

NHÂN NHANH CÂY HOA LOA KÈN (*Zantedeschia* SP.) THÔNG QUÁ NUÔI CÂY CHỒI ĐÍNH

Đoàn Thị Quỳnh Hương, Trịnh Thị Hương, Nguyễn Phúc Huy, Dương Tấn Nhựt

Viện Nghiên cứu khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

Cây hoa Loa kèn (*Zantedeschia* sp.) còn gọi là Arum hay Calla lily, có nguồn gốc từ Nam Phi. Loài cây này được nhân giống truyền thống bằng cách cắt củ, tách bụi. Tuy nhiên, phương pháp này có hệ số nhân thấp do dễ nhiễm vi khuẩn gây thối *Erynia* qua vết thương. Trong nghiên cứu này, phương pháp vi nhân giống loài hoa này thông qua nuôi cấy chồi đỉnh đã được thực hiện. Chồi cây hoa Loa kèn *in vitro* đã được thiết lập từ nguồn mẫu ban đầu là củ của cây Loa kèn *ex vitro* và $HgCl_2$ 1% cho hiệu quả khử trùng tốt nhất với thời gian là 10 phút (80% mẫu không nhiễm với 53,3% mẫu sống sót). Hệ số nhân chồi cao nhất (7,2 chồi/mẫu) thu được trên môi trường MS có bổ sung 4,0 mg/l BA và 0,5 mg/l NAA. Môi trường cho hiệu quả kéo dài chồi tốt nhất là môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/l KIN. Môi trường $\frac{1}{2}$ MS có bổ sung 0,5 mg/l NAA và 1,0 mg/l thiamin hoạt tính cho sự hình thành rễ tốt nhất (4,5 rễ/chồi). Các cây con 1 tháng tuổi có khả năng thích nghi và sinh trưởng tốt trong điều kiện *ex vitro*, đặc biệt khi được trồng trên giá thể là hỗn hợp đất trộn với cát theo tỷ lệ 2 : 1 cho tỷ lệ sống sót 95%.

Từ khóa: *Clorua thủy ngân, nuôi cấy in vitro, tỷ lệ sống sót, Zantedeschia*

MỞ ĐẦU

Cây hoa Loa kèn (*Zantedeschia* sp.) thuộc họ Araceae, có nguồn gốc từ Nam Phi, được sử dụng làm hoa cắt cành và hoa trồng chậu để trang trí trong nhà và trong các dịp lễ hội. Đây là một loại cây thân thảo lớn, thường niên, loài hoa này phân bố từ vùng khí hậu ôn đới đến vùng cận nhiệt đới. Hiện nay, trên thế giới có khoảng 8 loài *Zantedeschia*, phân bố chủ yếu ở Nam Phi. Trong chi *Zantedeschia*, tất cả các loài có trong tự nhiên và các loài lai tạo đều có bộ nhiễm sắc thể $2n = 32$ (Yao *et al.*, 1994).

Hiện nay, nhu cầu về củ và hoa Loa kèn trên thị trường thế giới rất lớn. New Zealand là nước dẫn đầu trên thế giới về lai tạo và sản xuất hoa Loa kèn. Năm 2004, New Zealand đã thu về 6,3 triệu đôla Mỹ từ xuất khẩu hoa Loa kèn và 3,3 triệu đôla Mỹ từ củ Loa kèn giống. Trong sản xuất thương mại, người ta nhân giống Loa kèn bằng cách tách cây con hoặc cắt củ. Phương pháp này gặp bất lợi vì dễ nhiễm virus và vi khuẩn *Erynia aratovora* gây thối trên diện rộng, gây hiện tượng thoái hóa củ giống nghiêm trọng. Hơn nữa, phương pháp này có hệ số nhân giống thấp. Mỗi năm chỉ có thể tiến hành nhân giống 1 lần, từ 1 củ có thể tách được trung bình từ 7 - 10 cây. Kỹ thuật nuôi cấy mô ra đời đã tạo ra một cuộc cách mạng trong nhân giống thực vật và đến nay vi nhân giống đã trở thành một phương pháp nhân giống

được áp dụng phổ biến ở nhiều loại cây trồng (cây công nghiệp, cây lâm nghiệp, cây dược liệu...). Phương pháp này có nhiều ưu điểm vượt trội so với phương pháp truyền thống như cây con đồng nhất về di truyền; tạo cây sạch virus thông qua xử lý nhiệt hay nuôi cấy đỉnh sinh trưởng; sản xuất quanh năm mà không phụ thuộc vào điều kiện môi trường; trong thời gian ngắn có thể sản xuất được số lượng lớn cây giống nhằm đáp ứng nhu cầu thương mại.

Vì vậy, trong nghiên cứu này, phương pháp nhân nhanh cây hoa Loa kèn thông qua nuôi cấy *in vitro* chồi đỉnh đã được thực hiện. Thời gian của một vụ trồng hoa Loa kèn sẽ được rút ngắn, không phải chờ cho cây tái tạo lại củ mới để làm nguồn giống cho vụ mùa năm sau. Cây con *in vitro* khi được trồng trong nhà kính một thời gian sẽ ra hoa, sau đó hình thành củ *ex vitro*. Ngoài ra, chúng ta có thể tạo củ Loa kèn *in vitro* từ cây con *in vitro* khi sử dụng môi trường nuôi cấy thích hợp. Từ những củ *in vitro* này chúng ta có thể thu được những củ giống có kích thước thương mại. Với việc sản xuất củ Loa kèn *in vitro*, việc trao đổi và vận chuyển giống giữa các vùng, các nước và giữa các quốc gia với nhau được thuận lợi, nhanh chóng và kinh tế hơn.

Như vậy, thông qua phương pháp này chúng ta sẽ chủ động và đa dạng hóa được nguồn giống ban đầu (củ giống *in vitro*, củ giống *ex vitro* và cây con),

đa dạng hóa sản phẩm (hoa cắt cành, củ giống xuất khẩu) và góp phần phát triển công nghệ canh tác hoa Loa kèn tại Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Vật liệu ban đầu là củ Loa kèn (*Zantedeschia* sp., hoa màu vàng) có đường kính từ 4 - 7 cm, mua tại công ty BonieFarm, Đài Loan. Những củ này được lấy từ những cây khỏe mạnh, cho hoa đẹp.

Phương pháp

Chuẩn bị môi trường

Môi trường sử dụng là môi trường muối khoáng MS (Murashige, Skoog, 1962) có bổ sung 3% đường sucrose, 0,8% agar và các chất điều hòa sinh trưởng thực vật khác nhau tùy vào mục đích thí nghiệm. Các môi trường được điều chỉnh pH đến 5,8 trước khi được hấp khử trùng ở 121°C, 1 atm trong 30 phút.

Môi trường nhân chồi

Sử dụng môi trường MS có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng N^6 -benzyladenine (BA) và kinetin (KIN) (0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 mg/l) riêng lẻ hoặc kết hợp với 0,5 mg/l α -naphthalene acetic acid (NAA)..

Môi trường kéo dài chồi

Sử dụng môi trường MS có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng thidiazuron (TDZ) (0; 0,01; 0,05; 0,10 0 mg/l) hoặc kinetin (KIN) (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l).

Môi trường ra rễ

Sử dụng môi trường MS và môi trường $\frac{1}{2}$ MS (khoảng đa lượng giảm một nửa). Các môi trường này được bổ sung NAA (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l) và 1 g/l than hoạt tính.

Giá thể

Giá thể được sử dụng để trồng các cây con *in vitro* trong giai đoạn chuyển ra vườn ươm là đất trộn lẫn với cát theo các tỷ lệ: đất : cát = 1 : 0 và đất : cát = 2 : 1.

Phương pháp khử trùng mẫu

Thao tác ngoài tủ cấy

Củ Loa kèn được rửa sạch lớp đất dính bên

ngoài, đem ngâm trong dung dịch nước rửa chén Mỹ Hào[®] trong 30 phút, sau đó được bóc sạch lớp vỏ bên ngoài, rồi được rửa dưới vòi nước chảy trong 2 h. Sau đó, các củ này được đem tẩm trong cồn 70° trong 1 phút, rồi rửa lại bằng nước cất hấp khử trùng 2 lần từ 4 - 5 lần để loại bỏ cồn.

Thao tác bên trong tủ cấy vô trùng

Hai loại hóa chất được lựa chọn để khử trùng là $HgCl_2$ 1‰ và $Ca(OCl)_2$ 5‰ có bổ sung 1 - 2 giọt Tweens-20 (polyoxyetylen sorbitan monolaurat) để tăng khả năng tiếp xúc và hiệu quả khử trùng. Quá trình khử trùng được thực hiện trong những khoảng thời gian khác nhau nhằm tìm ra thời gian khử trùng tốt nhất.

Điều kiện thí nghiệm

Các thí nghiệm được thực hiện ở điều kiện:

Điều kiện *in vitro*: Thời gian chiếu sáng: 10 giờ/ngày; cường độ chiếu sáng: 2.500 lux, nhiệt độ phòng sáng: $25 \pm 2^\circ C$; độ ẩm trung bình: 75 - 80%.

Điều kiện *ex vitro*: Ánh sáng tự nhiên, nhiệt độ 18 - 25°C; độ ẩm trung bình: 85 - 95%.

Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần trong cùng điều kiện, mỗi thí nghiệm thức gồm có 20 mẫu (1 mẫu/bình). Kết quả được xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hiệu quả khử trùng của $Ca(OCl)_2$ 5‰ và $HgCl_2$ 1‰

Trong tự nhiên, cây hoa Loa kèn phát triển ở những khu vực đầm lầy, là nơi thích hợp cho vi khuẩn gây thối và nấm phát triển (Kritzing *et al.*, 1998). Những phương pháp khử trùng truyền thống như khử trùng bằng cồn 95° và hơi trên ngọn lửa; chất diệt nấm kết hợp với ethanol và NaOCl đều cho hiệu quả thấp.

Kết quả thu được ở bảng 1 cho thấy có thể thiết lập thể Loa kèn vô trùng đúng cho nuôi cấy *in vitro* khi sử dụng $Ca(OCl)_2$ hoặc $HgCl_2$. Khi thời gian xử lý càng lâu thì hiệu quả khử trùng càng cao, nhưng đồng thời tỷ lệ sống của mẫu lại giảm dần do mô tế bào bị phá hủy. Tỷ lệ mẫu không bị nhiễm và tỷ lệ mẫu sống sót thu được khi tiến hành xử lý với $HgCl_2$ 1‰ cao hơn so với xử lý với $Ca(OCl)_2$ 5‰. $HgCl_2$ 1‰ cho 100% mẫu không bị nhiễm khi khử trùng trong 15 phút và thu được tỷ lệ mẫu sống cao nhất (53,3%) khi sử dụng trong 10 phút. Điều này có thể do thủy ngân

là một kim loại nặng nên tác động vào vi sinh vật (chủ yếu là sinh vật đơn bào) nhanh và mạnh hơn. Thêm vào đó $HgCl_2$ không thấm sâu vào mô tế bào thực vật

như $Ca(OCl)_2$ nên không gây chết mẫu nhiều. Chính vì vậy, các củ Loa kèn được xử lý với $HgCl_2$ 1‰ trong 10 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất.

Bảng 1. Hiệu quả khử trùng củ Loa kèn của $Ca(OCl)_2$ 5% và $HgCl_2$ 1‰ sau 15 ngày nuôi cấy

Chất khử trùng	Thời gian xử lý (phút)	Tỷ lệ mẫu không bị nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu sống (%)
$Ca(OCl)_2$ 5%	15	9,4 ^a	6,5 ^f
	20	33,6 ^a	25,0 ^c
	25	65,0 ^a	20,0 ^c
	30	87,0 ^b	13,3 ^c
$HgCl_2$ 1‰	8	6,7 ^f	6,6 ^f
	10	80,0 ^c	53,3 ^a
	12	86,7 ^b	46,6 ^b
	15	100,0 ^a	23,3 ^d

Chú thích Những chữ cái khác nhau (a, b, c...) được nêu trong các cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với $P=0,05$ trong Duncan's test

Bảng 2. Ảnh hưởng của BA, NAA và KIN lên khả năng nhân nhanh chồi sau 30 ngày nuôi cấy

Chất điều hòa sinh trưởng thực vật (mg/l)			Chiều cao chồi (cm)	Số lượng chồi/mẫu
BA	NAA	KIN		
-	-	-	3,01 ^{bc}	1,53 ^f
1			2,94 ^{bc}	3,21 ^h
2			2,76 ^{bc}	3,93 ^g
3			2,74 ^{bc}	6,75 ^{bc}
4			2,93 ^{bc}	6,5 ^c
5			2,68 ^c	4,26 ^f
		1	5,65 ^c	0,3 ^f
		2	8,43 ^a	0,8 ^f
		3	3,18 ^{cd}	1,07 ^a
		4	2,57 ^{cd}	3,75 ^f
		5	2,64 ^{cd}	3,08 ^g
1	0,5		2,80 ^c	3,9 ^g
2	0,5		3,15 ^{cd}	4,65 ^{bc}
3	0,5		3,22 ^{cd}	7,05 ^{ab}
4	0,5		3,51 ^{cd}	7,2 ^b
5	0,5		3,42 ^{cd}	4,8 ^d
	0,5	1	6,72 ^b	0,38 ^f
	0,5	2	8,65 ^a	0,75 ^f
	0,5	3	3,85 ^d	2,25 ^f
	0,5	4	2,34 ^f	4,35 ^{bc}
	0,5	5	3,62 ^{bc}	3,68 ^d

Chú thích Những chữ cái khác nhau (a, b, c...) được nêu trong các cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với $P=0,05$ trong Duncan's test

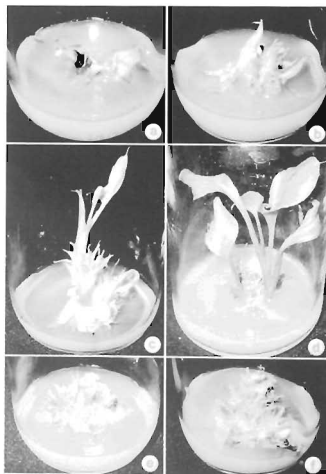
Ảnh hưởng của BA, NAA và KIN lên khả năng nhân nhanh chồi

Hiệu quả nhân chồi khi sử dụng BA từ 1.0 mg/l trở lên và không kết hợp với NAA thì thấp hơn so với khi sử dụng BA kết hợp với 0,5 mg/l NAA. Nồng độ BA thích hợp nhất cho sự nhân chồi là 4,0 mg/l (Hình 1e, f). Tương tự, KIN kết hợp với NAA cũng cho hiệu quả nhân chồi cao hơn so với khi không kết hợp NAA. Tuy nhiên, các sự khác biệt này không đáng kể (Bảng 2).

Chúng tôi nhận thấy trong môi trường chứa KIN ở nồng độ từ 1,0 – 2,0 mg/l thì 100% mẫu chồi phát triển thành cây con có chiều cao khoảng 5 – 8 cm và có 3 – 5 lá, thích hợp để đưa ra vườn ươm. Trên môi trường có bổ sung 2,0 mg/l KIN tỷ lệ nhân chồi rất thấp, chỉ đạt 0,75 – 0,8 chồi/mẫu (Hình 1c). Trong khi đó, với cùng nồng độ, BA vẫn cho sự tạo chồi

đạt 3,93 – 4,65 chồi/mẫu và không có sự phát triển thành cây con (Hình 1d). Khi sử dụng KIN với nồng độ từ 3,0 mg/l trở lên mới bắt đầu quan sát thấy có sự tạo chồi mới. Hiệu quả của KIN trong trường hợp này không bằng BA, chồi tạo thành nhỏ và ít (Hình 1a, b). Ở cùng nồng độ 4,0 mg/l, KIN cho số lượng cụm chồi trung bình là 3,75 – 4,35 chồi/mẫu, còn BA là 6,5 – 7,2 chồi/mẫu. Ngoài ra, khi sử dụng KIN với hàm lượng từ 4,0 mg/l thì có hiện tượng môi trường hóa vàng. Ở cây Loa kèn *Z. aethiopicum*, Ebrahim (2004) khi sử dụng 2,5 mg/l 2-iP đã thu được 4,0 chồi/mẫu, chiều cao chồi 9,3 cm; khi dùng 5 mg/l KIN thu được 3,0 chồi/mẫu, chiều cao chồi 6,9 cm và khi dùng 5,0 mg/l BA thu được 3,0 chồi/mẫu, chiều cao chồi 8,0 cm

Từ những kết quả thu được ở bảng 2 ta thấy, môi trường MS có bổ sung 4,0 mg/l BA và 0,5 mg/l NAA là thích hợp để nhân nhanh chồi.



Hình 1 Ảnh hưởng của BA, NAA và KIN lên khả năng hình thành chồi: a 3,0 mg/l BA, b 3,0 mg/l KIN; c 2,0 mg/l BA, d 2,0 mg/l KIN, e 4,0 mg/l BA, f 4,0 mg/l BA + 0,5 mg/l NAA

Ảnh hưởng của KIN và TDZ lên khả năng kéo dài chồi và khả năng thích nghi của cây con ngoài vườn ươm

Khi sử dụng KIN và TDZ ở nồng độ thấp thì không cảm ứng tạo chồi bất định. Các chồi non phát triển thành chồi lớn, có chiều cao từ 5,1 - 8,0 cm và có khả năng ra rễ. Điều này có thể là do KIN và TDZ ở nồng độ thấp chỉ đủ để kích thích mô phân sinh phân chia chủ không đủ để ức chế sự kéo dài tế bào; khi kết hợp với auxin nội sinh, chúng vừa kích thích phân chia vừa kéo dài tế bào giúp chồi con kéo dài. Khi nồng độ KIN và TDZ tăng thì chiều cao cây giảm do hoạt tính ức chế sự kéo dài tế bào tăng lên theo nồng độ (Bảng 3)

Trên môi trường có bổ sung KIN, tỷ lệ sống sót của cây khi đưa ra vườn ươm khá cao. Tỷ lệ cây con

sống sót đạt cao nhất trên môi trường có bổ sung 1 - 1,5 mg/l KIN (93,5 - 98,1%), tỷ lệ cây con sống sót thấp nhất là ở nồng độ 0,5 mg/l KIN (88,5%). Trong khi đó, trên môi trường có bổ sung TDZ, chỉ thu được tỷ lệ sống sót của cây con khi đưa ra vườn ươm cao nhất là 83,5% (0,01 mg/l TDZ), và tỷ lệ cây con sống sót thấp nhất là 63,7% (0,1 mg/l TDZ). Như vậy, cây con được nuôi cấy trên môi trường có bổ sung KIN có khả năng thích nghi cao hơn so với khi được nuôi cấy trên môi trường có bổ sung TDZ. Hơn nữa TDZ là một chất điều hòa sinh trưởng đất liền so với KIN nên giá trị kinh tế sẽ không cao nếu sử dụng TDZ trong sản xuất.

Như vậy, môi trường có bổ sung 1,5 mg/l KIN là thích hợp nhất cho việc kéo dài chồi và tăng khả năng thích nghi của cây con ngoài vườn ươm

Bảng 3. Ảnh hưởng của KIN và TDZ lên khả năng kéo dài chồi sau 30 ngày nuôi cấy và khả năng thích nghi của cây con ngoài vườn ươm

Chất điều hòa sinh trưởng thực vật (mg/l)		Chiều cao cây (cm)	Tỷ lệ cây con sống sót ngoài vườn ươm (%)
KIN	TDZ		
-	-	8,0 ^{ac}	92,2 ^{bc}
0,5		7,6 ^{ab}	88,5 ^c
1,0		7,3 ^{ab}	95,3 ^{ab}
1,5		6,2b ^c	98 1 ^a
2,0		5,7 ^{cd}	96 7 ^{ab}
	0,01	6,9 ^{ac}	83,5 ^c
	0,05	7,8 ^a	71,4 ^c
	0,10	5,1 ^d	63,7 ^c

Chú thích: *Những chữ cái khác nhau (a, b, c) được nêu trong các cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với P=0,05 trong Duncan's test

Bảng 4. Kết quả thí nghiệm khảo sát sự tái sinh rễ *in vitro* sau 30 ngày nuôi cấy

NAA (mg/l)	Thành phần khoáng		Số lượng rễ/chồi	Chiều dài rễ (cm)
	MS	1/2MS		
-	+	-	1,1 ¹	6,9 ^{cd}
0,5	+	-	3,5 ^{bc}	8,3 ^{ab}
1,0	+	-	2,7 ^{cd}	8,6 ^a
1,5	+	-	2,2 ^{cd}	7,9 ^{abc}
2,0	+	-	1,6 ^{cd}	7,2 ^{bcd}
-	-	+	1,5 ^{cd}	6,4 ^d
0,5	-	+	4,5 ^a	8,9 ^a
1,0	-	+	3,9 ^{ab}	8,1 ^{ab}
1,5	-	+	2,3 ^{cd}	7,3 ^{cd}
2,0	-	+	1,8 ^{cd}	6,9 ^d

Chú thích: *Những chữ cái khác nhau (a, b, c) được nêu trong các cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với P=0,05 trong Duncan's test

Khả năng tái sinh rễ *in vitro* và tạo cây hoàn chỉnh

Từ bảng 4 ta nhận thấy, trên cả hai môi trường 1/2MS và MS không bổ sung NAA cho số lượng rễ/chồi và chiều dài rễ đều thấp hơn so với môi trường có bổ sung NAA. Khi hàm lượng NAA từ 1.5 mg/l trở lên thì có sự ức chế kéo dài rễ và số lượng rễ tạo thành. Điều này là do auxin ở nồng độ cao sẽ kích thích sự hình thành sơ khởi rễ nhưng sẽ cản trở sự tăng trưởng của các rễ sơ khởi này (Viết, 2000). Ở nồng độ 0,5 mg/l NAA thu được số lượng rễ và chiều dài rễ cao nhất trên cả hai loại môi trường.

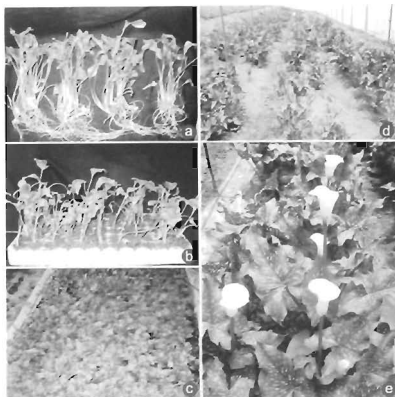
Trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l NAA thu được 3,5 rễ/chồi và chiều dài rễ là 8,3 cm, trong khi trên môi trường 1/2MS có bổ sung cùng nồng độ NAA cho 4,5 rễ/chồi và chiều dài rễ là 8,9 cm. Môi trường 1/2MS cho thấy hiệu quả kích thích khả năng

ra rễ tốt hơn so với môi trường MS. Hơn nữa, môi trường 1/2MS là môi trường đã giảm một nửa hàm lượng khoáng đa lượng, mà chủ yếu là hàm lượng nitơ. Do đó, nếu sử dụng môi trường 1/2MS sẽ tiết kiệm được chi phí về vật liệu khoáng và giúp mang lại hiệu quả kinh tế cao hơn.

Vì vậy, môi trường 1/2MS có bổ sung 0,5 mg/l NAA và 1 g/l than hoạt tính là tốt nhất cho sự ra rễ của cây con *in vitro*.

Bảng 5. Ảnh hưởng của giá thể lên sức sống của cây con sau 30 ngày đưa ra vườn ươm

Giá thể	Tỷ lệ sống sót (%)
Đất cát = 1 : 0	77
Đất cát = 2 : 1	95



Hình 2. Các giai đoạn phát triển của cây hoa Loa kèn ngoài vườn ươm: a. Cây con *in vitro* với bộ rễ hoàn chỉnh, b. Cây con sau 10 ngày trồng ở vườn ươm, c. Cây sau 30 ngày trồng ở vườn ươm; d. Cây con trong nhà lưới, e. Cây trưởng thành có hoa.

Ảnh hưởng của giá thể lên sự sinh trưởng và phát triển ngoài vườn ươm của cây con

Tỷ lệ sống sót cao nhất (95%) được ghi nhận khi cây được trồng trên giá thể đất pha cát với tỷ lệ là 2

1. Đồng thời, những cây con thu được có chiều cao khoảng 5,6 - 7,8 cm, lá xanh đậm, cuống lá màu tím sẫm. Những cây này cho thấy khả năng thích nghi tốt (Hình 2a)

Bảng 5 cho thấy giá thể đất pha cát tốt cho cây

hơn, có thể vì giá thể này có độ thoáng khí tốt, thích hợp cho cây *in vitro* hình thành rễ mới nhanh hơn sau khi rễ *in vitro* chết đi (Hình 2b, c). Còn đất có kết cấu chất hơn, khả năng thoát nước không tốt nên cây bị úng hoặc su hình thành rễ mới bị hạn chế. Các cây *in vitro* khi được chuyển ra vườn ươm được tưới nước 2 lần/ngày và được đặt dưới điều kiện chiếu sáng và phải ở nơi thoáng khí. Sau 30 ngày trồng trong vỉ xốp, cây con phát triển rất tốt, lá xanh đậm, thân cây cứng cáp, rễ mới được hình thành. Sau 70 ngày trồng cây ra nhà lưới (Hình 2d), cây bắt đầu cho hoa (Hình 2e).

KẾT LUẬN

Với phương pháp nhân giống cây hoa Loa kèn *in vitro* thông qua nuôi cấy chồi đỉnh, chúng tôi đã tạo được những cây giống Loa kèn với chất lượng đồng đều, sức sống cao và cho khả năng ra hoa tốt khi trồng ở nhà lưới. Các củ Loa kèn *ex vitro* được khử trùng với $HgCl_2$ 1% trong 10 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất. Môi trường MS có bổ sung 4,0 mg/l BA và 0,5 mg/l NAA thích hợp để nhân nhanh chồi. Trên môi trường có bổ sung 1,5 mg/l KIN, chồi phát triển thành cây con khỏe mạnh, có khả năng thích nghi cao khi đưa ra ngoài vườn ươm. Môi trường $\frac{1}{2}$ MS có bổ sung 0,5 mg/l NAA và 1 g/l than hoạt tính cho sự cảm ứng tạo rễ tốt nhất. Các cây con *in vitro* khi chuyển ra vườn ươm, trồng trên hỗn hợp

đất pha cát với tỷ lệ 2 : 1 có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt với tỷ lệ sống sót cao.

Lời cảm ơn: Các tác giả xin chân thành cảm ơn phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo Giống cây trồng (Viện Nghiên cứu khoa học Tây Nguyên) đã hỗ trợ kinh phí cho đề tài nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ebrahim MKH (2004) Comparison, determination and optimizing the conditions required for rhizome and shoot formation, and flowering of *in vitro* cultured calla explants. *Hort Sci* 101:305-313.
- Kritzing EM, Vuuren RJV, Woodward B, Rong IH, Spreeth MH (1998) Elimination of external and internal contaminants in rhizomes of *Zantedeschia aethiopica* with commercial fungicides and antibiotics. *Plant Cell Tiss Org Cult* 52: 61-65
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiol* 15: 473-479.
- Việt BT (2000) Dinh dưỡng, Sinh lý thực vật đại cương. NXB Đại học Quốc Gia TP Hồ Chí Minh.
- Yao JL, Cohen D, Rowland RE (1994) Plastid DNA inheritance and plastome genome incompatibility in interspecific hybrids of *Zantedeschia* (Araceae). *Theor Appl Genet* 88: 255-260.

MICROPROPAGATION OF CALLA LILY (*ZANTEDESCHIA* SP.) VIA SHOOT TIP CULTURE

Đoàn Thị Quỳnh Hương, Trịnh Thị Hương, Nguyễn Phúc Huy, Dương Tân Nhứt*

Tay Nguyen Institute for Scientific Research, Vietnam Academy of Science and Technology

SUMMARY

The genus *Zantedeschia*, commonly known as the arum or Calla lily, is indigenous to Africa. This is one of the most popular cut flower crops all over the world, and there are numerous available Calla lily cultivars and hybrids in market. Commercially, Calla lily is propagated through offsets and tuber division. However, the conventional method of field-grown tuber division gave low multiplication coefficient, in addition, this leads to soft rot caused by *erwinia* infection though wounding. In this study, a method for *Zantedeschia* sp. propagation using shoot tip proliferation is presented. Aseptic culture of calla lily was established from rhizome-bud explants. Surface-sterilization in $HgCl_2$ 1% solution for 10 minutes was shown to be appropriate (survival rate of 53,3%). Highest shoot formation rate (72 shoots/explant) was achieved on MS medium containing 4.0 $mg.l^{-1}$ BA and 0.5 $mg.l^{-1}$ NAA. MS medium supplemented with 1.5 $mg.l^{-1}$ KIN was found to be suitable for shoot elongation. Half-strength MS medium with 0.5 $mg.l^{-1}$ NAA and 1 $g.l^{-1}$ activated charcoal was shown to be optimal for *in vitro* rooting (4.5 roots/shoot). One month old plantlets were successfully transferred to greenhouse for acclimatization, especially as they were grown on the substratum consisting of soil and sand at the ratio of 2 : 1 (survival rate of 95%).

Keywords: *In vitro* culture, mercuryl chloride, survival rate, *Zantedeschia*

*Author for correspondence: Tel +84-63-3831056; Fax +84-63-3831028, E-mail: duyngtanhnhat@gmail.com