TẠO NGUỒN VẬT LIỆU *IN VITRO* CHO VI NHÂN GIỐNG CÂY HUYẾT DỤ (*Cordyline terminalis* (L.) Kunth)

Lê Văn Tường Huân

Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

Email: tuonghuanle@gmail.com

Ngày nhận bài: 9/7/2020; ngày hoàn thành phản biện: 21/8/2020; ngày duyệt đăng: 15/4/2021

TÓM TẮT

Khử trùng mẫu từ cây Huyết dụ ngoài tự nhiên bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 30 phút cho kết quả tốt nhất đối với mẫu đỉnh chồi và 26 phút cho kết quả tốt nhất đối với mẫu đoạn thân mang chồi nách. Các mẫu đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách của cây ngoài tự nhiên sau khi khử trùng được cấy lên môi trường cơ bản MS có 3% saccharose, 0,8% agar và bổ sung Benzyl adenine (BA) với các nồng độ từ 0,5-5 mg/L để nghiên cứu khả năng tạo chồi *in vitro*. Môi trường cơ bản MS có 3% saccharose, 0,8% agar và bổ sung 1 mg/L BA cho kết quả tạo chồi tốt nhất từ mẫu đỉnh chồi. Môi trường cơ bản MS có 3% saccharose, 0,8% agar và bổ sung 3 mg/L BA cho kết quả tạo chồi tốt nhất từ mẫu đoạn thân mang chồi nách. Nhân chồi từ đỉnh chồi *in vitro* là tốt nhất trên môi trường cơ bản MS có 3% saccharose, 0,8% agar và bổ sung 3 mg/L BA. Các kết quả này có thể được sử dụng cho vi nhân giống ở cây Huyết dụ.

Từ khóa: đỉnh chồi, đoạn thân mang chồi nách, Huyết dụ, nhân chồi, tạo chồi *in vitro*

1. MỞ ĐẦU

Cây Huyết dụ (*Cordyline terminalis*) thuộc họ Agavaceae là loại cây trang trí được ưa chuộng trong nội và ngoại thất cho hiệu quả kinh tế cao vì lá có màu sắc hấp dẫn, có hoa và phát triển tốt trong nhà [1]. Cây thường được trồng bồn cây, tạo thảm hay trồng dọc lối đi trang trí cho khuôn viên nhà ở, trường học, công ty, công viên, đường phố, khu nghỉ dưỡng… Cây Huyết dụ có thể chịu bóng bán phần nên cũng có thể trồng chậu để trang trí nội thất.

Bên cạnh giá trị là loài cây phong thủy được ưa thích vì quan niệm là loài cây sặc sỡ đem lại may mắn, loài cây này còn có giá trị là một loại thảo dược dùng trong

dân gian với khả năng cầm máu tốt, chữa xích bạch đới, chữa băng huyết, chữa lỵ, các bệnh ngoài da, hạ sốt và làm giảm đau đầu… [2, 3].

Do có giá trị về trang trí và có tác dụng chữa bệnh nên nhu cầu sử dụng cây Huyết dụ là lớn. Tuy vậy, hiện nay phương pháp nhân giống chủ yếu là giâm cành, với phương pháp này thì thời gian nhân giống chậm cây giống dễ nhiễm bệnh,. Do đó, việc tìm ra phương thức nhân giống mới nhằm sản xuất được lượng cây giống lớn trong thời gian ngắn là rất cần thiết.

Hiện nay, vi nhân giống đang được xem là giải pháp hữu hiệu để giải quyết các khó khăn trong công tác nhân nhanh giống các loài thực vật có giá trị kinh tế. Phương pháp này đã được ứng dụng thành công đem lại hiệu quả kinh tế cao cho hàng loạt cây trồng với nhiều ưu điểm so với các phương pháp nhân giống truyền thống như có thể tạo được một số lượng lớn cây giống đồng nhất, sạch bệnh trong thời gian ngắn, ít phụ thuộc vào thời tiết... [4, 5].

Bài báo này trình bày những kết quả nghiên cứu khử trùng mẫu từ cây ngoài tự nhiên bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1%; tạo chồi *in vitro* từ mẫu đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách của cây ngoài tự nhiên, nhân chồi *in vitro* bằng sử dụng môi trường cơ bản MS có bổ sung BA với các nồng độ khác nhau để tạo nguồn vật liệu cho vi nhân giống ở cây Huyết dụ.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách của cây Huyết dụ ngoài tự nhiên được sử dụng làm nguồn mẫu trong nghiên cứu này.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Môi trường và điều kiện nuôi cấy

Môi trường cơ bản dùng để nuôi cấy là môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962). Nguồn carbon là saccharose. Môi trường được làm đặc bằng agar, pH của môi trường là 5,8.

Mẫu thí nghiệm được cấy trong các bình thủy tinh chứa môi trường, đặt trong phòng nuôi cấy có nhiệt độ 25±2 °C, cường độ ánh sáng là 2000-3000 lux, thời gian chiếu sáng 14 giờ/ngày.

Nghiên cứu khử trùng các loại mẫu từ cây ngoài tự nhiên

Mẫu từ cây ngoài tự nhiên được cắt bỏ lá, cho vào cốc, rửa sạch dưới vòi nước máy và sau đó rửa với nước xà phòng loãng. Rửa sạch xà phòng dưới vòi nước máy rồi tráng lại bằng nước cất vô trùng. Khử trùng mẫu bằng cách lắc mẫu trong cồn 70%

trong vòng 1 phút, sau đó trong dung dịch $HgCl_2$ 0,1% từ 22-30 phút. Mẫu được rửa lại bằng nước cất vô trùng nhiều lần. Mẫu đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách sau đó được cấy lên môi trường, theo dõi thu số liệu về tỷ lệ mẫu nhiễm, tỷ lệ mẫu sống và tỷ lệ mẫu chết.

Nghiên cứu tạo chồi *in vitro* từ mẫu của cây ngoài tự nhiên

Đỉnh chồi hoặc đoạn thân mang chồi nách (khoảng 1 cm) từ cây ngoài tự nhiên sau khi khử trùng được cấy lên môi trường cơ bản MS chứa 3% saccharose, 0,8% agar và bổ sung Benzyl adenine (BA) với các nồng độ 0,5-5 mg/L để thăm dò khả năng tạo chồi trong điều kiện *in vitro*. Số liệu được thu sau 1 tháng nuôi cấy.

Nghiên cứu nhân chồi *in vitro*

Đỉnh chồi *in vitro* (khoảng 1cm) tách từ các chồi *in vitro* được cấy lên môi trường cơ bản MS có 3% saccharose, 0,8% agar và bổ sung BA với nồng độ 0,5-5 mg/L để thăm dò khả năng tạo chồi. Số liệu được thu sau 1 tháng nuôi cấy.

Xử lý thống kê

Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần để tính trung bình mẫu. Số liệu được xử lý bằng phương pháp thống kê sinh học, phân tích Duncan's test ($p<0,05$), sử dụng phần mềm SPSS 22.0 (SPSS Inc. Headquarters, United States).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu khử trùng các loại mẫu từ cây Huyết dụ ngoài tự nhiên

Nghiên cứu hiệu quả khử trùng của dung dịch $HgCl_2$ 0,1% đối với mẫu đỉnh chồi

Hiệu quả của thời gian khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% đối với mẫu đỉnh chồi được đánh giá thông qua tỷ lệ mẫu nhiễm, tỷ lệ mẫu sống và tỷ lệ mẫu chết sau 1 tháng. Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Hiệu quả khử trùng của dung dịch $HgCl_2$ 0,1% đối với mẫu đỉnh chồi từ cây ngoài tự nhiên

Nồng độ $HgCl_2$ (%)	Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)
0,1	22	30,0	55,0	15,0
0,1	24	33,3	50,0	16,7
0,1	26	37,5	43,8	18,7
0,1	30	47,6	33,3	19,1

Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian khử trùng ảnh hưởng nhiều đến tỷ lệ mẫu sống. Khi thời gian khử trùng tăng từ 22-30 phút thì tỷ lệ mẫu nhiễm giảm đồng thời tỷ lệ mẫu chết tăng. Cụ thể, tỷ lệ mẫu nhiễm giảm từ 55,0% ở thời gian 22 phút xuống còn 33,3% ở thời gian khử trùng 30 phút. Khi thời gian khử trùng tăng từ 22 phút đến 30 phút thì tỷ lệ mẫu chết tăng nhẹ từ 15,0% đến 19,1%. Tỷ lệ mẫu sống tăng khi tăng thời gian khử trùng, tăng từ 30,0% ở thời gian khử trùng 22 phút, lên 47,6% ở thời gian khử trùng 30 phút.

Vậy, khử trùng mẫu đỉnh chồi bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 30 phút cho kết quả tốt nhất với tỷ lệ mẫu sống đạt 47,6%.

Nghiên cứu hiệu quả khử trùng của dung dịch $HgCl_2$ 0,1% đối với mẫu đoạn thân mang chồi nách

Hiệu quả của thời gian khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% đối với mẫu đoạn thân mang chồi nách được đánh giá sau 1 tháng. Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Hiệu quả khử trùng của dung dịch $HgCl_2$ 0,1% đối với mẫu đoạn thân mang chồi nách từ cây ngoài tự nhiên

Nồng độ $HgCl_2$ (%)	Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)
0,1	22	25,0	59,1	15,9
0,1	24	27,3	51,5	21,2
0,1	26	33,3	45,5	21,2
0,1	30	30,6	44,9	24,5

Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian khử trùng ảnh hưởng lớn đến tỷ lệ mẫu sống. Khi tăng thời gian khử trùng từ 22-30 phút thì tỷ lệ mẫu nhiễm giảm đồng thời tỷ lệ mẫu chết tăng. Cụ thể, tỷ lệ mẫu nhiễm giảm từ 59,1% ở thời gian 22 phút xuống còn 44,9% ở thời gian khử trùng 30 phút. Tỷ lệ mẫu chết tăng khi tăng thời gian khử trùng từ 22-30 phút (từ 15,9% lên 24,5%). Tỷ lệ mẫu sống tăng dần khi thời gian khử trùng tăng từ 22 đến 26 phút (từ 25,0% lên 33,3%) và giảm khi thời gian khử trùng tăng lên 30 phút (30,6%).

Vậy, thời gian khử trùng mẫu đoạn thân mang chồi nách bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 26 phút cho kết quả tốt nhất với tỷ lệ mẫu sống đạt 33,3%.

Nguyên nhân chính cho kết quả khử trùng khá thấp có lẽ do đặc tính của mẫu cấy là có các bẹ lá bao quanh đỉnh chồi và đoạn thân mang chồi nách gây khó khăn cho sự xâm nhập của chất khử trùng, làm giảm hiệu quả của chất khử trùng với mẫu cấy và tỷ lệ mẫu nhiễm cao.

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của BA lên khả năng tạo chồi *in vitro* từ mẫu đỉnh chồi của cây Huyết dụ ngoài tự nhiên

Mẫu đỉnh chồi được cấy lên môi trường MS có bổ sung BA ở các nồng độ khác nhau để nghiên cứu khả năng tạo chồi. Kết quả thu được sau 1 tháng nuôi cấy được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của BA lên khả năng tạo chồi *in vitro* từ mẫu đỉnh chồi của cây ngoài tự nhiên sau 1 tháng nuôi cấy

Nồng độ BA (mg/L)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi TB/mẫu	Chiều cao TB của chồi (cm)
0	100	$1,0^{e}$	$6,2^{a}$
0,5	100	$2,2^{cd}$	$2,2^{b}$
1,0	100	$3,4^{a}$	$1,9^{bc}$
2,0	100	$2,6^{b}$	$1,8^{bc}$
3	100	$2,4^{bc}$	$1,7^{bc}$
4	100	$2,3^{bc}$	$1,6^{bc}$
5	100	$1,8^{d}$	$1,4^{c}$

Ghi chú: *Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có mức ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với p < 0,05 (Duncan's test).*

Kết quả cho thấy tất cả các môi trường có bổ sung BA với nồng độ từ 0,5-5 mg/L đều có sự tạo chồi. Môi trường MS không bổ sung BA thì không có sự tạo thành chồi mới mà chỉ có sự kéo dài chồi.

Ở các môi trường MS có bổ sung 0,5-4 mg/L BA, sau 10 ngày nuôi cấy bắt đầu có hiện tượng tạo chồi. Sau 15 ngày thì chồi mọc rõ ràng, có dạng búp măng, màu xanh đậm hơn. Các chồi tăng dần về kích thước và số lượng.

Trên môi trường MS có bổ sung 5 mg/L BA, sau 15 ngày nuôi cấy mới thấy có hiện tượng tạo chồi. Sau 20 ngày thì chồi mọc rõ ràng.

Nhìn chung, mẫu đỉnh chồi Huyết dụ có sức sống cao và khả năng tạo chồi tốt. Tất cả mẫu sống đều có sự tạo chồi. Số lượng chồi trên mẫu tăng dần qua các môi trường có bổ sung 0,5-1 mg/L BA. Khi tăng nồng độ BA lên 2-3 mg/L thì số lượng chồi giảm dần. Các chồi tạo thành màu xanh, dạng búp măng. Chiều cao của các chồi không khác biệt lớn giữa các môi trường có bổ sung 0,5-5 mg/L BA, riêng môi trường MS chiều cao chồi có vượt trội so với các môi trường còn lại và có sự tạo rễ. Đường kính chồi giữa các môi trường cũng không có sự khác biệt lớn. Một số mẫu cấy trên môi trường có bổ sung 0,5-5 mg/L BA có tạo callus nhỏ ở vết cắt của mẫu cấy.

Cụ thể, khi sử dụng môi trường có bổ sung 0,5 mg/L BA sau 1 tháng nuôi cấy,

thu được kết quả: tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100% với số lượng chồi trung bình phát sinh trên một mẫu là 2,2. Chiều cao của các chồi là khá lớn so với các môi trường còn lại (đạt 2,2 cm).

Trên môi trường có bổ sung 1 mg/L BA, tỷ lệ các mẫu tạo chồi đạt 100%, số lượng chồi trung bình tạo thành trên mẫu đạt 3,4 chồi/mẫu, đạt số lượng chồi lớn nhất trong các môi trường. Chiều cao trung bình của chồi là 1,9 cm.

Ở môi trường có bổ sung 2 mg/L BA, tỷ lệ các mẫu tạo chồi đạt 100%, số lượng chồi trung bình tạo thành trên mẫu đạt 2,6 chồi/mẫu, số lượng chồi tạo thành giảm so với môi trường có bổ sung 1 mg/L BA. Chiều cao trung bình của chồi là 1,8 cm.

Trên môi trường có bổ sung 3 mg/L BA, tỷ lệ các mẫu tạo chồi đạt 100%, số lượng chồi trung bình phát sinh trên một mẫu đạt 2,4 chồi/mẫu, số lượng chồi tạo thành giảm so với môi trường có bổ sung 1 mg/L BA. Các chồi tạo thành có chiều cao trung bình là 1,7 cm.

Ở môi trường có bổ sung 4 mg/L BA, tỷ lệ các mẫu tạo chồi đạt 100%, số lượng chồi trung bình phát sinh trên một mẫu đạt 2,3 chồi/mẫu. Các chồi tạo thành có chiều cao tiếp tục giảm, với chiều cao trung bình là 1,6 cm.

Môi trường bổ sung 5 mg/L BA có tỷ lệ các mẫu tạo chồi đạt 100%, số lượng chồi trung bình phát sinh trên mẫu đạt 1,8 chồi/mẫu, số lượng chồi tạo thành thấp nhất trong các môi trường có bổ sung BA. Các chồi tạo thành có chiều cao thấp nhất trong các môi trường với chiều cao trung bình của chồi là 1,4 cm.

Từ kết quả trên cho thấy, môi trường có bổ sung 1 mg/L BA là môi trường tốt nhất để tạo chồi *in vitro* từ đỉnh chồi của cây Huyết dụ ngoài tự nhiên (Hình 1).

Hình 1. Tạo chồi *in vitro* từ đỉnh chồi của cây Huyết dụ ngoài tự nhiên trên môi trường MS có bổ sung 1 mg/L BA.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của BA lên khả năng tạo chồi *in vitro* từ mẫu đoạn thân mang chồi nách của cây Huyết dụ ngoài tự nhiên

Đoạn thân mang chồi nách được cấy lên môi trường có bổ sung BA ở các nồng độ khác nhau để nghiên cứu khả năng tạo chồi. Kết quả thu được sau 1 tháng nuôi cấy được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của BA lên khả năng tạo chồi *in vitro* từ mẫu đoạn thân mang chồi nách của cây ngoài tự nhiên sau 1 tháng nuôi cấy

Nồng độ BA (mg/L)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi TB/mẫu	Chiều cao TB của chồi (cm)
0	100	$1,2^{d}$	$1,3^{ab}$
0,5	100	$1,5^{c}$	$1,3^{ab}$
1,0	100	$1,8^{c}$	$1,4^{ab}$
2,0	100	$2,3^{b}$	$1,4^{ab}$
3,0	100	$2,6^{a}$	$1,5^{a}$
4,0	100	$2,1^{b}$	$1,2^{bc}$
5,0	100	$1,5^{c}$	$1,1^{c}$

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có mức ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Kết quả cho thấy tất cả các môi trường MS có bổ sung BA với nồng độ từ 0,5-5 mg/L đều có sự tạo chồi từ mẫu cấy của cây ngoài điều kiện tự nhiên.

Ở các môi trường MS có bổ sung 0,5-4 mg/L BA, sau 1 tuần nuôi cấy thấy bắt đầu có hiện tượng tạo chồi, các chồi nách bắt đầu lớn dần và có màu xanh nhạt. Sau 20 ngày thì chồi mọc rõ ràng, màu xanh đậm hơn. Các chồi tăng dần về kích thước và số lượng.

Môi trường MS có bổ sung 5 mg/L BA, sau 2 tuần nuôi cấy mới thấy có hiện tượng tạo chồi, các chồi nách bắt đầu lớn dần và có màu xanh nhạt. Sau 20 ngày thì chồi mọc rõ ràng, màu xanh đậm hơn. Kích thước và số lượng chồi tăng dần.

Môi trường MS cơ bản vẫn có sự tạo thành chồi mới tương tự các môi trường khác. Nhưng thời gian ra chồi chậm hơn, sau 2 tuần nuôi cấy mới có hiện tượng tạo chồi.

Nhìn chung, mẫu đoạn thân mang chồi nách của Huyết dụ có sức sống cao và khả năng tạo chồi tốt. Tất cả mẫu sống đều có sự tạo chồi. Các môi trường MS cơ bản và MS có bổ sung 0,5-5 mg/L BA đều có tỷ lệ tạo chồi đạt 100%. Số lượng chồi trên mẫu tăng dần qua các môi trường có bổ sung 0,5-3 mg/L BA. Khi tăng nồng độ BA lên 3-5 mg/L thì số lượng chồi giảm dần.

Chiều cao của các chồi không khác biệt lớn giữa các môi trường. Trên môi trường MS, có sự tạo rễ. Đường kính chồi giữa các môi trường cũng không có sự khác biệt lớn. Các mẫu cấy trên môi trường có bổ sung 0,5-5 mg/L BA có tạo callus ở vết cắt của một số mẫu cấy.

Cụ thể, khi sử dụng môi trường có bổ sung 0,5 mg/L BA sau 1 tháng nuôi cấy thu được tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100% với số lượng chồi trung bình phát sinh trên một mẫu là 1,5. Các chồi tạo thành màu xanh. Chiều cao trung bình của chồi là 1,3 cm.

Ở môi trường có bổ sung 1 mg/L BA, tỷ lệ các mẫu tạo chồi đạt 100% và số lượng chồi trung bình phát sinh trên một mẫu đạt 1,8 chồi/mẫu. Chiều cao trung bình của chồi là 1,4 cm.

Ở môi trường có bổ sung 2 mg/L BA, tỷ lệ các mẫu tạo chồi đạt 100%. Số lượng chồi trung bình trên mẫu đạt 2,3 chồi/mẫu, tăng so với môi trường có bổ sung 1 mg/L BA. Các chồi tạo thành có chiều cao trung bình là 1,4 cm.

Trên môi trường có bổ sung 3 mg/L BA, tỷ lệ các mẫu tạo chồi đạt 100%. Số lượng chồi trung bình tạo thành trên mẫu đạt 2,6 chồi/mẫu, cao nhất trong các môi trường. Chiều cao trung bình của chồi là 1,5 cm, cao nhất trong các môi trường.

Ở môi trường có bổ sung 4 mg/L BA, tỷ lệ các mẫu tạo chồi đạt 100%. Số lượng chồi trung bình tạo thành trên mẫu đạt 2,1 chồi/mẫu, giảm so với môi trường có bổ sung 3 mg/L BA. Chiều cao trung bình của chồi cũng giảm so với môi trường có bổ sung 3 mg/L BA.

Môi trường bổ sung 5 mg/L BA có tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100%. Số lượng chồi trung bình tạo thành trên mẫu đạt 1,50 chồi/mẫu, giảm so với môi trường có bổ sung 4 mg/L BA. Chiều cao trung bình của chồi là thấp nhất.

Kết quả trên cho thấy, môi trường có bổ sung 3 mg/L BA là môi trường tốt nhất để tạo chồi *in vitro* từ đoạn thân mang chồi nách của cây Huyết dụ ngoài tự nhiên (Hình 2).

Hình 2. Tạo chồi *in vitro* từ đoạn thân mang chồi nách của cây Huyết dụ ngoài tự nhiên trên môi trường MS có bổ sung 3 mg/L BA.

3.4. Nghiên cứu nhân chồi từ đỉnh chồi *in vitro*

Mẫu đỉnh chồi *in vitro* được cấy lên môi trường có bổ sung BA ở các nồng độ khác nhau để nghiên cứu khả năng tạo chồi. Kết quả thu được sau 1 tháng nuôi cấy được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của BA lên khả năng nhân chồi từ đỉnh chồi *in vitro* sau 1 tháng nuôi cấy

Nồng độ BA (mg/L)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi TB/mẫu	Chiều cao TB của chồi (cm)
0	100	$1,0^{e}$	$1,8^{a}$
0,5	100	$3,3^{cd}$	$1,4^{b}$
1,0	100	$3,8^{c}$	$1,3^{b}$
2,0	100	$5,3^{b}$	$1,3^{b}$
3,0	100	$6,7^{a}$	$1,6^{ab}$
4,0	100	$2,6^{d}$	$1,4^{b}$
5,0	100	$2,5^{d}$	$1,3^{b}$

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có mức ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test).

Kết quả cho thấy tất cả các môi trường MS có bổ sung BA với nồng độ từ 0,5-5 mg/L đều có sự tạo chồi từ mẫu cấy. Riêng môi trường MS không bổ sung BA không tạo thành chồi mới mà chỉ có sự kéo dài chồi.

Ở các môi trường MS có bổ sung 0,5-5 mg/L BA, sau 2 tuần nuôi cấy bắt đầu có hiện tượng tạo chồi, các chồi tạo thành có màu xanh. Sau 3 tuần, chồi mọc rõ ràng có màu xanh đậm hơn. Các chồi tăng dần về kích thước và số lượng. Số lượng chồi tạo thành trên mẫu tăng dần qua các môi trường có bổ sung 0,5-3 mg/L BA. Khi tăng nồng độ BA lên 4-5 mg/L thì số lượng chồi giảm dần.

Chiều cao của các chồi không khác biệt nhiều giữa các môi trường có bổ sung 0,5-5 mg/L BA. Riêng trên môi trường MS, chiều cao chồi lớn hơn so với các môi trường còn lại và có tạo rễ. Một số mẫu cấy trên môi trường có bổ sung 0,5-5 mg/L BA có tạo callus ở vết cắt của mẫu.

Cụ thể, môi trường có bổ sung 0,5 mg/L BA sau 1 tháng nuôi cấy cho tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100% với số lượng chồi trung bình tạo thành trên mẫu là 3,3 chồi/mẫu. Chiều cao trung bình của các chồi đạt 1,4 cm.

Ở môi trường có bổ sung 1 mg/L BA sau 1 tháng nuôi cấy, tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100% với số lượng chồi trung bình tạo thành trên mẫu là 3,8 chồi/ mẫu, tăng so với môi trường có bổ sung 0,5 mg/L BA. Các chồi tạo thành có chiều cao trung bình là 1,3 cm.

Môi trường có bổ sung 2 mg/L BA sau 1 tháng nuôi cấy cho kết quả tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100% với số lượng chồi trung bình phát sinh trên một mẫu là 5,3 chồi/ mẫu tăng so với môi trường có bổ sung 1 mg/L BA. Chiều cao trung bình của các chồi là 1,3 cm.

Trên môi trường có bổ sung 3 mg/L BA, tỷ lệ các mẫu tạo chồi đạt 100%. Số lượng chồi trung bình tạo thành đạt 6,7 chồi/mẫu, lớn nhất trong các môi trường. Các chồi tạo thành có chiều cao trung bình là 1,6 cm.

Ở môi trường có bổ sung 4 mg/L BA, tỷ lệ các mẫu tạo chồi đạt 100%, số lượng chồi trung bình tạo thành đạt 2,6 chồi/mẫu, giảm mạnh so với môi trường có bổ sung 3 mg/L BA. Chiều cao trung bình của các chồi là 1,4 cm.

Môi trường có bổ sung 5 mg/L BA cho tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 100%, số lượng chồi trung bình tạo thành trên một mẫu đạt 2,5 chồi/mẫu. Các chồi tạo thành có chiều cao trung bình là 1,3 cm.

Kết quả trên cho thấy sự bổ sung BA vào môi trường đã làm tăng khả năng tạo chồi từ mẫu cấy. Môi trường có bổ sung 3 mg/L BA là môi trường tốt nhất để nhân chồi *in vitro* từ mẫu đỉnh chồi (Hình 3).

Hình 3. Nhân chồi từ đỉnh chồi *in vitro* trên môi trường MS có bổ sung 3 mg/L BA.

Nghiên cứu tạo chồi *in vitro* ở *Cordyline* sp. từ chồi ngủ và chồi đỉnh của cây ngoài tự nhiên, Chinnu và cộng sự (2012) đã thu được kết quả tạo chồi tốt nhất khi sử dụng BAP với nồng độ 4 mg/L để bổ sung vào môi trường MS [7]. Trong khi đó, nghiên cứu tạo chồi *in vitro* ở *Cordyline terminalis* trong nghiên cứu này đã cho thấy môi trường MS có bổ sung 1 mg/L BA là môi trường tốt nhất để tạo chồi *in vitro* từ đỉnh chồi của cây Huyết dụ ngoài tự nhiên và môi trường MS có bổ sung 3 mg/L BA là môi trường tốt nhất để tạo chồi *in vitro* từ đoạn thân mang chồi nách của cây Huyết dụ ngoài tự nhiên. Trong nghiên cứu sản xuất *C. terminalis* từ mô phân sinh đỉnh và đánh giá sự ổn định di truyền của các dòng soma bằng isozyme marker, Ray và cộng sự (2006) đã cho thấy môi trường tốt nhất cho tạo và nhân chồi là môi trường MS có bổ sung 2 mg/L BA kết hợp với adenine sulphate và IAA [8]. Tuy nhiên, kết quả của nghiên cứu này đã cho thấy môi trường MS có bổ sung 3 mg/L BA là môi trường tốt nhất để nhân chồi *in vitro* từ mẫu đỉnh chồi.

4. KẾT LUẬN

Khử trùng mẫu đỉnh chồi từ cây Huyết dụ ngoài tự nhiên bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 30 phút cho kết quả tốt nhất. Còn đối với mẫu đoạn thân mang chồi nách từ cây Huyết dụ ngoài tự nhiên, khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 26 phút cho kết quả tốt nhất.

Môi trường cơ bản MS có 3% saccharose, 0,8% agar và bổ sung 1 mg/L BA là môi trường tốt nhất để tạo chồi *in vitro* từ đỉnh chồi của cây Huyết dụ ngoài tự nhiên.

Môi trường cơ bản MS có 3% saccharose, 0,8% agar và bổ sung 3 mg/L BA là môi trường tốt nhất để tạo chồi *in vitro* từ đoạn thân mang chồi nách của cây Huyết dụ ngoài tự nhiên.

Môi trường cơ bản MS có 3% saccharose, 0,8% agar và bổ sung 3 mg/L BA là môi trường tốt nhất để nhân chồi từ đỉnh chồi *in vitro* ở cây Huyết dụ.

Các kết quả này có thể sử dụng cho vi nhân giống cây Huyết dụ, một loài cây cảnh và cây thuốc có giá trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. S. Khan, S. Naz, B. Saeed (2004). *In vitro* production of *Cordyline terminalis* for commercialization**.** *Pakistan Journal of Botany* 36(4): pp. 757-761.

[2]. Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. NXB Y học, Hà Nội.

[3]. C. Wiart (2012). *Medicinal Plants of China, Korea, and Japan: Bioresources for Tomorrow's Drugs and Cosmetics*. CRC Press.

[4]. P.V. Ammirato, D.R. Evans, W.R. Sharp, Y.P.S. Bajaj (1990). *Handbook of Plant Cell Culture*, Volume 5. McGraw-Hill Publishing Company, USA.

[5]. V.M. Loyola-Vargas, F. Vázquez-Flota (2006). *Plant Cell Culture Protocols*, 2nd ed. Humana Press, Totowa, New Jersey.

[6]. T. Murashige, F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15(3): pp. 473-479.

[7]. J. K. Chinnu, A. N. Mokashi, R. V. Hegde, V. S. Patil, R. V. Koti (2012). *In vitro* shoot multiplication and *ex vitro* rooting of cordyline *(Cordyline sp.). Karnataka J. Agric. Sci*. 25(2): pp. 221-223.

[8]. T. Ray, P. Saha, S.C. Roy (2006). Commercial production of *Cordyline terminalis* (L.) Kunth from shoot apex meristem and assessment for genetic stability of somaclones by isozyme markers. *Scientia Horticulturae* 108: pp. 289-294.

IN VITRO MATERIAL PRODUCTION FOR MICROPROPAGATION OF *CORDYLINE TERMINALIS* (L.) KUNTH

Le Van Tuong Huan

University of Sciences, Hue University

Email: tuonghuanle@gmail.com

ABSTRACT

The optimal sterilizing condition for *ex vitro* explants of *Cordyline terminalis* (L.) Kunth was using 0,1% mercuric chloride solution in 30 minutes (for shoot tips) or 26 minutes (for nodal segments). *Ex vitro* shoot tips and nodal segments (1 cm) were cultured on MS (Murashige and Skoog, 1962) medium containing 3% sucrose, 0,8% agar, and supplemented with Benzyl adenine (BA) (0,5-5 mg/L) to investigate *in vitro* shoot production. MS basal medium containing 3% sucrose, 0,8% agar, and supplemented with 1 mg/L BA was the best for *in vitro* shoot production from shoot tips. MS basal medium containing 3% sucrose, 0,8% agar, and supplemented with 3 mg/L BA was the best for *in vitro* shoot production from nodal segments. Shoot proliferation from *in vitro* shoot tips was the best on MS basal medium containing 3% sucrose, 0,8% agar, and supplemented with 3 mg/L BA. These results can be utilized for micropropagation of this plant.

Keywords: *Cordyline terminalis*, *in vitro* shoot production, nodal segments, shoot tip, shoot proliferation

Lê Văn Tường Huân sinh ngày 16/05/1970 tại thành phố Huế. Ông tốt nghiệp đại học ngành Sinh học tại Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế vào năm 1992; học tiến sĩ chuyên ngành Công nghệ Sinh học tại Nhật Bản và tốt nghiệp năm 2004. Hiện nay, ông công tác tại Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Nuôi cấy mô và tế bào thực vật.