

BƯỚC ĐẦU NHÂN GIỐNG HOA TULIP VÀNG (*Tulipa gesneriana*) BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY *IN VITRO*

Nguyễn Thị Hồng Gấm, Đỗ Quang Trung
Nguyễn Thị Minh Hằng, Hồ Hải Ninh

ThS. Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Từ nguồn vật liệu khởi đầu là củ Tulip vàng, bước đầu đã xây dựng được quy trình nhân giống Tulip vàng bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*. Kết quả cho thấy, khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1%; lần 1 trong 7 phút; lần 1 và lần 2 trong 3 phút cho tỷ lệ mẫu sạch tái sinh đạt 53,33%. Môi trường nuôi cấy MS + 20 g/l đường sucrose + 7 g/l agar + 2 mg/l BAP + 1 mg/l Kinetin + 0,3 mg/l NAA cho tỷ lệ mẫu tái sinh 53,33%, sau 8-10 tuần nuôi cấy. Môi trường MS + 40 g/l đường sucrose + 7 g/l agar + 0,5 mg/l BAP + 0,3 mg/l Kinetin + 0,5 mg/l NAA cho hệ số nhân củ đạt 2,67 lần, củ khá to. Môi trường MS + 30 g/l đường sucrose + 7 g/l agar + 0,1 mg/l NAA + 0,3 mg/l IBA cho tỷ lệ củ ra rễ đạt 100%; trung bình 3,4 rễ/củ: rễ trắng, mập.

Từ khoá: *In vitro*, nhân giống, *Tulipa gesneriana*, Tulip vàng

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa Tulip vàng (*Tulipa gesneriana*) có tên tiếng Anh là Strong Gold. Đây là loài hoa đẹp có phiến lá dày, thê lá xiên hơi cong xuống, lá màu xanh đậm. Chiều cao cây khoảng 58 cm, cây có 3 - 4 lá. Hoa màu vàng đậm, trục hoa có độ dài khoảng 52 cm và đường kính 1,6 cm. Nụ hoa dài 5,5 cm với đường kính nụ là 2,5 cm. Hoa Tulip vàng để chậu có độ bền 15-20 ngày [1,2,3]. Ở Việt Nam, những năm gần đây các nhà trồng hoa đã nhập khẩu củ giống Tulip về trồng và bán ra thị trường với giá rất cao. Nhưng củ giống trồng một vài năm sẽ bị thoái hóa do bệnh, đặc biệt là bệnh virus, do vậy chất lượng hoa giảm dần. Mặt khác phương pháp nhân giống bằng hạt đòi hỏi phải mất 5-8 năm tăng trưởng cây con mới đủ kích thước ra hoa [2,4]. Với kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* cho phép tạo ra số lượng củ giống lớn trong thời gian ngắn và ngăn cản dự thoái hóa giống; vì

vậy thực hiện “Nhân giống hoa Tulip vàng bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*” là cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Củ Tulip vàng nhập khẩu từ Hà Lan, do Viện nghiên cứu Rau quả cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Củ Tulip được bóc lớp vỏ ngoài, rửa dưới vòi nước chảy, ngâm trong dung dịch xà phòng loãng rồi rửa sạch xà phòng bằng nước sạch, khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% với thời gian khác nhau. Củ được tráng lại bằng nước cất vô trùng 3-5 lần, cắt tách vảy củ thành mảnh 1x1cm cấy vào môi trường nuôi cấy khởi đầu (Bảng 01). Sau 8-10 tuần nuôi, mẫu tái sinh củ; cấy chuyển củ con sang các môi trường nhân nhanh củ. Tách riêng từng củ để cấy chuyển sang môi trường tạo rễ.

Bảng 01. Thành phần các loại môi trường nuôi cấy

Môi trường	Thành phần môi trường
Môi trường tái sinh	MS + (1-2mg/l) BAP + (0-1mg/l) Kinetin + (0,2-0,5mg/l) NAA + 20g/l đường sucrose + 7 g/l agar
Môi trường nhân nhanh củ	MS + (0,3-1mg/l) BAP + (0,3-1mg/l) Kinetin + (0,3-0,5mg/l) NAA + (20 - 60g/l) đường sucrose + 7 g/l agar
Môi trường ra rễ	MS + (0,1 - 0,5mg/l) NAA + (0,1-0,5mg/l) IBA + 30g/l đường sucrose + 7 g/l agar

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo mẫu sạch *in vitro*

Trong 6 công thức thí nghiệm khử trùng củ Tulip bằng dung dịch HgCl₂ 0,1% với thời

gian khác nhau, công thức khử trùng kép với lần 1 trong 7 phút và lần 2 trong 3 phút cho hiệu quả tốt nhất. Tỷ lệ mẫu sạch tái sinh đạt cao nhất (53,33 %) (Bảng 02).

Bảng 02. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng HgCl₂ đến khả năng tạo mẫu sạch *in vitro*

CTNC	Thời gian khử trùng mẫu (phút)		Tổng số mẫu cây	Số mẫu sạch	Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Số mẫu tái sinh	Tỷ lệ mẫu tái sinh (%)
	Lần 1	Lần 2					
KL1	5	2	30	11	36,67	6	20,00
KL2	5	3	30	14	46,67	8	26,67
KL3	5	5	30	23	76,67	14	46,67
KL4	7	2	30	18	60,00	12	40,00
KL5	7	3	30	23	76,67	16	53,33
KL6	7	5	30	25	83,33	12	40,00

3.2. Tái sinh mẫu cấy

Sau khi được khử trùng, các mảnh vảy củ được cấy vào các môi trường nuôi cấy khởi đầu khác nhau, sau 8-10 tuần nuôi mẫu bắt đầu tái sinh tạo mô sẹo, rồi tạo phôi soma hay củ mới. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng (BAP, Kinetin và NAA) với hàm lượng khác nhau cho thấy hiệu quả tái sinh ở các công thức có sự khác biệt rõ rệt. Môi

trường TP5 (bổ sung 2 mg/l BAP + 1 mg/l kinetin + 0,5 mg/l NAA) phù hợp với mảnh vảy củ tái sinh tạo mô sẹo và phôi soma, tỷ lệ mẫu tái sinh đạt 46,67% sau 10-12 tuần cảm ứng. Công thức môi trường TP6 (bổ sung 2 mg/l BAP + 1 mg/l kinetin + 0,3 mg/l NAA) phù hợp để củ mầm ban đầu tái sinh tạo củ mới, tỷ lệ mẫu tái sinh đạt 53,33% sau 8-10 tuần nuôi. (Bảng 03).

Bảng 03. Ảnh hưởng của chất ĐHST đến khả năng tái sinh của mẫu cấy

CTNC	Chất ĐHST (mg/l)			Tổng số mẫu cây	Số mẫu tái sinh	Tỷ lệ mẫu tái sinh (%)	Đặc điểm của mẫu
	BAP	Kinetin	NAA				
TP1	1	1	0,3	30	9	30,00	Xung quanh mảnh mẫu màu nâu
TP2	1	1	0,5	30	8	26,67	Xung quanh mảnh mẫu màu nâu
TP3	2	1	0,2	30	12	40,00	Xuất hiện củ nhỏ phía trên mảnh mẫu
TP4	2	0	0,3	30	10	33,33	Xuất hiện củ mầm nhỏ màu trắng
TP5	2	1	0,5	30	14	46,67	Xuất hiện nhiều củ nhỏ xung quanh mảnh mẫu
TP6	2	1	0,3	30	16	53,33	Xuất hiện củ mầm màu trắng
TP7	1	0	0,5	30	6	20,00	4 Xung quanh mảnh mẫu màu vàng

3.3. Nhân nhanh củ Tulip

a) Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng

Kết quả thí nghiệm được tiến hành với 12 công thức về ảnh hưởng của BAP (0,3-1 mg/l) và Kinetin (0,3-1 mg/l) tổ hợp với NAA (0,3-0,5 mg/l) cho thấy: ở hầu hết các môi trường

đều có hệ số nhân chồi khá cao (1,17 - 2,67 lần). Tuy nhiên, hiệu quả nhân nhanh chồi ở các môi trường khác nhau là không như nhau: sử dụng tổ hợp 0,5 mg/l BAP với 0,3 mg/l Kinetin và 0,5 mg/l NAA cho hệ số nhân nhanh cao nhất (2,67 lần); chất lượng củ khá tốt (Bảng 04).

Bảng 04. Ảnh hưởng của chất ĐHST đến khả năng nhân nhanh củ Tulip vàng

CTNC	Chất ĐHST (mg/l)			Tổng số mẫu cây	Số củ tạo thành	Hệ số nhân nhanh củ (lần)	Đặc điểm của củ
	BAP	Kinetin	NAA				
NC1		0,5	0,3	6	7	1,17	Củ rất nhỏ
NC2		0,5	0,5	6	8	1,33	Củ rất nhỏ
NC3		1	0,3	6	8	1,33	Củ rất nhỏ
NC4		1	0,5	6	10	1,67	Củ rất nhỏ
NC5	0,5		0,3	6	8	1,33	Củ rất nhỏ
NC6	0,5		0,5	6	9	1,50	Củ rất nhỏ
NC7	1		0,3	6	9	1,50	Củ rất nhỏ
NC8	1		0,5	6	10	1,67	Củ rất nhỏ
NC9	0,3	0,3	0,5	6	12	2,00	Củ nhỏ TB
NC10	0,3	0,5	0,5	6	14	2,33	Củ khá
NC11	0,5	0,3	0,5	6	16	2,67	Củ khá
NC12	0,5	0,5	0,5	6	16	2,67	Củ khá

b) Ảnh hưởng của hàm lượng đường

Kết quả thí nghiệm với 5 công thức nghiên cứu về ảnh hưởng của hàm lượng đường cho thấy hàm lượng đường càng tăng thì hệ số

nhân củ càng tăng theo. Hệ số nhân củ đạt cao nhất (2,67 lần) ở môi trường có bổ sung 40 g/l và 50 g/l đường sucrose, củ khá to (Bảng 05).

Bảng 05. Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến khả năng nhân nhanh củ Tulip vàng

CTNC	Hàm lượng đường (g/l)	Tổng số mẫu cây	Số củ tạo thành	Hệ số nhân nhanh củ (lần)	Đặc điểm của củ
Đ1	20	6	9	1,50	Củ rất nhỏ
Đ2	30	6	12	2,00	Củ nhỏ TB
Đ3	40	6	16	2,67	Củ khá
Đ4	50	6	16	2,67	Củ khá
Đ5	60	6	14	2,33	Củ nhỏ TB

3.4. Tạo rễ

Trong các môi trường có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng khác nhau, tỷ lệ củ ra rễ ở các công thức rất khác nhau, đạt khá cao (50% - 100%); số rễ trung bình/củ đạt 2,3-3,5. Công

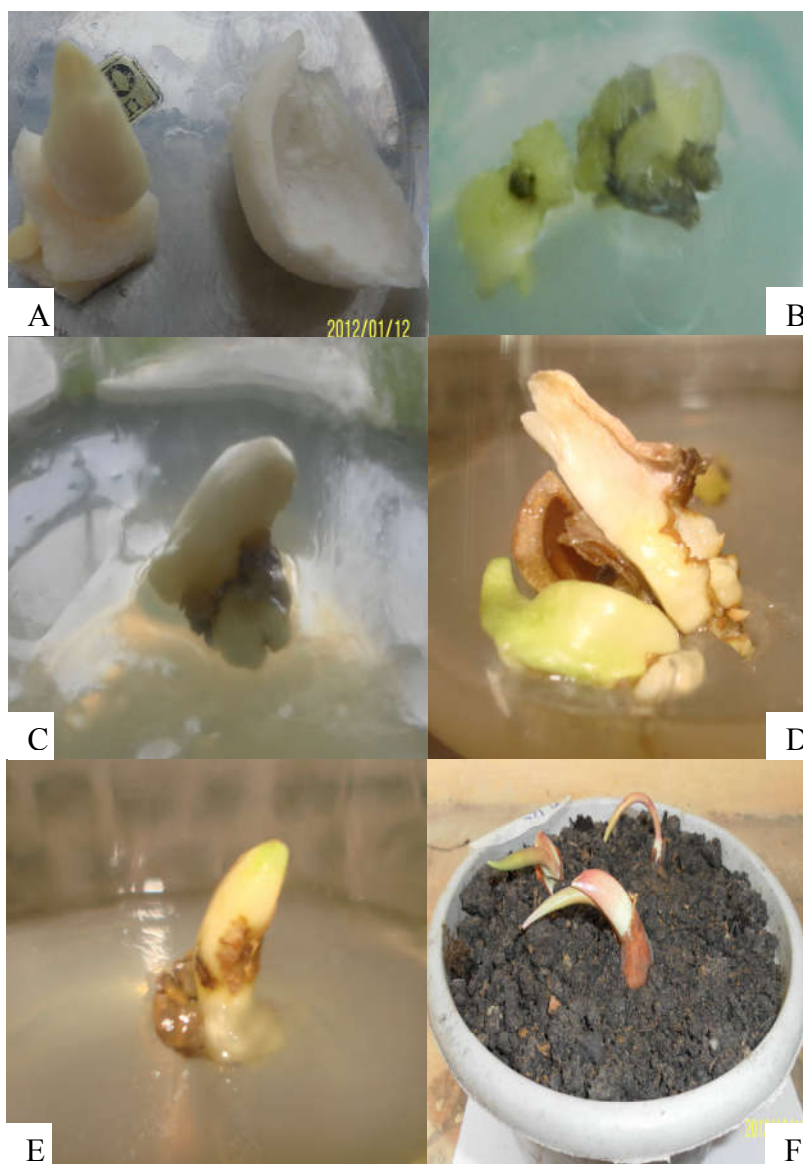
thức môi trường bổ sung 0,1 mg/l NAA + 0,3 mg/l IBA thích hợp nhất cho sự phát sinh rễ, tỷ lệ củ ra rễ ở môi trường này đạt 100%; trung bình 3,5 rễ/củ, rễ trắng và mập (Bảng 06).

Bảng 06. Ảnh hưởng của chất ĐHST đến khả năng ra rễ của Tulip vàng

CTNC	Chất ĐHST (mg/l)		Tổng số mẫu cây	Số củ ra rễ	Tỷ lệ củ ra rễ (%)	Số rễ TB/củ (rễ)	Đặc điểm của rễ
	NAA	IBA					
RL1	0,3		10	6	60	2,3	Rễ trắng, mảnh
RL2	0,5		10	8	80	2,8	Rễ trắng, mảnh
RL3		0,3	10	5	50	2,4	Rễ trắng, mảnh
RL4		0,5	10	8	80	2,9	Rễ trắng, mảnh
RL5	0,3	0,1	10	10	100	2,9	Rễ trắng, mập
RL6	0,1	0,3	10	10	100	3,4	Rễ trắng, mập
RL7	0,3	0,3	10	10	100	3,5	Rễ trắng, mập TB

Hình 01. Các giai đoạn chính trong quy trình nhân giống Tulip vàng in vitro

- A - vật liệu ban đầu;
- B - củ Tulip vàng tái sinh trong môi trường TP5;
- C - củ Tulip nhân nhanh trong môi trường Đ5;
- D - củ Tulip nhân nhanh trong môi trường Đ3;
- E - củ Tulip cấy trên môi trường ra rễ RL7;
- F - cây Tulip vàng trồng trong chậu.



IV. KẾT LUẬN

Bước đầu đã nhân được giống Tulip vàng bằng kỹ thuật nuôi cấy *In vitro*. Tỷ lệ mẫu sạch tái sinh đạt cao nhất 53,33% khi khử trùng bằng HgCl₂ 0,1% lần 1 trong 7 phút và lần 2 trong 3 phút. Ở môi trường tái sinh mẫu cấy có 53,33% mẫu tái sinh sau 8 -10 tuần nuôi cấy. Ở môi trường nhân nhanh củ cho hệ số nhân củ đạt 2,67 lần. Ở môi trường tạo rễ, có 100% củ ra rễ, trung bình 3,4 rễ/ củ, rễ trắng, mập.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Botschantzeva, Z. P. (1982), "Tulips: taxonomy, morphology, cytology, phytogeography and physiology", *CRC Press*: 120.
2. Đặng Văn Đông (2011), "Kết quả tuyển chọn giống Tulip cho miền Bắc Việt Nam", *Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển Nông thôn* – tháng 12/2011: 155-158.
3. King, Michael (2005), "Gardening with Tulips", *Portland, OR: Timber Press*: 16.
4. Pavord, Anna (1999), "The Tulip", *Bloomsbury Publishing Plc*: 31.

THE BEGINNING STAGE OF PROPAGATION OF YELLOW TULIP BULB (*Tulipa gesneriana*) BY *IN VITRO* CULTURE TECHNIQUE

**Nguyen Thi Hong Gam, Do Quang Trung
Nguyen Thi Minh Hang, Ho Hai Ninh**

SUMMARY

From the beginning material bulb, we successfully established the early stage of *in vitro* multiplication procedure of yellow tulip flower. The result showed that the formula using twice times of 0.1% HgCl₂ (7 and 3 minutes respectively) had the highest coefficient of sterilized samples which is 53.33%. The MS media added 20 g/l sucrose + 7 g/l agar + 2 mg/l BAP + 1 mg/l Kinetin + 0.3 mg/l NAA had the survival coefficient is 53.33% after 8-10 week. It also showed the MS media combined with 40 g/l sucrose + 7 g/l agar + 0.5 mg/l BAP + 0.3 mg/l Kinetin + 0.5 mg/l NAA got the bulb multiplication coefficient is 2.67. The rooting media is MS media complimented 30 g/l sucrose + 7 g/l agar + 0.3 mg/l IBA + 0.1 mg/l NAA, with coefficient is 100%. With this data, the further study should be carried out to complete the *in vitro* propagation procedure of *Tulipa gesneriana* which can be applied at industry level.

Keywords: *In vitro*, propagation, *Tulipa Gesneriana*, yellow Tulip

Người phản biện: TS. Hà Văn Huân

Ngày nhận bài: 26/6/2013

Ngày phản biện: 30/7/2013

Ngày quyết định đăng: 20/9/2013