

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG IN VITRO CÂY RAU BÒ KHAI (*Erythrolpalum scandens* Blume)

Đặng Kim Vui¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu về nhân giống cây Bò Khai (*Erythrolpalum scandens* Blume) bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào được thực hiện tại Bộ môn Công nghệ Sinh học, Khoa Nông học, Trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên. Kết quả nghiên cứu cho thấy: giai đoạn khử trùng mẫu sử dụng $HgCl_2$ ở nồng độ 0,2% trong thời gian 25 phút cho tỷ lệ mẫu sống cao nhất đạt 68,89%. Môi trường có thể sử dụng cho nhân giống in vitro cây Bò Khai giai đoạn tái sinh chồi là môi trường nền (MS + Inositol 100 mg/l + Đường 30 g/l + Aga 6 g/l; pH=5,6) bổ sung thêm BAP 1 mg/l môi trường. Ở điều kiện này, tỷ lệ chồi tái sinh đạt 90,56%, hệ số nhân chồi đạt 1,42 lần, chồi sinh trưởng có chất lượng được đánh giá tốt.

Từ khóa: Cây Bò Khai, nhân giống trong ống nghiệm, nuôi cấy mô tế bào, chất kích thích sinh trưởng, môi trường nuôi cấy.

I. DẶT VẤN ĐỀ

Cây Bò Khai (*Erythrolpalum scandens* Blume), thuộc họ Dương đào – *Olacaceae*, là loại cây lâm sản ngoài gỗ, được phát hiện có nhiều ở các khu rừng vùng miền núi phía Bắc Việt Nam (Bắc Kạn, Cao Bằng, Lạng Sơn, Quảng Ninh...). Rau Bò khai còn được gọi là cây Dây hương, Rau ngiến, là loại cây thân thảo, leo bằng tua cuốn, đường kính thân từ 2-3 cm, màu xám hay vàng nhạt. Lá mọc so le, hình tam giác, có 3 gân chính, tua cuốn mọc ở lách lá, dài 15-25 cm, đầu tua chẻ hai, quả thuôn hay hình trứng, trung bình dài 0,5-1 cm, rộng 0,2-0,5 cm, khi chín vỏ quả vàng sau đó chuyển thành chín đỏ, quả dạng quả hạch. Theo Đỗ Tất Lợi, thành phần dinh dưỡng của lá tính theo % gồm: Nước 78,8, đạm 6,1, xơ 7,5, tro 1,6 và theo mg/100 g có: canxi 138, phot pho 40,7, caroten 2,6 và vitamin C 60. Cây Bò Khai được sử dụng làm thuốc và là một loại thực phẩm có giá trị với hàm lượng dinh dưỡng cao [6].

Nhu cầu sử dụng rau sạch và rau có hàm lượng dinh dưỡng cao làm thực phẩm chức năng ngày càng cao, người sản xuất có xu hướng phát triển trồng trọt các loại rau chất lượng cao đáp ứng nhu cầu thị trường. Thời gian gần đây, cây rau Bò khai trong tự nhiên có nguy cơ bị cạn kiệt do bị thu hái quá mức, nhiều hộ gia đình đã mang cây Bò khai về trồng và sản xuất như một loại rau thực phẩm. Tuy nhiên, do hạn chế về kỹ thuật và chăm sóc, năng suất rau Bò khai còn ở mức thấp, việc nhân giống chủ yếu dựa

vào các phương pháp truyền thống như: gieo trồng từ hạt, giâm cành, giâm hom... Để phát triển trồng cây Bò khai như một loại rau chất lượng cao, cần có các nghiên cứu về kỹ thuật chăm sóc, kỹ thuật nhân giống nhằm đảm bảo đủ lượng giống đáp ứng nhu cầu sản xuất. Bài báo này trình bày kết quả “Nghiên cứu nhân giống in vitro cây rau Bò khai (*Erythrolpalum scandens* Blume)”. Kết quả nghiên cứu làm tiền đề kỹ thuật cho việc phát triển trồng cây rau Bò khai ở diện rộng.

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

1. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn giống cây Bò khai được thu thập trong tự nhiên tại khu vực Vườn Quốc gia Ba Bể, giống thu thập được trồng bằng phương pháp giâm hom tại vườn cây lâm nghiệp, Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên. Cây 3 năm tuổi, đã ra hoa và cho năng suất ổn định. Mẫu nuôi cấy là các đỉnh sinh trưởng, đỉnh chồi thu từ những cây sinh trưởng tốt, cân đối và không bị sâu bệnh. Thí nghiệm được thực hiện tại Bộ môn Công nghệ Sinh học, Khoa Nông học, Trường Đại học Thái Nguyên.

2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

Nội dung 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của hóa chất khử trùng và thời gian khử trùng đến tỷ lệ sống của mẫu nuôi cấy cây Bò khai

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của hóa chất khử trùng $HgCl_2$ và H_2O_2 đến tỷ lệ sống của mẫu nuôi cấy (cây Bò khai)

¹PGS.TS.Trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên

Thí nghiệm được bố trí với 5 công thức (CT): CT1 (đối chứng): Nước cất vô trùng + thời gian 20 phút; CT2: H₂O₂ 20% +20 phút; CT3: H₂O₂ 20% +25 phút; CT4: HgCl₂ 0,1% + 20 phút; CT5: HgCl₂ 0,2% +20 phút; CT6: HgCl₂ 0,2% +25 phút [2; 3]. Sử dụng môi trường cơ bản MS, một lít môi trường bổ sung thêm: Inositol: 100 mg; đường: 30 g; Aga: 6 g, điều chỉnh pH = 5,6. Mỗi công thức thí nghiệm được tiến hành với 3 lần nhắc lại, số lượng mẫu nuôi cấy (chối) cho một lần nhắc lại là 60 mẫu. Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện nhiệt độ 25°C, ánh sáng 2000-3000 lux, thời gian chiếu sáng từ 8-10 giờ/ngày, ẩm độ vào khoảng 70%. Sau 30 ngày nuôi cấy, tiến hành theo dõi các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu sống, tỷ lệ mẫu nhiễm, tỷ lệ mẫu chết.

Nội dung 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy cơ bản đến tỷ lệ sống của mẫu nuôi cấy (cây Bò khai)

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy cơ bản đến tỷ lệ sống của mẫu nuôi cấy

Thí nghiệm được bố trí với 3 công thức cho 3 loại môi trường gồm: CT1: MS; CT2: VW; CT3: B5.

Môi trường nuôi cấy ở các công thức thí nghiệm được bổ sung đồng đều: 100 mg Inositol/l+ 30 g đường/l+ 6 g aga/l, điều chỉnh pH=5,6. Mỗi công thức thí nghiệm được tiến hành với 3 lần nhắc lại, số lượng mẫu nuôi cấy (chối) cho một lần nhắc lại là 20 mẫu. Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện nhiệt độ 25°C, ánh sáng 2000-3000 lux thời gian chiếu sáng từ 8-10 giờ/ngày, ẩm độ vào khoảng 70%. Sau 30 ngày nuôi cấy, tiến hành theo dõi các chỉ tiêu: Tỷ lệ mẫu sống, tỷ lệ bật chồi.

Nội dung 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng đến hiệu quả nhân chồi từ mẫu nuôi cấy (cây Bò khai)

Thí nghiệm được tiến hành với một số chất kích thích sinh trưởng sử dụng trong nuôi cấy mô tế bào thực vật gồm: Kinetin (KI), α -naphthylacetic (NAA), Indole-butyric axit (IBA), 6-benzyl aminopurine (BAP) [2; 3]. Môi trường nuôi cấy sử dụng cho các thí nghiệm ở nội dung 3 là môi trường MS, bổ sung thêm đường là 30 g/l, aga 6 g/l và các chất nhóm vitamin B8, điều chỉnh pH= 5,6. Mỗi công thức thí nghiệm được tiến hành với 3 lần nhắc lại, số lượng mẫu nuôi cấy (đoạn cành có đỉnh sinh trưởng đã được vô trùng) cho một lần nhắc lại là 20 mẫu. Thí

nghiệm được tiến hành trong điều kiện nhiệt độ 25°C, ánh sáng 2000 - 3000 lux thời gian chiếu sáng từ 8-10 giờ/ngày, ẩm độ vào khoảng 70% [2], [5].

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP (6-benzyl aminopurine) đến hiệu quả nhân chồi từ mẫu nuôi cấy (cây Bò khai)

Thí nghiệm bố trí với 5 công thức (CT) từ CT1 đến CT6 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; CT5: 2,0 mg; CT6: 2,5 mg.

Thí nghiệm 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của Kinetin đến hiệu quả nhân chồi từ mẫu nuôi cấy cây Bò khai

Thí nghiệm bố trí với 5 công thức (CT) từ CT1 đến CT6 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; CT6: 2,5 mg.

Thí nghiệm 5: Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP kết hợp với IBA đến hiệu quả nhân từ mẫu nuôi cấy cây Bò khai

Thí nghiệm bố trí với 5 công thức (CT) từ CT1 đến CT5, lượng BAP sử dụng cho các công thức là 1 mg cho một lít môi trường. Lượng IBA cho một lít môi trường thay đổi theo các công thức lần lượt là: CT1: 0 mg; CT2: 0,1 mg; CT3: 0,2 mg; CT4: 1,3 mg; CT5: 0,4 mg.

Thí nghiệm 6: Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP kết hợp với NAA đến hiệu quả nhân chồi từ mẫu nuôi cấy cây bò Khai

Thí nghiệm bố trí với 5 công thức (CT) từ CT1 đến CT5, lượng BAP sử dụng cho các công thức là 0,2 mg cho một lít môi trường. Lượng NAA cho một lít môi trường thay đổi theo các công thức lần lượt là CT1: 0 mg; CT2: 0,1 mg; CT3: 0,2 mg; CT4: 1,3 mg; CT5: 0,4 mg.

Chỉ tiêu theo dõi (cho tất cả các thí nghiệm của nội dung 3):

Sau 45 ngày tiến hành theo dõi các chỉ tiêu: Tỷ lệ mẫu tạo chồi, hệ số nhân chồi, chiều cao của chồi và chất lượng chồi.

Xử lý số liệu: Kết quả thí nghiệm được xử lý trên chương trình phần mềm Excel và IRRISTAT, xác định CV%, xử lý sai khác nhỏ nhất có ý nghĩa ở độ tin cậy 95% (LSD₀₅).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của hóa chất khử trùng và thời gian khử trùng đến tỷ lệ sống của mẫu nuôi cấy

Bảng 1. Ảnh hưởng của hóa chất khử trùng HgCl₂ và H₂O₂ đến tỷ lệ sống của mẫu nuôi cấy (sau 30 ngày nuôi cấy)

Công thức	Nồng độ hóa chất (%)	Thời gian (phút)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)
CT1 (đ/c)	Nước cất vô trùng	20	0	100	0
CT2	H ₂ O ₂ 20%	20	33,89*	43,89*	22,22*
CT3		25	31,11*	37,78*	31,11*
CT4	HgCl ₂ 0,1%	20	27,22*	52,22*	20,56*
CT5	HgCl ₂ 0,2%	20	47,22*	27,22*	25,56*
CT6		25	68,89*	12,22*	18,89*
CV, %			2,60	1,80	4,6
LSD ₀₅			1,66	1,46	1,66

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

Kết quả thí nghiệm thể hiện ở bảng 1. Ở công thức đối chứng (không sử dụng hóa chất khử trùng) 100% mẫu bị nhiễm (nấm hoặc khuẩn) và tỷ lệ mẫu sống bằng 0%. Ở các công thức sử dụng hóa chất khử trùng, thu được tỷ lệ mẫu sống cao hơn so với đối chứng (ở độ tin cậy 95%) và có tỷ lệ mẫu sống dao động từ 27,22% (CT4) đến 68,89% (CT6). Trong đó công thức 6 cho kết quả cao nhất với tỷ lệ mẫu sống đạt cao nhất là 68,89%.

Với độ tin cậy 95%, thí nghiệm cho phép kết luận: Khử trùng mẫu bò khai tốt nhất bằng HgCl₂ ở nồng độ 0,2% trong thời gian 25 phút.

2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến tỷ lệ sống của mẫu nuôi cấy (cây Bò Khai)

Thí nghiệm được thử nghiệm trên ba loại môi trường là MS, VW, B5. Kết quả thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2: Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy cơ bản đến tỷ lệ sống của mẫu nuôi cấy (cây Bò khai) (sau 30 ngày nuôi cấy)

Công thức	Môi trường	Số nuôi cấy	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ bật chồi (%)
CT1	MS	60	100	3,33
CT2	VW	60	0	0
CT3	B5	60	0	0

3 công thức thí nghiệm sau 30 ngày cho kết quả tương đối có ý nghĩa. Ở công thức 2 và công thức 3 mẫu bị chết 100%, công thức 1 (sử dụng môi trường nuôi cấy cơ bản là MS) cho tỷ lệ mẫu sống đạt 100%, tỷ lệ bật chồi là 3,33%. Ba loại môi trường cơ bản sử dụng trong thí nghiệm có thành phần chủ yếu là các nguyên tố đa lượng và vi lượng có bổ sung thêm đường, aga và inositol, không có sự tham gia của các chất điều tiết sinh trưởng. Kết quả nghiên cứu ở công thức cho kết quả tốt nhất là môi trường MS (CT1), mặc dù đạt tỷ lệ sống cao sau 30 ngày nuôi cấy, nhưng có tỷ lệ rất thấp (3,33 %) số mẫu tái sinh chồi. Tiếp tục theo dõi thời gian sau nuôi cấy 60 ngày, các mẫu nuôi cấy không bị chết nhưng cũng không có biểu hiện tái sinh chồi. Kết quả cho thấy: sự tiếp nhận trong môi trường nhân tạo không có chất kích thích sinh trưởng để hình thành cây hoàn chỉnh từ mẫu tế bào cây Bò khai là không cao, cần thiết phải có các thử nghiệm chi tiết hơn về ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng trong nhân giống in vitro cây Bò khai.

3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của kích thích sinh trưởng đến khả năng tạo chồi từ mẫu nuôi cấy (cây Bò khai)

Bổ sung chất kích thích sinh trưởng vào môi trường nuôi cấy có thể điều chỉnh được hướng phân hóa và phát triển của mẫu nuôi cấy (theo hướng tạo chồi, tạo callus (thể chai), tạo rễ...) [1, 2, 3, 4, 8]. Ở nội dung 3, thí nghiệm tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng riêng lẻ của BAP, Kinetin và ảnh hưởng của phối hợp (BAP+IBA; BAP+NAA) đến hiệu quả nhân chồi từ mẫu nuôi cấy [3, 4, 6]. Kết quả thí nghiệm bổ sung BAP vào môi trường nuôi cấy thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của BAP đến hiệu quả nhân chồi cây Bò khai (sau 45 ngày nuôi cấy)

Công thức	Nồng độ BAP (mg/l)	Số mẫu nuôi cấy (mẫu)	Tổng số chồi thu được (chồi)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
CT1 (đ/c)	0	180	180	1,67	1,00	1,12	+
CT2	0,5	180	234	87,78	1,3	1,56	+
CT3	1,0	180	256	90,56	1,42	2,41	+++

CT4	1,5	180	229	83,89'	1,27'	2,17	++
CT5	2,0	180	216	76,11'	1,2'	1,64	++
CT6	2,5	180	209	68,89'	1,16'	1,52	++
CV,%				1,20	1,20		
LSD ₀₅				1,79	0,03		

(+. Chồi sinh trưởng kém; ++. Chồi sinh trưởng trung bình; +++. Chồi sinh trưởng tốt, *: Công thức sai khác có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95%)

Bảng 4. Ảnh hưởng của Kinetin đến hiệu quả nhân chồi cây Bò khai (sau 45 ngày)

Công thức	Nồng độ kinetin (mg/l)	Số mẫu nuôi cấy (mẫu)	Tổng số chồi thu được (chồi)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
CT1(đ/c)	0	180	180	1,11	1,00	1,08	+
CT2	0,5	180	192	52,22'	1,06'	1,29	+
CT3'	1,0	180	185	41,11'	1,03 ^{ns}	1,34	++
CT4	1,5	180	184	30,56'	1,02 ^{ns}	1,27	+
CT5	2,0	180	185	20,56'	1,03 ^{ns}	1,23	+
CT6	2,5	180	180	17,22'	1,00 ^{ns}	1,18	+
CV,%				3,00	2,10		
LSD ₀₅				1,47	0,04		

(+. Chồi sinh trưởng kém; ++. Chồi sinh trưởng trung bình; +++. Chồi sinh trưởng tốt, ns: sự sai khác không có ý nghĩa; *: sự sai khác có ý nghĩa)

Ở mức độ tin cậy 95%, việc bổ sung BAP vào môi trường nuôi cấy cho hiệu quả tạo chồi rõ rệt. Công thức 1 (đối chứng) không bổ sung BAP, tỷ lệ tạo chồi rất thấp chỉ đạt 1,67%. Các công thức thí nghiệm có bổ sung BAP, tỷ lệ mẫu tạo chồi khá, dao động trong khoảng từ 68,89% đến 90,56%. Trong đó: công thức 3 có tỷ lệ mẫu tạo chồi cao nhất đạt 90,56%, công thức 6 có nồng độ BAP quá cao (2,5 mg BAP/l) cho tỷ lệ mẫu tạo thấp chỉ đạt 68,89% (chỉ cao hơn công thức đối chứng không bổ sung BAP).

Hệ số nhân chồi và chất lượng chồi cũng thu được kết quả tương tự, các công thức thí nghiệm có bổ sung BAP cho kết quả cao hơn so với đối chứng (độ tin cậy 95%). Trong đó công thức 3 cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 1,42 lần và chất lượng chồi tương đối tốt. Các công thức còn lại cho hệ số nhân chồi thấp hơn, dao

động từ 1,16 (CT6) đến 1,3 (CT2), chất lượng chồi ở mức (+) (CT2) và mức (++) (CT4, CT5, CT6).

Bổ sung Kinetin cho thấy hiệu quả nhân chồi từ mẫu nuôi cấy tương tự như bổ sung BAP (bảng 4). Khả năng tạo chồi ở các công thức thí nghiệm có bổ sung Kinetin cao hơn so với công thức đối chứng (CT1) ở mức tin cậy 95%. Cụ thể: Tỷ lệ mẫu tạo chồi của các công thức thí nghiệm dao động từ 17,22% (CT6) đến 52,22% (CT2). Trong đó công thức 2 cho tỷ lệ mẫu tạo chồi cao nhất đạt 52,22%, tiếp đến là công thức 3 với tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 41,11%, các công thức 4 và 5 có tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt thấp hơn, lần lượt là 30,56%

và 20,56%. Chỉ tiêu hệ số nhân chồi, công thức 2 thể hiện rõ sự khác biệt (cao hơn) so với công thức đối chứng, các CT 3, CT4, CT5, CT6 không có sự khác biệt so với đối chứng ở mức tin cậy 95%. Tuy nhiên, chất lượng chồi công thức 3 cho kết quả tốt nhất (++)

Kết quả của hai thí nghiệm bổ sung riêng lẻ BAP và Kinetin (bảng 3 và 4) cho thấy, bổ sung hàm lượng BAP 1 mg/l môi trường cho hiệu quả nhân chồi tốt nhất, hệ số nhân chồi cao và chồi sinh trưởng tương đối tốt.

Khảo sát ảnh hưởng phối hợp giữa BAP và IBA đến hiệu quả nhân chồi, thí nghiệm được thực hiện phối hợp BAP 1 mg /l và IBA ở các nồng độ từ 0 đến 0,4 mg/l. Kết quả thu được ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của BAP kết hợp với IBA đến hiệu quả nhân chồi cây Bò khai (sau 45 ngày)

Công thức	Nồng độ BAP (mg/l) + IBA (mg/l)	Số mẫu nuôi cấy (mẫu)	Tổng số chồi thu được (chồi)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
CT1(đ/c)	1,0 + 0,0	180	257	92,22	1,43	2,38	+++
CT2	1,0 + 0,1	180	211	62,78'	1,17'	1,56	++
CT3'	1,0 + 0,2	180	221	72,78'	1,23'	1,58	++
CT4	1,0 + 0,3	180	230	83,89'	1,28'	2,23	++

CT5	1,0 + 0,4	180	223	80,56'	1,24'	1,87	++
CV,%				1,30	0,80		
LSD ₀₅				2,00	0,02		

(+ . Chồi sinh trưởng kém; ++. Chồi sinh trưởng trung bình; +++. Chồi sinh trưởng tốt; * : sự sai khác có ý nghĩa)

Tỷ lệ mẫu tạo chồi ở các công thức thí nghiệm có bổ sung IBA đều cho kết quả thấp hơn công thức đối chứng không bổ sung IBA (ở độ tin cậy 95%). Tỷ lệ mẫu tạo chồi ở các công thức đối chứng cho kết quả cao nhất đạt 92,22%, các công thức thí nghiệm khác cho kết quả dao động từ 62,78 % đến 83,89%.

Các chỉ tiêu hệ số nhân chồi và chất lượng chồi cũng cho kết quả tương tự, ở các công thức có bổ sung IBA cho kết quả thấp hơn đối chứng không bổ sung IBA. Công thức đối chứng cho hệ số nhân chồi đạt kết quả cao nhất là 1,43 lần và chất lượng chồi ở mức (+++). Các công thức có bổ sung IBA cho hệ số nhân chồi dao động từ 1,17 lần đến 1,28 lần và chất lượng chồi ở mức (++) .

Thí nghiệm phối hợp giữa BAP 1,0 mg /l kết hợp với NAA được tiến hành tương tự và thu được kết quả ở bảng 6: Mức tin cậy 95%, các công thức bổ sung NAA cho kết quả thấp hơn so với đối chứng. Công thức đối chứng cho kết quả cao nhất với tỷ lệ tạo chồi đạt 89,44%, hệ số nhân chồi đạt 1,44 lần, chiều cao chồi đạt 2,39 cm và chất lượng chồi tương đối tốt (ở mức ++). Các công thức có bổ sung NAA cho kết

Bảng 6. Ảnh hưởng của BAP kết hợp với NAA đến hiệu quả nhân chồi từ mẫu cây Bò khai (sau 45 ngày)

Công thức	Nồng độ BAP (mg/l)+NAA (mg/l)	Số mẫu nuôi cấy (mẫu)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Tổng số chồi (chồi)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
CT1 (đ/c)	1,0 + 0,0	180	89,44	259	1,44	2,39	+++
CT2	1,0 + 0,1	180	58,89'	221	1,23'	1,51	+
CT3'	1,0 + 0,2	180	69,44'	245	1,36'	1,83	++
CT4	1,0 + 0,3	180	54,44'	214	1,19'	1,63	+
CT5	1,0 + 0,4	180	46,11'	200	1,11'	1,56	+
CV,%			1,40		1,00		
LSD ₀₅			1,62		0,02		

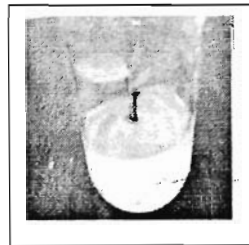
(+ . Chồi sinh trưởng kém; ++. Chồi sinh trưởng trung bình; +++. Chồi sinh trưởng tốt; * : sự sai khác có ý nghĩa)

quả thấp hơn trên cả 3 chỉ tiêu theo dõi (tỷ lệ tạo chồi dao động từ 46,11% đến 69,44%; hệ số nhân chồi dao động từ 1,11 lần đến 1,36 lần; chiều cao chồi dao động từ 1,51 cm đến 1,83 cm, chất lượng chồi được xếp ở các mức (+) và (++) .

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các chất điều tiết sinh trưởng tới hiệu quả nhân chồi từ mẫu nuôi cấy có thể kết luận: Nồng độ BAP bổ sung vào môi trường MS + 100 mg inositol/l + 30 gram đường sacaroza/lit + 6,0 gram aga/lít, pH=5,6 tốt nhất cho tạo chồi từ mẫu nuôi cấy là 1,0 mg/lít.



1. Mẫu nuôi cấy
(sau 6 ngày)



2. Chồi tái sinh
(sau 30 ngày)



3. Chồi tái sinh
(sau 45 ngày)

IV. KẾT LUẬN

Có thể sử dụng H₂O₂ và HgCl₂ để khử trùng mẫu trong nhân giống in vitro cây Bò khai. Khử trùng bằng

H₂O₂ nồng độ 20% trong thời gian từ 20-25 phút cho tỷ lệ mẫu sống (không bị nhiễm khoảng 31,11% -33,89%. Hiệu quả khử trùng cao hơn khi sử dụng hóa chất khử

trùng là $HgCl_2$, Trong đó nồng độ $HgCl_2$ từ 0,1% - 0,2% trong thời gian 20-25 phút cho tỷ lệ mẫu sống đạt từ 27,22% - 68,89%, hiệu quả cao nhất khi xử lý $HgCl_2$ nồng độ 0,2% trong 25 phút (68,89%).

Trong môi trường nền MS có bổ sung inositol 100 mg /lít + đường sacarozơ 30 gram /lít + aga 6,0 gram/lít và chất kích thích sinh trưởng BAP, có tác dụng tăng hiệu quả nhân chồi. Lượng BAP phù hợp là 1 mg/l môi trường nuôi cấy.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dương Mộng Hùng (1993). *Chọn cây trội và nhân giống bằng nuôi cấy mô tế bào cho hai loài Bạch đàn E. camaldulensis và E. urophylla*. Báo cáo đề tài, Trường Đại học Lâm nghiệp.
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 Trầm hương*. Tạp chí NN&PTNT (số 2), tr. 57-67.
4. Đoàn Thị Nga (2003). *Báo cáo hoàn thiện công nghệ nhân giống một số dòng Bạch đàn*. Trung tâm Nghiên cứu Cây nguyên liệu giấy, 35 trang.
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. Đỗ Tất Lợi (1998). *Cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. NXB Khoa học -Kỹ thuật, Hà Nội.
7. Darus H. Amad (1994). *Multiplication of Acacia mangium by stem cutting and tissue culture techniques*. Advances in tropical acacia research, p 32-34.
8. Murashige T. and Skoog F. (1962). *A resied medium for rapid growth and bioassays wirh tobacco tissue cultures*. *Physiol. Plant* (15), pp. 473-495.

STUDY ON IN VITRO PROPAGATION OF *ERYTHROPALUM SCANDENS* BLUME

Dang Kim Vui

Summary

The study on in vitro propagation of *Erythralum scandens* has been carried out at the Laboratory of Biotechnology, Faculty of Agronomy, Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry. Result of study showed that: At the sterilized stage, treatment with sterilized reagent as $HgCl_2$ 2% in 25 minuts has resulted in 68.89% of alive cultured samples. The culture medium for in vitro propagation of *Erythralum scandens* Blume for bud regeneration stage was the basis culture medium (MS + Inosytol 100 mg/l + Sacarose 30 g/l + Agar 6 g/l; pH=5.6) added with BAP 1 mg/l medium. In this condition, ratio of bud regeneration has been obtained as 90.56%, the coefficient of buds multiplication was 1.42 times, buds have been in good growth.

Keyword: *Erythralum scandens* Blume, in vitro propagation, tissue culture, growth stimulants, culture medium.

Người phản biện: PGS.TS. Ngô Xuân Bình