



NHÂN GIỐNG CÂY BẰNG LĂNG NHIỀU HOA (*LAGERSTROEMIA FLORIBUNDA* JACK) BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY MÔ

Nguyễn Văn Ấy¹, Lê Văn Hòa¹, Mai Văn Trâm¹ và Trần Duy Bình²

¹ Bộ môn Sinh Lý Sinh Hóa, Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

² Lớp CH. CN Sinh học K.19, Viện Nghiên cứu & Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 20/03/2014

Ngày chấp nhận: 28/04/2014

Title:

Propagation of *Lagerstroemia floribunda* Jack by the plant tissue culture technique

Từ khóa:

Cây bằng lăng, *Lagerstroemia floribunda* jack, BA, NAA, acclimatization

Keywords:

Lagerstroemia floribunda Jack, plant tissue culture, BA, NAA, acclimatization

ABSTRACT

Study on propagation of *Lagerstroemia floribunda* Jack by plant tissue culture technique was conducted in the laboratory of plant tissue culture and nethouse of Department of Plant Physiology and Biochemistry, College of Agriculture and Applied Biology, Cantho University, from May 2013 to February 2014. The results showed that: (i) MS medium supplemented with BA (0.5 mg/L) was effective for rapid proliferation of shoots in vitro (2.24 shoots after 40 days cultured); (ii) Solid MS medium with activated charcoal (2 g/L) gave highest rate of root induction in vitro (100% shoots after 40 days cultured); and (iii) Acclimatization of micropropagated plants planted in plastic pots containing rice husk ashes: coconut (fiber) dust (1:1), coconut (fiber) dust : rice husk ashes : rice husk (1:1:1) or coconut (fiber) dust : rice husk ashes : soil (1:1:1) showed the high survival rate and most seedlings grew very well.

TÓM TẮT

Nghiên cứu "Nhân giống cây bằng lăng nhiều hoa bằng kỹ thuật nuôi cấy mô" đã được tiến hành tại Phòng nuôi cấy mô của Bộ môn Sinh Lý - Sinh Hóa, Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ, từ tháng 05/2013 đến tháng 02/2014. Kết quả đã đạt được như sau: (i) - Môi trường MS bổ sung BA 0,5 mg/L là thích hợp nhất trong giai đoạn nhân chồi cây Bằng lăng nhiều hoa; (ii) Môi trường MS bổ sung than hoạt tính 2 g/l và NAA 4 mg/L cho kết quả tốt nhất về tỷ lệ ra rễ (100% sau 40 ngày nuôi cấy); (iii) Sử dụng giá thể phối trộn: mụn xơ dừa + tro trấu (1:1), mụn xơ dừa + tro trấu + phân rơm (1:1:1) hoặc mụn xơ dừa + tro trấu + đất (1:1:1) kết hợp trùm bọc nylon để thuận dưỡng cây Bằng lăng nhiều hoa, cây con có tỷ lệ sống cao, sinh trưởng và phát triển tốt.

1 MỞ ĐẦU

Nhu cầu sử dụng cây bằng lăng nhiều hoa (*Lagerstroemia floribunda* Jack) tạo vẻ mỹ quan cho đường phố và trang trí trong sân vườn ngày càng gia tăng bởi cây có đặc tính là có hoa đẹp, rễ cọc ăn sâu không làm ảnh hưởng mặt đường và có chiều cao trung bình nên rất thích hợp trồng để tạo

bóng mát. Hiện nay, cây được nhân giống bằng cách gieo hạt và chiết cành. Tuy nhiên, cả hai phương pháp này đều có những hạn chế như: tỉ lệ nảy mầm của hạt không cao hay không đủ số lượng cây để cung cấp cho nhu cầu thị trường.

Nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô đã được ứng dụng rộng rãi và mang lại hiệu quả cao

trên một số cây thân gỗ như cây lồng mức nhuộm (*Wrightia tinctoria*), cây gao rừng (*Banbax ceiba* L.), anh đào đôi (*Prunus cerasus*) (Ozzamabak *et al.*, 1997). Trong các phương pháp nuôi cấy mô thì phương pháp nhân giống bằng chồi bên là có tiềm năng phát triển mạnh nhất khi áp dụng với các loài thân gỗ. Vì vậy, nghiên cứu “Nhân giống cây bằng lạng nhiều hoa (*L. floribunda* Jack) bằng kỹ thuật nuôi cấy mô” được thực hiện nhằm tìm ra môi trường nhân giống *in vitro* thích hợp trong nhân giống cây này, đáp ứng nhu cầu về cây con giống cho thị trường hiện nay.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Phương tiện

2.1.1 Vật liệu thực vật

Chồi Bằng lạng nhiều hoa *in vitro* được nuôi cấy tại phòng nuôi cấy mô, bộ môn Sinh lý - Sinh hóa, Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.

2.1.2 Các hóa chất

- Các khoáng đa lượng gồm: NH_4NO_3 , KNO_3 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaCl_2$, KH_2PO_4 .
- Các khoáng vi lượng gồm: H_3PO_4 , $MnSO_4$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, KI.
- Các chất hữu cơ: agar, đường sucrose, nước dừa tươi,...
- Chất điều hoà sinh trưởng: Benzyl adenine (BA), Naphthalene acetic acid (NAA)

2.1.3 Địa điểm và thời gian thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành tại phòng thí nghiệm nuôi cấy mô (âm độ: 55%, nhiệt độ: $26 \pm 2^\circ C$, cường độ sáng 1.500 lux, chu kỳ quang 16 giờ/ngày) và nhà lưới (cường độ ánh sáng: 3.200-5.000 lux, ẩm độ trung bình: 62,5% và nhiệt độ $30 \pm 1^\circ C$) thuộc bộ môn Sinh lý - Sinh hóa, Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ từ 5/2013 đến 02/2014.

2.2 Phương pháp

Sử dụng môi trường nền là môi trường đa lượng và vi lượng theo Murashige & Skoog (MS, 1962), bổ sung sucrose (30 g/l), agar (8,1 g/l), nước dừa tươi (50 ml/l), nicotinic acid (1 mg/L), thiamine (1 mg/L), pyridoxine (1 mg/L). Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh ở pH 5,8, mỗi keo chứa 40 ml. Môi trường được thanh trùng ở nhiệt độ $121^\circ C$, áp suất 1 atm, trong thời gian là 20 phút.

2.2.1 Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của BA lên sự nhân chồi *in vitro* cây Bằng lạng nhiều hoa

Mẫu cấy: là các cụm chồi (3 chồi/cụm) cây Bằng lạng nhiều hoa *in vitro*, chiều cao tương đương nhau (1,5-2 cm). Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên 1 nhân tố, gồm 6 nghiệm thức với 5 lần lặp lại mỗi lần lặp lại là 1 keo, chứa 3 mẫu chồi. Các nghiệm thức được bố trí như sau:

- | | |
|---------------------|-------------------|
| 1. MS (đối chứng) | 4. MS + BA 2 mg/L |
| 2. MS + BA 0,5 mg/L | 5. MS + BA 3 mg/L |
| 3. MS + BA 1 mg/L | 6. MS + BA 5 mg/L |

2.2.2 Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của NAA lên sự tạo rễ *in vitro* cây Bằng lạng nhiều hoa

Mẫu cấy: chồi đơn cây Bằng lạng nhiều hoa *in vitro* cao 2-2,5 cm. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 nhân tố gồm 5 nghiệm thức, 5 lần lặp lại, 1 keo/lặp lại, 3 mẫu chồi/keo. Các nghiệm thức được bố trí như sau:

- | |
|---|
| 1. MS + than hoạt tính 2 g/L (đối chứng) |
| 2. MS + than hoạt tính 2 g/L + NAA 1 mg/L |
| 3. MS + than hoạt tính 2 g/L + NAA 2 mg/L |
| 4. MS + than hoạt tính 2 g/L + NAA 3 mg/L |
| 5. MS + than hoạt tính 2 g/L + NAA 4 mg/L |

2.2.3 Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của loại giá thể và điều kiện thuận dưỡng lên sự sinh trưởng của cây Bằng lạng nhiều hoa *in vitro* trong nhà lưới

Mẫu thí nghiệm là mẫu cây *in vitro* hoàn chỉnh được chọn ra từ nghiệm thức tốt nhất của thí nghiệm 2. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên hai nhân tố (trùm và không trùm nylon), với 10 nghiệm thức, 3 lần lặp lại, 15 cây/lặp lại.

Bảng 1: Các nghiệm thức của thí nghiệm 3

Loại giá thể	Trùm nylon	Không trùm nylon
Mụn xơ dừa	NT1	NT6
Tro trấu	NT2	NT7
Mụn xơ dừa + Tro trấu tỷ lệ (1:1)	NT3	NT8
Mụn xơ dừa + Tro trấu + Phân rơm tỷ lệ (1:1:1)	NT4	NT9
Mụn xơ dừa + Tro trấu + Đất tỷ lệ (1:1:1)	NT5	NT10

2.2.4 Các chỉ tiêu theo dõi

- Số chồi hữu hiệu (chiều cao chồi >1 cm)
- Số chồi vô hiệu (0,5 - 1 cm)
- Tỷ lệ phần trăm số chồi tạo rễ
- Số rễ/ chồi
- Số lá mới hình thành
- Tỷ lệ % cây sống

2.2.5 Xử lý số liệu

Các số liệu được phân thống kê bằng chương trình MSTATC, so sánh các trung bình nghiệm thức theo kiểm định DUNCAN ở mức ý nghĩa 1% hoặc 5%.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của BA lên sự nhân chồi in vitro cây bằng lăng nhiều hoa

3.1.1 Số chồi hữu hiệu

Bảng 2 cho thấy có sự ảnh hưởng của nồng độ

Bảng 2: Ảnh hưởng của BA lên sự phát sinh chồi hữu hiệu của cụm chồi Bằng lăng nhiều hoa in vitro theo thời gian (ngày nuôi cấy)

Nghiệm thức	Ngày sau khi cấy			
	10	20	30	40
Đối chứng (MS)	0,19 a	0,53 a	0,95 ab	1,71 ab
MS + BA 0,5 mg/L	0,19 a	0,72 a	1,28 a	2,24 a
MS + BA 1 mg/L	0,05 ab	0,52 a	0,86 b	1,83 b
MS + BA 2 mg/L	0,00 b	0,09 b	0,19 c	0,57 c
MS + BA 3 mg/L	0,00 b	0,05 b	0,05 c	0,38 c
MS + BA 5 mg/L	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c
F	**	**	**	**
CV (%)	7,67	10,53	9,91	13,77

Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan, ** khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%

Nghiệm thức MS + BA 0,5 mg/L là nghiệm thức có số chồi hữu hiệu nhiều nhất sau 30 và 40 ngày nuôi cấy (tương ứng là 1,28 chồi và 2,24 chồi) khác biệt có ý nghĩa thống kê 1% với các nghiệm thức còn lại, nhưng lại không khác biệt so với nghiệm thức đối chứng (tương ứng là 0,95 chồi và 1,71 chồi). Sự có mặt của BA ở nồng độ nhất định đã làm tăng quá trình tổng hợp các sinh chất trong tế bào và mô thực vật, dẫn đến tế bào phân chia nhanh hơn. Song vượt quá ngưỡng kích thích thì BA lại ức chế các quá trình trên. Điều này lý giải vào các thời điểm 20, 30 và 40 ngày sau khi cấy, ở nghiệm thức MS + BA 0,5 mg/L luôn có số chồi hữu hiệu. Bên cạnh đó, Bảng 3.2 cũng cho thấy nồng độ BA càng cao thì số chồi hữu hiệu

BA lên sự hình thành chồi hữu hiệu của cụm chồi Bằng lăng nhiều hoa in vitro trong thời gian nuôi cấy. Ở thời điểm 10 ngày nuôi cấy, nghiệm thức có số chồi hữu hiệu cao nhất là ở nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức MS + BA 0,5 mg/L (tương ứng là 0,19 và 0,19 chồi), khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% so với các nghiệm thức còn lại, trừ nghiệm thức MS + BA 1 mg/L là không khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nhìn chung, ở thời điểm này, do ảnh hưởng của BA, cụm chồi đang hình thành các chồi vô hiệu, khả năng tạo các chồi hữu hiệu là rất thấp.

Bảng 2 cũng cho thấy vào thời điểm 20 ngày nuôi cấy, giữa các nghiệm thức có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Nghiệm thức có số chồi lớn nhiều nhất là nghiệm thức MS + BA 0,5 mg/L (0,72 chồi), khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức đối chứng và MS + BA 1 mg/L, nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại.

cũng càng giảm. Tại các thời điểm 10, 20, 30, 40 ngày sau khi cấy thì nghiệm thức BA 5 mg/L cho kết quả thấp nhất trong việc tạo chồi hữu hiệu (0 chồi).

3.1.2 Số chồi vô hiệu

Trong quá trình thí nghiệm, tất cả các nghiệm thức đều có số chồi vô hiệu tăng dần theo thời gian. Ở giai đoạn 10 và 20 ngày sau khi cấy, nghiệm thức cho số chồi nhiều nhất là nghiệm thức BA 0,5 mg/L (0,38 và 1,57 chồi) khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với môi trường BA 1 mg/L và môi trường đối chứng, nhưng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại (Bảng 3).

Bảng 3: Ảnh hưởng của BA lên sự tạo chồi vô hiệu của cụm chồi Bằng lăng nhiều hoa in vitro theo thời gian (ngày nuôi cấy)

Nghiem thức	Ngày sau khi cấy			
	10	20	30	40
Đối chứng (MS)	0,28 ab	0,86 ab	1,29 ab	1,76 ab
MS + BA 0,5 mg/L	0,38 a	1,57 a	2,53 a	3,52 a
MS + BA 1 mg/L	0,28 ab	1,14 a	1,71 ab	2,57 ab
MS + BA 2 mg/L	0,05 bc	0,09 bc	0,29 b	0,76 b
MS + BA 3 mg/L	0,00 c	0,05 c	0,14 b	0,57 b
MS + BA 5 mg/L	0,00 c	0,00 c	0,09 b	0,14 b
F	**	**	**	**
CV (%)	10,13	16,87	24,46	25,36

Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan, ** khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%

Kết quả ghi nhận tại thời điểm 30 và 40 ngày nuôi cấy, môi trường có hiệu quả nhân chồi cao nhất là nghiệm thức BA 0,5 mg/L (2,53 và 3,52 chồi). Tuy nhiên, nghiệm thức này không khác biệt có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức BA 1 mg/L và đối chứng, đối với các nghiệm thức còn lại thì khác biệt có ý nghĩa thống kê 1%. Điều đó cho thấy môi trường không bổ sung BA vẫn có sự tạo chồi vô hiệu nhưng hiệu quả kém hơn môi trường có bổ sung BA 0,5 mg/L và BA 1 mg/L.

Trong cùng một thời điểm được ghi nhận ở 10, 20, 30 và 40 ngày nuôi cấy ở Bảng 3 cho thấy trong các nghiệm thức bổ sung BA thì có sự giảm dần số chồi vô hiệu khi nồng độ BA tăng dần. Nguyên nhân là do có sự hình thành các chồi nhỏ li ti, có chiều cao nhỏ hơn 0,5 cm mà theo Nguyễn Đức Lượng và Lê Thị Thủy Tiên (2002), nếu nồng độ cytokinin quá cao sẽ kích thích sự hình thành của nhiều chồi nhưng những chồi này không thể kéo dài. Ngoài ra, qua quá trình thí nghiệm cũng ghi nhận được cụm chồi có sức sống kém ở môi trường bổ sung BA với nồng độ cao nên khả năng tạo chồi thấp. Tóm lại, từ kết quả phân tích các chỉ tiêu cho thấy ở nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức MS bổ sung BA 0,5-1 mg/L đạt hiệu quả cao cho sự hình thành số chồi vô hiệu. Trong đó, nghiệm thức BA 0,5 mg/L cho kết quả tốt nhất.

3.2 Ảnh hưởng của NAA lên sự tạo rễ in vitro của cây bằng lăng nhiều hoa

3.2.1 Tỷ lệ (%) số chồi tạo rễ

Ảnh hưởng của nồng độ NAA lên tỷ lệ tạo rễ của chồi cây Bằng lăng nhiều hoa in vitro được thể hiện trong Bảng 4. Kết quả cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% vào thời điểm 40 ngày nuôi cấy. Nghiệm thức có tỷ lệ tạo rễ đạt cao nhất là các nghiệm thức MS + than hoạt

tính 2 g/l + NAA 2 mg/L, MS + than hoạt tính 2 g/l + NAA 3 mg/L và MS + than hoạt tính 2 g/l + NAA 4 mg/L (90,48%; 95,24% và 100%). Tuy nhiên, các nghiệm thức này lại không khác biệt có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức MS + than hoạt tính 2 g/l + NAA 1 mg/L. Nghiệm thức cho trung bình tỷ lệ tạo rễ thấp nhất là ở nghiệm thức không bổ sung NAA (57,14%).

Bảng 4: Ảnh hưởng của NAA và than hoạt tính đến tỷ lệ (%) số chồi tạo rễ của cây Bằng lăng nhiều hoa in vitro vào thời điểm 40 ngày nuôi cấy

Nghiem thức	40 ngày sau khi cấy
MS + than hoạt tính 2 g/l (Đối chứng)	57,1 b
MS + than hoạt tính 2 g/l + NAA 1 mg/L	80,9 ab
MS + than hoạt tính 2 g/l + NAA 2 mg/L	90,48 a
MS + than hoạt tính 2 g/l + NAA 3 mg/L	95,24 a
MS + than hoạt tính 2 g/l + NAA 4 mg/L	100 a
F	**
CV (%)	24,27

Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan, ** khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy môi trường MS có bổ sung NAA ở nồng độ 1-4 mg/L là thích hợp nhất cho sự tạo rễ của cây Bằng lăng nhiều hoa in vitro. Kết quả này cũng tương ứng với kết quả thí nghiệm của Đàm Sao Mai và ctv. (2009) trên cây Thông đỏ (Taxus wallichiana Zucc.) cho rằng khi bổ sung NAA ở nồng độ 4 mg/L vào môi trường nuôi cấy sẽ cho sự hình thành rễ tốt nhất, hay kết quả thí nghiệm của Nguyễn Văn Ấy và Lê Văn Hòa (2010) trên cây tre rồng cũng cho thấy bổ sung NAA ở nồng độ 3-5 mg/L là thích hợp nhất cho sự tạo rễ in vitro.

3.2.2 Số rễ và chiều dài rễ

Kết quả cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% giữa các nồng độ NAA về số

rễ và chiều dài của rễ. Tại thời điểm 40 ngày sau khi cấy, kết quả cho thấy số rễ và chiều dài rễ cũng tăng tương ứng khi nồng độ NAA tăng (Bảng 5).

Bảng 5: Ảnh hưởng của NAA và than hoạt tính đến số rễ và chiều dài rễ của cây Bàng lẵng nhiều hoa in vitro vào thời điểm 40 ngày nuôi cấy

Nghiệm thức	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)
MS + than hoạt tính 2 g/l (Đối chứng)	1,00 c	0,73 c
MS + than hoạt tính 2 g/l + NAA 1 mg/L	2,76 bc	2,04 bc
MS + than hoạt tính 2 g/l + NAA 2 mg/L	3,52 b	2,98 b
MS + than hoạt tính 2 g/l + NAA 3 mg/L	3,62 b	3,17 b
MS + than hoạt tính 2 g/l + NAA 4 mg/L	7,43 a	5,62 a
F	**	**
CV (%)	17,12	13,07

Trong cùng một cột, các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan, ** khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%

Ở Bảng 5 cho thấy nghiệm thức có số rễ cao nhất là nghiệm thức MS bổ sung NAA 4 mg/L (7,43 rễ) khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% với các nghiệm thức còn lại. Nghiệm thức có số rễ thấp nhất là nghiệm thức không bổ sung NAA (1 rễ), tuy nhiên nghiệm thức này khác biệt không có ý nghĩa với nghiệm thức MS + NAA 1 mg/L.

Kết quả nhận được ở thời điểm 40 ngày sau khi cấy cũng cho thấy, môi trường MS + than hoạt tính 2 g/l + NAA 4 mg/L là nghiệm thức cho chiều dài rễ dài nhất (5,62 cm), khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% so với các nghiệm thức còn lại. Nghiệm thức không bổ sung chất kích thích tố NAA cho hiệu quả thấp nhất (0,73 cm), tuy nhiên lại không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức bổ sung NAA 1 mg/L.

3.3 Ảnh hưởng của loại giá thể và điều kiện thuần dưỡng lên sự sinh trưởng của cây bàng lẵng nhiều hoa in vitro trong nhà lưới

3.3.1 Tỷ lệ (%) cây sống

Kết quả ở Bảng 6 cho thấy ảnh hưởng của loại giá thể và điều kiện ẩm độ đến tỷ lệ sống của cây Bàng lẵng nhiều hoa trong giai đoạn thuần dưỡng. Trong thời gian 1 tuần sau khi chuyển cây ra ngoài, tỷ lệ sống của các cây Bàng lẵng nhiều hoa đạt 100% ở nghiệm thức trùm bọc nylon, khác biệt ở

mức ý nghĩa 1% so với các nghiệm thức không trùm bọc nylon (71,11%). Tỷ lệ sống ở các nghiệm thức này điều giảm theo các thời gian khảo sát tiếp theo. Tuy nhiên tỷ lệ sống của các cây Bàng lẵng nhiều hoa in vitro vẫn đạt ở mức cao và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% vào các thời điểm 14, 21 và 28 ngày thuần dưỡng. Trong đó nghiệm thức trùm bọc nylon có tỷ lệ cây sống (92,89, 89 và 86,23%) cao hơn nghiệm thức không trùm bọc nylon (52,45, 48 và 44,45%).

Mặt khác, loại giá thể cũng ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của cây Bàng lẵng nhiều hoa, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% ở thời điểm 7 ngày và ở mức 1% vào các thời điểm 14, 21 và 28 ngày sau khi thuần dưỡng. Trong đó các nghiệm thức sử dụng giá thể phối trộn với nhau cho kết quả về tỷ lệ sống cao hơn ở các nghiệm thức sử dụng giá thể đơn (Bảng 6). Kết quả thống kê ở Bảng 6 cũng cho thấy có sự tương tác có ý nghĩa thống kê giữa loại giá thể và điều kiện ẩm độ đến tỷ lệ sống của các cây con Bàng lẵng nhiều hoa vào thời điểm 1 và 2 tuần sau khi thuần dưỡng ở mức 5% và 1%. Tuy nhiên vào thời điểm 21 và 28 ngày sau khi thuần dưỡng, lại không có sự tương tác có ý nghĩa thống kê giữa loại giá thể và điều kiện ẩm độ đến tỷ lệ sống của các cây con Bàng lẵng nhiều hoa.

Bảng 6: Ảnh hưởng của loại giá thể và điều kiện ẩm độ đến tỷ lệ sống (%) của cây bằng lăng nhiều hoa theo thời gian thuần dưỡng

Nghiệm thức		Thời gian (ngày sau khi thuần dưỡng)			
Điều kiện ẩm độ (B)	Loại giá thể (A)	7	14	21	38
Trùng nylon	MXD	100,00 a	100,00 a	86,68	82,23
	TT	100,00 a	86,67 ab	84,45	82,23
	MXD + TT (1:1)	100,00 a	97,78 a	97,78	95,56
	MXD + TT + PR (1:1:1)	100,00 a	84,44 abc	82,78	80,00
	MXD + TT + Đ (1:1:1)	100,00 a	95,56 a	93,33	91,12
Không trùng nylon	MXD	62,22 cd	31,11 f	24,45	17,78
	TT	53,34 d	40,00 ef	37,78	37,77
	MXD + TT (1:1)	75,56 bc	62,22 cde	55,56	51,12
	MXD + TT + PR (1:1:1)	80,00 b	57,78 de	51,11	44,45
	MXD + TT + Đ (1:1:1)	84,45 b	71,11 bcd	71,11	71,11
Trung bình (A)	MXD	81,11 bc	65,56 b	55,56 b	50,00 b
	TT	76,67 c	63,33 b	61,11 ab	60,00 ab
	MXD + TT (1:1)	87,78 ab	80 ab	76,67 ab	73,33 a
	MXD + TT + PR (1:1:1)	90,00 ab	71,11 ab	66,94 ab	62,22 ab
	MXD + TT + Đ (1:1:1)	92,22 a	83,33 a	82,22 a	81,11 a
Trung bình (B)	Trùng nylon	100,00 a	92,89 a	89,00 a	86,23 a
	Không trùng nylon	71,11 b	52,45 b	48,00 b	44,45 b
F _A	*	**	**	**	
F _B	**	**	**	**	
F _{AxB}	*	**	ns	ns	
CV (%)	9,22	13,10	17,71	20,15	

Các chữ cái theo sau các số trung bình giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; ns không khác biệt; * khác biệt có ý nghĩa 5%; ** khác biệt có ý nghĩa 1%; MXD: mụn xơ dừa; TT: tro trấu; PR: phân rơm; Đ: đất

3.3.2 Số rễ mới phát sinh

Kết quả ở Bảng 7 cho thấy có sự khác biệt ý nghĩa ở mức 5% giữa 2 điều kiện trùng bọc và không trùng bọc vào thời điểm 28 ngày sau khi thuần dưỡng, các cây ở điều kiện không trùng bọc có số rễ phát sinh trung bình là 2,77 rễ, cao hơn so với các cây ở điều kiện trùng bọc (1,79 rễ). Kết quả ở thí nghiệm này cho thấy điều kiện không trùng bọc có hiệu quả tốt hơn so với điều kiện trùng bọc. Điều này có thể là do ở điều kiện không trùng bọc cây con phải thích nghi nhanh với điều kiện tự nhiên, phát sinh rễ mới sớm và nhiều để tự cung cấp nước cho quá trình sinh trưởng. Vào thời điểm 28 ngày sau khi thuần dưỡng, cho thấy không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các loại giá thể về số rễ phát sinh của cây Bằng lăng nhiều hoa (Bảng 7). Như vậy, nhân tố giá thể không ảnh hưởng đến số rễ phát sinh của cây Bằng lăng nhiều hoa thuần dưỡng. Điều này chứng tỏ cây con Bằng lăng nhiều hoa có khả năng phát sinh rễ trên tất cả các loại giá thể.

Mặt khác, Bảng 7 cũng cho thấy sự tương tác giữa các nghiệm thức của điều kiện ẩm độ và loại giá thể, khác biệt ở mức ý nghĩa 1% vào thời điểm

28 ngày sau khi thuần dưỡng. Số rễ phát sinh cao nhất ở nghiệm thức mụn xơ dừa + tro trấu (1:1) kết hợp không trùng bọc (4,29 rễ), nghiệm thức có số rễ thấp nhất là nghiệm thức mụn xơ dừa + tro trấu (1:1) kết hợp trùng bọc (0,93 rễ). Tuy nhiên nghiệm thức mụn xơ dừa + tro trấu (1:1) kết hợp không trùng bọc lại không khác biệt với các nghiệm thức: mụn xơ dừa + tro trấu + đất (1:1:1) không trùng bọc (3,05 rễ), mụn xơ dừa không trùng bọc (3,28 rễ), mụn xơ dừa + tro trấu + phân rơm (1:1:1) kết hợp trùng bọc (2,78 rễ); và nghiệm thức mụn xơ dừa + tro trấu (1:1) kết hợp trùng bọc không khác biệt với các nghiệm thức còn lại.

Hiện tượng cây bị chết trong quá trình thuần dưỡng trong nhà lưới có thể là do điều kiện môi trường của thí nghiệm in vitro và in vivo hoàn toàn khác nhau. Trong môi trường in vitro cây sống trong môi trường ẩm độ cao. Do đó, cây không bị mất nước và cũng không có bất cứ vi sinh vật gây hại. Ngược lại trong điều kiện in vivo: ẩm độ thấp, cường độ ánh sáng cao làm cho cây dễ bị mất nước dẫn đến cây bị héo và chết. Thêm vào đó trong điều kiện in vitro, dinh dưỡng luôn được cung cấp đầy đủ và năng lượng, trong khi ở điều kiện in vivo

cây phải chuyển từ dị dưỡng sang tự dưỡng. Chính sự thay đổi này đã làm ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cây. Về mặt hình thái của cây, cây cấy mô chưa có sự phát triển hoàn chỉnh

với số khí khổng và độ mở khí khổng cao hơn so với cây trồng nhà lưới, cấu trúc của thân, lá và rễ chưa hoàn chỉnh.

Bảng 7: Ảnh hưởng của loại giá thể và điều kiện ẩm độ đến số rễ mới phát sinh của cây Bằng lăng nhiều hoa vào thời điểm 28 ngày sau khi thuần dưỡng

Loại giá thể (B)	Điều kiện ẩm độ (A)		Trung bình của giá thể (B)
	Trùng nylon	Không trùng nylon	
Mụn xơ dừa	1,79 b	3,28 ab	2,53
Tro trấu	1,80 b	1,66 b	1,73
Mụn xơ dừa + tro trấu (1:1)	0,93 b	4,29 a	2,61
Mụn xơ dừa + tro trấu + phân rơm (1:1:1)	2,78 ab	1,56 b	2,17
Mụn xơ dừa + tro trấu + đất (1:1:1)	1,66 b	3,05 ab	2.35
Trung bình của điều kiện ẩm độ (A)	1,79 b	2,77 a	
F _A			*
F _B			ns
F _{AxB}			**
CV (%)			41,97

Các chữ cái theo sau các số trung bình giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; ns: không khác biệt; *: khác biệt có ý nghĩa 5%; **: khác biệt có ý nghĩa 1%

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Qua kết quả thí nghiệm đã được trình bày và thảo luận ở trên, có thể rút ra những kết luận và đề xuất như sau:

4.1 Kết luận

– Môi trường MS bổ sung BA 0,5 mg/L là thích hợp nhất trong giai đoạn nhân chồi cây Bằng lăng nhiều hoa (2,24 chồi sau 40 ngày nuôi cấy).

– Môi trường MS bổ sung than hoạt tính 2 g/l và NAA 4 mg/L cho kết quả tốt nhất về tỷ lệ ra rễ (100%), số rễ/chồi (7,43 rễ), chiều dài rễ đạt (5,62 cm) sau 40 ngày nuôi cấy.

– Sử dụng giá thể phối trộn: mụn xơ dừa + tro trấu (1:1), mụn xơ dừa + tro trấu + phân rơm (1:1:1) hoặc mụn xơ dừa + tro trấu + đất (1:1:1) kết hợp trùng bọc nylon để thuần dưỡng cây bằng lăng nhiều hoa, cây con có tỷ lệ sống cao, cây con sinh trưởng và phát triển tốt và có thể trồng ở điều kiện tự nhiên.

4.2 Đề xuất

Tiếp tục nghiên cứu trồng cây bằng lăng nhiều hoa cấy mô trong điều kiện tự nhiên nhằm đánh giá khả năng sinh trưởng và phát triển của chúng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đàm Sao Mai, Nguyễn Thành Sum và Trần Khánh Viễn. 2009. Nhân giống in vitro cây thông đỏ (*Taxus wallichiana* Zucc.) loài cổ thực vật có giá trị dược liệu cao. Tuyển tập hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc khu vực phía Nam 2009. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. TP Hồ Chí Minh, trang 259-264.
- Murashige, T. & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15, 473-497.
- Nguyễn Đức Lượng và Lê Thị Thủy Tiên. 2002. Công nghệ tế bào. NXB Đại học Quốc Gia. TP. Hồ Chí Minh.
- Nguyễn Văn Ấy và Lê Văn Hòa. 2010. Nhân giống cây tre rỗng (*Dendrocalamus giganteus* Wallich ex Munro) bằng kỹ thuật nuôi cấy mô. Kỷ yếu Hội nghị Khoa học “Phát triển nông nghiệp bền vững thích ứng với sự biến đổi khí hậu”. NXB Nông Nghiệp, trang 298-306.
- Ozzambak E. and S. Hepaksoy. 1997. Investigations on in vitro proliferation of sour cherry cv.