

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA LOẠI MÔI TRƯỜNG CƠ BẢN VÀ CÁC CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG ĐẾN KHẢ NĂNG NHÂN TẠO CHỒI MỚI SẠCH BỆNH BAN ĐẦU CỦA CÂY SA MỘC DẦU (*Cunninghamia konishii* Hayata)

Nguyễn Thị Thoa, Hồ Ngọc Sơn

Đại học Nông Lâm Thái Nguyên

TÓM TẮT

Sa mộc dầu (*Cunninghamia konishii* Hayata) là một loài thực vật quý, hiếm, khả năng tái sinh tự nhiên rất kém, vì vậy ứng dụng nuôi cấy mô tế bào trong bảo tồn và nhân giống thực sự mang lại hiệu quả. Trong đó việc tạo ra những cây con sạch bệnh ban đầu là rất cần thiết. Có 3 loại môi trường nền phổ biến được dùng là: MS, B5 và WPM, kết quả cho thấy môi trường MS thích hợp nhất cho tái sinh chồi Sa mộc dầu với tỷ lệ mẫu tái sinh cao nhất đạt 77,78%, chồi mập và xanh. Cả ba chất kích thích sinh trưởng BAP, Kinetin và GA3 đều ảnh hưởng tới khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu, và đều có tác dụng làm tăng tỷ lệ tái sinh, trong đó chất BAP có tỷ lệ mẫu tái sinh cao hơn so với các môi trường tương ứng có bổ sung Kinetin hoặc GA3 ở cùng nồng độ. Nước dừa cung cấp nguồn đạm và cacbohydrat tạo nguồn dinh dưỡng hữu cơ cho chồi phát triển và với hàm lượng 150 ml/l là thích hợp cho sự tái sinh chồi Sa mộc dầu.

Từ khóa: Môi trường nền, kích thích sinh trưởng, tái sinh chồi, sạch bệnh, Sa mộc dầu

Effects of environment types to the development of clean samples of *Cunninghamia konishii* Hayata

Cunninghamia konishii Hayata is a valuable genetic resource but its natural regeneration is bad so that tissue culture to create disease free seedlings is very important. Among three popular background environments used in tissue culture of MS, B5 and WPM, study results shown that MS is the most suitable for shoot regeneration with highest regenerated samples of 77.78%. Shoots are fat and green. All three growth stimulants of BAP, Kinetin and GA3 increased the shoot regeneration of *Cunninghamia konishii* Hayata, of which BAP produced the higher rate of shoot regeneration than that of Kinetin or GA3 at the same concentration. Coconut water at 150ml/l is the most suitable to provide protein and carbohydrate to supply organic nutrient sources for shoot growth.

Keywords: Background environment, growth stimulation, shoot regeneration, disease free, *Cunninghamia konishii* Hayata

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sa mộc dầu (*Cunninghamia konishii* Hayata) hay còn được gọi là cây Ngọc am. Đây là một loài thực vật quý hiếm, không chỉ có ý nghĩa về mặt khoa học mà còn có giá trị về mặt kinh tế. Do có nhiều giá trị nên Sa mộc dầu đang bị khai thác quá mức dẫn đến nguy cơ bị đe dọa tuyệt chủng. Ngoài tự nhiên, Sa mộc dầu tái sinh rất kém. Sa mộc dầu có nón chín vào tháng 10, tháng 11, nhưng rất khó thu hái vì nón chỉ ra ở phần trên của những cây trưởng thành có kích thước lớn. Tỷ lệ nảy mầm của hạt chỉ đạt khoảng 43,0%. Cây có thể nhân giống bằng phương pháp giâm hom, tuy nhiên hệ số nhân thấp, đồng thời nếu hom quá già cây con có hiện tượng bảo lưu cục bộ (Nguyễn Văn Sinh, 2009). Cùng với sự phát triển của khoa học kỹ thuật, việc ứng dụng nuôi cấy mô tế bào thực vật trong bảo tồn và nhân giống đã trở nên phổ biến. Nuôi cấy mô tế bào tạo ra những cây con sạch bệnh, chất lượng tốt, độ đồng đều cao, hệ số nhân lớn và giữ được đặc tính di truyền của cây mẹ (Vũ Văn Vụ, 2009). Trong quá trình nhân giống *in vitro* cần tạo được chồi mới sạch bệnh ban đầu để có nguyên liệu cho các quá trình: nhân nhanh, ra rễ và ra ngôi cây con nên việc nghiên cứu ảnh hưởng của loại môi trường đến khả năng nhân tạo chồi mới sạch bệnh ban đầu của cây Sa mộc dầu (*Cunninghamia konishii* Hayata) là rất cần thiết.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu sử dụng cho nghiên cứu: Những cây Sa mộc dầu được thu thập từ tỉnh Hà Giang đưa về gây trồng tại khu khảo nghiệm giống cây bản địa Khoa Lâm nghiệp - Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên. Những đoạn thân cây Sa mộc dầu lấy làm vật liệu giống không bị nhiễm nấm, khuẩn.

2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 45 mẫu.

Môi trường nuôi cấy:

Tiến hành thử nghiệm các môi trường nền khác nhau (MS, B5, WPM) từ đó đưa ra môi trường nền sử dụng trong nuôi cấy thích hợp nhất. Môi trường nuôi cấy được bổ sung 30g/l đường và 6g/l aga. Giá trị pH được điều chỉnh trước khi khử trùng là 5,6-5,8.

Môi trường nuôi cấy được hấp khử trùng ở 121°C, áp suất 1 atm, trong thời gian 25 phút.

Điều kiện nuôi cấy:

- Các dụng cụ được sử dụng trong nuôi cấy: dao, kéo, panh được vô trùng bằng cách đốt với cồn 96%.

- Tủ cấy được vô trùng bằng đèn tử ngoại 20-30 phút trước khi làm việc.

- Nhiệt độ phòng nuôi: 25°C ± 2; Cường độ ánh sáng: 2000 lux; Độ ẩm 70%; Thời gian chiếu sáng: 14h sáng/10h tối.

2.3. Phương pháp tiến hành thí nghiệm

Mẫu chồi sau khi rửa sạch bằng nước xà phòng loãng, sát khuẩn bề mặt chồi bằng cồn 70% trong 2 phút, sau đó khử trùng diệt khuẩn và nấm bằng dung dịch NaClO 5% trong thời gian 10 phút, mẫu được tráng bằng nước cất vô trùng 5 lần. Cây mẫu lên môi trường nuôi cấy khởi động và tiến hành nuôi cấy ở cường độ ánh sáng 2000 lux. Sau 3 tuần nuôi cấy, chồi bật mầm và được sử dụng làm vật liệu cho giai đoạn nghiên cứu nhân nhanh chồi.

(1) Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nền đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu

Nghiên cứu tiến hành 03 công thức thí nghiệm (CT1: MS, CT2: B5, CT3: WPM) bố trí ngẫu nhiên hoàn toàn với 3 lần nhắc lại,

mỗi lần 45 mẫu. Chỉ tiêu theo dõi bao gồm tổng số mẫu tái sinh, tỷ lệ mẫu tái sinh (%), chất lượng chồi.

(2) Nghiên cứu ảnh hưởng của một số chất kích thích sinh trưởng đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu

Môi trường thích hợp cho tái sinh chồi ở nội dung 1 được sử dụng làm môi trường nền cho các thí nghiệm trong nội dung này.

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu CT1 (ĐC): MT nền

CT2: MT nền + BAP 0,5 mg/l

CT3: MT nền + BAP 1,0 mg/l

CT4: MT nền + BAP 1,5 mg/l

CT5: MT nền + BAP 2,0 mg/l

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ Kinetin đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu

CT1 (ĐC): MT nền

CT2: MT nền + Kinetin 0,5 mg/l

CT3: MT nền + Kinetin 1,0 mg/l

CT4: MT nền + Kinetin 1,5 mg/l

CT5: MT nền + Kinetin 2,0 mg/l

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ GA3 đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu

CT1 (ĐC): MT nền

CT2: MT nền + GA3 0,5 mg/l

CT3: MT nền + GA3 1,0 mg/l

CT4: MT nền + GA3 1,5 mg/l

CT5: MT nền + GA3 2,0 mg/l

Các nghiên cứu được tiến hành 05 công thức thí nghiệm với các nồng độ lần lượt là 0; 0,5; 1; 1,5; 2 mg/l, bố trí ngẫu nhiên hoàn toàn với 3 lần nhắc lại, mỗi lần 45 mẫu. Chỉ tiêu theo dõi bao gồm tỷ lệ mẫu tái sinh (%), chất lượng chồi.

(3) Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng nước dừa đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu

Môi trường nuôi cấy trong nghiên cứu này là kết quả thu được từ các nghiên cứu tại nội dung 1 và nội dung 2. Môi trường nền thích hợp + nồng độ chất kích thích sinh trưởng thích hợp cho tái sinh chồi được sử dụng cho thí nghiệm này. Thí nghiệm được bố trí gồm 04 công thức với nồng độ nước dừa lần lượt từ 50-100-150-200 ml/l. Bố trí ngẫu nhiên hoàn toàn với 3 lần nhắc lại, mỗi lần 45 mẫu.

Các chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu tái sinh (%), chất lượng chồi.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Sử dụng toán thống kê để xác định các chỉ số thống kê như: Trung bình mẫu, phương sai, độ lệch chuẩn và sai số trung bình mẫu với $n \geq 30$, $\alpha = 0,05$. Các số liệu được xử lý trên máy vi tính bằng chương trình Excel. Các phương pháp được sử dụng là phương pháp so sánh hai mẫu độc lập, nhiều mẫu độc lập theo tiêu chuẩn phi tham số của Kruskal và Wallis và phương pháp phân tích phương sai một nhân tố, phân tích phương sai hai nhân tố.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Ảnh hưởng của loại môi trường nền đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu

Hiện nay có rất nhiều loại môi trường nền dùng để nuôi cấy *in vitro* các loài cây khác nhau. Nhìn chung chúng đều gồm thành phần cơ bản sau: dinh dưỡng khoáng đa lượng, vi lượng, vitamin, chỉ khác nhau về loại khoáng và nồng độ khoáng trong môi trường. Hiện nay có ba loại môi trường nền phổ biến được dùng đó là: MS, B5 và WPM. Theo đánh giá MS là môi trường giàu dinh dưỡng, B5 là môi trường dinh dưỡng trung bình và WPM là môi trường nghèo dinh dưỡng (Vũ Văn Vũ, 2009). Để tìm ra môi trường thích hợp chúng tôi tiến hành thử nghiệm trên 3 loại môi trường này trong 4 tuần nuôi cấy chồi Sa mộc dầu. Kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của loại môi trường nền đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu (sau 4 tuần nuôi cấy)

| Công thức | Chi tiêu theo dõi | Tổng số mẫu đưa vào (mẫu) | Tổng số mẫu tái sinh (mẫu) | Tỷ lệ mẫu tái sinh (%) | Chất lượng chồi |
|-----------|-------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------|---------------------|
| CT1 (MS) | | 135 | 105 | 77,8 | Chồi mập, xanh |
| CT2 (B5) | | 135 | 89 | 65,9 | Chồi mập, xanh |
| CT3 (WPM) | | 135 | 78 | 57,8 | Chồi gầy, xanh nhạt |

Kết quả bảng 1 cho thấy ở CT1 (MS) tỷ lệ mẫu tái sinh cao nhất đạt 77,8%, chồi thu được là chồi tốt (chồi mập và xanh). Kế tiếp là CT2 (B5) chất lượng chồi không có sự thay đổi tuy nhiên tỷ lệ mẫu tái sinh đã giảm xuống còn 65,9%. Tỷ lệ mẫu tái sinh thấp nhất ở CT3 (WPM) đạt 57,8% thấp hơn 20% so với CT1 (MS). Kết quả xử lý thống kê cho thấy các công thức khác nhau có sự sai khác có ý nghĩa ở mức độ tin cậy 95%. Điều này chứng tỏ chồi Sa mộc dầu thích hợp nhất trong môi trường giàu dinh dưỡng. Môi trường MS sẽ được sử dụng làm môi trường nền cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của một số chất kích thích sinh trưởng đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu

Môi trường MS giúp bổ sung dinh dưỡng cho mầm chồi sẵn có trong mẫu tái sinh và phát triển. Ở thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của loại môi trường nền tỉ lệ tái sinh chồi Sa mộc dầu còn khá thấp, ở môi trường MS tối ưu tỉ lệ

tái sinh chồi cũng chỉ đạt 77,8%. Điều này có thể do chất điều tiết sinh trưởng nội sinh trong mẫu chưa đủ để các mầm chồi có thể bật lên. Do vậy chúng tôi tiến hành bổ sung các chất kích thích sinh trưởng nhằm mục đích làm tăng tỉ lệ tái chồi.

3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu

Cytokinin là nhóm chất kích thích sinh trưởng thường được sử dụng để làm tăng khả năng tái sinh chồi của các đối tượng thực vật *in vitro* (Altaf H., 2013). Trong đó BAP là một cytokin mạnh theo nhiều nghiên cứu chất này phù hợp cho tái sinh chồi của nhiều loài cây từ cây thân gỗ đến cây thân thảo hay thân củ như: Đinh lăng, keo, bạch đàn, Hà thủ ô, khoai từ... (Altaf H., 2013). Do vậy nghiên cứu tiến hành bổ sung BAP vào môi trường nền MS với dãy nồng độ từ 0,0 - 2,0 mg/l, bước nhảy ở các công thức là 0,5 mg/l để theo dõi tỉ lệ tái sinh chồi của cây Sa mộc dầu. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu (sau 4 tuần nuôi cấy)

| Công thức (CT) | Nồng độ BAP (mg/l) | Tổng số mẫu (mẫu) | Tỷ lệ mẫu tái sinh (%) | Chất lượng chồi |
|----------------|--------------------|-------------------|------------------------|-----------------|
| CT 1 | 0,0 | 135 | 77,8 | Chồi mập, xanh |
| CT 2 | 0,5 | 135 | 81,0 | Chồi mập, xanh |
| CT 3 | 1,0 | 135 | 93,5 | Chồi mập, xanh |
| CT4 | 1,5 | 135 | 87,3 | Chồi mập, xanh |
| CT 5 | 2,0 | 135 | 83,7 | Chồi mập, xanh |

Kết quả thu được sau khi nuôi cấy trong môi trường MS bổ sung BAP với các nồng độ từ 0 - 2,0 mg/l cho thấy tỷ lệ tái sinh chồi ở các công thức thí nghiệm hoàn toàn sai khác rõ ràng ($F_{pro.} < 0,05$). Tỷ lệ tái sinh dao động từ 77,8% đến 93,5%. Nồng độ BA tăng từ 0 - 1,0 mg/l thì tỷ lệ tái sinh chồi tăng rõ rệt (77,8 lên 93,5%), chất lượng chồi tốt (chồi xanh và mập). Khi tiếp tục tăng nồng độ lên 1,5 mg/l và 2,0 mg/l thì tỷ lệ tái sinh có xu hướng giảm tỉ lệ tái sinh chồi tương ứng đạt 87,3% và 83,7%, nhưng chất lượng chồi vẫn tốt.

BAP là cytokinin có vai trò trong việc hoạt hóa quá trình phân bào, nhờ đó sẽ có tác dụng cảm ứng cho việc tạo thành chồi và phân hóa chồi. Khi tăng dần nồng độ BAP trong môi trường (từ 0-1,0 mg/l) thì tỷ lệ chồi tái sinh tăng đáng kể. Hàm lượng BAP 1,0 mg/l đối với cây Sa mộc dầu cho kết quả tái sinh chồi cao nhất với 93,5% số mẫu đưa vào nuôi cấy, chất lượng chồi tốt. Nồng độ BAP cao hơn

(1,5 mg/l và 2,0 mg/l) không cho kết quả tốt hơn mà còn có xu hướng giảm, điều này có thể giải thích là đối với đối tượng này, hàm lượng BAP cao có thể gây độc cho mẫu, từ đó ức chế khả năng tạo chồi (Jala A. and Patchpoonporn W, 2012). Như vậy, kết quả nghiên cứu đã xác định được nồng độ BAP thích hợp nhất cho tái sinh chồi ở cây Sa mộc dầu là 1,0 mg/l.

3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ Kinetin đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu

Kinetin cũng là một chất trong nhóm cytokinin, thường sử dụng trong môi trường nuôi cấy *in vitro* giúp phát sinh hình thái chồi (Altaf H., 2013). Trong nghiên cứu, ngoài các thí nghiệm về ảnh hưởng nồng độ BAP, tác giả tiến hành thí nghiệm độc lập với kinetin. Kinetin được bổ sung vào môi trường MS với nồng độ 0,0 - 2 mg/l. Tỷ lệ tái sinh chồi được theo dõi sau 4 tuần nuôi cấy. Kết quả được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ Kinetin đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu (sau 4 tuần nuôi cấy)

| Công thức (CT) | Nồng độ Kinetin (mg/l) | Tổng số mẫu (mẫu) | Tỷ lệ mẫu tái sinh (%) | Chất lượng chồi |
|----------------|------------------------|-------------------|------------------------|-----------------|
| CT 1 | 0,0 | 135 | 77,8 | Chồi mập, xanh |
| CT 2 | 0,5 | 135 | 79,8 | Chồi mập, xanh |
| CT 3 | 1,0 | 135 | 83,5 | Chồi mập, xanh |
| CT4 | 1,5 | 135 | 88,1 | Chồi mập, xanh |
| CT 5 | 2,0 | 135 | 85,7 | Chồi mập, xanh |

Kết quả bảng 3 cho thấy các công thức có bổ sung Kinetin đều cho tỷ lệ mẫu tái sinh cao hơn so với công thức đối chứng không bổ sung Kinetin. Kết quả sau 4 tuần nuôi cấy cho thấy tỷ lệ tái sinh chồi ở các công thức thí nghiệm bổ sung các nồng độ Kinetin khác nhau là khác nhau rõ rệt ($F_{pro.} < 0,05$). Công thức 1 có tỷ lệ mẫu tái sinh đạt 77,8%. Các công thức thí

nghiệm còn lại cho tỷ lệ mẫu tái sinh đạt từ 79,8% đến 88,1%. Trong đó công thức 4 với nồng độ Kinetin bổ sung là 1,5 mg/l cho tỷ lệ mẫu tái sinh cao nhất là 88,1%. Các công thức thí nghiệm 2, 3 cho tỷ lệ mẫu tái sinh lần lượt là 79,8% và 83,5%. Khi nồng độ Kinetin qua ngưỡng tối thích ở công thức 4 thì tỷ lệ mẫu tái sinh lại giảm. Kết quả thu được cũng chỉ ra

rằng BAP ảnh hưởng đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu tốt hơn Kinetin.

3.2.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ GA3 đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu

Gibberellin là một trong những nhóm hoocmon quan trọng của thực vật và thuộc nhóm chất kích thích sinh trưởng. Hiện nay

đã phát hiện khoảng 60 loại gibberellin, kí hiệu từ GA₁ đến GA₆₀, trong đó GA₃ có hoạt tính sinh học mạnh nhất và thường dùng trong nuôi cấy mô, tế bào thực vật (Vũ Văn Vụ, 2009). Mẫu nuôi cấy được đưa vào môi trường có bổ sung GA₃ với các nồng độ khác nhau, sau đó theo dõi khả năng tái sinh chồi của mẫu trong vòng 4 tuần. Kết quả nghiên cứu được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ GA3 đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu (sau 4 tuần nuôi cấy)

| Công thức | Nồng độ GA3 (mg/l) | Tổng số mẫu (mẫu) | Tỷ lệ mẫu tái sinh (%) | Chất lượng chồi |
|-----------|--------------------|-------------------|------------------------|-----------------|
| CT 1 | 0,0 | 135 | 77,8 | Xanh, nhỏ, dài |
| CT 2 | 0,5 | 135 | 79,0 | Xanh, nhỏ, dài |
| CT 3 | 1,0 | 135 | 82,9 | Xanh, nhỏ, dài |
| CT 4 | 1,5 | 135 | 81,1 | Xanh, nhỏ, dài |
| CT 5 | 2,0 | 135 | 80,0 | Xanh, nhỏ, dài |

Khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy GA₃ với nồng độ từ 0 -1 mg/l cho tỷ lệ tái sinh chồi tăng dần, lần lượt đạt 77,8% và 82,94%. Tuy nhiên khi tăng nồng độ GA₃ lên 1,5 mg/l và 2,0 mg/l tỷ lệ tái sinh chồi lại giảm xuống chỉ còn 81,1% ở công thức 4 và 80,0% ở công thức 5. Ở tất cả các công thức đều có hiện tượng chồi nhỏ, gầy và dài. Các công thức khác nhau cho tỷ lệ tái sinh khác nhau ở mức độ tin cậy 95%. Như vậy, thí nghiệm đã xác định được nồng độ GA₃ 1,0 mg/l là tốt nhất cho tái sinh chồi ở cây Sa mộc dầu. GA₃ là hoocmon thuộc nhóm kích thích sinh trưởng, có tác dụng kích thích sự kéo dài của cành, chồi và phá vỡ trạng thái ngủ của mầm (Vũ Văn Vụ, 2009). Do đó, khi đưa GA₃ vào môi trường nuôi cấy sẽ kích thích chồi phát triển, tuy nhiên tỷ lệ tái sinh chồi cao nhất ở nồng độ 1,0 mg/l, khi tăng lên nồng độ cao hơn, tỷ lệ tái sinh chồi giảm. Điều này chứng minh rằng hiệu quả tái sinh chồi phụ thuộc vào yếu tố nội sinh của mẫu, ở nồng độ phù hợp thì GA₃ sẽ có hiệu quả tốt trong tái sinh chồi ở cây Sa

mộc dầu, nồng độ quá cao có thể dẫn tới tác dụng ngược, gây độc đối với tế bào, hạn chế tỷ lệ tái sinh cũng như chất lượng chồi.

J.R.Rout và đồng tác giả (2011), khi nghiên cứu trên đối tượng cây Sâm ấn độ, đã thử nghiệm khả năng nảy chồi trong môi trường MS có bổ sung GA₃ với các nồng độ khác nhau nhận thấy ở nồng độ GA₃ 0,25mg/l sẽ cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất; nồng độ cao hơn (0,5 mg/l) hoặc thấp hơn (0,1 mg/l) cũng đều cho thấy tỷ lệ kém hơn.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi không giống với các nghiên cứu trước có thể lý giải là do đối tượng nghiên cứu khác nhau, dẫn tới các yếu tố về mặt nội sinh không giống nhau sẽ cho kết quả khác nhau.

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của GA₃ thu được so với các thí nghiệm về BAP, Kinetin cũng chỉ ra trong 3 chất được tiến hành nghiên cứu chỉ có BAP là cho tỷ lệ mẫu tái sinh cao nhất và chất lượng chồi là tốt nhất.

3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng nước dừa đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu

Nước dừa được sử dụng rộng rãi như một thành phần thúc đẩy tăng trưởng trong môi trường nuôi cấy mô tế bào thực vật. Một số thành phần quan trọng có trong nước dừa là tập hợp của phytohormone; trong đó, quan trọng và hữu ích nhất là cytokinin và auxin. Nước dừa bao gồm nhiều axit amin, hợp chất đạm, hợp chất vô cơ, các axit hữu cơ, nguồn carbon, vitamin và có khả năng điều chỉnh sự

phát triển như cytokinin và auxin. (Vũ Văn Vụ, 2009). Khi bổ sung nước dừa vào môi trường nuôi cấy, hiệu quả kích thích được nhận thấy chỉ xảy ra khi hàm lượng nước dừa được thêm vào từ 10 - 15%.

Do vậy trong thí nghiệm này nước dừa ở các nồng độ khác nhau từ 0 – 200 ml/l được bổ sung vào môi trường nuôi cấy (MS + 1 mg/l BAP) để nghiên cứu tỷ lệ tái sinh chồi Sa mộc dầu. Sau 4 tuần nuôi cấy, kết quả nghiên cứu được trình bày trong bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của hàm lượng nước dừa đến khả năng tái sinh chồi cây Sa mộc dầu (sau 4 tuần nuôi cấy)

| Công thức | Nồng độ BAP (mg/l) | Nồng độ nước dừa(ml/l) | Tổng số mẫu (mẫu) | Tỷ lệ mẫu tái sinh (%) | Chất lượng chồi |
|-----------|--------------------|------------------------|-------------------|------------------------|-----------------|
| CT 1 | 1,0 | 0 | 135 | 93,5 | Mập, xanh |
| CT 2 | 1,0 | 50 | 135 | 93,5 | Mập, xanh, cao |
| CT 3 | 1,0 | 100 | 135 | 93,6 | Mập, xanh, cao |
| CT 4 | 1,0 | 150 | 135 | 94,1 | Mập, xanh, cao |
| CT 5 | 1,0 | 200 | 135 | 94,0 | Mập, xanh, cao |

Sử dụng phương pháp phân tích phương sai 1 nhân tố (hàm lượng nước dừa) cho thấy hàm lượng nước dừa không có ảnh hưởng đến tỷ lệ tái sinh chồi cây Sa mộc dầu. Tuy nhiên, qua kết quả bảng 5 cho thấy khi bổ sung nước dừa vào môi trường nuôi cấy chất lượng chồi tái sinh được cải thiện đáng kể, chồi mập xanh và cao hơn. Theo đánh giá nồng độ 150 ml nước dừa là thích hợp cho chất lượng chồi tốt đồng thời tỷ lệ tái sinh đạt cao nhất 94,1%. Nước dừa là nguồn dinh dưỡng dồi dào, cung cấp nguồn đạm (từ nhiều loại acid amin, axit hữu cơ) và cacbohydrat (như glucoza, fuctoza, sucroza). Khi bổ sung nước dừa tạo nguồn dinh dưỡng hữu cơ cho chồi phát triển.

IV. KẾT LUẬN

Từ thực tế tiến hành thí nghiệm và kết quả thu được, đưa ra kết luận sau: Môi trường MS là thích hợp cho sự tái sinh chồi cây Sa mộc dầu. Cả ba chất BAP, Kinetin và GA3 khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy đều có tác dụng làm tăng tỷ lệ tái sinh. Tuy nhiên, BAP tỏ ra thích hợp hơn cho tái sinh chồi cây Sa mộc dầu vì các môi trường bổ sung BAP đều cho kết quả (tỷ lệ mẫu tái sinh) cao hơn so với các môi trường tương ứng có bổ sung Kinetin hoặc GA3 ở cùng nồng độ. Như vậy môi trường MS bổ sung 1 mg/l BAP là thích hợp cho chồi Sa mộc dầu tái sinh. Nước dừa với hàm lượng 150 ml/l là thích hợp cho sự tái sinh chồi Sa mộc dầu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Ngọc Đài, Nguyễn Quang Hưng, 2012. “Thành phần hóa học tinh dầu gỗ Sa mộc dầu (*Cunninghamia konishii* Hayata) ở Hà Giang”. Tạp chí Sinh học, 34 (4), tr 469 - 472.
2. Nguyễn Văn Sinh, 2009. “Một số dẫn liệu về đặc điểm sinh thái, phân bố và bảo tồn loài Sa mu dầu tại Vườn quốc gia Pù Mát”. Tuyển tập báo cáo Hội nghị Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 3, 22/10/2009, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Hà Nội.
3. Nguyễn Minh Tâm, Nguyễn Thị Phương Trang, Nguyễn Thị Hoa 2009. “Đa dạng di truyền loài Sa mộc dầu (*Cunninghamia lanceolata* var. *Konishii*) bằng chỉ thị ISSR: áp dụng cho công việc bảo tồn”. Tạp chí Sinh học, (2), tr 66 - 72.
4. Vũ Văn Vụ, Nguyễn Mộng Hùng, Lê Hồng Điệp, 2009. Công nghệ sinh học tập 2 - Công nghệ sinh học tế bào. NXB Giáo dục, Hà Nội.
5. Altaf H., Iqbal A.Q., Hummera N., Ikram U., Mohammad R., Zabta K.S. 2013. “*In vitro* callogenesis and organogenesis in *Taxus wallichiana* Zucc, The Himalayan yew”. Pak. J. Bot., 45 (5), 1755-1759.
6. Chung J.D, Lin T.P., Tan Y.C., Lin M.Y., Hwang S.Y. 2004. “Genetic diversity and biogeography of *Cunninghamia konishii* (Cupressaceae), an island species in Taiwan: a comparison with *Cunninghamia lanceolata*, a mainland species in China”. Mol Phylogenet Evol., 33 (3), 791-801.
7. Jala A. and Patchpoonporn W. 2012. “Effect of BA, NAA and 2,4-D on micropropagation of Jiaogulan (*Gynostemma pentaphyllum* Makino)”, International Transaction Journal of Engineering, Management, Applied Sciences & Technologies, 3 (4), 363 - 370.

Email tác giả chính: hongocson@tuaf.edu.vn

Ngày nhận bài: 25/10/2017

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 18/06/2018

Ngày duyệt đăng: 30/06/2018