

NGHIÊN CỨU GIẢI PHẪU LÁ CÂY HOA CÚC CẤY MÔ Ở GIAI ĐOẠN VƯỜN ƯƠM VÀ MỘT SỐ BIỆN PHÁP KỸ THUẬT NHÂN GIỐNG

Nguyễn Văn Đình¹, Nguyễn Thị Oanh¹,
Lê Thu Hằng¹, La Việt Hồng¹

TÓM TẮT

Cây hoa cúc (*Chrysanthemum* sp.) là một trong những loại hoa thương phẩm quan trọng trên thế giới. Trong nghiên cứu này, cây in vitro được huấn luyện ở vườn ươm có kiểm soát độ ẩm, ánh sáng thông qua màng che nilon và lưới cản quang, tỷ lệ sống đạt từ 83,16 đến 91,10%. Trong giai đoạn huấn luyện cây in vitro có một số đặc điểm giải phẫu lá thích ứng với môi trường tự nhiên như tăng độ dày của lá; tăng số lượng khí khổng; lông che chở và giảm kích thước khí khổng. Các chỉ tiêu chiều dài rễ, khối lượng tươi, khối lượng khô của cây hoa cúc tăng nhanh... Cây sinh trưởng phát triển rất tốt. Cây có nguồn gốc cấy mô 60 ngày tuổi được sử dụng làm cây mẹ. Cây mẹ được bấm ngọn và xử lý bằng phun dung dịch Atonik 5 ml/lít để phát sinh chồi bên đồng đều. Chồi bên được xử lý bằng dung dịch α -NAA 0,5 mg/lít hoặc chế phẩm kích thích ra rễ N3M 20 g/lít để tạo cây con hoàn chỉnh.

Từ khóa: Cây hoa Cúc, giải phẫu, nuôi cấy mô, giai đoạn ươm, nhân giống, cây mẹ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây hoa cúc (*Chrysanthemum* sp.) là một trong những loại hoa cắt cành và trồng chậu quan trọng trên thế giới (Teixeira da Silva, 2014). Nuôi cấy mô thực vật (vi nhân giống) cho phép sản xuất các cây giống chất lượng cao, không nhiễm bệnh và đồng đều mà không phụ thuộc vào thời tiết và mùa vụ. Đã có nhiều công bố ứng dụng công nghệ sinh học nói chung và kỹ thuật nuôi cấy mô nói riêng trên đối tượng cây hoa cúc (Teixeira da Silva, 2014; La Việt Hồng và cs., 2016). Tuy nhiên, hạn chế lớn trong quá trình áp dụng kỹ thuật này để sản xuất cây giống ở quy mô lớn là tỷ lệ chết của cây mô khi được chuyển ra điều kiện tự nhiên là rất cao. Theo Hazarika (2003), Lavanya *et al.* (2009), Deb và Imchen (2010), cây sống trong điều kiện *in vitro* có hình thái, giải phẫu và sinh lý hoàn toàn khác biệt so với cây sống ở ngoài tự nhiên, do vậy, hiệu quả của giai đoạn huấn luyện để cây *in vitro* thích nghi sẽ quyết định đến sự thành công của cả quy trình. Một hạn chế nữa của việc ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô là giá thành sản xuất cây giống còn cao, chính vì vậy để giảm giá thành sản xuất cây giống thì phương pháp giảm cành là một lựa.

Ba giống hoa cúc Đò Cờ, Thạch Bích và Chi Vàng thuộc nhóm hoa cúc dạng chùm, kích thước hoa nhỏ và có màu đẹp, được thị trường hoa ưa chuộng. Hiện nay, các giống này được nhân lên bằng phương pháp nhân giảm cành, nhưng do việc nhân giống đã diễn ra trong một thời gian dài nên chất lượng cây mẹ bị thoái hóa. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá một số đặc điểm giải phẫu lá của 3 giống hoa cúc (Đò Cờ, Thạch Bích, Chi Vàng), một số biện pháp nâng cao tỷ lệ sống, chất lượng cây *in vitro* ở

giai đoạn vườn ươm và hoàn thiện quy trình nhân giống hoa cúc bằng phương pháp giảm cành, đảm bảo việc cung cấp giống cho sản xuất với số lượng và chất lượng tốt.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Ba giống cúc sản xuất: Thạch Bích, Đò Cờ, Chi Vàng (*Chrysanthemum* sp.) dạng cúc chùm, được thu tại xã Đại Thịnh, huyện Mê Linh, thành phố Hà Nội. Mẫu sau đó được lưu giữ dưới dạng cây *in vitro* tại phòng thí nghiệm Sinh lý thực vật, Khoa Sinh - Kỹ thuật Nông nghiệp, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2 (ĐHSP Hà Nội 2).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần nhắc lại. Thí nghiệm được tiến hành trong vườn thực nghiệm sinh học của Khoa Sinh - Kỹ thuật Nông nghiệp, Trường, ĐHSP Hà Nội 2 từ tháng 8/2016 - 2/2017. Khu vực vườn ươm được che bằng 2 lớp lưới cản quang, có hệ thống tưới phun sương.

2.2.1. Tỷ lệ sống, một số chỉ tiêu sinh lý và đặc điểm giải phẫu lá của cây cúc cấy mô giai đoạn huấn luyện

- Thí nghiệm đánh giá tỷ lệ sống và một số chỉ tiêu sinh lý của cây cúc cấy mô giai đoạn huấn luyện

Các cây cúc cấy mô (chiều cao cây: 3 - 4 cm; số lá trên cây: 4 - 6; số rễ/cây: 6 - 8 rễ) của mỗi giống được dùng làm vật liệu thí nghiệm. Theo dõi tỷ lệ sống của mỗi giống được xác định cây sống sót sau 14 ngày. Xác định chỉ tiêu sinh lý: Khối lượng tươi - khô của cây (g), chiều dài rễ (cm) vào các thời điểm 0 ngày (bắt đầu đưa ra vườn ươm), 7 ngày và 14 ngày.

¹ Khoa Sinh - Kỹ thuật Nông nghiệp, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

- Đặc điểm giải phẫu lá cây cúc cấy mô giai đoạn huấn luyện

Đặc điểm giải phẫu của lá gồm: Độ dày lá (μm), mật độ lỗ khí của biểu bì mặt dưới (số lỗ khí/ mm^2), kích thước lỗ khí-chiều rộng (μm), lông che chở (số lông/ mm^2) dưới kính hiển vi soi nổi Optika (Italia) sau 0 và 14 ngày.

2.2.2. Hoàn thiện quy trình nhân giống cúc bằng phương pháp giâm chồi

- Nghiên cứu ảnh hưởng của chế phẩm Atonik 1.8 DD đến quá trình phát sinh chồi bên của cây cúc

Cây cấy mô của 3 giống sau 60 ngày tuổi ngoài vườn ươm (chiều cao cây 20 - 30 cm được bấm ngọn làm vật liệu thí nghiệm, gồm 3 công thức (CT) thí nghiệm: CT 1 đối chứng là cây không xử lý, CT 2 và CT 3 được xử lý bằng Atonik 1.8 DD (công ty ADC, Cần Thơ) nồng độ lần lượt 3 ml/lít và 5 ml/lít. Theo dõi các chỉ tiêu: Khối lượng chồi (g); số chồi/cây sau 20 ngày xử lý.

- Nghiên cứu ảnh hưởng của α -NAA và chế phẩm N3M đến quá trình ra rễ của chồi cúc

CT 1: Đối chứng là chồi không xử lý bằng hóa chất, CT 2: Chồi được xử lý bằng dung dịch α -NAA (Dulchefa, Hà Lan) 0,5 mg/lít, CT 3: Chế phẩm phân bón lá kích thích ra rễ cực mạnh N3M (Công ty TNHH MTV Sinh hóa nông Phú Lâm) nồng độ 20 g/lít trong 3 phút.

Chồi bên phát sinh từ cây mô được cắt rời có

chiều cao 5 - 6 cm và số lá 3 - 4, nồng độ xử lý theo các công thức thí nghiệm, sau đó giâm lên luống đất với mật độ 1.000 chồi/ m^2 . Đánh giá các chỉ tiêu: Khả năng ra rễ của chồi bên, tỷ lệ sống của chồi giâm thành cây hoàn chỉnh sau 10 ngày.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng chương trình Excel 2010 theo mô tả của Nguyễn Văn Mã (2013) theo các tham số thống kê giá trị trung bình, độ lệch chuẩn. Ảnh hưởng của nhân tố thí nghiệm được thực hiện bằng phân tích ANOVA 1 chiều, kiểm tra sự sai khác bằng $\text{LSD}_{0,05}$, giá trị thể hiện trong bảng số liệu là giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn. Các chữ cái theo sau trong cùng cột thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $\alpha = 0,05$.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Một số chỉ tiêu sinh trưởng và đặc điểm giải phẫu lá của cây cúc cấy mô giai đoạn huấn luyện

3.1.1. Tỷ lệ sống của cây cúc cấy mô giai đoạn huấn luyện

Trong nghiên cứu này, cây *in vitro* của mỗi giống được huấn luyện ở vườn ươm, sau 14 ngày, tỷ lệ sống của các giống Đồ Cờ, Thạch Bích, Chi Vàng lần lượt đạt: 87,12; 91,10 và 83,16 (%) (Bảng 1). Kết quả này cho thấy, tỷ lệ sống của các giống cúc đều cao, đạt từ 83,16 (%) trở lên. Trong 3 giống nghiên cứu thì giống Thạch Bích có tỷ lệ sống cao nhất.

Bảng 1. Một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây cúc cấy mô giai đoạn huấn luyện

Chỉ tiêu	Đồ Cờ			Thạch Bích			Chi Vàng		
	Thời điểm đo			Thời điểm đo			Thời điểm đo		
	0 ngày	7 ngày	14 ngày	0 ngày	7 ngày	14 ngày	0 ngày	7 ngày	14 ngày
Tỷ lệ sống	-	-	87,12 \pm 0,76	-	-	91,10 \pm 0,84	-	-	83,16 \pm 0,56
Chiều dài rễ (cm)	0,7 \pm 0,10 ^a	7,0 \pm 0,45 ^b	7,8 \pm 1,47 ^c	0,6 \pm 0,1 ^a	5,4 \pm 0,6 ^b	7,9 \pm 1,4 ^c	0,8 \pm 0,1 ^a	4,3 \pm 1,2 ^b	5,9 \pm 1,2 ^c
Khối lượng tươi (g)	0,32 \pm 0,05 ^a	0,67 \pm \pm 0,17 ^b	0,84 \pm 0,11 ^c	0,159 \pm 0,02 ^a	0,339 \pm 0,04 ^b	0,848 \pm 0,04 ^c	0,198 \pm 0,04 ^a	0,342 \pm 0,10 ^b	0,468 \pm 0,04 ^c
Khối lượng khô (g)	0,018 \pm 0,003 ^a	0,057 \pm 0,010 ^b	0,070 \pm 0,017 ^c	0,010 \pm 0,002 ^a	0,026 \pm 0,004 ^b	0,062 \pm 0,003 ^c	0,010 \pm 0,001 ^a	0,022 \pm 0,006 ^b	0,038 \pm 0,002 ^c

Ghi chú: Bảng 1, 3, 4: Trong cùng một hàng, chữ cái theo sau khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $\alpha=0,05$. Kí hiệu (-): Không thống kê.

3.1.2. Đánh giá một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây cúc cấy mô giai đoạn huấn luyện

* Chiều dài rễ (cm):

Kết quả đánh giá chiều dài của rễ giai đoạn vườn

ươm của các giống cúc đã được thể hiện ở bảng 1 cho thấy: Chiều dài rễ các giống đều tăng từ 0 đến 14 ngày ở vườn ươm, giữa các khoảng khảo sát sự tăng chiều dài ở 3 giống đều khác nhau có ý nghĩa. Giống

Đỏ Cờ giai đoạn từ 0 đến 7 ngày chiều dài rễ tăng nhanh (từ 0,7 đến 7,0 cm), sang giai đoạn từ 7 đến 14 ngày, chiều dài rễ tăng chậm (từ 7,0 đến 7,8 cm). Giống Chi Vàng, sự gia tăng chiều dài rễ cũng tương tự như giống Đỏ Cờ. Giống Thạch Bích bộ rễ phát triển đều qua các giai đoạn khảo sát và đạt kích thước 7,9 cm sau 14 ngày.

* Khối lượng tươi, khối lượng khô:

Tiếp tục đánh giá khả năng sinh trưởng của các giống cúc giai đoạn vườn ươm thông qua chỉ tiêu khối lượng tươi, khô của toàn bộ cây được thể hiện ở bảng 1. Phân tích bảng 1 cho thấy cả 3 giống cúc đều tăng trưởng tốt trong giai đoạn vườn ươm, sự gia tăng khối lượng tươi, khô của cây qua các giai đoạn khảo sát đều có ý nghĩa. Cụ thể: Đối với giống Đỏ Cờ từ khi đưa ra vườn ươm khối lượng tươi tăng từ 0,321 lên 0,845 g/cây; khối lượng khô tăng từ 0,018 lên 0,07 g/cây. Đối với giống Thạch Bích từ khi đưa ra vườn ươm khối lượng tươi tăng từ 0,159 lên 0,848 g/cây; khối lượng khô tăng từ 0,010 lên 0,062 g/cây. Đối với giống Chi Vàng từ khi đưa ra vườn

ươm khối lượng tươi tăng từ 0,198 lên 0,468 g/cây; khối lượng khô tăng từ 0,010 lên 0,038 g/cây. Trong 3 giống cúc nghiên cứu thì giống Thạch Bích có khả năng sinh trưởng tốt nhất.

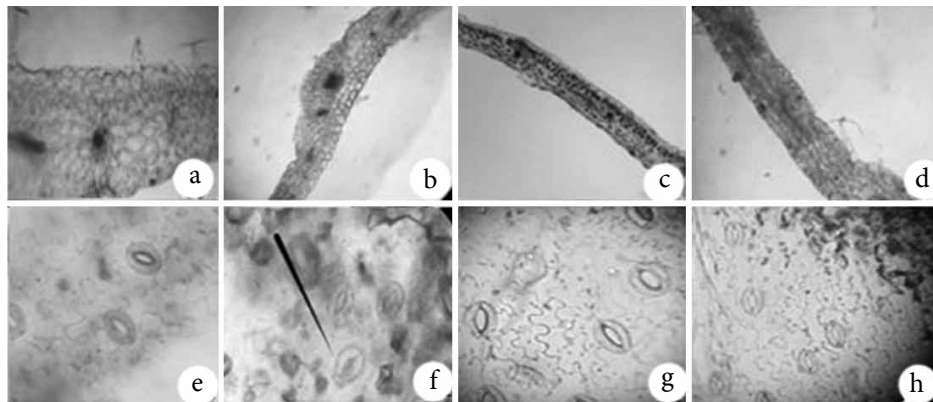
3.1.3. Một số đặc điểm giải phẫu lá của các giống cúc giai đoạn vườn ươm

Kết quả giải phẫu lá của 3 giống cúc cây mô được thể hiện ở bảng 2 và hình 2.

Phân tích kết quả cho thấy giải phẫu lá tăng số lượng khí khổng; lông mặt lá và giảm kích thước khí khổng (Hình 2). Trong 3 giống nghiên cứu thì giống Thạch Bích có khả năng thích ứng tốt nhất. Cụ thể: Độ dày của lá tăng từ 108,11% (Chi Vàng) đến 135,04% (Thạch Bích) so với giai đoạn 0 ngày. Mật độ khí khổng tăng từ 103,76% (Đỏ Cờ) đến 148,42% (Thạch Bích) so với giai đoạn 0 ngày. Lông che chở của lá tăng từ 103,37% (Đỏ Cờ) đến 120,82% (Thạch Bích) so với giai đoạn 0 ngày. Kích thước khí khổng của lá giảm từ 90,14% đến 92,21% so với giai đoạn 0 ngày.

Bảng 2. Đặc điểm giải phẫu lá một số giống hoa cúc trong giai đoạn vườn ươm

Chỉ tiêu	Thạch bích			Chi vàng			Đỏ cờ		
	Thời điểm đo			Thời điểm đo			Thời điểm đo		
	0 Ngày	14 ngày	Tăng (%)	0 Ngày	14 ngày	Tăng (%)	0 Ngày	14 ngày	Tăng (%)
Độ dày lá (µm)	101,23 ± 0,34	136,71 ± 1,22	135,04	109,54 ± 1,34	118,42 ± 2,11	108,11	112,66 ± 0,23	145,22 ± 0,54	128,90
Mật độ lỗ khí (số lỗ khí/mm ²)	68,08 ± 1,27	98,08 ± 1,90	148,42	67,17 ± 1,76	81,15 ± 1,90	120,81	73,37 ± 3,42	76,13 ± 1,60	103,76
Kích thước lỗ khí (µm)	15,40 ± 1,87	14,20 ± 2,54	92,21	14,05 ± 4,12	12,67 ± 1,38	90,17	16,57 ± 2,54	15,27 ± 1,14	92,15
Lông che chở (số lông/mm ²)	27,03 ± 0,15	32,66 ± 1,18	120,82	26,66 ± 1,52	27,58 ± 1,27	103,37	25,35 ± 0,43	28,13 ± 0,43	110,96



Hình 2. Hình ảnh giải phẫu lá một số giống cúc *in vitro* giai đoạn vườn ươm
 a, b: Giải phẫu mô lá Thạch bích 1 - 14 ngày; c, d: Giải phẫu mô Đỏ cờ 1 - 14 ngày;
 e, f: Lỗ khí Thạch bích 1 - 14 ngày; g, h: Lỗ khí Đỏ cờ 1 - 14 ngày

Theo Pospíšilová *et al.* (1999), trong suốt giai đoạn huấn luyện lá dày lên, các tế bào mô mềm của lá biệt hoá thành mô giậu và mô khuyết, mật độ lỗ khí giảm và lỗ khí chuyển từ hình tròn thành hình elip. Sự phát triển của lớp cutin, lớp sáp và sự điều hoà hiệu quả hoạt động của lỗ khí dẫn tới sự ổn định của thể năng nước ở cây con.

3.2. Biện pháp kỹ thuật nhân giống bằng phương pháp giâm chồi

3.2.1. Ảnh hưởng của chế phẩm Atonik 1,8DD đến quá trình phát sinh chồi bên

Kết quả xác định số chồi và khối lượng chồi tái sinh sau mỗi lần bấm ngọn được thể hiện ở bảng 3 đã cho thấy: Phun Atonik đã làm tăng số lượng chồi và khối lượng chồi so với đối chứng, đặc biệt công thức phun chế phẩm Atonik 5 ml/lít. Cụ thể số chồi/cây ở cả 3 giống Đò Cờ, Thạch Bích, Chi Vàng lần lượt đạt 2,73; 3,03 và 3,10 trong khi đó ở CT đối chứng của 3 giống chỉ đạt tương ứng 1,57; 1,60 và 1,57. Về khối lượng chồi ở cả 3 giống khi được xử lý bằng chế phẩm đều tăng hơn so với đối chứng, tuy nhiên, giữa các công thức được xử lý bằng chế phẩm (CT 2 và CT 3) không thể hiện sự khác biệt.

Bảng 3. Khả năng sinh trưởng của chồi cút *in vitro* giai đoạn vườn cây mẹ

Giống	Công thức	Số chồi/cây	Khối lượng chồi (g)
Đò Cờ	Đối chứng	1,57 ± 0,68 ^a	0,683 ^a ± 0,01
	Atonik (3 ml/lít)	1,87 ± 0,68 ^a	0,851 ^b ± 0,02
	Atonik (5 ml/lít)	2,73 ± 0,87 ^b	0,816 ^b ± 0,01
Thạch Bích	Đối chứng	1,60 ± 0,72 ^a	0,651 ^a ± 0,02
	Atonik (3 ml/lít)	1,93 ± 0,69 ^{ab}	0,822 ^b ± 0,03
	Atonik (5 ml/lít)	3,03 ± 0,67 ^b	0,939 ^b ± 0,01
Chi Vàng	Đối chứng	1,57 ± 0,37 ^a	0,720 ^a ± 0,03
	Atonik (3 ml/lít)	2,00 ± 0,70 ^{ab}	0,876 ^b ± 0,01
	Atonik (5 ml/lít)	3,10 ± 0,80 ^b	0,992 ^b ± 0,02

3.2.2. Ảnh hưởng của N3M và α-NAA đến khả năng ra rễ của chồi bên

Kết quả xác định tỷ lệ chồi ra rễ và số lượng rễ/chồi sau 10 ngày giâm được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Khả năng ra rễ của chồi cút giai đoạn vườn giâm

Giống	Công thức	Số rễ/chồi (rễ)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Hình thái và chất lượng rễ
Đò Cờ	Đối chứng	6,69 ^a	75	Rễ yếu và mảnh, xuất hiện không đều xung quanh mặt cắt của chồi
	α-NAA (0,5 mg/lít)	26,83 ^c	100	Rễ mập và khỏe, rễ xuất hiện đều xung quanh mặt cắt của chồi
	N3M (20 g/lít)	16,83 ^b	100	
Thạch Bích	Đối chứng	8,70 ^a	70	Rễ yếu và mảnh, xuất hiện không đều xung quanh mặt cắt của chồi
	α-NAA (0,5 mg/lít)	25,93 ^b	100	Rễ mập và khỏe, rễ xuất hiện đều xung quanh mặt cắt của chồi
	N3M (20 g/lít)	28,70 ^c	100	
Chi Vàng	Đối chứng	11,27 ^a	72	Rễ yếu và mảnh, xuất hiện không đều xung quanh mặt cắt của chồi
	α-NAA (0,5 mg/lít)	22,93 ^b	100	Rễ mập và khỏe, rễ xuất hiện đều xung quanh mặt cắt của chồi
	N3M (20 g/lít)	26,03 ^c	100	

Đối với cây cút việc giâm chồi để kích thích ra rễ tạo cây con hoàn chỉnh khá dễ dàng, ngay ở công thức đối chứng thì tỷ lệ chồi ra rễ cũng đạt

từ 70 - 75%, số rễ đạt đạt từ 6,69 - 11,27 rễ/chồi. Tuy nhiên, khi xử lý chồi bằng các dung dịch NAA và chế phẩm kích thích ra rễ thì số chồi ra

rễ đều đạt 100%, đặc biệt số rễ/chồi, bộ rễ mập và khỏe, rễ xuất hiện đều xung quanh mắt cắt của chồi hơn so với đối chứng.

IV. KẾT LUẬN

4.1. Kết luận

- Dùng kỹ thuật che nylon và lưới chắn cản quang (che bằng 2 lớp, nylon che quanh luống để đảm bảo độ ẩm 80 - 90%) để huấn luyện cây cúc *in vitro*, cho tỷ lệ sống cao từ 83,16 - 91,1%. Cây con sinh trưởng tốt, thích ứng với điều kiện trồng tự nhiên sau 20 ngày. Cây cấy mô 60 ngày tuổi đạt tiêu chuẩn xuất vườn được dùng làm cây mẹ để nhân giống bằng kỹ thuật bấm ngọn, giảm chồi.

- Khi đưa các cây cúc *in vitro* ra vườn ươm đều có những đặc điểm giải phẫu lá thích ứng với môi trường tự nhiên có những biến đổi về thời tiết như: tăng độ dày của lá (tăng 108,11 - 135%); tăng số lượng khí khổng (103,76 - 148,42%); tăng số lông che chở (103,37 - 120,82%) và giảm kích thước khí khổng (90,14 - 92,21%).

- Với kỹ thuật bấm ngọn, dùng Atonik 5 ml/lít phun lên cây mẹ đã làm tăng số chồi/cây; các chồi đạt chiều cao 5 - 6 cm và có số lá 3 - 4 được cắt và nhúng vào dung dịch α -NAA (đối với giống Đồ Cờ và Thạch Bích) hoặc chế phẩm N3M (với giống Chi Vàng) trong 3 phút để tạo cây con hoàn chỉnh, số rễ/chồi đạt lần lượt 26,83; 25,93 và 26,03.

4.2. Kiến nghị

Người sản xuất có thể áp dụng kỹ thuật nhân

giống cây hoa cúc bằng phương pháp nuôi cấy và bấm ngọn để có nguồn giống tốt, giá thành hợp lý phục vụ sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Văn Mã, La Việt Hồng, Ong Xuân Phong, 2013. *Phương pháp nghiên cứu sinh lý học thực vật*. NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.
- La Việt Hồng, Hoàng Thị Thanh, Nguyễn Thị Chung Anh, Phạm Thị Nhi, 2016. "Xây dựng quy trình sản xuất cây giống hoa cúc tại Mê Linh-Hà Nội bằng kỹ thuật nuôi cấy mô". *Báo cáo Hội nghị Khoa học về Nghiên cứu và Giảng dạy sinh học ở Việt Nam*. 1014-1021. Nhà xuất bản ĐH Quốc gia Hà Nội.
- Deb C.R, Imchen T, 2010. "An efficient *in vitro* hardening of tissue culture raised plants". *Biotechnology*. 9:79-83.
- Hazarika B.N, 2003. "Acclimatization of tissue-cultured plants". *Curr Sci*. 85:1704-1712.
- Lavanya M, Venkateshwarlu B, Devi B.P, 2009. "Acclimatization of neem microshoots adaptable to semi-sterile conditions". *Indian J Biotechnol*. 8:218-222.
- Pospíšilová J, Ticha I, Kadlecěk P, et al, 1999. "Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions". *Biol Plant*. 42:481-497.
- Teixeira da Silva JA, 2014. "Organogenesis from chrysanthemum (*Dendranthema x grandiflora* (Ramat.) Kitamura) petals (disc and ray florets) induced by plant growth regulators". *Asia-Pacific J. Mol. Biol. Biotechnol*. 22(1):145-151.

Leaf anatomy of *in vitro* Chrysanthemum in nursery stage and technical measures for propagation

Nguyen Van Dinh, Nguyen Thi Oanh,
Le Thu Hang, La Viet Hong

Abstract

Chrysanthemum is one of the most important commercial flowers in the world. In This study, *in vitro* plantlets of *Chrysanthemum* were hardened in a green house with controlled light intensity and relative humidity by using black sunshade and transparent polyethylene layers. Survival rate reached from 83.16 to 91.10 %. In hardening stage, leaf anatomical characteristics of plants (such as increase in leaf thickness, stomata density of lower leaf and protective filaments of leaf upper surface, decrease in stomatal size) were adapted to natural environment. Plants derived from *in vitro* propagation showed great growth and high increase in some physiological parameters including regeneration of root length, fresh and dry mass of plants. 60 old days tissue cultured plants after nursery were used as mother ones. The spraying concentration of Atonik preparation was 5 ml/l which was favourable for forming terminal shoots of stock mother plant. Both Naphthaleneacetic acid NAA (0.5 mg/l) and N3M (20 g/l) preparation were suitable for rooting of terminal shoots.

Key words: *Chrysanthemum*, anatomy, tissue culture, nursery stage, propagation, stock mother plant

Ngày nhận bài: 14/3/2017

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Kim Lý

Ngày phản biện: 20/3/2017

Ngày duyệt đăng: 24/3/2017

MÔ TẢ, ĐỊNH DANH VÀ DƯỢC TÍNH CỦA NGUỒN GEN SÂM NÚI DÀNH PHÂN BỐ TRÊN ĐỊA BÀN TỈNH BẮC GIANG

Đồng Thị Kim Cúc¹, Lê Thanh Nhuận¹, Nguyễn Thị Hoàng Anh²,
Phan Thanh Phương¹, Phạm Thị Mai¹, Nguyễn Văn Quang¹,
Nguyễn Văn Anh¹, Đinh Thế Anh¹, Phạm Thị Lý Thu¹

TÓM TẮT

Sâm Núi Dành là một trong những loại dược liệu quý của tỉnh Bắc Giang hiện đang bị khai thác quá mức và chưa được quan tâm nghiên cứu một cách đầy đủ. Trong nghiên cứu này nguồn gen Sâm Núi Dành đã được mô tả, định danh với tên khoa học là *Callerya speciosa* thuộc ngành Ngọc lan (Magnoliphita), lớp Ngọc lan (Magnoliopsita), phân lớp Hoa hồng (Rosidae), bộ Đậu (Fabaceae), họ Đậu (Fabaceae), phân họ Đậu (Faboideae). Bước đầu đã xác định được sự có mặt của các hoạt chất saponin, flavonoid, acid hữu cơ, acid amin và saccharid trong các mẫu Sâm có độ tuổi từ 2 - 5 năm. Hàm lượng saponin, flavonoid và saccharid tổng số trong mẫu sâm trên 5 năm tuổi cao hơn nhiều trong mẫu sâm 3 - 4 năm tuổi. Điều này cho thấy các hoạt chất chính có dược tính cao sẽ được tích tụ và phát triển theo độ tuổi cây sâm, kết hợp với điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng và nuôi trồng phù hợp.

Từ khóa: Danh pháp khoa học, dược tính Sâm Núi Dành, saponin

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, trong tổng số 3.948 loài cây thuốc có khoảng 87,1% là các loài mọc tự nhiên, tập trung chủ yếu ở các quần xã rừng, số còn lại là các cây thuốc trồng. Mỗi năm ngành Y dược tiêu thụ 30-50 tấn dược liệu các loại phục vụ chữa bệnh hoặc làm nguyên liệu cho công nghiệp dược và xuất khẩu. Trong số đó, trên 2/3 lượng dược liệu được khai thác từ nguồn cây thuốc mọc tự nhiên hoặc trồng trong nước, vì thế nhu cầu cây thuốc trong nước là rất lớn. Năm 2016, Viện dược liệu đã công bố tổng số 5117 loài cây thuốc đã phát hiện.

Từ xa xưa các loại cây, củ sâm đã được sử dụng như là phương thuốc quý, bổ dưỡng và điều trị được nhiều loại bệnh. Tuy nhiên, thực tế hiện nay cho thấy nguồn gen Sâm của Việt Nam đang bị khai thác quá mức và cạn kiệt. Nguyên nhân dẫn đến sự cạn kiệt các nguồn gen quý này là do cây Sâm rất khó nhân giống, hạt không nảy mầm trong điều kiện tự nhiên, nhân giống vô tính cũng không đơn giản. Việc bảo tồn các loài sâm quý này đang ở mức báo động, cần sự chung tay góp sức của các cấp, ngành và người dân địa phương.

Sâm Núi Dành là một trong những loại dược liệu quý của tỉnh Bắc Giang, cho tới nay chưa có một nghiên cứu khoa học đầy đủ nào về đối tượng thực vật này. Vì vậy, việc nghiên cứu, định danh và dược tính của cây Sâm Núi Dành phục vụ công tác bảo tồn và nhân giống nguồn dược liệu là hết sức cần thiết.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Vật liệu là các mẫu sâm thu thập từ vùng Núi Dành, huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang có độ tuổi khác nhau: Mẫu M2 (củ dưới 2 năm tuổi); mẫu M3 (củ 3-4 năm tuổi); mẫu M5 (củ > 5 năm tuổi).

- Hóa chất, thuốc thử: Ethanol, diclometan, methanol, acid acetic, ethyl acetat, n-hexan, nước cất, amoniac, acid sulfuric đặc, acid chlohydric, natri hydroxid, thuốc thử Dragendroff, thuốc thử ninhydrin, dung dịch NaOH 10%, dung dịch FeCl₃ 5%, bột Na₂CO₃, bột Mg (Merck, Đức).

- Thiết bị, dụng cụ nghiên cứu: Bàn mỏng silicagel tráng sẵn DC-Alufolien 60 F254; Bình định mức, pipet, ống nghiệm, ống đong các loại, bình sắc kí; Cân điện tử (Precisa XT 220A), Tủ sấy, máy cắt quay (Buchi Rotavapor), bình gạn 250 ml, máy soi UV.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp điều tra, phân loại thực vật

Kế thừa các kết quả nghiên cứu có liên quan ở trong và ngoài nước, nhất là các kết quả nghiên cứu trên địa bàn, đặc biệt là các kết quả nghiên cứu thực hiện tại các xã vùng núi và trung du của tỉnh Bắc Giang.

Thực hiện phương pháp điều tra theo tuyến được lựa chọn để thực hiện. Các tuyến điều tra được thực hiện có chiều rộng 10 m, độ dài hầu hết trên 1 km, qua nhiều kiểu địa hình và kiểu thảm thực vật khác nhau (quanh làng bản, ven suối, rừng tái sinh, rừng ẩm thường xanh trên núi đất, rừng ẩm thường xanh trên núi, rừng tre nứa ...).

¹ Viện Di truyền Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

² Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam