

NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH *IN VITRO* CÂY XUYÊN KHUNG (*Ligusticum wallichii* Frach)

Study on Rapid Micropropagation of *Ligusticum wallichii* Frach

Cao Thị Thủy¹, Vũ Quang Sáng²

¹Trường Trung cấp Nông nghiệp Thái Bình

²Khoa Nông học, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Địa chỉ email tác giả liên hệ: vuquangsang2009@gmail.com

Ngày gửi bài: 17.02.2011; Ngày chấp nhận: 27.11.2011

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xây dựng quy trình nhân nhanh *in vitro* từ chồi đỉnh cây xuyên khung. Dùng HgCl₂ 0,15% trong 10 phút thích hợp cho việc khử trùng mẫu (tỷ lệ mẫu sống đạt 68%). Môi trường MS có bổ sung 0,75mg/l BA + 0,1mg/l α.NAA và 10% nước dừa hoặc 0,5mg/l kinetin + 0,1mg/l α.NAA và 10% nước dừa đều làm tăng hệ số nhân chồi (7,3 lần/6 tuần nuôi cấy). Sử dụng môi trường MS + 0,1mg/l IBA + 0,5 g/l than hoạt tính hoặc MS + 0,3mg/l α.NAA + 0,5g/l than hoạt tính cho khả năng tái sinh rễ của mẫu cây xuyên khung đạt cao nhất (100% ra rễ sau 14 ngày). Đưa cây *in vitro* trên giá thể đất vào thời vụ từ 12/1 đến 22/2 là thích hợp nhất, tỷ lệ cây sống đạt 100% và cây sinh trưởng, phát triển thuận lợi.

Từ khóa: *Ligusticum wallichii* Frach, Xuyên khung, Nhân giống *in vitro*, MS, BA, IBA, Kinetin, α.NAA

ABSTRACT

Research was carried out in order to develop a protocol for *in vitro* rapid propagation of *Ligusticum wallichii* Frach. using shoot tips. Using 0.15% aqueous mercuric chloride (HgCl₂) solution for 10 min appeared to be optimal for surface disinfection of shoot tip explants with survival rate of 68%. MS medium supplemented with 0.75 mg/l BA + 0.1mg/l α.NAA and 10% coconut water or 0.5 mg/l kinetin + 0.1 mg/l α.NAA and 10% coconut water increased the shoot multiplication rate (7.3 times). The best media for rooting of the *in vitro* shoots were MS + 0.1 mg/l IBA + 0.5 g/l activated charcoal or MS + 0.3 mg/l α.NAA + 0.5 g/l activated carbon with 100% of the shoots having roots within 14 days. The most appropriate time for successful transplantation of *in vitro* plantlets to soil was from 12/1 to 22/2 with the rate of survival approaching 100% and all the plantlets showed good growth and development.

Keywords: *Ligusticum wallichii* Frach, *In vitro* propagation, MS, BA, IBA, Kinetin, α.NAA

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xuyên khung (*Ligusticum wallichii* Franch) có nguồn gốc từ Tứ Xuyên - Trung Quốc, được du nhập sang trồng ở Việt Nam từ những năm 60 của thế kỷ XX (Võ Văn Chi, 1997). Các công trình nghiên cứu gần đây của y học hiện đại đã xác định thành phần hóa

học cũng như tác dụng dược lý của xuyên khung như: ức chế sự co bóp tử cung, chống loạn nhịp tim, gây dẫn động mạch vành, cải thiện tuần hoàn não, giảm cholesterol máu... (Lê Trần Đức, 1997) nên việc cung cấp nguyên liệu với số lượng lớn, chất lượng ổn định cho ngành sản xuất thuốc ngày càng tăng. Trước những năm 60 đến đầu những

năm 90 của thế kỷ XX, xuyên khung được trồng ở hầu hết các tỉnh vùng núi phía Bắc, chủ yếu dùng trong thuốc cổ truyền. Tuy nhiên, năng suất dược liệu giảm dần, những năm 60 - 70 năng suất cây trồng đạt khoảng 2 - 3 tấn/ha, đến nay chỉ đạt 1,5 - 1,7 tấn/ha. Có nhiều nguyên nhân của hiện trạng này nhưng cơ bản nhất vẫn là giống kém phẩm chất, thoái hóa và không được phục hồi chất lượng. Mặt khác phương thức trồng trọt là trồng bằng đốt thân được tách từ cây mẹ, mỗi cây mẹ chỉ chọn được từ 3 - 5 mầm đạt tiêu chuẩn. Vì vậy hệ số nhân của cây xuyên khung ngoài tự nhiên rất thấp. Hơn nữa, cây giống không trồng ngay mà phải bảo quản sau 2 - 3 tháng mới trồng (Lê Trần Đức, 1997), việc bảo quản giống làm cho chi phí giống tăng lên đáng kể chưa kể đến hao hụt giống trong thời gian bảo quản dẫn tới hiệu quả kinh tế trong sản xuất xuyên khung thấp, diện tích trồng trọt có xu hướng ngày càng thu hẹp. Điều này dẫn tới một thực trạng tất yếu là ngành dược Việt Nam sẽ phải nhập khẩu nguyên liệu xuyên khung với số lượng lớn phục vụ cho việc sản xuất thuốc.

Xuất phát từ nhu cầu thực tế trên cần xây dựng hệ thống sản xuất giống xuyên khung có chất lượng cao bắt nguồn từ nuôi cấy *in vitro*.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Cây xuyên khung được lưu giữ tại vườn giống của Trung tâm trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội - Viện Dược liệu - Bộ Y tế. Giá thể vườn ươm: đất phù sa, cát đen và dinh dưỡng nuôi cây: phân chuồng hoai mục, dung dịch MS (chỉ có đa lượng và vi lượng), dinh dưỡng AB (Nguyễn Thanh Sắc, 2008).

2.2. Phương pháp khử trùng mẫu

Chồi đỉnh của xuyên khung thu hái từ thực địa được rửa nhiều lần bằng nước sạch, ngâm nước xà phòng loãng 5-7 phút rồi rửa sạch xà phòng, tráng lại bằng nước cất và nước cất vô trùng, sau đó tráng qua cồn 75^o trong 20 giây và tráng lại bằng nước cất vô trùng. Ngâm mẫu cấy trong HgCl₂ 0,07%; 0,1%; 0,15% trong thời gian 5, 10, 15 và 20 phút rồi tráng lại bằng nước cất vô trùng 4-5 lần, ngâm trong nước vô trùng 15 phút.

2.3. Môi trường nuôi cấy

Tất cả các thí nghiệm sử dụng môi trường nuôi cấy cơ bản MS có bổ sung các hợp chất hữu cơ (than hoạt tính, saccharose, nước dừa) và chất điều hòa sinh trưởng (BA, IBA, áNAA, Kinetin) ở các nồng độ khác nhau tùy theo từng thí nghiệm, pH điều chỉnh tới 5,8 và hấp dưới áp suất 0,8 kg/cm² ở nhiệt độ 120^oC trong 25 phút.

2.4. Điều kiện nuôi cấy

Các mẫu xuyên khung được nuôi trong phòng nuôi có quang chu kỳ là 14 giờ sáng/10giờ tối, cường độ chiếu sáng 2000 lux, nhiệt độ phòng 25 ± 2^o C.

2.5. Thích nghi cây ra vườn ươm

Khi cây đạt yêu cầu về chiều cao (5- 6 cm), số lá 3 - 4 lá, 3 - 4 rễ, kích thước rễ 1,5 - 2 cm được đưa ra nhà màn cách ly.

Giá thể: đất phù sa, cát đen và phân chuồng hoai mục

2.6. Bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên. Các thí nghiệm *in vitro* được bố trí trong bình tam giác 250 ml. Mỗi công thức bố trí 10 bình, mỗi bình cấy 2 mẫu với 3 lần nhắc lại mỗi lần theo dõi 10 cây.

Các khay nhựa chuyên dụng cho việc ra cây có kích thước 60 x 40 cm, mỗi công thức trồng 30 cây, 3 lần nhắc lại mỗi lần theo dõi 10 cây.

Số liệu của các thí nghiệm được xử lý bằng chương trình IRRISTAT 4.0 và Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo vật liệu khởi đầu

Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ $HgCl_2$ và thời gian khử trùng tới hiệu quả khử trùng mẫu xuyên khung đưa vào nuôi cấy, kết quả thu được tỷ lệ mẫu nhiễm giảm dần khi tăng thời gian xử lý 5 - 20 phút, ngược lại tỷ lệ mẫu chết tăng lên. Ở nồng độ 0,07% tỷ lệ mẫu sống cao nhất khi khử trùng trong 20 phút (40%), ở nồng độ 0,1% thời gian xử lý 15 phút cho kết quả tốt nhất (64%) và ở nồng độ 0,15% thời gian xử lý 10 phút cho kết quả tốt nhất (68%). Cùng thời

gian khử trùng nhưng nồng độ chất khử trùng thấp (0,07%) có tỷ lệ mẫu nhiễm cao hơn so với các nồng độ khác (0,01%; 0,15%), tỷ lệ chết ít hơn nhưng tỷ lệ mẫu sống vẫn thấp nhất (Bảng 1). Như vậy, nồng độ $HgCl_2$ thích hợp nhất cho việc khử trùng mẫu xuyên khung trong nuôi cấy là 0,15% trong thời gian 10 phút.

3.2. Nhân nhanh cụm chồi

- Ảnh hưởng của BA đến hệ số nhân chồi của xuyên khung trong nuôi cấy

Kết quả cho thấy: bổ sung BA 0,75mg/l vào môi trường nuôi cấy cơ bản MS cho hệ số nhân chồi cây xuyên khung đạt cao nhất (7,3 lần/sau 6 tuần nuôi cấy, chất lượng chồi cũng tốt hơn so với các công thức khác (Hình 1).

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ $HgCl_2$ và thời gian khử trùng tới hiệu quả khử trùng mẫu xuyên khung đưa vào nuôi cấy

Nồng độ (%)	Thời gian (phút)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Tỷ lệ chết (%)	Tỷ lệ sống (%)
0,07 %	20	28	32	40
0,1%	15	12	24	64
0,15	10	8	24	68



Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ BA đến hệ số nhân chồi



Hình 2: Ảnh hưởng của tổ hợp kinetin + α .NAA đến hệ số nhân chồi

- Ảnh hưởng của tổ hợp BA và α .NAA đến hệ số nhân chồi cây xuyên khung

Để tìm ra tỷ lệ phối hợp tối ưu cho môi trường nhân nhanh, chúng tôi tiến hành cấy mẫu trên môi trường MS có bổ sung BA nồng độ 0,75mg/l phối hợp với α .NAA. Kết quả được ghi lại ở bảng 2.

Môi trường MS bổ sung thêm α .NAA có tác dụng tích cực tới sự phát sinh cụm chồi, song thích hợp nhất cho việc tăng hệ số nhân chồi, chiều cao chồi là môi trường bổ sung 0,75mg/l BA + 0,1mg/l α .NAA. so với công thức khác ở mức có ý nghĩa thống kê.

- Ảnh hưởng của nồng độ kinetin tới hệ số nhân chồi của mẫu cây xuyên khung

Kinetin có tác dụng kích thích chồi chính nhưng không kìm hãm sự sinh trưởng của chồi phụ (Nguyễn Như Khanh, 2002 và Bhojwani, 1980). Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi bổ sung kinetin tăng dần từ 0,5mg/l đến 1,5mg/l thì hệ số nhân chồi giảm dần từ 5,0 xuống 2,4 lần, chất lượng chồi trung bình. Bổ sung 0,5mg/l vào môi trường nuôi cấy cho hiệu quả nhất so với các công thức khác ở mức có ý nghĩa 5% (Bảng 3).

- Ảnh hưởng của tổ hợp kinetin và α .NAA tới hệ số nhân chồi của xuyên khung trong nuôi cấy

Nồng độ kinetin được sử dụng cho hệ số nhân chồi đạt cao nhất (0,5mg/l) kết hợp với α .NAA ở các nồng độ 0,1mg/l; 0,2mg/l và 0,3mg/l (Bảng 4).

Bảng 2. Ảnh hưởng của BA và α .NAA đến hệ số nhân chồi của mẫu cây xuyên khung

Công thức	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá /chồi (lá)	Chất lượng chồi
MS + 0,75mg/l BA (Đ/C)	6,2	6,0	4,0	++
MS + 0,75mg/l BA+ 0,1mg/l α.NAA	8,1	7,0	4,5	+++
MS + 0,75mg/l BA + 0,2mg/l α .NAA	5,0	6,5	4,2	+
MS+ 0,75mg/lBA + 0,3mg/l α .NAA	3,0	8,2	3,0	-
LSD _{0,05}	0,18	0,24	0,36	
CV%	1,7	2,2	1,9	

Ghi chú: +++ (chồi tốt); ++ (chồi trung bình); + (chồi yếu)

Bảng 3. Ảnh hưởng kinetin tới hệ số nhân chồi xuyên khung

Công thức	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao cây (cm)	Số lá/chồi (lá)	Chất lượng chồi
MS + 0,5mg/l kinetin	5,0	8,5	4,0	++
MS+ 1,5mg/l kinetin	2,4	6,2	3,0	++
LSD _{0,05}	0,2	0,4	0,3	
CV%	1,8	1,7	1,5	

Ghi chú: ++ (chồi trung bình)

Bảng 4. Ảnh hưởng của tổ hợp kinetin + α .NAA tới hệ số nhân chồi xuyên khung

Công thức thí nghiệm	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao cây (cm)	Số lá/chồi (lá)	Chất lượng chồi
MS + 0,5mg/l kinetin (đ/c)	5,1	7,0	3,6	++
MS+ 0,5mg/l kinetin + 0,1mg/l α.NAA	6,0	6,5	3,9	+++
MS +0,5mg/l kinetin + 0,2mg/l α .NAA	4,2	7,5	3,3	++
MS + 0,5mg/l kinetin + 0,3 mg/l α .NAA	2,3	9,0	2,0	-
LSD _{0,05}	0,15	0,25	0,20	
CV%	1,8			

Ghi chú: +++ (chồi tốt); ++ (chồi trung bình)

Phối hợp α .NAA nồng độ 0,1mg/l với kinetin nồng độ 0,5mg/l cho hệ số nhân chồi cao nhất sau 6 tuần nuôi cấy so với các công thức khác ở mức có ý nghĩa nhỏ nhất 5% và chất lượng chồi cũng tốt hơn (hình 2).

Ảnh hưởng của nước dừa tới hệ số nhân chồi của xuyên khung trong nuôi cấy

Nước dừa được bổ sung vào môi trường nuôi cấy MS có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của chồi, hệ số nhân chồi nhưng không cao hơn nhiều so với công thức đối chứng. Hệ số nhân chồi (đạt 3,0 lần), chiều cao cây, số lá/chồi cũng như chất lượng chồi cao nhất thuộc công thức MS + 10% nước dừa, sau đó giảm dần còn 1,6 lần và 1,2 lần khi tăng dần lượng nước dừa lên lần lượt là 15% và 20%.

3.3. Tạo cây hoàn chỉnh

- Nghiên cứu ảnh hưởng của α .NAA tới sự tạo rễ của xuyên khung

Khi tăng nồng độ α .NAA từ 0,1mg/l lên 0,3mg/l trong môi trường cơ bản MS, số lượng rễ/cây cũng tăng lên từ 4,3 - 5,5 rễ/chồi, tăng tiếp α .NAA lên 0,5mg/l số lượng rễ giảm còn 3,7 rễ/chồi sau 6 tuần nuôi cấy. Vậy nồng độ khuyến cáo là 0,3 mg/l.

- Ảnh hưởng của tổ hợp α .NAA và than hoạt tính tới sự tạo rễ của cây *in vitro*

Để tìm hiểu ảnh hưởng của than hoạt tính đối với sự ra rễ của xuyên khung trong nuôi cấy, than hoạt tính với các nồng độ khác nhau kết hợp được sử dụng với chất điều tiết sinh trưởng α .NAA ở nồng độ ra rễ tối ưu (0,3mg/l).

Căn cứ vào các chỉ tiêu đánh giá ở bảng 5, việc kết hợp giữa α .NAA 0,3mg/l với than hoạt tính nồng độ 0,5g/l là tốt nhất cho sự tạo rễ của xuyên khung (hình 3).

- Ảnh hưởng của IBA tới sự ra rễ của xuyên khung trong môi trường nuôi cấy

Nhiều nghiên cứu cho thấy, sử dụng IBA trong môi trường ra rễ đạt kết quả tốt hơn α .NAA trên các cây lát hoa Côn Đảo, cây Ban Âu (Starisky G, 1970). Kết quả này cho thấy: bổ sung IBA 0,1mg/l vào môi trường nuôi cấy MS là tốt cho việc ra rễ cũng như chất lượng rễ (sau 7 ngày nuôi cấy tỷ lệ cây ra rễ đạt 27,2%, công thức khác đạt 0,0%. Sau 20 ngày nuôi cấy, tỷ lệ ra rễ đạt 100% trên môi trường MS và MS + 0,1mg/l IBA, môi trường MS + 0,3mg/l IBA đạt 37,9%).

- Nghiên cứu ảnh hưởng của tổ hợp IBA và than hoạt tính tới sự tạo rễ của cây

Phối hợp IBA 0,1mg/l với than hoạt tính ở 3 mức nồng độ 0,25g/l; 0,5g/l; 1,0g/l để tìm sự phối hợp tối ưu cho sự ra rễ.

Bảng 5. Ảnh hưởng của α .NAA và than hoạt tính đến sự ra rễ của xuyên khung sau 6 tuần nuôi cấy

Công thức	Tỷ lệ ra rễ (%)			Số rễ/cây (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Chất lượng rễ
	sau 7 ngày	Sau 14 ngày	Sau 20 ngày			
MS+ 0,3mg/l α .NAA (đ/c)	19,6	72,1	100	5,5	1,5	++
MS + 0,3mg/l α .NAA + 0,25 g/l than hoạt tính	30,7	95	100	5,9	5,5	+++
MS + 0,3mg/l α.NAA + 0,5g/l than hoạt tính	50,5	100	-	6,5	5,0	+++
MS + 0,3 mg/l α .NAA + 1,0 mg/l than	26,4	89	100	3,8	4,2	+
LSD _{0,05}				0,20	0,24	
CV%				2,0	2,3	

Ghi chú: +++ (rễ mập, dài); ++ (rễ ngắn, mảnh); + (rễ ngắn, xóp và giòn)

Bảng 6. Ảnh hưởng của tổ hợp IBA và than hoạt tính đến sự tạo rễ cây

Công thức	Tỷ lệ ra rễ (%)			Số rễ/chồi (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Chất lượng rễ
	7 ngày	14 ngày	20 ngày			
MS + 0,1mg/l IBA	27,2	82,4	100,0	7,0	3,0	++
MS + 0,1mg/l IBA + 0,25g/l than	48,7	100,0	-	8,2	7,5	+++
MS + 0,1mg/l IBA + 0,5g/l than	59,6	100,0	-	9,4	9,7	+++
MS + 0,1 mg/l IBA + 1,0g/l than	40,5	100,0	-	7,7	6,3	+
LSD _{0,05}				0,31	0,36	
CV%				2,1	2,5	

Ghi chú: +++ (chất lượng rễ tốt); ++ (chất lượng rễ trung bình); + (chất lượng rễ kém)

Bảng 7. Ảnh hưởng của giá thể ra cây đến sinh trưởng cây xuyên khung

Giá thể	Tỷ lệ cây sống (%)	Chiều cao cây (cm)	Số lá/chồi (lá)
Cát	100	9,0	3,2
Đất	100	12,0	3,9
Hỗn hợp	87	10,5	4,1
LSD _{0,05}		0,9	0,9
CV%		3,8	1,1

Số liệu bảng 6 cho thấy: việc phối hợp giữa IBA 0,1mg/l + 0,5g/l than hoạt tính bổ sung vào môi trường MS cho hiệu quả ra rễ cao nhất và tốt hơn so với việc kết hợp giữa α .NAA 0,3mg/l + 0,5g/l than hoạt tính (hình 4). Sự sai khác này có ý nghĩa thống kê.

3.4. Đưa cây ra đất và chăm sóc cây

- Ảnh hưởng của giá thể trồng tới sinh trưởng, phát triển của cây xuyên khung

Các cây xuyên khung *in vitro* đạt tiêu chuẩn được trồng trên 3 nền giá thể khác nhau: Đất, cát, hỗn hợp: đất, cát, phân chuồng hoai mục theo tỷ lệ: 1:1:1

Kết quả thu được hai nền giá thể là cát và đất cho tỷ lệ sống đạt 100%, giá thể hỗn hợp (đất: cát: phân chuồng hoai mục) cho tỷ lệ sống là 87%. Giá thể còn ảnh hưởng tới sự sinh trưởng chiều cao và số lá trên cây đạt cao ở nền giá thể đất (chiều cao cây đạt 12,0 cm, số lá/cây đạt 3,9) và hỗn hợp (chiều cao cây đạt 10,5 cm, số lá/cây đạt 4,1), đạt thấp ở nền giá thể cát (chiều cao 9,0 cm, số lá /cây là 3,2) sau 45 ngày sau trồng ngoài vườn ươm (Bảng 7). Sự sai khác giữa các giá thể trồng về chiều cao cây có ý nghĩa thống kê, còn số lá/chồi sự sai khác không rõ.

Bảng 8. Ảnh hưởng của thời vụ ra cây tới tỷ lệ sống và sự sinh trưởng của cây

Công thức thí nghiệm	Tỷ lệ cây sống (%)	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây (lá)
Thời vụ 1 (ngày 22/12)	87,0	7,5	4,5
Thời vụ 2 (ngày 12/01)	100,0	11,6	6,3
Thời vụ 3 (ngày 02/02)	100,0	12,5	5,8
Thời vụ 4 (ngày 22/02)	100,0	10,6	5,0
Thời vụ 5 (ngày 12/03)	98,0	8,7	4,3
Thời vụ 6 (ngày 02/04)	87,0	5,7	3,4
LSD _{0,05}		0,6	0,6
CV%		3,5	3,0

Ghi chú: Vụ ra cây đầu tiên bắt đầu vào ngày 22/12.

- Ảnh hưởng của thời vụ ra cây tới tỷ lệ sống và sự sinh trưởng, phát triển của cây xuyên khung trong vườn ươm.

Thời vụ thích hợp ra cây là vụ 2, 3 và 4. Ba vụ này cho tỷ lệ sống đạt 100%, tình hình sinh trưởng của cây về chiều cao và số lá/cây cũng được đánh giá là tốt hơn so với các vụ khác sau 45 ngày trồng ở mức sai khác có ý nghĩa nhỏ nhất 5% (Bảng 8).

- Ảnh hưởng của chế độ chăm sóc cây xuyên khung *in vitro* ngoài vườn ươm

Trong điều kiện vườn ươm, cây xuyên khung phun dung dịch dinh dưỡng 1/2 MS (Bảng 9, hình 5) sinh trưởng thuận lợi hơn so với các công thức khác sau 30 ngày trồng ngoài vườn ươm (chiều cao cây là 24,7 cm, số lá trung bình trung bình trên cây là 6,5).

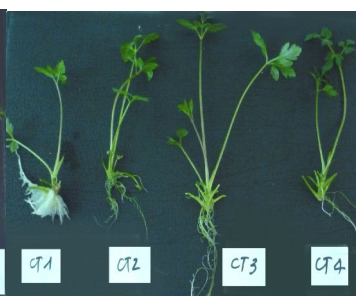
Bảng 9. Ảnh hưởng của thời vụ ra cây tới tỷ lệ sống và sự sinh trưởng của cây

Dinh dưỡng qua lá	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây (lá)
AB	20,3	6,2
1/4 MS	18,0	5,0
1/2 MS	24,7	6,5
MS	20,7	6,0
Nước sạch	12,0	4,2
LSD _{0,05}	1,2	0,35
CV%	3,5	3,5

Ghi chú: 3 ngày đầu đưa cây ra đất phun nước sạch 3 giờ/1 lần, ngày thứ 4 phun dinh dưỡng 5 ngày/1 lần



Hình 3. Tổ hợp α.NAA

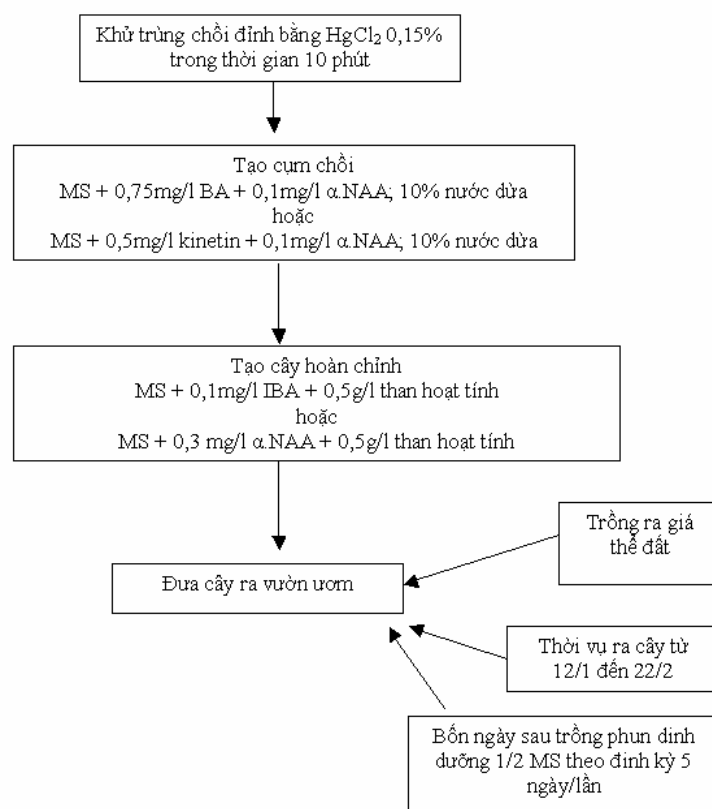


Hình 4. Tổ hợp IBA



Hình 5. Cây xuyên khung than hoạt tính đến sự ra rễ than hoạt tính đến sự ra rễ sau 30 ngày trồng ở vườn ươm được phun dinh dưỡng

Quy trình nhân giống *in vitro* cây xuyên khung từ chồi đỉnh có thể tóm tắt như sau:



4. KẾT LUẬN

Dùng HgCl_2 0,15% trong 10 phút thích hợp cho việc khử trùng mẫu xuyên khung, tỷ lệ mẫu sống đạt 68%.

Môi trường MS bổ sung 0,75mg/l BA + 0,1mg/l áNAA và 10% nước dừa hoặc 0,5mg/l kinetin + 0,1mg/l α.NAA và 10% nước dừa đều làm tăng hệ số nhân chồi (7,3 lần).

Môi trường MS + 0,1mg/l IBA + 0,5g/l than hoạt tính hoặc MS + 0,3mg/l áNAA + 0,5g/l than hoạt tính cho khả năng tái sinh rễ của mẫu cây xuyên khung đạt tốt nhất.

Đưa cây *in vitro* trên giá thể đất vào thời vụ từ 12/1 đến 22/2 là thích hợp nhất, tỷ lệ cây sống đạt 100% đồng thời cây sinh trưởng, phát triển thuận lợi.

Sau khi đưa cây xuyên khung *in vitro* trên giá thể đất ba ngày, phun dung dịch dinh dưỡng 1/2 MS cho cây con theo định kỳ 5 ngày/lần có

tác dụng tăng nhanh các chỉ tiêu về sinh trưởng (chiều cao đạt 24,7 cm và số lá trung bình trên cây đạt 6,5 lá sau 30 ngày trồng).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bhojwani S.S. (1980). Factors affecting *in vitro* stage of micropropagation. *Plant physiol.*, 65 (Suppl) pp.90 - 94,
- Võ Văn Chi (1997). Từ điển cây thuốc Việt Nam, NXB Y học Hà Nội
- Lê Trần Đức (1997). Cây thuốc Việt Nam, trồng, hái và chế biến, trị bệnh ban đầu, NXB Khoa Học Kỹ Thuật.
- Nguyễn Như Khanh (2002). Sinh học phát triển thực vật, NXB Giáo Dục Hà Nội
- Nguyễn Thanh Sắc (2008). Nghiên cứu xây dựng quy trình trồng cây ban Âu, Luận văn thạc sĩ, Trường Đại học Quốc Gia Hà Nội.
- Starisky, G. (1970). Tissue culture of the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) as a tool for its vegetative propagation, 9, pp 288 - 292.