

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG CÂY RAU NGÓT RỪNG (*MELIANTHA SUAVIS PIERRE*) BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CÂY MÔ TẾ BÀO

Đặng Kim Vui¹

TÓM TẮT

Ngót rừng là loại cây mọc tự nhiên tại vùng núi đá vôi khu vực phía Bắc Việt Nam, được sử dụng làm thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao. Hiện nay nguồn rau ngót rừng trong tự nhiên có nguy cơ cạn kiệt. Thí nghiệm nghiên cứu nhân giống rau ngót rừng được tiến hành tại trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên. Kết quả nghiên cứu cho thấy: Cây rau ngót rừng có thể nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào. Mẫu chồi cây ngót rừng yêu cầu khử trùng tương đối khắt khe, sử dụng hai loại hoá chất H_2O_2 và $HgCl_2$ để khử trùng mẫu nuôi cấy, kết quả đạt tốt nhất khi kết hợp khử trùng hai loại hóa chất là: H_2O_2 20% trong 15 phút + $HgCl_2$ 0,3% trong 10 phút. Bổ sung kinetin vào môi trường nhân chồi cho kết quả tốt nhất ở nồng độ 0,5 mg/l, tỷ lệ mẫu tái sinh chồi đạt 86,19%. Bổ sung BAP vào môi trường nuôi cấy cho kết quả tốt nhất ở nồng độ 1,5 mg/l, tỷ lệ mẫu tạo chồi là 70,48%. Bổ sung phối hợp kinetin và IBA vào môi trường tạo chồi cho kết quả tốt nhất ở nồng độ kinetin: 0,5 mg/l + IBA 0,3 mg/l, cho tỷ lệ tạo chồi đạt 89,05%.

Từ khóa: Rau ngót rừng, khử trùng, tái sinh chồi, chất kích thích sinh trưởng, mẫu nuôi cấy.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây rau ngót rừng (*Melientha suavis*) có tên gọi khác là cây rau sắng, là loại rau của đồng bào khu vực miền núi phía Bắc, sử dụng làm thực phẩm với các phần lá non, đọt mầm hoặc chùm hoa. Ngót rừng thuộc bộ Đền hương, có nhiều tên gọi theo vùng miền và theo từng dân tộc, người Dao gọi là “lai cam”, người Mường gọi là “Tắc sắng”, dân tộc Tày – Thái gọi là “Pắc van”, và đều có cùng một nghĩa là rau ngót. Vì có vị ngọt của cây rau ngót rừng sau khi chế biến, nên còn được gọi là cây mi chính, cây rau ngọt. Cây ngót rừng thuộc dạng cây thân gỗ (loại mọc) mọc tự nhiên trên núi, chủ yếu là những vách đá của núi đá vôi (có cao độ khoảng 100-200 m trở lên so với mặt nước biển) ở khu vực phía Bắc Việt Nam như Lào Cai, Hà Nội, Lạng Sơn, Quảng Ninh, v.v... Rau ngót rừng có thành phần dinh dưỡng khá cao, trong 100 g có khoảng 6,5 - 8,2 g protein, 0,23 g lysin, 0,19 g methionin, 0,08 g tryptophan, 0,25 g phenylalanin, 0,45 g treonin, 0,22 g valin, 0,26 g leucin và 0,23 g isoleucin, 11,5 mg vitamin C, 0,6 mg caroten, v.v... gấp nhiều lần so với các loại rau thông thường khác. Bởi vậy, đây là loại rau sau khi chế biến ăn rất ngọt, có thành phần dinh dưỡng cao, có tác dụng như một thực phẩm chức năng giúp tăng cường sức khỏe và phòng tránh nhiều loại bệnh [4].

Hiện nay, cây rau ngót rừng bị người dân khai thác nhiều và có nguy cơ ngày càng bị mất dần trong tự nhiên, đã được đưa vào Sách đỏ Việt Nam. Nhiều địa phương đã tiến hành trồng và sản xuất cây rau ngót rừng ở mức độ hộ gia đình. Việc nghiên cứu nhân giống cây ngót rừng bằng phương pháp nhân giống vô tính là rất cần thiết. Phạm vi của bài báo này là kết quả “Nghiên cứu nhân giống cây rau ngót rừng bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào”. Đây là kết quả đầu tiên về nhân giống in-vitro cây rau ngót rừng tại khu vực miền núi phía Bắc; kết quả làm tiền đề cho việc bảo tồn – phát triển sản xuất cây rau ngót rừng nói riêng và các loại rau rừng nói chung.

II. VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là mẫu nuôi cấy (chồi đỉnh, chồi bên); cây rau ngót rừng được thu thập tại khu vực Vườn Quốc gia Ba Bể, được trồng tại trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên; cây 2 năm tuổi, sinh trưởng khỏe, không bị sâu bệnh.

2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

Nội dung 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của hóa chất và thời gian khử trùng đến tỷ lệ sống của chồi cây rau ngót rừng

Môi trường sử dụng để nhân vào mẫu là MS+100 mg inositol/l+ 30 g đường/l+ 6 g aga/l, pH=5,6 [7,8].

Lượng chồi nuôi cấy/CT là: 70 chồi/công thức.

¹Đại học Nông Lâm Thái Nguyên

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của chất khử trùng H₂O₂ đến tỷ lệ sống của chồi rau ngót rừng

Thí nghiệm được bố trí với 5 công thức (CT) như sau: CT1(Đc): Nước cất vô trùng + 10 phút; CT2: H₂O₂ 20% + 10 phút; CT3: H₂O₂ 20% + 15 phút; CT4: H₂O₂ 20% + 20 phút; CT5: H₂O₂ 20% + 23 phút; CT6: H₂O₂ 20% + 25 phút.

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của HgCl₂ đến tỷ lệ sống của chồi rau ngót rừng

Thí nghiệm được bố trí với 6 công thức (CT) là: CT1- CT6, nồng độ hóa chất sử dụng được thay đổi như sau: CT1(Đc): nước cất hấp vô trùng + 20 phút; CT2: HgCl₂ 0,1% + 20 phút; HgCl₂ 0,1% + 25 phút; CT3: HgCl₂ 0,2% + 20 phút; CT4: HgCl₂ 0,2% + 25 phút; CT5: HgCl₂ 0,2% + 20 phút; CT6: HgCl₂ 0,2% + 20 phút.

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng khử trùng phối hợp giữa H₂O₂ và HgCl₂ đến tỷ lệ sống chồi cây rau ngót rừng

Thí nghiệm được bố trí khử trùng phối hợp 2 loại hóa chất CT1 (Đc): nước cất hấp vô trùng + 10 phút; CT2: H₂O₂ 20% +10 phút và HgCl₂ 0,1% + 20 phút; CT3: H₂O₂ 20% + 15 phút và HgCl₂ 0,2% + 15 phút; CT4: H₂O₂ 20% + 20 phút và HgCl₂ 0,2% + 10 phút; CT5: H₂O₂ 20% + 15 phút và HgCl₂ 0,3% + 10 phút.

Chỉ tiêu theo dõi ở nội dung một (chung cho cả 3 thí nghiệm): Sau 45 ngày nuôi cấy, tiến hành theo dõi các chỉ tiêu: tỷ lệ sống của mẫu (%), tỷ lệ mẫu bị nhiễm (%) và tỷ lệ chết của mẫu nuôi cấy (%).

Nội dung 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh chồi cây rau ngót rừng

Các chất điều hòa sinh trưởng được sử dụng là: 6-benzyl aminopurine (BAP), kinetin (KI), α -naphthylacetic (NAA), idole-buteric axit (IBA) [2;3]; điều chỉnh pH= 5,6 trước khi hấp khử trùng môi trường. Mẫu được nuôi cấy trên môi trường nền MS bổ sung thêm đường: 30 g/l, aga: 5,5 g/l, và các vitamin B8. Điều kiện nuôi cấy: ở nhiệt độ 25^o (\pm 2), độ ẩm không khí trong phòng 65-70% và cường độ ánh sáng 2000-3000 lux, thời gian chiếu sáng 8-10 giờ/ngày [2].

Thí nghiệm 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của của BAP đến khả năng nhân chồi cây rau ngót rừng

Thí nghiệm bố trí với 5 công thức (CT) từ CT1 đến CT5 với các nồng độ của BAP cho một lít môi

trường là: CT1: 0 mg; CT2: 0,5 mg; CT3: 1,0 mg; CT4: 1,5 mg; và CT5: 2,0 mg.

Thí nghiệm 5: Nghiên cứu ảnh hưởng của của kinetin đến nhân nhanh chồi cây rau ngót rừng

Thí nghiệm bố trí với 5 công thức (CT) từ CT1 đến CT5 với các nồng độ của kinetin cho một lít môi trường là: CT1: 0 mg; CT2: 0,5 mg; CT3: 1,0 mg; CT4: 1,5 mg; CT5: 2,0 mg.

Thí nghiệm 6: Nghiên cứu ảnh hưởng của phối hợp BAP + IBA đến nhân chồi cây rau ngót rừng

Thí nghiệm bố trí với 5 công thức (CT) từ CT1 đến CT5 nồng độ của BAP tốt nhất ở thí nghiệm 3 sẽ kết hợp với các nồng độ của IBA cho một lít môi trường là: CT1: 0mg; CT2: 0,1mg; CT3: 0,2 mg; CT4: 0,3 mg; CT5: 0,4 mg.

Chỉ tiêu theo dõi: sau 30 ngày nuôi cấy, tiến hành theo dõi các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu tạo chồi, tổng số chồi thu được, hệ số nhân chồi, chiều cao và chất lượng chồi.

3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm IRRISTAT (CV, %, LSD_{0,05}, vv...)

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng hóa chất khử trùng đến tỷ lệ sống của chồi cây rau ngót rừng

Bảng 1. Kết quả ảnh hưởng của H₂O₂ 20% đến tỷ lệ sống rau sắng

Công thức	Nồng độ hóa chất (%)	Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)
CT1 (Đc)	Nước cất vô trùng	10	0	100	0
CT2	H ₂ O ₂ 20%	10	15,24*	76,19	8,57
CT3	H ₂ O ₂ 20%	15	17,14*	73,33	9,53
CT4	H ₂ O ₂ 20%	20	16,67*	73,33	10,00
CT5	H ₂ O ₂ 20%	23	16,67*	70,48	12,85
CT6	H ₂ O ₂ 20%	25	16,67*	69,05	14,28
CV,%			4,5	0,8	3,7
LSD _{0,05}			1,13	1,13	0,61

(ns: sai khác không có ý nghĩa; *: công thức có sai khác có ý nghĩa)

Kết quả thể hiện qua bảng 1: Việc sử dụng H₂O₂ 20% với thời gian từ 10-20 phút cho tỷ lệ mẫu sống tăng từ 15,24-17,14%; tỷ lệ nhiễm cao, khoảng 76-100%.

73,33%; tỷ lệ chết từ 8,57-10,00%. Nếu tăng thời gian khử trùng lên 23 phút thì tỷ lệ mẫu nhiễm là 70,48%, chết là 12,85%, nhưng mẫu đạt tỷ lệ sống tương đối cao (16,67%); tăng thời gian lên 25 phút thì tỷ lệ sống của CT4 đạt tỷ lệ bằng CT5, nhưng tỷ lệ chết cao 14,28%. Kết quả bảng 1 cho thấy khi sử dụng nước oxy già H₂O₂ để khử trùng mẫu nuôi cấy cây rau ngót thì hiệu quả khử trùng không cao, tỷ lệ sống chỉ đạt dưới 20%, công thức cho kết quả tốt nhất là CT 2 (20% trong 15 phút), đạt tỷ lệ sống 17,14% (độ tin cậy của thí nghiệm là 95%).

Bảng 2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của HgCl₂ đến tỷ lệ sống của chồi cây rau ngót rừng

Công thức	Nồng độ hóa chất	Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)
CT1(Đc)	Nước cấy vô trùng	20	0	100	0
CT2	HgCl ₂ 0,1%	20	13,33*	76,67	10,00
CT3	HgCl ₂ 0,1%	25	17,62*	71,90	10,48
CT4	HgCl ₂ 0,2%	20	24,28*	65,24	10,48
CT5	HgCl ₂ 0,2%	25	26,67*	60,48	12,85
CT6	HgCl ₂ 0,3%	20	23,33*	59,52	17,15
CV,%			2,8	0,7	4,9
LSD _{0,05}			0,91	0,91	0,91

(ns: sai khác không có ý nghĩa; *: công thức có sai khác có ý nghĩa)

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của chất khử trùng HgCl₂ được thể hiện ở bảng 2. Khi thời gian khử trùng tăng trong khoảng từ 20-25 phút ở nồng độ HgCl₂ 0,1 thì tỷ lệ sống tăng từ 13,33-17,62%, tỷ lệ nhiễm giảm từ 76,67-71,90; tỷ lệ mẫu chết từ 10-10,48%. Nồng độ HgCl₂ 0,2% thời gian 20-25 phút đã cho tỷ lệ sống tăng (từ 24,28-26,67%) và tỷ lệ nhiễm giảm xuống. Tỷ lệ sống đạt cao nhất ở CT5 (26,67%). Khi tăng nồng độ lên HgCl₂ 0,3% và thời gian 20 phút, tỷ lệ sống bắt đầu giảm xuống, tỷ lệ mẫu nhiễm thấp nhất so các công thức. Việc sử dụng HgCl₂ khử trùng đơn này là phương pháp đã được sử dụng tốt cho một số loài cây rừng, kết quả cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đó [1, 2, 3].

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của khử trùng phối hợp giữa H₂O₂ 20% và HgCl₂ được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả ảnh hưởng của khử trùng kép đến tỷ lệ sống rau ngót rừng

Công thức	Nồng độ hóa chất	Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)
CT1(Đc)	Nước cất vô	10	0	100	0
CT2	H ₂ O ₂ 20 %	10	19,53*	73,33	7,14
	HgCl ₂ 0,1%	20			
CT3	H ₂ O ₂ 20 %	15	24,76*	63,81	11,43
	HgCl ₂ 0,2 %	15			
CT4	H ₂ O ₂ 20 %	20	31,91*	54,76	13,33
	HgCl ₂ 0,2 %	10			
CT5	H ₂ O ₂ 20 %	15	36,67*	49,05	14,28
	HgCl ₂ 0,3 %	10			
CV,%			3,4	1,1	4,0
LSD _{0,05}			1,43	1,39	0,69

(ns: sai khác không có ý nghĩa; *: công thức có sai khác có ý nghĩa)

Khử trùng phối hợp giữa hai loại hóa chất cho tỷ lệ mẫu sống từ 19,53% đến 36,67%. Khi khử trùng riêng lẻ hai loại hóa chất trên (ở bảng 1 và 2) tỷ lệ mẫu sống đạt rất thấp. Phối hợp được hai loại hóa chất (bảng 3) cho thấy tỷ lệ mẫu sống đạt trên 30% ở hai công thức: CT4 (31,91%) và CT5 (36,67%), kết quả cao nhất ở CT5.

Kết nghiên cứu ảnh hưởng của hóa chất khử trùng đến tỷ lệ sống của mẫu nuôi cấy ở cây rau ngót rừng cho thấy, cây ngót rừng là loại mẫu yêu cầu điều kiện khử trùng cao, khử trùng cho kết quả tốt nhất khi sử dụng khử trùng phối hợp hai loại hóa chất là: H₂O₂ 20% trong 15 phút + HgCl₂ 0,3% trong 10 phút; kết quả là tỷ lệ mẫu sống đạt 36,67%.

2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng đến khả năng nhân chồi cây rau ngót rừng

Nghiên cứu ảnh hưởng của kinetin đến khả năng nhân chồi của cây rau ngót rừng được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của kinetin đến khả năng nhân chồi cây rau ngót rừng

Công thức	Nồng độ kinetin (mg/l)	Số mẫu nuôi cấy (mẫu)	Tỷ lệ tạo chồi (%)	Tổng số chồi (chồi)	Hệ số nhân chồi/ chồi/ mẫu)	Chiều cao chồi, cm)	Chất lượng chồi
CT1	0	210	1,43	210	1,00*	1,23	
CT2	0,5	210	86,19*	277	1,31*	3,23	+++

CT3	1,0	210	77,62'	256	1,21'	2,84	++
CT4	1,5	210	52,38'	231	1,10'	2,15	++
CT5	2,0	210	36,19'	216	1,02'	1,45	++
CV,%			1,50		0,7		
LSD _{0,05}			1,39		0,014		

Ghi chú: +. Sinh trưởng kém, ++. Sinh trưởng trung bình, +++. Sinh trưởng tốt; ns: sai khác không có ý nghĩa; *: sai khác có ý nghĩa.

Ở môi trường có bổ sung kinetin, tỷ lệ mẫu tạo chồi dao động từ 36,19% đến 86,19%, hệ số nhân chồi (HSNC) đạt từ 1,02 đến 1,31. Trong đó công thức 2 (0,5 mg/l) cho kết quả tốt nhất (tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 86,19% và hệ số nhân chồi đạt 1,31. Chiều cao và chất lượng chồi cũng cho kết quả tốt nhất ở công thức 2, chiều cao đạt 3,23 cm và chất lượng chồi ở mức +++, chồi xanh và thân mập hơn các công thức khác.

Bảng 5. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân chồi cây rau ngọt rừng

Công thức	Nồng độ BAP (mg/l)	Số mẫu nuôi cấy (mẫu)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Tổng số chồi (chồi)	Hệ số nhân chồi (chồi/mẫu)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
CT1	0	210	1,43	210	1,00'	1,26	
CT2	0,5	210	46,67'	233	1,10'	1,88	+
CT3'	1,0	210	66,67'	250	1,19'	2,16	++
CT4	1,5	210	70,48'	265	1,26'	2,42	+++
CT5	2,0	210	63,81'	256	1,21'	1,72	++
CV,%			1,50		0,7		
LSD _{0,05}			1,39		0,014		

Ghi chú: +. Sinh trưởng kém, ++. Sinh trưởng trung bình, +++. Sinh trưởng tốt; ns: sai khác không có ý nghĩa; *: công thức có sai khác có ý nghĩa.

Kết quả nghiên cứu bổ sung BAP đến khả năng nhân chồi cây rau ngọt rừng cho thấy: bổ sung BAP nồng độ 1,5 mg/l cho kết quả tốt nhất, tỷ lệ mẫu tạo chồi 70,48%; số chồi thu được 265 chồi; hệ số nhân chồi (HSNC) đạt 1,26 lần; chiều cao chồi: 2,42 cm. Khi nồng độ BAP ở mức 2,0 mg/l, các chỉ số trên đều giảm đi: 63,81%, 256 chồi, 1,21 lần, 1,72 cm. Cũng tương tự, khi bổ sung BAP với lượng thấp hơn 1,5 mg/l (công thức 2 và 3), thì các chỉ số đều thấp hơn so với công thức 4. Quan sát chung cho thấy khi bổ sung BAP (bảng 5) các chỉ số về tỷ lệ mẫu tạo chồi, hệ số nhân chồi nhìn chung thấp hơn so với việc bổ

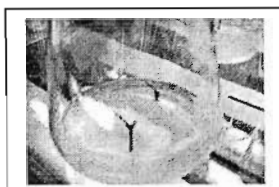
sung kinetin (bảng 4), chất lượng chồi cũng có xu hướng kém hơn, chồi sinh trưởng chậm, thân chồi có màu xanh trắng, lá có hiện tượng vàng.

Bảng 6. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của phối hợp nồng độ kinetin 0,5 mg + IBA đến khả năng nhân chồi cây rau ngọt rừng

Công thức	Nồng độ IBA (mg/l)	Số mẫu nuôi cấy (mẫu)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Tổng số chồi (chồi)	Hệ số nhân chồi (chồi/ chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
CT1	0,0	210	83,81	273	1,30	3,14	
CT2	0,1	210	59,05 ^{ns}	248	1,18 ^{ns}	2,14	+
CT3'	0,2	210	80,95 ^{ns}	269	1,28 ^{ns}	2,57	++
CT4	0,3	210	89,05'	288	1,37 ^{ns}	3,45	+++
CT5	0,4	210	73,81 ^{ns}	254	1,20 ^{ns}	1,84	++
CV,%			1,20		0,40		
LSD _{0,05}			1,70		0,97		

Ghi chú: +.sinh trưởng kém, ++. sinh trưởng trung bình, +++. sinh trưởng tốt; ns: sai khác không có ý nghĩa; *: công thức sai khác có ý nghĩa.

Kết quả nghiên cứu nồng độ kinetin tốt nhất ở thí nghiệm 5 (bảng 4) là 0,5 mg/l được kết hợp với nồng độ IBA ở các nồng độ khác nhau; kết quả thể hiện ở bảng 6. Tỷ lệ mẫu tạo chồi ở các công thức dao động từ 59,05% đến 89,05%, tổng số chồi đạt từ 248 đến 288 chồi, hệ số nhân chồi đạt từ 1,20 đến 1,37. Trong đó công thức 4 (Kinetin 0,5 mg + IBA 0,3 mg) cho kết quả tốt nhất (tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 89,05%; hệ số nhân chồi đạt 1,37). Các chỉ số thí nghiệm đều giảm hơn ở các công thức thí nghiệm có nồng độ IBA cao hơn hoặc thấp hơn mức 0,3 mg/l. Đồng thời chất lượng chồi ở công thức 4 cũng cho kết quả tốt, chiều cao đạt 3,45 cm (so với đối chứng là 3,14 cm), chồi mập lá xanh ở mức đánh giá +++ (độ tin cậy của thí nghiệm là 95%). Kết quả phối hợp giữa kinetin và IBA có tác dụng tốt cho khả năng nhân chồi cũng đã được đề cập ở nhiều báo cáo trước đây [3,4], tuy nhiên ở mỗi loại cây trồng sự kết hợp về nồng độ của hai loại chất kích thích sinh trưởng có khác nhau. Kết hợp giữa kinetin (một cytokinin) và IBA (một auxin) ở nồng độ thấp thông thường cho hiệu quả nhân chồi tốt hơn khi sử dụng riêng lẻ từng loại [1, 2, 3, 6]. Phối hợp giữa kinetin và IBA trong thí nghiệm cũng cho kết quả tương tự, chất lượng chồi tốt, chồi xanh, thân mập hơn, lá xanh đậm và dày.



Chồi nách sau 10 ngày nuôi cấy



Chồi sau 30 ngày nuôi cấy



Chồi sau 45 ngày nuôi cấy



Chồi chuyển sang nhân nhanh sau 30 ngày

IV. KẾT LUẬN

Cây rau ngót rừng có thể nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào, quá trình tái sinh chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố, khử trùng, dinh dưỡng và chất kích thích sinh trưởng, v.v....

Mẫu chồi cây rau ngót rừng yêu cầu khử trùng tương đối khắt khe, sử dụng hai loại chất khử trùng H_2O_2 , $HgCl_2$, cho kết quả: sử dụng H_2O_2 để khử trùng cho kết quả tốt nhất ở nồng độ 20% trong 15 phút, sử dụng $HgCl_2$ để khử trùng cho kết quả tốt nhất ở nồng độ 0,2% trong thời gian 25 phút. Phối hợp hai loại hóa chất trên cho kết quả tốt nhất: H_2O_2 20% trong 15 phút + $HgCl_2$ 0,3% trong 10 phút.

Bổ sung kinetin vào môi trường nhân chồi cho kết quả tốt nhất ở nồng độ 0,5 mg/l, tỷ lệ mẫu tái sinh chồi đạt 86,19%. Bổ sung BAP vào môi trường nuôi cấy cho kết quả tốt nhất ở nồng độ 1,5 mg/l, tỷ lệ mẫu tạo chồi là 70,48%. Bổ sung phối hợp kinetin và IBA vào môi trường tạo chồi cho kết quả tốt nhất ở nồng độ kinetin: 0,5 mg/l + IBA 0,3 mg/l, cho tỷ lệ tạo chồi đạt 89,05%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Ngọc Hùng (2009). *Nghiên cứu nhân giống các dòng bạch đàn lai UE35 và UE56 giữa*

Eucalyptus urophylla và E. exserta bằng phương pháp nuôi cấy mô. Báo cáo đề tài Thạc sỹ, trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên.

2. Đoàn Thị Mai và cộng sự (2000). Kết quả bước đầu về nhân giống Bạch đàn lai bằng phương pháp nuôi cấy mô phân sinh. *Tạp chí Lâm nghiệp* (số 10/2000), tr. 46-47.

3. Đoàn Thị Mai và cộng sự (2005). Bước đầu ứng dụng công nghệ mô - hom trong nhân giống Trâm hương. *Tạp chí NN&PTNT* (số 2), tr. 57-67.

4. Lê Kim Biên (1973). *Tạp san Sinh vật Địa học* (số 11-1973), tr. 35-37.

5. Nguyễn Đức Thành. (2000). Nuôi cấy mô tế bào thực vật - Nghiên cứu và ứng dụng. NXB Nông nghiệp, Hà Nội. tr 13- 19.

6. Darus H. Amad (1994). Multiplication of *Acacia mangium* by stem cutting and tissue culture techniques. *Advances in tropical acacia research*, p 32-34.

7. Murashige T. and Skoog F. (1962). A resied medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* (15), pp. 473-495. Street (1974). *Plant tissue and cell culture*. Bormonogrvol, Black well scient, London.

STUDY ON THE PROPAGATION OF *MELIENTHA SUAVIS* BY TISSUE CULTURE METHOD

Dang Kim Vui

Summary

The *Melientha suavis* is a natural growth plant at the limestone area in northern mountainous region of Vietnam, and is used as vegetative food with high content of nutrition. At present, *Melientha suavis* is in danger of distinction. The experiment on propagation of *Melientha suavis* was conducted at Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry. Result showed that: the *Melientha suavis* could be able to be propagation in vitro. Cultural sample of *Melientha suavis* required rather severe sterility condition, use of two sterility reagents: H_2O_2 and $HgCl_2$ for sterility, the best result obtained when use as: H_2O_2 20% with 15 minutes + $HgCl_2$ 0.3% with 10 minutes. Supplementary of the kinetin to the bud regeneration medium showed best result with concentration of 0.5 mg/l, rate of bud regeneration was obtained as 86.19%. Addition of BAP in the culture medium, best rest result obtained with concentration of 1.5 mg/l, rate of bud regeneration was 70.48%. Supplementary in combination of both kinetin and IBA showed highest rate of bub regeneration (89.05%) with formulation of: Kinetin: 0.5 mg/l + IBA 0.3 mg/l.

Keywords: *Melientha suavis*, sterility, bud regeneration, growth regulator, sample culture.

Người phản biện: GS.TSKH. Trần Duy Quý.