



HIỆU QUẢ CỦA CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG VÀ ÁNH SÁNG TỰ NHIÊN LÊN SỰ NHÂN GIỐNG *IN VITRO* HAI GIỐNG HOA HUỆ TRẮNG (*POLIANTHES TUBEROSA* L.)

Phạm Phi Hải¹ và Nguyễn Bảo Toàn²

¹ Học viên cao học CNSH K19, Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

² Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 26/9/2014

Ngày chấp nhận: 07/11/2014

Title:

Effects of plant growth regulators and natural light on *in vitro* propagation of two *Polianthes tuberosa* L. varieties

Từ khóa:

Cây huệ trắng (*Polianthes tuberosa* L.), ánh sáng tự nhiên, nhân chồi, ra rễ, thuần dưỡng

Keywords:

Polianthes tuberosa L., natural light, shoot proliferation, rooting, acclimatization

ABSTRACT

Studies were conducted to determine effects of plant growth regulators and natural light condition on *in vitro* propagation, rooting and acclimatization of *Polianthes tuberosa* L. Studies were carried out in two conditions: standard ($26 \pm 2^\circ\text{C}$, 1,500 lux, photoperiod 16 hrs) and natural light ($30 \pm 5^\circ\text{C}$, 3,000 lux, photoperiod 14 hrs), in natural light condition cultured medium not added sugar. In every condition there were three experiments, including: (1) Determination of appropriate ratios of NAA to BA to obtain the highest shoot proliferation and rooting (stage 2); (2) Determination of appropriate supplemented atonik concentration to obtain the high rooting (stage 3) rate; and (3) Acclimatization of plantlets. Results of experiments showed that in standard and natural light conditions, cultured media supplemented NAA:BA at ratio 1 mg/l:4 mg/l or 1 mg/l:6 mg/l were the most appropriate media for proliferation of shoot of two varieties H1 and H2 in both standard and natural light conditions (stage 2); effects of atonik supplement into cultured media obtained highly rooting at concentrations of 5 ml/l in standard light condition and 10 ml/l in natural light condition (stage 3); after acclimatization of two *Polianthes tuberosa* L. varieties H1 and H2 in standard and natural light conditions, these plantlets still grew normally.

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện để xác định ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng và điều kiện ánh sáng lên sự nhân chồi, ra rễ *in vitro* và sự thuần dưỡng của huệ trắng (*Polianthes tuberosa* L.). Thí nghiệm được tiến hành trong 2 điều kiện khác nhau: điều kiện chuẩn ($26 \pm 2^\circ\text{C}$, 1.500 lux, quang kỳ 16 giờ) và điều kiện tự nhiên ($30 \pm 5^\circ\text{C}$, 3.000 lux, quang kỳ 14 giờ), trong điều kiện ánh sáng tự nhiên môi trường nuôi cấy không thêm đường. Ở mỗi điều kiện ánh sáng bao gồm 3 thí nghiệm: (1) Xác định tỷ lệ NAA:BA thích hợp cho nhân chồi và ra rễ (giai đoạn 2); (2) Xác định nồng độ atonik thích hợp đạt tỷ lệ ra rễ (giai đoạn 3) và (3) Thuần dưỡng cây con. Kết quả thí nghiệm trong điều kiện ánh sáng chuẩn và ánh sáng tự nhiên cho thấy môi trường nuôi cấy có bổ sung NAA : BA với tỷ lệ 1 mg/l : 4 mg/l hoặc 1 mg/l : 6 mg/l là môi trường nuôi cấy thích hợp nhất cho nhân chồi hai giống huệ H1 và H2 ở cả hai điều kiện ánh sáng chuẩn và ánh sáng tự nhiên (giai đoạn 2); hiệu quả của bổ sung atonik vào môi trường nuôi cấy đạt tối hảo trên sự ra rễ trên hai giống huệ H1 và H2 với nồng độ 5 ml/l ở điều kiện ánh sáng chuẩn và 10 ml/l ở điều kiện ánh sáng tự nhiên (giai đoạn 3); sau khi thuần dưỡng hai giống huệ trắng H1 và H2 trong điều kiện ánh sáng chuẩn và ánh sáng tự nhiên, cây con vẫn sinh trưởng và phát triển bình thường.

1 GIỚI THIỆU

Huệ trắng (*Polianthes tuberosa*) là cây hoa cắt cành thích cường độ ánh sáng cao và cho hoa quanh năm. Hoa huệ trắng là một trong những cây mang lại hiệu quả kinh tế cao cho người trồng. Nhân giống cây này thường theo phương pháp truyền thống bằng cách tách lấy củ trồng. Nhân giống *in vitro* tạo ra số lượng lớn cây giống trong thời gian ngắn, đáp ứng được nhu cầu sản xuất; thông thường được thực hiện trong điều kiện ánh sáng nhân tạo, nước dùng pha chế môi trường là nước cất. Ngoài ra, việc nhân nhanh và tạo rễ cây con được thực hiện trong các bình chứa bằng thủy tinh. Tất cả các yếu tố trên làm cho quá trình tạo cây con có giá thành cao. Do nhiều chi phí về điện năng trong quá trình nuôi cấy. Nguyễn Minh Kiên (2011) đã cải tiến quy trình nuôi cấy trong điều kiện phòng sử dụng ánh sáng khuếch tán kết hợp với ánh sáng đèn và thay nước cất bằng nước máy qua lọc, đã làm giảm đáng kể chi phí nuôi cấy. Cho đến nay, nghiên cứu nuôi cấy cây hoa huệ *in vitro* trong điều kiện ánh sáng tự nhiên chưa thấy công bố. Ngoài ra, bình nuôi cấy được thay thế bằng bọc plastic và nước cất trong môi trường nuôi cấy được thay thế bằng nước máy qua lọc cũng là những yếu tố làm giảm giá thành. Chất điều hòa sinh trưởng cũng là yếu tố góp phần trong quá trình nhân giống. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện để xác định hiệu quả của chất điều hòa sinh trưởng và điều kiện ánh sáng tự nhiên lên sự nhân chồi, ra rễ *in vitro* và sự thuận dưỡng của hai giống huệ trắng (*Polianthes tuberosa* L.).

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu

Hai giống hoa huệ trắng có nguồn gốc từ nông dân trồng hoa huệ ở An Giang. Giống số 1 được ký hiệu là H1 và giống số 2 ký hiệu là H2. Hai giống hoa huệ trắng được nuôi cấy từ đỉnh sinh trưởng và duy trì tại Phòng vi nhân giống của Trại Nghiên cứu và Thực nghiệm Nông nghiệp. Thí nghiệm được thực hiện tại Phòng thí nghiệm nuôi cấy mô của Bộ môn Sinh lý – Sinh hóa và Phòng vi nhân giống của Trại Nghiên cứu Thực nghiệm Nông nghiệp, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ. Đề tài được thực hiện từ tháng 8 năm 2013 đến tháng 6 năm 2014.

2.2 Hóa chất thí nghiệm

Các khoáng đa lượng pha môi trường có nguồn gốc từ Trung Quốc. Sắt được sử dụng dưới dạng FeNaEDTA (Merck); chất điều hòa sinh trưởng thực vật: Naphthalene acetic acid (NAA), Benzyl

adenine (BA) (Merck); atonik dạng thương mại (sản phẩm của công ty ADC) có tỷ lệ các nitro thơm thành phần: sodium - S - nitrogualacolate 0,03%, sodium - O - nitrophenolate 0,06%, sodium - P - nitrophenolate 0,09%, loại gói nhỏ 10 ml được pha loãng thành 1 lít. Nồng độ sử dụng cho thí nghiệm là nồng độ đã được pha loãng.

2.3 Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trong hai điều kiện: điều kiện chuẩn và điều kiện tự nhiên.

Điều kiện thí nghiệm chuẩn: Nhiệt độ trung bình $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Ánh sáng được chiếu sáng bằng đèn neon (công suất 40W, dài 1,2 m, Điện quang), cường độ chiếu sáng 1.500-2.000 lux. Thời gian chiếu sáng: 16 giờ/ngày. Nước pha môi trường là nước cất.

Điều kiện thí nghiệm tự nhiên: Các thí nghiệm được thực hiện trong nhà plastic có nhiệt độ trung bình $30 \pm 5^\circ\text{C}$. Ánh sáng tự nhiên có cường độ ánh sáng trung bình 3.000 lux. Thời gian chiếu sáng 14 giờ/ngày. Nước pha môi trường là nước máy được lọc qua hệ thống lọc nước gia đình (Công ty VASSTAR Việt Nam). Nước qua cột lọc có EC = 95 $\mu\text{S/cm}$.

Thí nghiệm 1: Xác định tỉ lệ nồng độ BA và NAA thích hợp cho sự nhân chồi trong điều kiện chuẩn

Môi trường nuôi cấy cơ bản là MS (Murashige and Skoog, 1962) sử dụng trong thí nghiệm được bổ sung thêm nước dừa 100 ml/l, đường 20 g/l, agar 8 g/l. Các chất điều hòa sinh trưởng NAA và BA cho vào trong thí nghiệm theo các tỉ lệ khác nhau. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức thừa số 2 nhân tố: nhân tố 1 là tỉ lệ NAA:BA (mg/l) gồm có: 0:0 (đối chứng); 1:4; 1:6; 1,5:4 và 1,5:6. Nhân tố 2 là hai giống hoa huệ H1 và H2. Tất cả có 10 nghiệm thức, 5 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 1 bọc plastic. Bọc plastic có kích thước 15 x 25 cm được xếp vuông đáy. Mỗi bọc plastic chứa môi trường, tương ứng 4 chồi đơn trên 1 bọc plastic. Chỉ tiêu theo dõi bao gồm số chồi hình thành từ chồi ban đầu, lấy chỉ tiêu trong vòng 8 tuần.

Thí nghiệm 2: Xác định nồng độ atonik thích hợp cho sự ra rễ trong điều kiện chuẩn

Môi trường nuôi cấy là môi trường cơ bản MS được bổ sung nước dừa 100 ml/l đường 20 g/l, agar 8 g/l và atonik ở các nồng độ khác nhau. Tương ứng với từng nghiệm thức 0; 5; 10 và 15 ml/l. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 2 nhân tố, 8 nghiệm thức, 5 lần lặp lại cho

mỗi nghiệm thức, mỗi lần lặp lại 1 bọc, 4 mẫu cây/bọc. Chỉ tiêu theo dõi là số rễ mới tạo thành và chiều dài rễ sau 12 tuần nuôi cấy.

Thí nghiệm 3 và 4: giống thí nghiệm 1 và 2 nhưng được thực hiện trong điều kiện tự nhiên.

Thí nghiệm 5: Thuần dưỡng cây con

Sau khi kết thúc các thí nghiệm ở hai điều kiện nuôi cấy. Các cây huệ được đem thuần dưỡng trong nhà lưới. Hai giống hoa Huệ được tiền thuần dưỡng bằng cách cắt miệng bọc để trong điều kiện tự nhiên khoảng vài ngày. Sau đó trồng cây vào các ly nhựa (cao 12 cm, đường kính miệng 9 cm, đáy 6 cm) với giá thể xơ dừa; giữ các cây trong điều kiện mát và đủ ẩm độ ở ngoài nhà lưới, tránh ánh sáng trực tiếp (khoảng 60% ánh sáng, 74% độ ẩm, nhiệt độ trung bình 34°C. Tưới phun sương nước 1 lần/ngày vào sáng sớm và tưới dung dịch dinh dưỡng MS 1 lần/tuần. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 2 nhân tố, 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 5 lần, mỗi lần lặp lại 10 cây. Chỉ tiêu theo dõi: Xác định tỉ lệ sống của cây con sau 30 ngày thuần dưỡng.

2.4 Xử lý số liệu

Các số liệu trung bình được xử lý bằng phần mềm Excel, số liệu được thống kê bằng chương

Bảng 1: Hiệu quả của sự kết hợp giữa các nồng độ BA và NAA lên số chồi của 2 giống hoa huệ trắng ở điều kiện chuẩn sau 8 tuần nuôi cấy

Giống	ĐC	Tỷ lệ NAA (mg/l) : BA (mg/l)				Trung bình
		1:4	1:6	1,5:4	1,5:6	
H1	1,8 ^d	8,1 ^{bc}	8,4 ^{bc}	6,8 ^c	9,7 ^{ab}	6,9 ^b
H2	2,5 ^d	11,3 ^a	9,4 ^{ab}	8,8 ^b	6,7 ^c	7,7 ^a
Trung bình	2,1 ^c	9,6 ^a	8,9 ^{ab}	7,8 ^b	8,2 ^b	
F Tỷ lệ BA:NAA (A)				**		
F Giống (B)				*		
F (A x B)				**		
CV (%)						18,8

Ghi chú: các số trung bình trong cùng 1 cột thể hiện ảnh hưởng đơn của giống; các số trung bình trong cùng một hàng thể hiện ảnh hưởng đơn của tỷ lệ NAA:BA; các chỉ số còn lại thể hiện ảnh hưởng tương tác; các số có chữ số theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan. (*): khác biệt ở mức ý nghĩa 5%. (**): khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

Trong điều kiện ánh sáng tự nhiên, kết quả ở Bảng 2 cho thấy sau 8 tuần nuôi cấy, không có sự khác biệt thống kê giữa hai giống H1 và H2 về số chồi trong điều kiện ánh sáng tự nhiên. Số chồi gia

trình SPSS (version 10.0) với phép thử F, kiểm định Duncan.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hiệu quả của NAA và BA lên sự nhân chồi của hai giống huệ trắng trong điều kiện chuẩn và điều kiện ánh sáng tự nhiên

Kết quả ghi nhận ở Bảng 1 cho thấy giống hoa huệ trắng H2 có số chồi gia tăng cao hơn giống H1 sau 8 tuần nuôi cấy. Số chồi gia tăng giữa các nghiệm thức có tỉ lệ NAA và BA khác nhau khác biệt có ý nghĩa thống kê. Số chồi gia tăng cao nhất ở nghiệm thức 1:4 (NAA:BA) mg/l và thấp nhất ở nghiệm thức đối chứng. Đối với ảnh hưởng tương tác, số chồi gia tăng trên môi trường MS có bổ sung NAA và BA theo tỷ lệ 1:4 (mg/l) đạt 11,3 chồi. Kết quả này gần giống kết quả được ghi nhận trong nghiên cứu của Nguyễn Minh Kiên (2011) khi thực hiện thí nghiệm nhân chồi cây hoa huệ trắng trong điều kiện chuẩn và điều kiện cải tiến. Môi trường có bổ sung NAA:BA theo tỷ lệ 0,25:1 (mg/l) thích hợp cho nhân chồi cây hoa huệ trắng. Kết quả nghiên cứu trên lan *Aerides* sp. của Nguyễn Thị Mai Hạnh (2012) đạt được ở nghiệm thức có NAA thấp và BA cao với tỷ lệ 1:10 (mg/l) trong nhân chồi.

tăng giữa các nghiệm thức có tỷ lệ NAA và BA khác nhau. Trong đó, nghiệm thức có tỉ lệ NAA 1 mg/l và BA 6 mg/l có số chồi gia tăng tương đối cao nhất và thấp nhất là nghiệm thức đối chứng.

Bảng 2: Hiệu quả của sự kết hợp giữa các nồng độ BA và NAA lên số chồi của 2 giống hoa huệ trắng ở điều kiện ánh sáng tự nhiên sau 8 tuần nuôi cấy

Giống	ĐC	Tỷ lệ NAA (mg/l) : BA (mg/l)				Trung bình
		1:4	1:6	1,5:4	1,5:6	
H1	1,3	7,2	6,9	6,0	6,4	5,5
H2	1,4	5,9	7,3	5,5	5,0	5,0
Trung bình	1,33 ^c	6,6 ^{ab}	7,1 ^a	5,8 ^b	5,7 ^b	
F Tỷ lệ BA:NAA (A)				**		
F Giống (B)				ns		
F (A x B)				ns		
CV (%)				23,9		

Ghi chú: các số trung bình trong cùng 1 cột thể hiện ảnh hưởng đơn của giống; các số trung bình trong cùng một hàng thể hiện ảnh hưởng đơn của tỷ lệ NAA:BA; các chỉ số còn lại thể hiện ảnh hưởng tương tác; các số có chữ số theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan. (ns): khác biệt không có ý nghĩa thống kê. (**): khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

3.2 Hiệu quả của atonik lên số rễ của hai giống hoa huệ trắng trong điều kiện chuẩn và điều kiện ánh sáng tự nhiên

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa hai giống H1 và H2. Không có sự khác biệt giữa nồng độ atonik trên số rễ, cũng không có sự khác biệt tương tác giữa các nồng độ atonik và hai giống. Như vậy, trong điều kiện chuẩn sự ra rễ không lệ thuộc vào giống và các nồng độ atonik.

Bảng 3. Hiệu quả của atonik lên số rễ của 2 giống hoa huệ trắng thời điểm 12 tuần sau khi cấy ở điều kiện chuẩn

Giống	ĐC	Atonik (ml/l)			Trung bình
		5	10	15	
H1	8,8	12,1	9,2	11,4	10,4
H2	13,3	14,8	9,1	12,4	12,4
Trung bình	11,0	13,5	9,2	11,9	
F atonik (A)			ns		
F Giống (B)			ns		
F (A x B)			ns		
CV (%)			19,2		

Ghi chú: (ns): khác biệt không có ý nghĩa thống kê

Kết quả thí nghiệm trong điều kiện tự nhiên (Bảng 4) cho thấy số rễ mới tạo thành của cây hoa huệ trắng *in vitro* ở giống H1 cao hơn so với giống H2, khác biệt có ý nghĩa 1%. Đối với ảnh hưởng của các nồng độ atonik số rễ mới tạo thành khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1%. Trong đó, số rễ mới tạo thành nhiều nhất ở nghiệm thức sử dụng giống huệ H1 nuôi cấy trên môi trường có bổ sung 5 ml/l atonik, thấp nhất là ở nghiệm thức đối

chứng. Theo Djanaguiraman *et al.* (2005), Pedreno *et al.* (1990) và Li *et al.* (2003) thì atonik có tác dụng tăng cường tích lũy hàm lượng auxin nội sinh trong cây để dẫn đến sự kích thích ra rễ.

Bảng 4: Hiệu quả của nồng độ atonik lên số rễ của 2 giống hoa huệ trắng thời điểm 12 tuần sau khi cấy ở điều kiện ánh sáng tự nhiên

Giống	ĐC	Atonik (ml/l)			Trung bình
		5	10	15	
H1	4,3 ^b	8,1 ^a	5,4 ^{bc}	6,3 ^{ab}	6,0 ^a
H2	3,5 ^b	3,6 ^b	7,2 ^{ab}	4,1 ^b	4,6 ^b
Trung bình	3,9 ^b	5,9 ^a	6,3 ^a	5,2 ^a	
F atonik (A)				**	
F Giống (B)				**	
F (A x B)				**	
CV (%)				27,0	

Ghi chú: các số trung bình trong cùng 1 cột thể hiện ảnh hưởng đơn của giống nuôi cấy; các số trung bình trong cùng một hàng thể hiện ảnh hưởng đơn của atonik; các chỉ số còn lại thể hiện ảnh hưởng tương tác; các số có chữ số theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan. (**): khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

3.3 Đánh giá khả năng thích nghi của cây con được nuôi cấy ở hai điều kiện trong giai đoạn thuần dưỡng tại nhà lưới

Sau 30 ngày thuần dưỡng trong nhà lưới tỉ lệ sống của cây con được trình bày trong Bảng 5. Kết quả cho thấy tỉ lệ sống của hai giống H1 và H2 và hai điều kiện nuôi cấy không khác biệt với nhau (Hình 1).



Hình 1: Cây hoa huệ con sau 30 ngày thuần dưỡng trong nhà lưới. Bên trái giống H1 và bên phải giống H2

Bảng 5: Tỷ lệ (%) cây con còn sống sau 30 ngày thuần dưỡng

Giống	Điều kiện		Trung bình
	Điều kiện chuẩn	Điều kiện tự nhiên	
H1	92	86	89
H2	84	96	90
Trung bình	88	91	
F _{atonic (A)}			ns
F _{Giống (B)}			ns
F _(A x B)			ns
CV. (%)		13,8	

Ghi chú: (ns): khác biệt không có ý nghĩa thống kê

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

Kết quả thí nghiệm trong điều kiện ánh sáng chuẩn và ánh sáng tự nhiên cho thấy môi trường nuôi cấy có bổ sung NAA : BA với tỷ lệ 1 mg/l : 4 mg/l hoặc 1 mg/l : 6 mg/l là môi trường nuôi cấy thích hợp nhất cho nhân chồi hai giống huệ H1 và H2 ở cả hai điều kiện ánh sáng chuẩn và ánh sáng tự nhiên (giai đoạn 2); hiệu quả của bổ sung atonik vào môi trường nuôi cấy đạt tối hảo trên sự ra rễ trên hai giống huệ H1 và H2 với nồng độ 5 ml/l ở điều kiện ánh sáng chuẩn và 10 ml/l ở điều kiện ánh sáng tự nhiên (giai đoạn 3); sau khi thuần dưỡng hai giống huệ trắng H1 và H2 trong điều kiện ánh sáng chuẩn và ánh sáng tự nhiên, cây con vẫn sinh trưởng và phát triển bình thường.

4.2 Đề xuất

Sử dụng NAA : BA với tỷ lệ 1 (mg/l) : 6 (mg/l) để kích thích nhân chồi và sử dụng atonik nồng độ 5 ml/l để kích thích ra rễ cây huệ trắng nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng tự nhiên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Djanaguiraman, M. , M. Pandiyan and D. Durga Devi, 2005. Abscission of Tomato Fruit Follows Oxidative Damage and its Manipulation by Atonik Spray. Int J. Agri & Biol. Vol. 7, No.1: 39–44.
2. Li, X., S. Li and J. Lin, 2003. Effect of GA3 spraying of lignin and auxin contents and the correlated enzyme activities in bay berry (*Myrica rubra* Beib.) during flower–bud induction. Plant Sci., 24: 57–63.
3. Murashige, T. and F. Skoog,, 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, Vol. 15, pp. 473-497.
4. Nguyễn Minh Kiên, 2011. Cải tiến hệ thống nuôi cấy mô ở giai đoạn 2 và 3 của quy trình vi nhân giống cây hoa huệ trắng (*Polianthes tuberosa*) và cây hoa tử linh lan (*Saintpaulia ionatha*).
5. Luận văn thạc sĩ khoa học chuyên ngành công nghệ sinh học, Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
6. Nguyễn Thị Mai Hạnh, 2013. Cải tiến giai đoạn 2 và 3 trong vi nhân giống lan *Aerides* sp. Luận văn thạc sĩ khoa học chuyên ngành khoa học cây trồng, Đại học Cần Thơ. Cần Thơ.
7. Pedreno, M.A., A. Ros–Barcelo, F. Garcia–Carmona and R. Munoz, 1990. Oxidation of dihydroxyfumaric acid in the absence of H2O2 by cell wall bound peroxidases from lupin: A possible general model. Plant Physiol. Biochem., 28: 37–42.