

NHÂN NHANH GIỐNG HOA THU HẢI ĐƯỜNG (*BEGONIA TUBEROUS*) BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY MÔ LÁ VÀ KỸ THUẬT TRỒNG, CHĂM SÓC HOA THƯƠNG PHẨM

ĐINH VĂN KHIÊM, LÊ THỊ NHƯ LAN, DƯƠNG TẤN NHỰT

Phân viện Sinh học tại Đà Lạt

MAI XUÂN LƯƠNG

Trường đại học Đà Lạt

Trong số nhiều loại hoa mới nhập hiện nay, hoa thu hải đường (*Begonia tuberosus*) (THĐ) (họ Thu hải đường Begoniaceae) đang là một trong những loại hoa được ưa chuộng nhất vì vẻ đẹp về màu sắc và hình dáng cũng như độ bền của hoa. Tuy nhiên, để có được giống hoa này, người ta phải nhập hạt giống với giá thành cao, thời gian gieo kéo dài (2-3,5 tháng), tỷ lệ nảy mầm thấp nên cây THĐ chưa được trồng phổ biến do số lượng giống còn rất ít, giá thành lại cao.

Cây THĐ là một loại hoa phân bố rộng ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới ở Trung Mỹ, Nam Mỹ, châu Âu và châu Phi. Hoa THĐ được dùng làm hoa trồng trong vườn, trong chậu và hoa cắm bình. Đã có một số tác giả nghiên cứu vi nhân giống một số loại THĐ [1].

Bằng phương pháp nuôi cấy mẫu ban đầu từ lá, có thể nhân nhanh một lượng lớn cây THĐ, đáp ứng được nhu cầu hiện nay của các cơ sở kinh doanh hoa chậu tại thành phố Đà Lạt.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Đối tượng nghiên cứu là loài hoa thu hải đường (*Begonia tuberosus*). Mẫu nuôi cấy ban đầu là mô lá non của cây mẹ khỏe mạnh, có nguồn gốc từ gieo hạt (nhập nội).

2. Phương pháp

a) Khử trùng mẫu

Các lá non của cây THĐ chưa trải phẳng được rửa sạch bằng cồn 70° trong 1 phút. Sau

đó, mẫu được khử trùng bằng dung dịch 2% hypochlorit canxi (CaOCl_2) trong 5-7 phút, rồi được rửa sạch bằng nước cất vô trùng. Sau khi mẫu đã sạch thì tiến hành cắt mẫu thành từng mảnh có kích thước khoảng 1 cm² và dùng làm nguyên liệu cho việc nuôi cấy.

b) Tái sinh mẫu ban đầu từ mô lá non

Tiến hành thử nghiệm trên môi trường 1/2MS [2] và MS [2] có bổ sung nồng độ từ 0,0-1,0 mg/l 6-benzyladenin (BA), 8 g/l agar, 30 g/l đường và độ pH của các môi trường được điều chỉnh đến 5,8.

Khi đã xác định được nghiệm thức có hàm lượng khoáng và nồng độ BA thích hợp thì tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung thêm 0,01-0,1 mg/l axit α -naphthalen axetic (NAA), nhằm tìm ra môi trường tối ưu cho việc nuôi cấy khởi đầu từ mô lá non cây THĐ.

Mẫu cấy được nuôi trong điều kiện chiếu sáng: 12 giờ/ngày, cường độ chiếu sáng: 3000 lux, nhiệt độ 25°C±1.

c) Nhân nhanh chồi

Trên cơ sở của thí nghiệm tạo mẫu ban đầu, tiếp tục khảo sát môi trường tối ưu cho quá trình nhân nhanh chồi THĐ.

Tiến hành thí nghiệm trên môi trường 1/2 MS và MS có bổ sung 0,5-1,5 mg/l BA.

Trên môi trường của nghiệm thức tối ưu nhất của thí nghiệm trên, tiếp tục khảo sát khi bổ sung thêm 0,1-0,7 mg/l NAA hoặc 0,1-0,7 mg/l axit indol-3-butyric (IBA).

d) Tái sinh rễ để tạo cây hoàn chỉnh

Khảo sát khả năng tái sinh rễ để tạo cây THĐ hoàn chỉnh trên môi trường 1/2 MS, có bổ sung riêng rẽ NAA hoặc IBA ở các nồng độ: 0,0; 0,3; 0,5; 0,7 và 1,0 mg/l và phối hợp NAA/IBA tại các nồng độ: 0,3/0,5; 0,3/0,7; 0,5/0,3 và 0,7/0,3 mg/l. Môi trường có chứa 20 g/l sucroza, 8 g/l agar và 1g/l than hoạt tính. Mục đích của thí nghiệm này nhằm xác định môi trường tối ưu cho giai đoạn tái sinh rễ.

đ) Giai đoạn đưa cây ra vườn ươm

Để theo dõi tỷ lệ sống và tốc độ sinh trưởng của cây sau ống nghiệm, tiến hành đưa cây có bộ rễ khỏe mạnh, có 3-5 lá và chiều cao cây từ 3-5 cm ra trồng trong vườn ươm. Đất để ươm trồng là hỗn hợp gồm 70% đất mùn, 20 % tro trấu và 10 % phân bò hoai, có bổ sung phân bón NPK (loại phân hiệu đầu trâu có tỷ lệ N : P : K = 16 : 16 : 8 do nhà máy phân bón Bình Điền sản xuất) và vôi để có EC = 0,8-1,0, độ pH = 5,8-6,5.

Điều kiện trồng: nhà ươm được che mát bằng lưới đen 40%, tránh nắng mưa trực tiếp. Giữ ẩm thường xuyên bằng cách tưới phun sương 2-4 lần/ngày tùy điều kiện thời tiết. Giảm tối đa sự bốc hơi nước trên bề mặt lá bằng các vật liệu che chắn (như nilông...). Nhiệt độ trồng trong giai đoạn vườn ươm là 18-20°C.

Thí nghiệm được tiến hành trên 100 cây, với 3 lần lặp lại nhằm xác định tỷ lệ sống sót của các cây con ở giai đoạn vườn ươm.

e) Giai đoạn trồng thử nghiệm ra môi trường ngoài

Cây THĐ vi nhân giống sau khi được trồng tại vườn ươm trong khoảng 30 ngày, đã trở nên cứng cáp, đạt trạng thái khỏe mạnh và có bộ rễ phát triển tốt, được chuyển ra trồng thử nghiệm trên hai loại giá thể là 100% đất mùn và 100% dớn. Cả hai loại giá thể trên đều được trộn thêm phân bón và vôi, sao cho đạt EC = 0,8-1,0, độ pH = 5,8-6,5.

Nhằm bước đầu theo dõi khả năng sinh trưởng và phát triển của cây THĐ trên giá thể, việc khảo sát ảnh hưởng của một số loại phân bón thường dùng hiện nay cũng được thực hiện:

- Nitrôphốtka (N : P : K = 15 : 5 : 20, Behn Meyer, CHLB Đức), nồng độ: 1 g/lít (0,1%), EC

= 0,8.

- Phân hợp chất supe 10 : 8 : 8 (N : P : K = 10 : 8 : 8, Cropmaster, Mỹ), nồng độ: 2 ml/lít (0,2%), EC = 0,8.

- Grow more (N:P:K = 30:10:10, Mỹ), nồng độ 1 g/lít (0,1%), EC = 0,8.

Sử dụng ba loại phân trên phun tưới cho cây mỗi tuần 1 lần kể từ khi chuyển cây ra trồng trong chậu.

Mỗi lô thí nghiệm thực hiện trên 30 chậu, lặp lại 3 lần để thu kết quả.

II. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

1. Ảnh hưởng của hàm lượng khoáng và của nồng độ BA và NAA lên quá trình nuôi cấy khởi đầu

Các nghiệm thức giữa hàm lượng khoáng và nồng độ BA được thể hiện trong bảng 1.

Các nghiệm thức khác nhau đều cho kết quả tái sinh khác nhau. Ở môi trường dinh dưỡng khoáng 1/2 MS, mẫu có khả năng tái sinh khi bổ sung nồng độ BA từ 0,5-1,0 mg/l. Nồng độ BA thích hợp nhất là 0,7 mg/l (nghiệm thức A₄), cho tỷ lệ tái sinh cao nhất (20%).

Ở môi trường dinh dưỡng khoáng là MS, mẫu có khả năng tái sinh khi bổ sung nồng độ BA từ 0,3- 0,7 mg/l; khi tiếp tục tăng nồng độ BA lên sẽ làm ức chế mẫu tái sinh.

Từ kết quả trên, chọn được môi trường nuôi cấy có hàm lượng dinh dưỡng khoáng là 1/2MS có bổ sung 0,7 mg/l BA để tiếp tục khảo sát ảnh hưởng lên quá trình nuôi cấy khởi đầu kết hợp với NAA ở các nồng độ: 0,01-0,1 mg/l.

Khi kết hợp BA với NAA, các nghiệm thức đều cho kết quả tái sinh tăng theo tỷ lệ thuận so với nồng độ NAA, tuy nhiên tỷ lệ tái sinh tăng chậm khi nồng độ NAA đạt tới 0,07- 0,1 mg/l. ở nồng độ NAA từ 0,01-0,03 mg/l, kết quả thu được qua quá trình phát sinh hình thái là các chồi bất định. Tại nghiệm thức A₁₂, tỷ lệ tái sinh chồi bất định cao nhất (85,0%). Khi nồng độ NAA tiếp tục tăng lên đến 0,05-0,1 mg/l thì mẫu cấy tái sinh callus và đạt cao nhất tại nghiệm thức A₁₅ (có thể đạt 95,0%).

Như vậy, ở giai đoạn nuôi cấy khởi đầu, tùy theo mục đích tiếp theo mà ta có thể sử dụng

Bảng 1

Ảnh hưởng của hàm lượng khoáng và của nồng độ BA lên mẫu cấy sau 45 ngày nuôi cấy

Môi trường cơ bản	Nghiệm thức	BA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tái sinh sau 45 ngày (%)
1/2MS	A ₁	0,0	0,0
	A ₂	0,3	0,0
	A ₃	0,5	11,7
	A ₄	0,7	20,0
	A ₅	1,0	6,7
MS	A ₆	0,0	0,0
	A ₇	0,3	8,3
	A ₈	0,5	16,7
	A ₉	0,7	5,0
	A ₁₀	1,0	0,0

Bảng 2

Ảnh hưởng của BA và NAA lên khả năng tái sinh từ mô lá non của cây THĐ sau 45 ngày nuôi cấy

Nghiệm thức	BA (mg/l)	NAA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tái sinh (%)	Kết quả phát sinh hình thái
A ₁₁	0,7	0,01	56,7	Tái sinh chồi bất định
A ₁₂	0,7	0,03	85,0	Tái sinh chồi bất định
A ₁₃	0,7	0,05	91,7	Tái sinh callus
A ₁₄	0,7	0,07	93,3	Tái sinh callus
A ₁₅	0,7	0,10	95,0	Tái sinh callus

loại môi trường nuôi cấy để thu được sản phẩm là chồi bất định (nghiệm thức A₁₂) hoặc callus (nghiệm thức A₁₅).

Để tiếp tục khảo sát, tiến hành tạo callus bằng môi trường của nghiệm thức A₁₅ (1/2MS có bổ sung 0,7 mg/l BA, 0,1 mg/l NAA). Khi đạt số lượng callus cần thiết thì tiến hành cấy chuyên lên môi trường tái sinh chồi. Chồi sẽ được hình thành ngẫu nhiên trên môi trường không có chất kích thích sinh trưởng sau 45-60 ngày nuôi cấy. Từ đây, các chồi này được dùng làm nguyên liệu để khảo sát giai đoạn nhân nhanh chồi tiếp theo hoặc dùng để tái sinh rễ tạo cây hoàn chỉnh.

2. Ảnh hưởng phối hợp giữa môi trường dinh dưỡng khoáng kết hợp với nồng độ BA, NAA và IBA lên khả năng tạo cụm chồi

Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng dinh dưỡng khoáng và nồng độ BA lên khả năng nhân nhanh cụm chồi THĐ. Các nghiệm thức được bố trí như trong bảng 3.

Mẫu nuôi cấy trên môi trường 1/2MS sinh trưởng kém hơn so với môi trường MS. Trên môi trường dinh dưỡng khoáng 1/2MS, số chồi cao nhất tại nghiệm thức B₃ (12 chồi) nhưng chồi nhỏ và yếu; chồi xanh tốt tại nghiệm thức B₂ nhưng số chồi thấp hơn (8 chồi). Trên môi trường MS, số chồi đạt cao nhất (16 chồi) tại

thức B₆ nhưng chồi nhỏ và yếu; nghiệm thức B₅ tuy cho số chồi ít hơn (14 chồi) nhưng xanh tốt, được chọn làm nguyên liệu cho các thí nghiệm sau.

Bảng 3

Ảnh hưởng của hàm lượng dinh dưỡng khoáng và BA tới khả năng nhân nhanh chồi cây THĐ

Môi trường cơ bản	Nghiệm thức	BA (mg/l)	Chiều cao trung bình chồi (cm)	Số chồi trung bình/bình chồi	Ghi chú
1/2MS	B ₁	0,5	2,5±0,05	5±0,1	
	B ₂	1,0	2,8±0,05	8±0,1	Chồi xanh tốt
	B ₃	1,5	2,6±0,05	12±0,1	Chồi nhỏ
MS	B ₄	0,5	2,7±0,05	8±0,1	
	B₅	1,0	2,9±0,05	14±0,1	Chồi xanh tốt
	B ₆	1,5	2,3±0,05	16±0,1	Chồi nhỏ

Tại nghiệm thức B₅, chiều cao trung bình của chồi đạt cao nhất (2,9 cm). Dựa vào nghiệm thức này để khảo sát ảnh hưởng của NAA và IBA lên khả năng tạo chồi. Các nghiệm thức được bố trí như trong bảng 4.

Các kết quả cho thấy việc phối hợp giữa BA và NAA (ở nghiệm thức B₇-B₁₀) cho kết quả nhân chồi cũng như các chỉ số về chiều cao của chồi, tỷ lệ tạo thể chồi cao hơn các nghiệm thức kết hợp giữa BA và IBA (nghiệm thức B₁₁-B₁₄).

Tại nghiệm thức B₈, khi phối hợp 1,0 mg/l

BA với 0,3 mg/l NAA cho số chồi cao nhất (đạt 25 chồi/bình). Ngoài các chồi lớn thu được, có thể cấy tạo rễ còn thu được thêm một lượng cụm thể chồi nhỏ có thể dùng làm nguyên liệu để tiếp tục nhân nhanh.

3. Ảnh hưởng của NAA và IBA đến khả năng ra rễ của cây THĐ

Tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của NAA và IBA đến khả năng ra rễ đối với các chồi thu được từ nghiệm thức B₈. Các nghiệm thức được bố trí như trong bảng 5.

Bảng 4

Ảnh hưởng của BA kết hợp với NAA và IBA lên khả năng nhân nhanh chồi cây THĐ

Nghiệm thức	KTST			Chiều cao trung bình chồi (cm)	Số chồi trong một bình	Tỷ lệ tạo thể chồi (%)	Ghi chú
	BA (mg/l)	NAA (mg/l)	IBA (mg/l)				
B ₇	1,0	0,1	0,0	3,1±0,2	17±0,1	75	
B₈	1,0	0,3	0,0	3,3±0,2	25±0,1	97	Chồi xanh, mập
B ₉	1,0	0,5	0,0	3,2±0,2	22±0,1	98	
B ₁₀	1,0	0,7	0,0	2,9±0,2	20±0,1	100	
B ₁₁	1,0	0,0	0,1	2,9±0,2	15±0,1	73	
B ₁₂	1,0	0,0	0,3	3,1±0,2	20±0,1	85	
B ₁₃	1,0	0,0	0,5	3,0±0,2	19±0,1	87	
B ₁₄	1,0	0,0	0,7	2,9±0,2	17±0,1	86	

Ảnh hưởng của NAA và IBA đến khả năng ra rễ của cây THĐ

Nghiệm thức	KTST		Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)	Số lượng rễ/cây	Ghi chú
	NAA (mg/l)	IBA (mg/l)			
C ₁	0,0	0,0	27	1-2	
C ₂	0,3	0,0	65	1-3	
C ₃	0,5	0,0	89	4-7	
C ₄	0,7	0,0	92	5-10	
C ₅	1,0	0,0	95	6-11	
C ₆	0,0	0,3	32	1-2	
C ₇	0,0	0,5	49	1-4	
C ₈	0,0	0,7	75	3-5	
C ₉	0,0	1,0	79	3-9	
C ₁₀	0,5	0,3	100	15-20	Cây xanh tốt
C ₁₁	0,7	0,3	100	12-17	Cây hơi vàng, yếu
C ₁₂	0,3	0,5	95	5-12	
C ₁₃	0,3	0,7	97	4-9	

Tỷ lệ ra rễ và số lượng rễ/mẫu tăng dần theo nồng độ của NAA và IBA khi sử dụng riêng lẻ; tuy nhiên, ở cùng một nồng độ như nhau (mg/l), tác dụng của NAA lên khả năng ra rễ của mẫu cấy mạnh hơn tác dụng của IBA. Khi sử dụng phối hợp NAA và IBA, đã tăng được đáng kể số lượng rễ/mẫu cũng như tỷ lệ mẫu tạo rễ. Tỷ lệ mẫu tạo rễ cao nhất tại 2 nghiệm thức C₁₀ và C₁₁, đạt 100 % mẫu ra rễ sau 45 ngày nuôi cấy; số lượng rễ/mẫu của hai nghiệm thức này cũng đạt cao nhất. Tuy nhiên, ở nghiệm thức C₁₁, cây hơi vàng và yếu. Ở nghiệm thức C₁₀, cho kết quả tốt nhất, cây khỏe, xanh tốt và rễ khỏe, thích hợp cho giai đoạn khảo sát trồng trong vườn ươm tiếp theo.

4. Giai đoạn trồng cây trong vườn ươm

Cây THĐ *in vitro* cao từ 3-5 cm, có đủ thân, lá, rễ, khỏe mạnh, được rút ra khỏi ống nghiệm, rửa sạch môi trường bám quanh gốc và trồng trên giá thể là đất mùn với độ pH bằng 5,8-6,5, EC = 0,8-1,0. Khi trồng, gốc cây ngập sâu trong giá thể 0,5-1,0 cm. Cây được tưới giữ ẩm 2-4 lần/ngày, tùy điều kiện thời tiết và giảm thiểu khả năng mất nước trong điều kiện nhà kính. Kết quả thu được sau 30 ngày như trong bảng 6.

Kết quả ở bảng 6 cho thấy khả năng sống của cây THĐ *in vitro*, khi đưa ra ngoài khá cao, tỷ lệ sống đạt tới 95%:

Ở giai đoạn từ 1-10 và 10-20 ngày tuổi, cây

Bảng 6

Khả năng sinh trưởng của cây THĐ ở giai đoạn vườn ươm

Thời gian (ngày)	Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao cây (cm)	Số lá trung bình/cây (lá)
10	99	4,8±0,1	4±0,1
20	95	5,1±0,1	5±0,1
30	95	5,5±0,1	6±0,2

bắt đầu thích nghi với môi trường bên ngoài nên cây tăng trưởng chậm, thêm lá mới ít. Ở giai đoạn từ 20-30 ngày tuổi, cây bắt đầu tăng trưởng về chiều cao (5,5 cm) và số lá trung bình trên cây (6 lá). Mặc dù sự tăng trưởng ở giai đoạn này không lớn so với giai đoạn trước, tuy nhiên cây ở giai đoạn này có những khác biệt rõ nét về hình thái, thể hiện qua cây khỏe mạnh, cứng cáp, có nhiều rễ mới và màu lá xanh đậm. Lúc này, cây đã đủ tiêu chuẩn để trồng ra chậu hoặc trồng ra ngoài đồng ruộng.

5. Ảnh hưởng của sự kết hợp giữa giá thể trồng và phân bón trong giai đoạn trồng trong chậu

Trong khảo sát này, bố trí hai thí nghiệm. Thí nghiệm 1 là sự kết hợp giữa giá thể mùn và phân bón, các nghiệm thức được bố trí như trong bảng 7. Thí nghiệm 2 là sự kết hợp giữa giá thể dớn và phân bón, các nghiệm thức được bố trí như trong bảng 8. Kết quả thu được ở các nghiệm thức thể hiện trong bảng 7 và 8.

Bảng 7

Ảnh hưởng của giá thể mùn và phân bón lên quá trình sinh trưởng và phát triển của cây THĐ

Loại phân bón trên giá thể đất mùn	Thời gian (tuần)	Chiều cao cây (cm)	Diện tích lá (cm ²)	Số cành hoa/cây (cành)	Số hoa/cành (hoa)	Thời gian ra hoa (tuần)
Nitrôphốtka	6	10,8±0,1	39,1±0,2	0	0	0
	12	13,2±0,1	96,5±0,2	0	0	0
	18	16,5±0,1	95,3±0,2	7	10	14
Grow more	6	12,3±0,1	45,5±0,2	0	0	0
	12	16,7±0,1	107,4±0,2	0	0	0
	18	18,2±0,1	105,7±0,2	5	7	16
Supe	6	11,7±0,1	44,2±0,2	0	0	0
	12	14,1±0,1	98,6±0,2	0	0	0
	18	17,2±0,1	102,1±0,2	4	6	15

Bảng 8

Ảnh hưởng của giá thể dớn và phân bón lên quá trình sinh trưởng và phát triển của cây THĐ

Loại phân bón trên giá thể dớn	Thời gian (tuần)	Chiều cao cây (cm)	Diện tích lá (cm ²)	Số cành hoa/cây (cành)	Số hoa/cành (hoa)	Thời gian ra hoa (tuần)
Nitrôphốtka	6	8,9±0,1	31,2±0,2	0	0	0
	12	11,7±0,1	93,5±0,2	0	0	0
	18	13,1±0,1	91,3±0,2	6	8	15
Grow more	6	10,3±0,1	42,5±0,2	0	0	0
	12	13,7±0,1	103,4±0,2	0	0	0
	18	16,2±0,1	100,7±0,2	4	6	18
Supe	6	10,1±0,1	41,2±0,2	0	0	0
	12	12,5±0,1	95,1±0,2	0	0	0
	18	14,2±0,1	97,3±0,2	3	5	16

Trong suốt quá trình sinh trưởng và phát triển, cây THĐ được trồng trên đất mùn phát triển tốt hơn, thể hiện qua chiều cao của cây khi so với chiều cao của cây trồng trên giá thể dớn, chiều cao của cây tăng từ 2-5 cm tùy từng giai đoạn phát triển của cây. Giá thể đất mùn còn có tác động thuận lợi cho sự ra lá của cây THĐ hơn là trên giá thể dớn; tổng số lá trên cây cũng như diện tích lá đều tăng hơn. Diện tích lá tăng hơn từ 5-10 cm², số lá nhiều hơn từ 2-3 lá.

Tại tất cả các thời điểm theo dõi, các nghiệm thức bón phân Grow more có các số đo về chiều cao của cây, diện tích của lá đều lớn hơn hai loại phân còn lại nhưng dạng cây cao, yếu ớt, đốt thân kéo dài, lá có màu xanh nhạt và cây dễ bị ảnh hưởng, khi các điều kiện môi trường ngoài thay đổi.

Lô bón nitrophotka tuy có chiều cao của cây và diện tích của lá nhỏ nhất nhưng cây khỏe mạnh, cứng cáp, khó bị ngã đổ, lá có màu xanh đậm, thích nghi tốt với các thay đổi của điều kiện môi trường bên ngoài về thời tiết khí hậu như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng. Số lượng cành hoa trong các nghiệm thức dùng phân bón nitrophotka trên chậu cũng như số lượng hoa trên cành là nhiều nhất, màu sắc của hoa sáng đẹp, độ bền của hoa lâu và thời gian ra hoa sớm hơn các nghiệm thức khác (14 tuần).

III. KẾT LUẬN

Từ những kết quả thu được, có thể đưa ra

quy trình nhân trồng giống hoa THĐ như sau:

1. Giai đoạn nuôi cấy khởi đầu: sử dụng môi trường tái sinh chồi bất định là môi trường 1/2MS, có bổ sung 0,7 mg/l BA và 0,03 mg/l NAA hoặc môi trường tái sinh callus là môi trường 1/2MS có bổ sung 0,7 mg/l BA và 0,1 mg/l NAA.
2. Giai đoạn nhân nhanh chồi: sử dụng môi trường MS, có bổ sung 1 mg/l BA và 0,3 mg/l NAA.
3. Giai đoạn tái sinh rễ, tạo cây hoàn chỉnh, sử dụng môi trường 1/2MS, có bổ sung 0,5 mg/l NAA và 0,3 mg/l IBA.
4. Giai đoạn sau ống nghiệm: cây THĐ có thể sinh trưởng và phát triển tốt trên giá thể là đất mùn.
5. Phân bón thích hợp đối với cây THĐ ở giai đoạn sau ống nghiệm là loại phân bón có hàm lượng N thích hợp và K₂O cao. Loại phân này giúp cho cây sinh trưởng và phát triển tốt, nâng cao chất lượng của sản phẩm thu hoạch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Parthasarathy V. A., Bose T. K. and Das P.**, 2000: Biotechnology of Horticultural Crops, 3: 271-272.
2. **Murashige T. and Skoog F.**, 1962: Physiol. Plant, 15: 473-479.

RAPID MICROPROPAGATION OF *BEGONIA TUBEROUS* BY YOUNG LEAF TISSUE CULTURE AND ACCLIMATIZATION IN GREENHOUSE

DINH VAN KHIEM, LE THI NHU LAN, DUONG TAN NHUT, MAI XUAN LUONG

SUMMARY

In this paper, the protocol for the rapid micropropagation of *Begonia tuberosus* are presented.

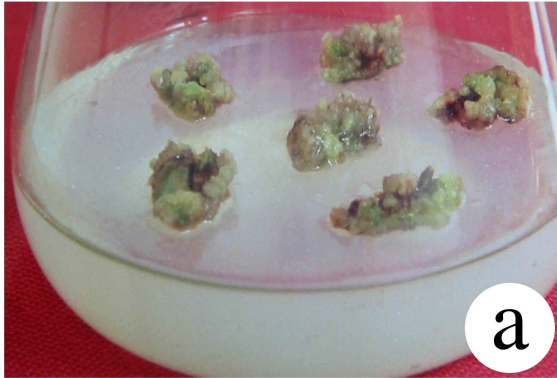
The shoot regeneration was carried out on 1/2MS medium, plus 0.7 mg/l BA and 0.03 mg/l NAA. Furthermore, the callus formation was obtained on 1/2MS medium supplemented with 0.7 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA.

For the shoot multiplication, single shoots were cultured on MS medium, plus 1 mg/l BA and 0.3 mg/l NAA.

The root formation was obtained on 1/2MS medium, plus 0.5 mg/l NAA and 0.3 mg/l IBA.

To increase the growth and development possibility of *Begonia tuberosus* in the greenhouse, we can use some chemical fertilizers (nitrophoska, Grow more, super) at a suitable dosage.

Ngày nhận bài: 6-5-2003



Cây hoa thu hải đường sinh trưởng và phát triển trong ống nghiệm và trồng ra ngoài nhà kính (a-f)

(a) Tạo callus từ mô lá non trên môi trường 1/2 MS bổ sung 0,7 mg/l BA và 0,1 mg/l NAA sau 45 ngày nuôi cấy;

(b) Cụm chồi cây THĐ trên môi trường MS có bổ sung 1 mg/l BA và 0,3 mg/l NAA sau 75 ngày nuôi cấy;

(c) Cây THĐ *in vitro* trên môi trường 1/2 MS có bổ sung 0,5 mg/l NAA và 0,3 mg/l IBA sau 45 ngày nuôi cấy;

(d) Cây THĐ *in vitro* sau 30 ngày trồng trên giá thể đất mùn trong vỉ xốp;

(e) Cây THĐ *in vitro* 11 tuần tuổi kể từ khi chuyển từ vỉ xốp ra chậu trong nhà kính;

(f) Cây THĐ *in vitro* 14 tuần tuổi trồng trong nhà kính.