở giai đoạn vườn ươm (*ex vitro*). Nồng độ khí CO₂ cao có lợi cho việc kéo dài của chồi và sự phát triển của lá từ mẫu cấy [3].

Sự trao đổi không khí có thể được gia tăng nhiều lần bằng việc sử dụng màng thoáng khí. Khi sự trao đổi không khí gia tăng thì trọng lượng tươi, trọng lượng khô, chiều cao của cây, diện tích của lá và nồng độ của chất diệp lục cũng gia tăng [4]. Mặt khác, trong nuôi cấy thoáng khí, những cây con có khả năng hình thành hệ rễ thứ cấp từ giai đoạn *in vitro* và do đó giúp tăng tỷ lệ sống của cây khi chuyển ra điều kiện vườn ươm [4, 5].

Do vậy, mục đích của công trình nghiên cứu này là so sánh tầm quan trọng của nuôi cấy thoáng khí so với nuôi cấy không thoáng khí, thông qua sự sinh trưởng và phát triển của cây hoa cúc và cây hồng nuôi cấy *in vitro*, nhằm nâng cao tỷ lệ sống và phẩm chất của chúng khi chuyển ra đất cũng như áp dụng phương pháp này thành phương thức để tạo cây bố, mẹ có chất lượng cao và phục hồi các chồi trong suốt quá trình cấy chuyên.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu

Mẫu cấy được sử dụng là chồi của cây hồng (*Paulownia fortunei* (Seem.) Hemsl.) và cây hoa

cúc (*Chrysanthemum* sp.) nuôi cấy *in vitro* cao khoảng 2,3 cm.

Hệ thống nuôi cấy được sử dụng là hộp nhựa tròn sản xuất tại Việt Nam. Các hộp nhựa được sử dụng trong thí nghiệm gồm có: hộp không lỗ, hộp 1 lỗ. Trên các hộp nhựa đục lỗ dán 1 màng Milliseal[®], có độ dày 0,5 μm, đường kính 18 mm (của công ty Millipore Ltd, Nhật Bản).

Chồi của cây hồng được nuôi cấy trên môi trường tạo rễ Murashige và Skoog (MS) [6], có bổ sung 0,5 mg/l IBA+30 g/l saccaroza+8 g/l thạch; độ pH được chỉnh về 5,8.

Chồi của cây hoa cúc được nuôi cấy trên môi trường tạo rễ MS [6], có bổ sung 0,4 mg/l IAA+20 g/l saccaroza+8 g/l thạch; độ pH được chỉnh về 5,8.

Giấy parafilm (Parafilm "M"[®], Mỹ): dùng để dán xung quanh nắp của mỗi hộp.

2. Phương pháp

Môi trường và các hệ thống nuôi cấy đều được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, 1 atm, trong 40 phút.

Thể tích của môi trường trong mỗi hộp nhựa nuôi cấy: 80 ml.

Sau khi hấp khử trùng, tiến hành rót môi trường vào các hộp nhựa trong tủ cấy vô trùng, sau đó đậy nắp lại.

Mẫu cấy của cây hồng và cây hoa cúc được lần lượt cấy vào môi trường với mật độ 4 hoặc 5 mẫu/hộp tròn.

Cây được nuôi cấy trong điều kiện nhiệt độ 25±2°C, độ ẩm trung bình 75-80%, thời gian chiếu sáng 10 giờ/ngày và cường độ chiếu sáng 3000 lux.

Chỉ tiêu theo dõi: quan sát sự ra rễ, chiều cao của cây, trọng lượng tươi, màu sắc của lá trong các hệ thống sau khoảng 1 tháng nuôi cấy.

Thí nghiệm đối với cây hồng và cây hoa cúc được lặp lại 3 lần; kết quả thí nghiệm là kết quả trung bình của 3 lần thí nghiệm. Những số liệu thu được dựa trên các chỉ tiêu theo dõi, được trình bày ở các bảng trong phần sau.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Cây hồng (*Paulownia fortunei* (Seem.) Hemsl.)

Trọng lượng tươi và chiều cao của các cây hồng trong hộp 1 lỗ thoáng khí cao hơn so với các cây trong hộp không thoáng khí (bảng 1). Cây hồng trong các hộp không thoáng khí có lá

nhỏ, không xòe rộng và có đường kính của thân nhỏ; trong khi đó, những cây trong hộp thoáng khí có lá to, xòe rộng, đường kính của thân lớn hơn.

2. Cây hoa cúc (*Chrysanthemum* sp.)

Bảng 2 cho thấy trọng lượng tươi và chiều cao của những cây trong hộp 1 lỗ thoáng khí cao hơn khá rõ so với những cây được cấy trong hộp không thoáng khí.

Cây hoa cúc trong các hộp không thoáng khí có lá nhỏ, có hiện tượng vàng lá; trong khi đó, ở các hộp thoáng khí, cây hoa cúc có lá to hơn, màu lá xanh và đậm hơn rõ rệt.

Bảng 1

Ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy thoáng khí và không thoáng khí lên sự sinh trưởng và phát triển của chồi hồng trong hộp nhựa tròn

Hệ thống nuôi cấy	Trọng lượng tươi (mg)	Chiều cao (cm)
Hộp nhựa tròn (không lỗ)	257,2	4,3
Hộp nhựa tròn (1 lỗ thoáng khí)	466,4	4,9

Bảng 2

Ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy thoáng khí và không thoáng khí lên sự sinh trưởng và phát triển của chồi cúc trong hộp nhựa tròn

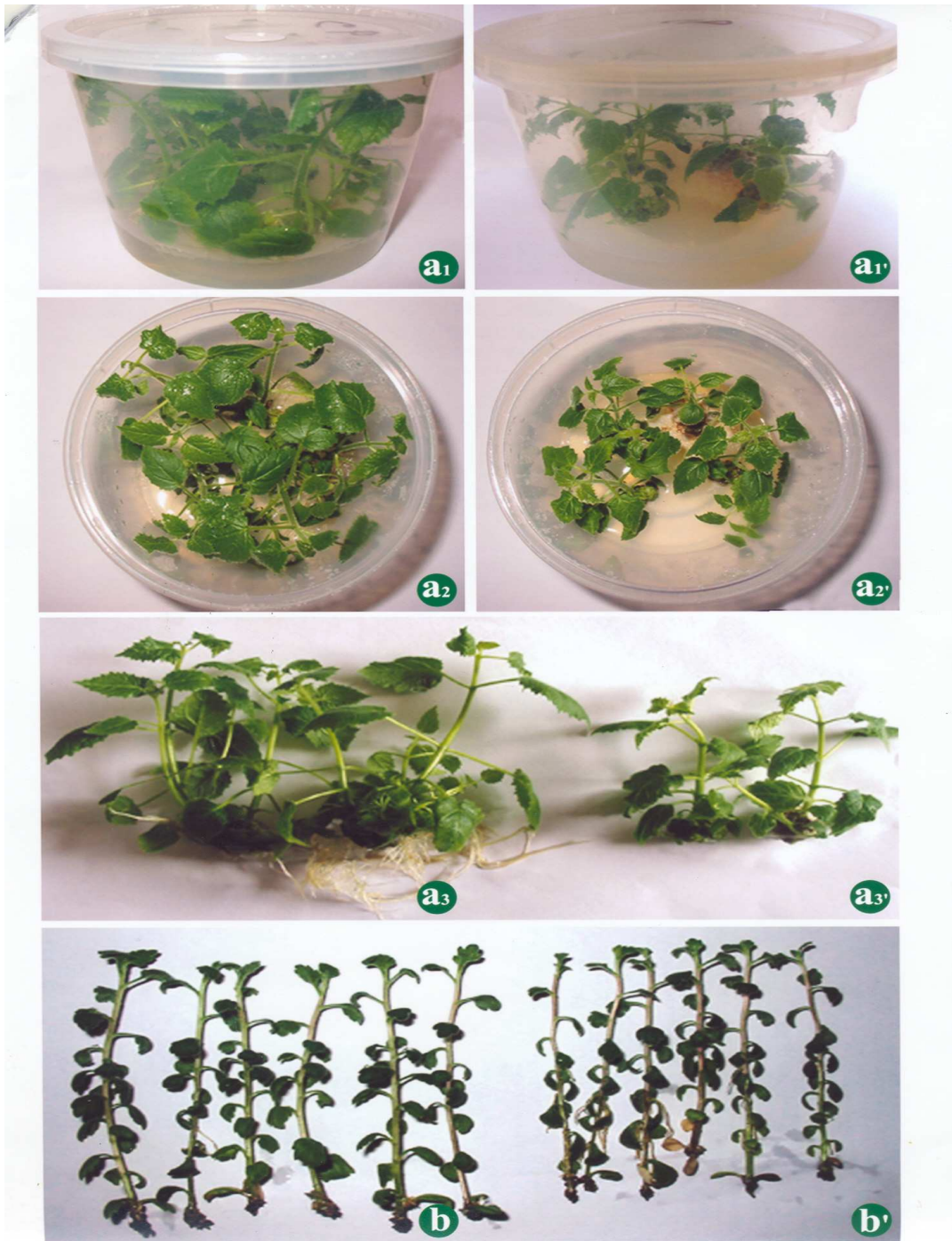
Hệ thống nuôi cấy	Trọng lượng tươi (mg)	Chiều cao (cm)
Hộp nhựa tròn (không lỗ)	171	6,2
Hộp nhựa tròn (1 lỗ thoáng khí)	224	6,5

III. KẾT LUẬN

Việc nuôi cấy thoáng khí có nhiều ưu điểm hơn so với nuôi cấy truyền thống. Dùng các hệ thống có sự trao đổi khí đã cải thiện được chất lượng của cây con. Những cây được nuôi cấy bằng hệ thống này có khả năng quang hợp cao, hệ rễ phát triển mạnh trong giai đoạn *in vitro*; có tỷ lệ sống cao, sinh trưởng và phát triển tốt khi ra vườn ươm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **T. Kozai** and **B. R. Jeong**, 1993: Environmental control for autotrophic micropropagation. *Environmental Control in Micropropagation*, 2: 467-480. Chieri Kubota (ed).
2. **T. Kozai**, 1991: Micropropagation under photoautotrophic conditions. *Micropropagation-Technology and Application*: 447-469. P. C. Debergh and R. H. Zimmerman (ed). Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
3. **B. R. Jeong**, **C. S. Yang** and **J. C. Park**, 1996: *Acta Horticulturae*, 440: 510-514.
4. **Duong Tan Nhut et al.**, 2000: The effect of various blue to red ratios for LED irradiation system on the *in vitro* growth of *Phalaenopsis* plantlets. *Suppl. J. Japan. Soc. Hort. Sci.* pp. 218.
5. **Duong Tan Nhut et al.**, 2001: *Acta Horticulturae*, 575: 117-124.
6. **T. Murashige** and **F. Skoog**, 1962: *Physiol. Plant*, 15: 473-496.



Ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy thoáng khí và không thoáng khí lên sự sinh trưởng và phát triển của chồi cây húng và cây hoa cúc

a₁, a₂ và a₃. Cây húng nuôi cấy trong hộp nhựa tròn thoáng khí;

a₁, a₂ và a₃. Cây húng nuôi cấy trong hộp nhựa tròn không thoáng khí;

b. Cây hoa cúc nuôi cấy trong hộp nhựa tròn thoáng khí;

b'. Cây hoa cúc nuôi cấy trong hộp nhựa tròn không thoáng khí.

**PLANTLET QUALITY IMPROVEMENT OF *PAULOWNIA FORTUNEI* (SEEM.)
HEMSL. AND *CHRYSANTHEMUM* sp. *IN VITRO* VIA AERATED
MICROPROPAGATION**

DUONG TAN NHUT, NGUYEN QUOC THIEN, VU QUOC LUAN

SUMMARY

The transplant production using micropropagation techniques has more benefits than that using the seed or the vegetative propagation in terms of genetic uniformity, virus-free or pathogen-free propagules and scheduled production. However, the conventional micropropagation has become costly due to the biological contamination, the morphological disorders and the low photosynthetic capacity of *in vitro* plantlets. This results in low percent of the survivals *ex vitro* and requires the acclimatization prior to the *ex vitro* stage. To overcome this problem, we tried to carry out a new method called aerated micropropagation.

The aerated micropropagation of plants using the circular self-adhesive gas permeable membrane (Milliseal[®]) was more advantaged than the conventional micropropagation in some culture systems on the growth of *Paulownia fortunei* (Seem.) Hemsl. and *Chrysanthemum* sp. We have demonstrated some results presented as below:

Jam Vessel (JV) without aeration cap: the fresh weight and plant height of the plantlets in this culture system were smaller than those of plantlets in the JV with aeration cap (one hole). They did not expand their leaves. The plantlets were vitrified because of the high air humidity in the vessels.

JV with aeration cap (one hole): the plantlets expanded their leaves widely. Their leaves were so green and large. The growth of the plantlets in these vessels was remarkably greater than that of the plantlets in the closed vessels.

The aerated vessels could be used to reduce the air humidity in the vessels. It was a good way to overcome the vitrification in the plantlets cultured in the closed vessels.

The aerated micropropagation could be applied as a new useful tool for the micropropagation of *Paulownia* and *Chrysanthemum*.

Ngày nhận bài: 25-3-2004