

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG CÂY TỤC ĐOẠN (*Dipsacus japonicus*) BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CÂY MÔ

Khuất Thị Hải Ninh¹, Phan Thị Trang¹, Nguyễn Thị Thơ¹, Bùi Văn Thắng¹, Vũ Văn Hiếu²

¹Trường Đại học Lâm nghiệp

²Trung tâm Nghiên cứu giống cây trồng Đạo Đức – Hà Giang

TÓM TẮT

Nhân giống Tục đoạn (*Dipsacus japonicus* Miq) bằng phương pháp nuôi cây mô đã được nghiên cứu thành công, kết quả cho thấy: Khử trùng hạt bằng HgCl₂ 0,1% trong thời gian 1 phút và Javel 5% trong thời gian 20 phút cho kết quả 60% hạt sạch nảy mầm. Khử trùng chồi bằng HgCl₂ 0,1% trong thời gian 2,5 phút, đạt kết quả 22,2% mẫu sạch nảy chồi. Môi trường dinh dưỡng cơ bản MS bổ sung 0,4 mg/l BAP; 0,4 mg/l TDZ thích hợp để nhân nhanh chồi, với 100% mẫu tạo cụm chồi, 5,2 chồi/cụm, chiều cao chồi đạt 3,4 cm. Tăng trưởng chồi trên môi trường dinh dưỡng cơ bản MS bổ sung 0,4 mg/l BAP; 0,2 mg/l Kinetin; 0,1 mg/l NAA, chiều cao chồi đạt 7,5 cm. Môi trường dinh dưỡng cơ bản MS bổ sung 0,4 mg/l NAA phù hợp để tạo cây con hoàn chỉnh, với tỉ lệ chồi ra rễ đạt 100%, chất lượng rễ tốt. Cây mô trồng trên giá thể phối trộn 50% đất tầng B với 25% cát và 25% trấu hun, cho tỷ lệ cây sống là 60% sau 4 tuần ra ngôi.

Từ khóa: Cụm chồi, nhân giống, nuôi cây mô, Tục đoạn.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Tục đoạn còn gọi Sâm nam, Đầu vù, Rễ kếp, Mèo xiêng khoảng, có tên khoa học *Dipsacus japonicus*, thuộc họ Tục đoạn (Dipsacaceae). Tục là nổi, đoạn là đứt vì người xưa cho rằng vị thuốc có tác dụng nổi được gân xương đã đứt. Theo đông y, Tục đoạn có vị đắng cay, tính hơi ôn, có tác dụng bổ can ích thận, nổi liền gân cốt, thông huyết mạch, cầm máu, giảm đau. Chủ trị can thận hư, lưng đau, chân yếu, gãy xương, bong gân, dọa sảy thai, an thai, chỉ huyết, chữa băng lậu đới hạ (Đỗ Tất Lợi, 2015). Ngoài ra, tinh dầu Tục đoạn có tác dụng chống lại côn trùng gây hại như Mọt bột đỏ (*Tribolium castaneum*) thường tấn công các sản phẩm ngũ cốc và Mọt hại ngô (*Sitophilus zeamais*) (Zhi Long Luet et al., 2013). Tục đoạn là một trong các loài cây dược liệu được qui hoạch trồng ở các vùng núi cao và vùng núi trung bình có khí hậu Á nhiệt đới (Theo Quyết định số 1976/QĐ-TTg ngày 30/10/2013 của Thủ tướng chính phủ và Quyết định số 179/QĐ-BYT ngày 20/1/2015 của Bộ Y tế). Vì vậy, việc nhân giống và gây trồng Tục đoạn tại những khu phân bố của chúng là hết sức cần thiết.

Hiện nay, nhu cầu trong và ngoài nước về Tục đoạn rất lớn, việc khai thác những cây mọc hoang không đáp ứng được nguồn cung.

Mặc dù có thể nhân giống cây Tục đoạn bằng phương pháp sinh dưỡng hoặc hữu tính nhưng cây mẹ đẻ nhánh kém, hạt thường được thu hoạch vào mùa đông giá rét (tháng 11, 12) ở vùng núi cao do đó gặp nhiều khó khăn (Đỗ Huy Bích, 2006; Xu liand Wang Wei, 2002). Mặt khác, do bộ phận dùng làm thuốc của cây Tục đoạn là rễ, nên khi khai thác ngoài tự nhiên người dân đào cả cây do vậy cây không còn cơ hội tái sinh. Vì vậy, nhân giống cây Tục đoạn bằng phương pháp nuôi cây mô sẽ giúp tạo ra số lượng lớn cây con trong thời gian ngắn, có thể đáp ứng nguồn giống cho các vùng sản xuất dược liệu, nhằm nâng cao thu nhập cho người dân và phục vụ công tác bảo tồn nguồn gen cây thuốc.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vật liệu: Chồi và hạt Tục đoạn do Trung tâm Nghiên cứu Giống cây trồng Đạo Đức – Hà Giang cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành theo các bước khử trùng mẫu, nhân chồi, tạo cây con hoàn chỉnh, và trồng cây con ngoài vườn ươm. Mỗi công thức thí nghiệm được bố trí 3 lần lặp, mỗi lần 30 mẫu.

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Tạo mẫu sạch và nuôi cấy khởi động:

1) Tạo mẫu sạch từ hạt

Hạt được lựa chọn trước khi khử trùng (gồm các hạt chắc, mẩy, những hạt nổi trên mặt nước đều bị loại bỏ). Sau đó, hạt được rửa sạch bằng nước, ngâm và lắc đều trong nước xà phòng loãng 2 - 3 phút, tráng lại nhiều lần bằng nước sạch.

Mẫu tiếp tục được rửa bằng nước cất vô trùng 2 - 3 lần (mỗi lần lắc 2 - 3 phút), sau đó khử trùng bằng HgCl₂ 0,1% và Javel 5% với thời gian khác nhau. Sau mỗi lần khử trùng bằng hóa chất, mẫu cần được tráng rửa bằng nước cất vô trùng 2 - 3 lần, mỗi lần từ 2 - 3 phút.

2) Tạo mẫu sạch từ chồi

Mẫu nuôi cấy được chọn là các cây Tục đoạn 1 năm tuổi, thân mập lá phát triển tốt, không sâu bệnh. Sau đó cắt hết lá, chỉ để lại cuống lá dài khoảng 0,5 cm và cắt bỏ rễ, rửa mẫu dưới vòi nước chảy, rồi dùng chổi lông rửa mẫu trong nước xà phòng loãng, rửa lại

bằng nước sạch.

Mẫu tiếp tục được đưa vào box cấy rửa bằng nước cất vô trùng 2 - 3 lần (mỗi lần lắc 2 - 3 phút), sau đó khử trùng bằng HgCl₂ 0,1% trong thời gian 2,5; 3; 3,5 và 4 phút. Sau khi xử lý mẫu, cần tráng bằng nước cất vô trùng 2 - 3 lần, mỗi lần từ 2 - 3 phút.

3) Nuôi cấy khởi động

Sau khi khử trùng, các mẫu hạt và chồi được cấy trên môi trường dinh dưỡng cơ bản MS bổ sung 30 g/l sucrose; 6 g/l agar. Mẫu cấy được nuôi trong tối 1 - 2 tuần, khi các mẫu bắt đầu nảy mầm và tái sinh chồi thì chuyển sang nuôi sáng. Trong quá trình nuôi mẫu, thường xuyên kiểm tra loại bỏ ngay những mẫu nhiễm ra khỏi phòng nuôi, tránh lây nhiễm cho các mẫu khác.

Chỉ tiêu theo dõi: Số mẫu sạch, số mẫu sạch nảy chồi, số mẫu sạch bị chết sau 4 tuần vào mẫu.



Hình 1. Hạt Tục đoạn (hình trái) và cây (hình phải) được lựa chọn để vào mẫu

Nhân nhanh chồi:

Mẫu sạch được tạo ra ở thí nghiệm trên (gồm chồi và cây mầm) được cấy chuyển sang môi trường dinh dưỡng MS có bổ sung các loại chất điều hòa sinh trưởng (BAP, Kinetin, NAA và TDZ) ở các nồng độ khác nhau, 30g/l sucrose, 6 g/l agar.

Chỉ tiêu theo dõi: Số mẫu tạo cụm chồi, số chồi/cụm và chiều cao chồi sau 3 tuần nuôi cấy.

Kích thích ra rễ tạo cây hoàn chỉnh:

Những chồi khỏe mạnh, xanh, mập có chiều dài từ 5 - 7 cm sẽ được cấy chuyển sang môi trường tạo rễ là môi trường khoáng cơ bản MS bổ sung 30 g/l sucrose, 6 g/l agar, IBA hoặc NAA có nồng độ 0,2 - 0,5 mg/l.

Chỉ tiêu theo dõi: Số chồi ra rễ, số rễ/cây và chiều dài rễ sau 3 tuần nuôi cấy.

Ảnh hưởng của loại giá thể đến khả năng sống và sinh trưởng của cây in vitro tại vườn ươm.

Các bình cây mô được huấn luyện dưới ánh sáng tán xạ trong thời gian 1 tuần (cây có chiều cao \geq 4 cm, có lá và bộ rễ phát triển, cây cứng cáp). Dùng panh gấp các cây trong bình ra ngoài, sau đó rửa sạch bộ rễ bằng nước sạch để loại bỏ agar, để cây ráo nước và cấy trên các loại giá thể khác nhau: phối trộn giữa đất đồi tầng B, cát vàng và trấu hun để nghiên cứu khả năng sống và sinh trưởng trong giai đoạn vườn ươm.

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ cây sống, chiều cao cây và chất lượng cây sau 4 tuần ra ngôi.

2.2.2. Phương pháp xử lý số liệu

So sánh giữa các công thức thí nghiệm về tỉ lệ mẫu sạch, tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi, tỉ lệ chồi ra rễ bằng tiêu chuẩn khi bình phương (χ^2). So sánh kết quả của các công thức thí nghiệm về số lượng chồi/cụm, chiều cao chồi, chiều dài rễ và số lượng rễ/cây bằng phân tích phương sai một nhân tố.

Số liệu đã thu thập được xử lý bằng phần mềm SPSS (Nguyễn Hải Tuất và Nguyễn Trọng Bình, 2005) và phần mềm Excel.

2.3. Địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm được tiến hành tại phòng nuôi

cây mô - tế bào thực vật của Viện Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp, Trường Đại học Lâm nghiệp.

Các môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH = 5,8, chiếu sáng 10h/ngày, với cường độ ánh sáng 2000 - 3000 lux, nhiệt độ phòng nuôi $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo mẫu sạch

3.1.1. Tạo mẫu sạch từ hạt

Tạo mẫu sạch Tục đoạn từ hạt bằng việc sử dụng hóa chất là HgCl_2 0,1% và Javel 5% với thời gian khác nhau để khử trùng. Kết quả thu được sau 4 tuần nuôi cấy được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến khả năng tạo mẫu sạch và nảy mầm từ hạt

STT	Thời gian xử lý (phút)		Mẫu sạch		Mẫu sạch nảy mầm		Mẫu chết	
	HgCl ₂ 0,1%	Javel 5%	N	%	N	%	N	%
	1	1	-	10	11,1	9	10,0	1
2	2	-	22	24,4	18	20,0	4	4,4
3	3	-	34	37,8	13	14,4	21	23,3
4	1	15	42	46,7	28	31,1	14	15,6
5	1	20	62	68,9	54	60,0	8	8,9
6	1	25	72	80,0	25	27,8	47	52,2
7	2	15	66	73,3	24	26,7	42	46,7
8	2	20	72	80,0	27	30,0	45	50,0
9	2	25	79	87,8	21	23,3	58	64,4
Sig					0,0001			

Số liệu bảng 1 cho thấy khi sử dụng HgCl_2 0,1% và Javel 5% để khử trùng mẫu hạt với thời gian khác nhau đã có ảnh hưởng rõ rệt đến tỉ lệ mẫu sạch nảy mầm (sig < 0,05). Khi khử trùng hạt chỉ bằng HgCl_2 0,1% trong thời gian 1 - 3 phút cho tỉ lệ mẫu sạch nảy mầm thấp (5,6 - 8,9%). Kết hợp HgCl_2 0,1% và Javel 5% tỉ lệ mẫu sạch nảy mầm tăng lên đáng kể (23,3 - 60%). Trong đó, xử lý hạt bằng HgCl_2 0,1% trong thời gian 2 phút kết hợp Javel 5% từ 15 - 25 phút cho tỉ lệ mẫu sạch khá cao (73,3 - 87,8%), tuy nhiên mẫu sạch nảy mầm chỉ đạt từ 23,3 - 30%. Giảm thời gian xử lý mẫu bằng

HgCl_2 0,1% xuống 1 phút kết hợp Javel 5% từ 15 - 25 phút cho tỉ lệ mẫu sạch nảy mầm khá cao (27,8 - 60%). Như vậy, khi thời gian khử trùng hạt bằng HgCl_2 0,1% quá lâu sẽ gây độc và làm chết hạt, do đó để giảm mức độ nhiễm độc của hạt cần xử lý HgCl_2 0,1% trong vòng 1 phút kết hợp Javel 5% trong thời gian 20 phút cho hiệu quả tốt nhất (60% hạt sạch nảy mầm) (hình 2a).

3.1.2. Tạo mẫu sạch từ chồi

Kết quả tạo mẫu sạch từ chồi khi xử lý bằng HgCl_2 0,1% với thời gian khác nhau được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến khả năng tạo mẫu sạch và tái sinh chồi

STT	Thời gian xử lý HgCl ₂ 0,1% (phút)	Mẫu sạch		Mẫu sạch tái sinh chồi		Mẫu sạch chết	
		N	%	N	%	N	%
1	2,0	8	8,9	8	8,9	0	0,0
2	2,5	30	33,3	20	22,2	10	11,1
3	3,0	21	23,3	16	17,8	5	5,6
4	3,5	28	31,1	7	7,8	21	23,3
Sig				0,013			

Số liệu ở bảng 2 cho thấy khi sử dụng HgCl₂ 0,1% để khử trùng mẫu với thời gian khử nhau đã có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng tạo mẫu sạch (sig < 0,05). Khi tăng thời gian khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,1% từ 2 - 3,5 phút tỉ lệ mẫu sạch cũng tăng lên (8,9 - 31,1%), tuy nhiên tỉ lệ mẫu sạch nảy chồi lại không tỉ lệ thuận. Khử trùng 2 phút cho tỉ lệ mẫu sạch tái sinh chồi thấp nhất (8,9%) và không xuất hiện mẫu sạch bị chết. Khi tăng thời gian khử trùng mẫu lên 2,5 - 3 phút tỉ lệ mẫu sạch nảy chồi tăng lên đáng kể (17,8 - 22,2%). Nhưng khi tăng thời gian khử trùng lên 3,5 phút mẫu sạch tái sinh chồi giảm đi đáng kể (7,8%), tỉ lệ mẫu sạch chết khá cao

(23,3%). Dễ dàng nhận thấy khả năng chịu thủy ngân của mẫu chồi Tục đoạn rất kém. Vì vậy, nếu tạo mẫu sạch từ chồi nên xử lý bằng HgCl₂ 0,1% trong thời gian 2,5 phút là thích hợp (với tỉ lệ mẫu sạch nảy chồi đạt 22,2%) (hình 2b).

3.2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tạo cụm chồi

Những mẫu sống khoẻ mạnh, không nhiễm nấm và khuẩn được cấy chuyển sang môi trường dinh dưỡng cơ bản MS bổ sung các chất điều hoà sinh trưởng BAP, Kinetin, NAA và TDZ ở các nồng độ khác nhau để nghiên cứu khả năng tạo cụm chồi. Kết quả thu được sau 3 tuần cấy chuyển được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tạo cụm chồi

STT	Chất ĐHST (mg/l)				Mẫu tạo cụm chồi		Số lượng chồi/cụm	Chiều cao chồi (cm)
	BAP	Kinetin	NAA	TDZ	N	%		
1	0,3	-	-	-	28	31,1	1,8	6,8
2	0,4	-	0,1	-	43	47,8	2,2	7,1
3	0,5	-	-	-	34	37,8	1,6	6,4
Trung bình					35,0	38,89	1,87	6,77
4	0,3	0,2	0,1	-	45	50,0	2,7	7,6
5	0,4	0,2	0,1	-	55	61,1	3,2	7,5
6	0,5	0,2	0,1	-	47	52,2	2,5	6,9
Trung bình					49,0	54,44	2,80	7,33
7	0,4	-	-	0,3	90	100	4,1	3,5
8	0,4	-	-	0,4	90	100	5,2	3,4
9	0,4	-	-	0,5	90	100	4,5	3,2
Trung bình					90	100	4,60	3,37
Sig					0,0001		0,0001	0,0001

Số liệu ở bảng 3 cho thấy, khi kết hợp các chất điều hoà sinh trưởng với nồng độ khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến tỉ lệ mẫu tạo

cụm chồi, số chồi/cụm và chiều cao chồi. Trong môi trường nuôi cấy chỉ bổ sung BAP (0,3 - 0,5 mg/l) và 0,2 mg/l NAA tỉ lệ mẫu tạo

cụm chồi trung bình đạt 38,89%, số chồi/cụm trung bình đạt 1,87. Khi kết hợp BAP (0,3 - 0,5 mg/l), 0,2 mg/l NAA và 0,2 mg/l Kinetin tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi tăng lên đáng kể (trung bình 54,44%), số chồi/cụm cũng tăng (trung bình đạt 2,80 chồi), tuy nhiên vẫn ở mức thấp. Mặc dù vậy, sự kết hợp giữa BAP, Kinetin và NAA đều cho chồi phát triển khá tốt về chiều cao (từ 6,4 - 7,5 cm). Môi trường có sự kết hợp giữa TDZ (0,3 - 0,5 mg/l) và 0,4 mg/l BAP đều cho 100% chồi tạo cụm chồi, số chồi/cụm cũng tăng lên (trung bình đạt 4,6 chồi/cụm), nhưng chiều cao chồi hạn chế

(trung bình đạt 3,4 cm). Như vậy, có thể lựa chọn môi trường MS bổ sung 0,4 mg/l BAP; 0,4 mg/l TDZ cho nhân nhanh chồi và môi trường MS bổ sung 0,4 mg/l BAP; 0,2 mg/l Kinetin; 0,1 mg/l NAA để nâng cao chất lượng chồi (hình 2c).

3.3. Ảnh hưởng của chất điều hoà sinh trưởng đến khả năng ra rễ

Nghiên cứu khả năng ra rễ *in vitro* Tục đoạn bằng việc sử dụng môi trường dinh dưỡng cơ bản MS bổ sung riêng rẽ NAA, IBA và đối chứng (không bổ sung IBA và NAA). Kết quả tạo rễ *in vitro* được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ chất điều hoà sinh trưởng đến khả năng ra rễ

CTTN	Chất ĐHST (mg/l)		Tỉ lệ ra rễ (%)	Số lượng rễ (cái)	Chiều dài rễ (cm)	Thời gian ra rễ (ngày)	Chất lượng rễ
	NAA	IBA					
N1	0,2	-	100	2,8	1,8	14	TB
N2	0,3	-	100	3,2	2,5	13	Tốt
N3	0,4	-	100	4,2	2,8	10	Tốt
N4	0,5	-	100	3,5	2,2	16	TB
Trung bình			100	3,4	2,3	13,3	
Sig				0,0001	0,0001		
I1	-	0,2	100	1,4	1,3	13	TB
I2	-	0,3	100	1,6	1,7	12	TB
I3	-	0,4	100	1,8	1,5	15	TB
I4	-	0,5	100	2,2	1,3	17	TB
Trung bình			100	1,8	1,5	14,3	
ĐC			83,3	1,3	1,2	19	xấu
Sig				0,068	0,003		

Ghi chú: Rễ tốt: mập và trắng; Rễ trung bình: mập và hơi vàng; Rễ xấu: rễ mảnh và đen.

Số liệu ở bảng 4 cho thấy sử dụng chất điều hoà sinh trưởng trong môi trường nuôi cấy cho kết quả tốt hơn so với công thức đối chứng (không có chất điều hoà sinh trưởng). Điều này thể hiện rõ ở thời gian ra rễ cũng sớm (từ 10 đến 17 ngày), tỉ lệ chồi ra rễ rất tốt (100%) không còn thấy xuất hiện rễ xấu chỉ có loại rễ có chất lượng từ trung bình trở lên, trong khi đó công thức đối chứng thời gian ra rễ 19 ngày, tỉ lệ chồi ra rễ chỉ đạt 83,3%.

Khi sử dụng NAA, IBA ở các nồng độ khác nhau bổ sung vào môi trường tạo cây hoàn chỉnh đều cho kết quả tốt. Trong đó, tất cả các

công thức môi trường nuôi cấy đều cho tỷ lệ ra rễ đạt 100% (không có sự sai khác), số lượng rễ, chiều dài rễ, chất lượng bộ rễ và thời gian ra rễ đã có sự khác nhau. Bổ sung NAA vào môi trường nuôi cấy đã tạo ra 3,4 rễ/cây, chiều dài rễ trung bình 2,3 cm, thời gian ra rễ trung bình 13,3 ngày. Bổ sung IBA vào môi trường tạo cây hoàn chỉnh đã tạo được 1,3 rễ/cây, chiều dài rễ trung bình 1,2 cm, thời gian ra rễ trung bình 13,3 ngày. Như vậy, có thể nhận thấy bổ sung 0,4 mg/l NAA vào môi trường nuôi cấy tạo rễ là phù hợp nhất trong nghiên cứu trên (hình 2d).

3.5. Ảnh hưởng của loại giá thể đến khả năng sống và sinh trưởng của cây *in vitro* tại vườn ươm

Ở giai đoạn đầu khi đưa cây ra trồng, thành phần giá thể trong ruột bầu có vai trò quan

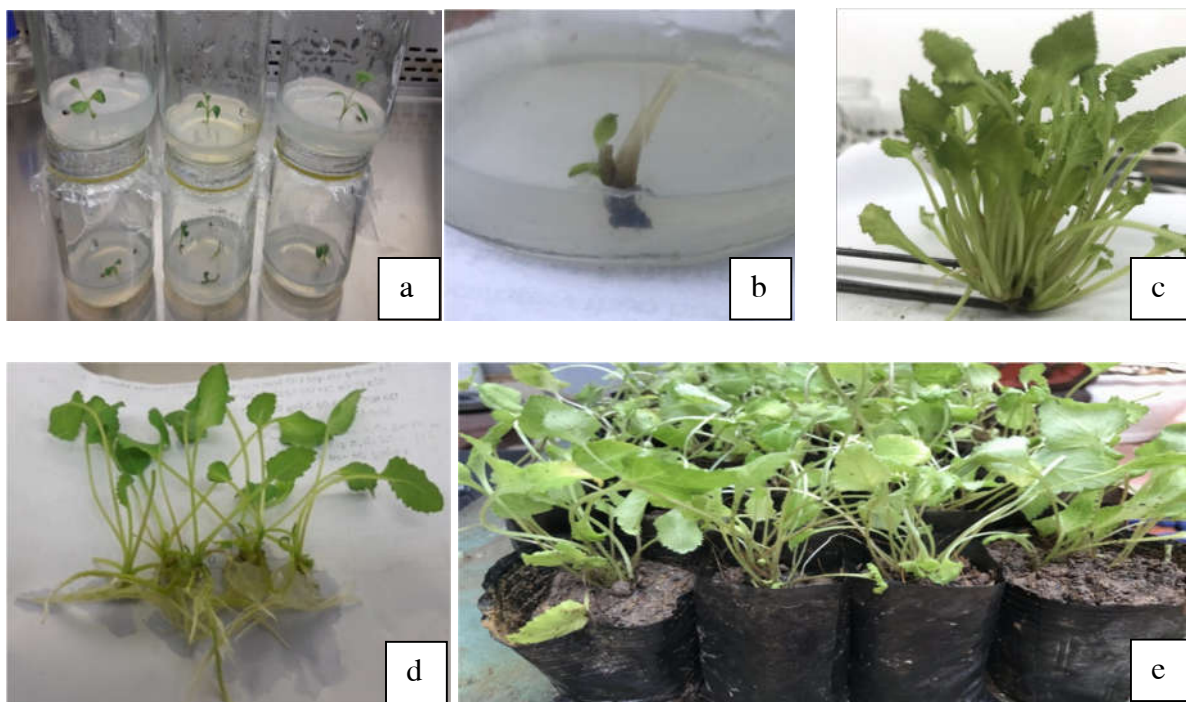
trọng giúp cây có khả năng hút nước và chất dinh dưỡng tốt, đồng thời không làm thối rễ cây là vô cùng cần thiết. Thành phần giá thể ruột bầu và tình hình sinh trưởng của cây con sau 4 tuần được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của các loại giá thể đến khả năng sống và sinh trưởng của cây *in vitro*

STT	Công thức	Loại giá thể			Tỉ lệ cây sống (%)	Thu thập số liệu sau 4 tuần	
		Đất tầng B (%)	Cát vàng (%)	Trấu hun (%)		Chiều cao cây (cm)	Chất lượng cây con
1	GT1	100	0	0	10	4,1	Cây cao 3,6 - 4,2 cm, nhỏ, lá mỏng xanh non
2	GT2	50	25	25	60	6,3	Tốt, cây cao 5,8 - 6,5 cm, mập; lá dày, xanh non
3	GT3	75	0	25	16	5,1	Tốt, cây cao 4,5 - 5,6 cm, khá mập, lá xanh non
4	GT4	75	25	0	23	4,9	Tốt, cây cao 4,5 - 5,4 cm, khá mập, lá xanh non
Sig					0,0001	0,0001	

Số liệu ở bảng 5 cho thấy, loại giá thể khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến tỉ lệ cây sống và sinh trưởng chiều cao cây. Trồng cây trên giá thể là 100% đất tầng B tỉ lệ sống thấp nhất (10%), cây sinh trưởng phát triển kém nhất

(cây cao trung bình 3,6 – 4,2 cm). Trên giá thể trộn 50% đất tầng B; 25% cát vàng và 25% trấu hun tỉ lệ cây sống cao nhất (đạt 60%), sinh trưởng và phát triển tốt nhất (cây trung bình cao 5,8 – 6,5 cm) (hình 2e).



Hình 2. Một số hình ảnh cây Tục đoạn trong các giai đoạn nhân giống *in vitro*

a: Hạt nảy mầm; b: Mẫu sạch nảy chồi; c: Cụm chồi; d: Cây hoàn chỉnh; e: Cây con trồng ngoài vườn ươm.

4. KẾT LUẬN

Khử trùng tạo mẫu sạch Tục đoạn từ hạt khi sử dụng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong vòng 1 phút và Javel 5% trong thời gian 20 phút đạt 60% hạt sạch nảy mầm. Khử trùng chồi bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong thời gian 2,5 phút cho tỉ lệ mẫu sạch tái sinh chồi đạt 22,2%.

Nhân nhanh chồi trên môi trường dinh dưỡng cơ bản MS bổ sung 0,4 mg/l BAP; 0,4 mg/l TDZ, kết quả đạt 100% mẫu tạo cụm chồi, 5,2 chồi/cụm, chiều cao chồi đạt 3,4 cm.

Tăng trưởng chồi trên môi trường khoáng cơ bản MS bổ sung 0,4 mg/l BAP; 0,2 mg/l Kinetin; 0,1 mg/l NAA, chiều cao chồi đạt 7,5 cm.

Ra rễ tạo cây hoàn chỉnh trên môi trường dinh dưỡng cơ bản MS bổ sung 0,4 mg/l NAA, kết quả đạt 100% chồi ra rễ, thời gian ra rễ sau 10 ngày, chất lượng rễ tốt.

Cây mô trồng trên giá thể 50% đất tầng phối trộn với 25% cát và 25% trấu hun, cho tỷ lệ cây sống là 60% sau 4 tuần ra ngôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Huy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn (2006). *Cây Thuốc và động vật làm thuốc Việt Nam*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

2. Đỗ Tất Lợi (2015). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. NXB Thời đại.

3. Nguyễn Hải Tuất, Nguyễn Trọng Bình (2005). *Khai thác và sử dụng SPSS để xử lý số liệu trong lâm nghiệp*. NXB Nông nghiệp.

4. Xu li, Wang Wei (2002). *Chinese material medica combination & applications*. Donica publishing Ltd, 2 Waddington Road, St. Albans, Herts AL35EX.

5. Zhi Long Liu, Guo Hua Jiang, Ligang Zhou, and Qi Zhi Liu (2013). *Analysis of the Essential Oil of Dipsacus japonicus Flowering Aerial Parts and its Insecticidal Activity against Sitophilus zeamais and Tribolium castaneum*. Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen, pp.13-18.

RESEARCH ON PROPAGATION OF *Dipsacus japonicus* BY TISSUE CULTURE

Khuat Thi Hai Ninh¹, Phan Thi Trang¹, Nguyen Thi Tho¹, Bui Van Thang¹, Vu Van Hieu²

¹Vietnam National University of Forestry

²Research Center for plant breeding Dao Duc - Ha Giang

SUMMARY

Research on the propagation of *Dipsacus japonicus* by tissue culture, belonging to Vietnam National University of Forestry, showed that in $HgCl_2$ 0.1% for 1 minute and have 5% for 20 minutes the portion of clean sprouted seeds is 70 - 83.3%, $HgCl_2$ 0.1% for 2 minutes the portion of clean sprouted expands is 22.2%. In the shoot regeneration most appropriate medium is Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 6-Benzylaminopurine (BAP) 0.4 mg/l; Thidiazuron (TDZ) 0.4 mg/l (the portion of shoot regeneration expands is 100% with 5.2 shots per explants, length of the shoot is 3.4 centimeter). Then improve shoot quality is MS medium supplemented with BAP 0.4 mg/l; Kinetin 0.2 mg/l; α -Naphthaleneacetic acid (NAA) 0.1 mg/l (with shoot height of 7.5 cm), The best medium for shoot rooting is MS with supplement 0.4 mg/l NAA (roots have appeared after 10 days, rate of rooted shoots is 100%, and roots having good quality). The plantlets are planted in mixes 50% of the soil with 25% sand and 25% of the husk at the nursery (with a survival rate of 60% after four weeks).

Keywords: *Dipsacus japonicus*, *in vitro*, multi-shoot, propagation.

Ngày nhận bài : 14/8/2018

Ngày phản biện : 15/1/2019

Ngày quyết định đăng : 20/3/2019