

# NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY HOA ĐÀO CHUÔNG (*Enkianthus quinqueflorus*) TẠI KHU BẢO TỒN THIÊN NHIÊN BÀ NÀ - NÚI CHỨA

Nguyễn Thị Thu Hương\*, Nguyễn Thị Ly Na, Nguyễn Dương Thúy Hà, Đặng Ngọc Minh

Trung tâm Công nghệ sinh học Đà Nẵng

## TÓM TẮT

Cây hoa Đào chuông (*Enkianthus quinqueflorus*) là một loài đặc hữu, quý hiếm và có giá trị kinh tế rất lớn. Để cung cấp cơ sở khoa học và thực tiễn nhằm bảo tồn, gìn giữ nguồn gen cây hoa Đào chuông cần phải tiến hành nhiều nghiên cứu về nhân giống. Trong bài báo này chúng tôi trình bày kết quả nhân giống *in vitro* cây hoa Đào chuông. Kết quả cho thấy vật liệu nuôi cấy phù hợp là chồi non có mắt ngủ của cây. Mẫu được khử trùng bằng  $HgCl_2$  0,1% trong 15 phút, sau đó được cấy lên môi trường MS có bổ sung 8,0 g/L agar, 30 g/L đường cho tỷ lệ sống đạt cao nhất là 51,11%. Môi trường nhân nhanh tốt nhất cho chồi Đào chuông *in vitro* là môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/L BAP với hệ số nhân chồi thu được là  $6,87 \pm 0,12$  chồi/mẫu, chiều cao chồi đạt  $5,59 \pm 0,02$  cm. Môi trường thích hợp nhất để hình thành rễ là môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/L NAA với tỷ lệ mẫu tạo rễ đạt 85,56% và số rễ thu được  $5,27 \pm 0,12$  rễ/mẫu và cây sinh trưởng tốt.

Từ khóa: *Enkianthus quiaqueflorus*, hệ số nhân chồi, nhân giống *in vitro*, sinh trưởng, tạo rễ.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây hoa Đào chuông (*Enkianthus quiaqueflorus*) là một loài thực vật thuộc họ Đỗ quyên (Ericaceae), được Loureiro (1717-1791) mô tả khoa học đầu tiên năm 1790. Nhiều loài thuộc họ Đỗ quyên trên thế giới có giá trị nhờ được trồng làm cây cảnh, ra hoa đẹp vào mùa xuân, được thu hoạch và trưng bày trong dịp Tết Nguyên Đán tại Trung Quốc (Metcalf, 1942), một số loài còn có tác dụng chữa bệnh (Phạm Hoàng Hộ, 1999). Ở Việt Nam, Đào chuông được xếp vào mức độ đe dọa bậc R trong Sách đỏ Việt Nam (Sinh vật rừng Việt Nam, 2023), tuy nhiên đến nay chưa có bất kỳ nghiên cứu cụ thể về nhân giống trên loài này. Tại Khu bảo tồn thiên nhiên (BTTN) Bà Nà - Núi Chúa, cây hoa Đào chuông là một trong số loài cây đặc biệt quý hiếm, nở hoa tự nhiên vào mùa xuân, kích thước hoa, số lượng chùm hoa nhiều hơn so với các khu vực khác, màu sắc hoa đẹp, thu hút lượng khách du lịch rất nhiều từ trong và ngoài nước, trở thành biểu tượng cho khu du lịch Bà Nà Hill nói riêng và cả ngành du lịch thành phố Đà Nẵng nói chung. Với các giá trị khoa học lớn, Đào chuông đã được thành phố Đà Nẵng đưa vào một trong số nguồn gen cần được bảo tồn thuộc Đề án Khung nhiệm vụ khoa học và công nghệ quý gen cấp thành phố thực hiện giai đoạn 2021-2025. Trên cơ sở này, các nghiên cứu bảo tồn và phát triển đối với cây hoa Đào chuông tại Khu BTTN Bà Nà - Núi Chúa đang được tập trung thực hiện, bao gồm nghiên cứu về đặc điểm sinh học, sinh thái, và nhân giống. Việc nhân giống loài cây hoa Đào chuông để cung cấp cơ sở khoa học và thực tiễn, gìn giữ nguồn giống, ngăn chặn sự tuyệt chủng nguồn gen, phát triển loài cây hoa nguy cấp, quý hiếm này là cần thiết và cấp bách.

Trên thế giới, các loài thuộc họ Đỗ quyên thường được nhân giống sinh dưỡng và hạt (Singh *et al.*, 2008). Mặc dù vậy, tỷ lệ nhân giống sinh dưỡng và khả năng nảy mầm hạt giống trong tự nhiên thấp (Singh, Gurung, 2009). Tại Trung Quốc, Yang và đồng tác giả (2009) thực hiện nghiên cứu nhân giống *in vitro* Đào chuông thông qua callus được hình thành từ chồi non. Với kỹ thuật nhân giống *in vitro*, ngoài những ưu điểm là khả năng nhân giống nhanh với hệ số nhân cao trong thời gian ngắn, thì việc tạo ra cây giống sạch bệnh là yếu tố quan trọng nhất. Bởi vậy, nghiên cứu về nhân giống *in vitro* cây hoa Đào chuông tại Việt Nam để nâng cao chất lượng và hiệu quả cây giống sẽ mang lại nhiều giá trị khoa học và thực tiễn.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Vật liệu

Chồi non có mắt ngủ của cây hoa Đào chuông (*Enkianthus quiaqueflorus*) được thu thập tại Khu bảo tồn thiên nhiên Bà Nà - Núi Chúa và được nghiên cứu nhân giống *in vitro* tại Trung tâm Công nghệ sinh học Đà Nẵng, phường Hòa Thọ Tây, quận Cẩm Lệ, thành phố Đà Nẵng.

### Phương pháp nghiên cứu

#### Nghiên cứu tạo vật liệu khởi đầu *in vitro*

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của các chất khử trùng, thời gian khử trùng và môi trường nuôi cấy để tạo chồi *in vitro* khởi đầu từ chồi non: Chồi non có mắt ngủ kích thước khoảng 15 - 20 cm của cây hoa Đào chuông

có chiều cao khoảng từ 5 - 7 m và đang sinh trưởng tốt, mẫu sau khi thu về được cắt lá, khử trùng sơ bộ bằng xà phòng, nước sạch sau đó đưa vào tủ cấy vô trùng, lắc riêng lẻ bằng Javel 20% hoặc HgCl<sub>2</sub> 0,1% trong thời gian 5, 10, 15, 20 phút, rửa lại bằng nước cất đã khử trùng, tách bỏ những phần mẫu bị tổn thương, hóa nâu do hóa chất khử trùng xong cắt mẫu thành từng đoạn chồi chứa mắt ngủ cấy vào môi trường nuôi cấy gồm môi trường MS (Murashige, Skoog, 1962): MS bổ sung 30 g/L đường, 8,0 g/L agar và môi trường WPM (Woody Plant Medium) (Lloyd, McCown, 1981): WPM bổ sung 30 g/L đường, 8,0 g/L agar để xác định loại môi trường tạo chồi *in vitro* hiệu quả nhất. Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu sống, mẫu không nhiễm (%), đặc điểm sinh trưởng chồi sau 4 tuần nuôi cấy.

#### Nghiên cứu môi trường nhân nhanh chồi *in vitro*

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro*: Các mẫu sống, sạch được cấy lên môi trường nuôi cấy được chọn ở thí nghiệm 1 có bổ sung 10% nước dừa và nồng độ BAP từ 0,0 mg/L - 2,0 mg/L. Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi (%), số chồi phát sinh/mẫu cấy, chiều cao chồi (cm), đặc điểm sinh trưởng của chồi sau 12 tuần nuôi cấy.

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ Kinetin lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro*: Các mẫu sống, sạch được cấy lên môi trường nuôi cấy được chọn ở thí nghiệm 1 có bổ sung 10% nước dừa và nồng độ Kinetin từ 0,0 mg/L - 2,0 mg/L. Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi (%), số chồi phát sinh/mẫu cấy, chiều cao chồi (cm), đặc điểm sinh trưởng của chồi sau 12 tuần nuôi cấy.

#### Nghiên cứu môi trường hình thành rễ và tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh

Thí nghiệm 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ IBA lên khả năng tạo rễ và hình thành cây *in vitro* hoàn chỉnh: Các chồi đơn lẻ, đồng đều (kích thước) được cấy lên môi trường được chọn ở thí nghiệm 1 có bổ sung 1,0 g/L than hoạt tính và nồng độ IBA từ 0,0 mg/L - 3,0 mg/L. Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%), số rễ/mẫu cấy (rễ), chiều dài rễ (cm), đặc điểm sinh trưởng của cây sau 12 tuần nuôi cấy.

Thí nghiệm 5: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ NAA lên khả năng hình thành rễ và tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh: Các chồi đơn lẻ, đồng đều (kích thước) được cấy lên môi trường được chọn ở thí nghiệm 1 có bổ sung 1,0 g/L than hoạt và bổ sung nồng độ NAA từ 0,0 mg/L - 3,0 mg/L. Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%), số rễ/mẫu cấy (rễ), chiều dài rễ (cm), đặc điểm sinh trưởng của cây sau 12 tuần nuôi cấy.

#### Điều kiện thí nghiệm

Môi trường nuôi cấy: pH môi trường là 5,8; hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong thời gian 20 phút. Các bình nuôi cấy được đặt trong điều kiện phòng nuôi cấy có nhiệt độ 20 - 25°C, dưới ánh sáng đèn huỳnh quang với cường độ ánh sáng từ 2000 - 3000 lux, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày.

#### Phương pháp xử lý số liệu

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên và lặp lại 3 lần, mỗi lần nuôi cấy 30 mẫu/công thức. Việc lập bảng số liệu tính toán các thông số, lập biểu đồ được xử lý và phân tích thống kê bằng chương trình Microsoft Excel và các số liệu được kiểm chứng bằng phương pháp phân tích phương sai ANOVA 1 yếu tố, ANOVA 2 yếu tố và được xử lý bằng phần mềm SPSS 20 với mức ý nghĩa p<0,05.

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Tạo vật liệu khởi đầu

#### Ảnh hưởng của các chất khử trùng, thời gian khử trùng và môi trường nuôi cấy để tạo chồi *in vitro* từ chồi non

Nguồn mẫu ban đầu để nghiên cứu tạo vật liệu khởi đầu trong nuôi cấy *in vitro* là chồi non có mắt ngủ của giống cây hoa Đào chuông. Thí nghiệm được tiến hành trên hai loại chất khử trùng khác nhau HgCl<sub>2</sub> 0,1% và Javel 20%, thời gian khử trùng là 5, 10, 15, 20 phút và cấy vào môi trường MS, WPM, sau 4 tuần nuôi cấy, kết quả được thể hiện tại Bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của chất khử trùng và môi trường nuôi cấy đối với chồi non

Chất khử trùng	Môi trường	Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	LSD <sub>0,05</sub>	Đặc điểm sinh trưởng của chồi
HgCl <sub>2</sub> 0,1%	MS	5	0,0	9,41	Không phát sinh chồi
		10	17,78 <sup>a</sup>		Sinh trưởng tốt
		15	51,11 <sup>b</sup>		Sinh trưởng tốt
		20	12,22 <sup>a</sup>		Sinh trưởng kém

CÔNG NGHỆ TẾ BÀO

WPM	5	3,33 <sup>a</sup>	8,50	Không phát sinh chồi
	10	20,0 <sup>b</sup>		Sinh trưởng trung bình
	15	46,67 <sup>c</sup>		Sinh trưởng trung bình
	20	11,11 <sup>a</sup>		Sinh trưởng kém
MS	5	0,0	11,17	Không phát sinh chồi
	10	13,33 <sup>a</sup>		Sinh trưởng kém
	15	22,22 <sup>a</sup>		Sinh trưởng kém
	20	24,44 <sup>a</sup>		Sinh trưởng kém
Javel 20%	5	6,67 <sup>a</sup>	12,02	Sinh trưởng trung bình
	10	13,3 <sup>ab</sup>		Sinh trưởng trung bình
	15	41,11 <sup>c</sup>		Sinh trưởng kém
	20	21,11 <sup>b</sup>		Sinh trưởng kém

Các chữ cái khác nhau trong cùng 1 cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Kết quả từ bảng 1 cho thấy mẫu được khử trùng là HgCl<sub>2</sub> 0,1% với thời gian khử trùng 15 phút trên môi trường MS cho tỷ mẫu sống tốt nhất, đạt 51,11%, chồi *in vitro* sinh trưởng tốt, lá to, xanh đậm. Trong khi đó, trên môi trường WPM tỷ lệ mẫu sống đạt 46,67%, chồi phát sinh sinh trưởng trung bình. Mẫu được khử trùng Javel 20% hoặc HgCl<sub>2</sub> 0,1% thời gian 5 phút cấy trên môi trường MS cho kết quả tỷ lệ mẫu sống thấp nhất (0,0%) và mẫu không phát sinh chồi. Theo Cuce và đồng tác giả (2013) nghiên cứu nhân giống từ chồi non của giống cây *Vaccinium arctostaphylos* L. (Ericaceae) khi được khử trùng bề mặt bằng ethanol 70% trong 1 phút, ủ trong 15 phút trong sodium hypochlorite 3% (NaOCl) và rửa 3 lần trong 15 phút bằng nước cất khử ion cấy vào môi trường MS, WPM bổ sung 1,0 mg/L Zeatin và 0,1 mg/L IBA cả hai môi trường nuôi cấy, chồi *in vitro* được hình thành từ chồi bên với tỷ lệ sống đạt 95%. Như vậy kết quả nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ sống vẫn còn khá thấp (51,11%).

**Nhân nhanh chồi *in vitro***

**Ảnh hưởng của nồng độ BAP lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro***

Trong thí nghiệm này, chồi *in vitro* được cắt thành đoạn 1,0 - 1,5 cm cấy vào môi trường MS có bổ sung nồng độ BAP khác nhau nhằm mục đích tìm ra nồng độ tối ưu của BAP lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro*. Kết quả theo dõi sau 12 tuần nuôi cấy thể hiện tại bảng 2.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng tạo cụm chồi *in vitro***

Nồng độ BAP mg/L	Tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi (%)	Số chồi phát sinh /mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Đặc điểm sinh trưởng của chồi
0,0	8,89	0,87 <sup>a</sup> ± 0,12	3,39 <sup>b</sup> ± 0,08	Chồi nhỏ, sinh trưởng kém
0,5	32,22	3,40 <sup>b</sup> ± 0,40	3,61 <sup>c</sup> ± 0,02	Chồi to, sinh trưởng tốt
1,0	57,78	6,87 <sup>d</sup> ± 0,12	5,59 <sup>e</sup> ± 0,02	Chồi to, sinh trưởng tốt
1,5	43,33	4,53 <sup>bc</sup> ± 1,22	4,09 <sup>d</sup> ± 0,01	Chồi trung bình, sinh trưởng trung bình
2,0	25,56	1,47 <sup>a</sup> ± 0,12	3,30 <sup>a</sup> ± 0,06	Chồi trung bình, sinh trưởng trung bình
LSD <sub>0,05</sub>		1,50	0,08	

Các chữ cái khác nhau trong cùng 1 cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Kết quả từ bảng 2 cho thấy thay đổi nồng độ BAP (0,0 - 2,0 mg/L) đã có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi, số chồi phát sinh /mẫu, chiều cao chồi. Trong đó, tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi cao nhất đạt 57,78% trên công thức BAP 1,0 mg/L. Trên tất cả các nghiệm thức đều phát sinh chồi mới và tạo cụm chồi, số lượng chồi mới được hình thành nhiều nhất trên công thức BAP 1,0 mg/L đạt 6,87 ± 0,12 chồi/mẫu, chiều cao chồi trung bình đạt 5,59 ± 0,02 cm, chồi to, sinh trưởng tốt. Khi không sử dụng BAP, số chồi phát sinh là 0,87 ± 0,12 chồi/mẫu, chồi sinh trưởng kém. Tiếp tục tăng nồng độ BAP lên 1,5 và 2,0 mg/L, tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi cũng như chiều cao chồi giảm dần. Theo Yang và đồng tác giả (2009), hệ số nhân giống của Đào chuông cao nhất khi chồi bất định được cấy chuyên trên môi trường cải tiến B5 + 1,0 mg/L BA + 0,5 mg/L NAA đạt 14,19 chồi so với nghiên cứu chúng tôi môi trường MS bổ sung nồng độ BAP với hàm lượng 1,0 mg/L thì hệ số nhân chồi thấp hơn (đạt 6,87 chồi/mẫu).



Hình 1. Cụm chồi *in vitro* cây hoa Đào chuông 12 tuần tuổi trên các môi trường bổ sung BAP từ 0,0 – 2,0 mg/L

**Ảnh hưởng của nồng độ Kinetin lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro***

Trong thí nghiệm này, chồi *in vitro* được cắt thành đoạn 1,0 - 1,5 cm cấy vào môi trường MS có bổ sung nồng độ Kinetin khác nhau nhằm mục đích tìm ra nồng độ tối ưu của Kinetin lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro*. Kết quả theo dõi sau 12 tuần nuôi cấy thể hiện tại bảng 3.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ Kinetin lên khả năng tạo cụm chồi *in vitro***

Nồng độ Kinetin (mg/L)	Tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi (%)	Số chồi phát sinh/mẫu cấy	Chiều cao chồi (cm)	Đặc điểm sinh trưởng của chồi
0,0	11,11	0,73 <sup>a</sup> ± 0,12	1,50 <sup>a</sup> ± 0,03	Chồi nhỏ, sinh trưởng kém
0,5	50,00	2,67 <sup>d</sup> ± 0,12	2,52 <sup>c</sup> ± 0,08	Chồi trung bình, sinh trưởng trung bình
1,0	47,78	2,13 <sup>c</sup> ± 0,12	2,01 <sup>b</sup> ± 0,05	Chồi trung bình, sinh trưởng trung bình
1,5	41,11	1,60 <sup>b</sup> ± 0,35	1,89 <sup>b</sup> ± 0,15	Chồi trung bình, sinh trưởng trung bình
2,0	27,78	1,07 <sup>a</sup> ± 0,23	1,46 <sup>a</sup> ± 0,08	Chồi nhỏ, sinh trưởng kém
LSD <sub>0,05</sub>		0,38	0,20	

Các chữ cái khác nhau trong cùng 1 cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Kết quả bảng 3 cho thấy thay đổi nồng độ Kinetin (0,0 - 2,0 mg/L) đã có ảnh hưởng rõ rệt đến tất cả các chỉ tiêu theo dõi. Tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi cao nhất đạt 50,0% trên công thức có nồng độ Kinetin 0,5 mg/L. Từ bảng 3 có thể thấy trên các nghiệm thức đều phát sinh chồi mới, trong đó số lượng chồi được hình thành nhiều nhất trên môi trường có Kinetin 0,5 mg/L (2,67 ± 0,12 chồi/mẫu, chiều cao chồi trung bình đạt 2,52 ± 0,08 cm), chồi trung bình và sinh trưởng trung bình. Ở công thức có nồng độ Kinetin 0,0 mg/L và 2,0 mg/L thì số chồi phát sinh thấp nhất và chồi nhỏ, sinh trưởng kém lần lượt là 0,73 ± 0,12 chồi và 1,07 ± 0,23 chồi, không có công thức tạo chồi to và sinh trưởng tốt. Theo Rosati và Chacón (2019) nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây *Macleania rupestris* (Kunth) A.C. Sm (Ericaceae) ở công thức môi trường WP có bổ sung 0,5 mg/L Kinetin với hệ số nhân chồi đạt 1,29 chồi sau 120 ngày nuôi cấy. Nghiên cứu nhân chồi cây hoa Đào chuông của chúng tôi trên môi trường MS bổ sung cùng nồng độ Kinetin 0,5 mg/L kết quả hệ số nhân chồi gấp đôi.



Hình 2. Cụm chồi *in vitro* cây hoa Đào chuông 12 tuần tuổi trên các môi trường bổ sung Kinetin từ 0,0 – 2,0 mg/L

**Hình thành rễ và tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh**

**Ảnh hưởng của nồng độ IBA lên khả năng hình thành rễ và tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh**

Trong thí nghiệm này, chồi *in vitro* từ các cụm chồi sinh trưởng tốt được cắt thành đoạn 1,0 - 1,5 cm cấy lên môi trường MS có bổ sung nồng độ IBA từ 0,0 – 3,0 mg/L, kết quả theo dõi sau 12 tuần nuôi cấy tại bảng 4.

**Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ IBA lên khả năng hình thành rễ và tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh**

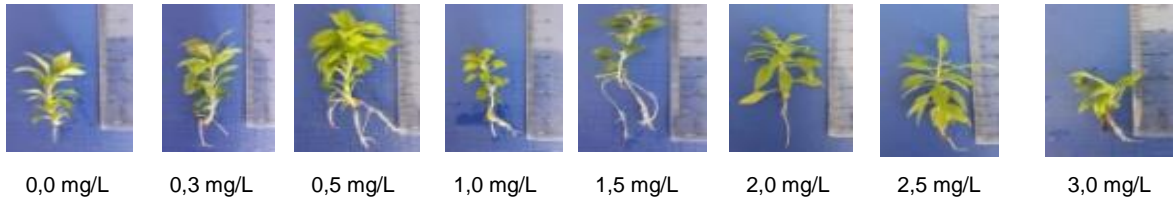
Nồng độ IBA (mg/L)	Tỷ lệ mẫu hình thành rễ (%)	Số rễ /cây	Chiều dài rễ (cm)	Đặc điểm sinh trưởng của cây
0,0	21,11	0,87 <sup>a</sup> ± 0,23	1,77 <sup>a</sup> ± 0,14	Cây nhỏ, sinh trưởng kém
0,3	67,78	2,40 <sup>c</sup> ± 0,20	2,38 <sup>b</sup> ± 0,18	Cây có kích thước trung bình, sinh trưởng trung bình
0,5	82,22	4,53 <sup>e</sup> ± 0,31	3,55 <sup>d</sup> ± 0,21	Cây to, sinh trưởng tốt

## CÔNG NGHỆ TẾ BÀO

1,0	65,56	3,27 <sup>d</sup> ± 0,31	3,22 <sup>c</sup> ± 0,13	Cây to, sinh trưởng tốt
1,5	51,11	2,40 <sup>c</sup> ± 0,20	2,60 <sup>b</sup> ± 0,14	Cây có kích thước trung bình, sinh trưởng trung bình
2,0	17,78	1,87 <sup>b</sup> ± 0,12	1,89 <sup>a</sup> ± 0,11	Cây nhỏ, sinh trưởng kém
2,5	21,11	1,73 <sup>b</sup> ± 0,23	1,65 <sup>a</sup> ± 0,19	Cây nhỏ, sinh trưởng kém
3,0	18,89	1,60 <sup>b</sup> ± 0,20	1,64 <sup>a</sup> ± 0,15	Cây nhỏ, sinh trưởng kém
LSD <sub>0,05</sub>		0,40	0,28	

*Các chữ cái khác nhau trong cùng 1 cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê với p<0,05.*

Kết quả ở bảng 4 cho thấy việc bổ sung IBA vào môi trường nuôi cấy kích thích sự hình thành rễ *in vitro* nhiều hơn so với môi trường không bổ sung nồng độ IBA và khi tăng nồng độ IBA cao hơn 1 mg/L thì sự hình thành rễ giảm dần. Cụ thể, trên môi trường bổ sung IBA 0,5 mg/L, tỷ lệ mẫu hình thành rễ cao nhất đạt 82,22%, số rễ /cây là 4,53 ± 0,31 rễ, chiều dài rễ đạt 3,55 ± 0,21 cm, cây sinh trưởng tốt. Môi trường bổ sung IBA 3,0 mg/L cho tỷ lệ mẫu hình thành rễ thấp nhất, chỉ đạt 1,60 ± 0,20 rễ, cây sinh trưởng kém. Theo Yang và đồng tác giả (2009), tái sinh rễ Đào chuông tốt nhất trên môi trường 1/2MS bổ sung 2,0 mg/L IBA với tỷ lệ ra rễ cao nhất đạt là 80% và số rễ tái sinh nhiều nhất là 2,53 rễ/mẫu. So với nghiên cứu chúng tôi cho thấy chồi hình thành rễ trên môi trường MS bổ sung nồng độ IBA 0,5 mg/L với tỷ lệ mẫu hình thành rễ gần tương đương (đạt 82,22%), nhưng số rễ trung bình/cây cao hơn (4,53 rễ/cây).



**Hình 3. Cây hoa Đào chuông *in vitro* 12 tuần tuổi trên các môi trường bổ sung IBA từ 0,0 – 3,0 mg/L**

### **Ảnh hưởng của nồng độ NAA lên khả năng hình thành rễ và tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh**

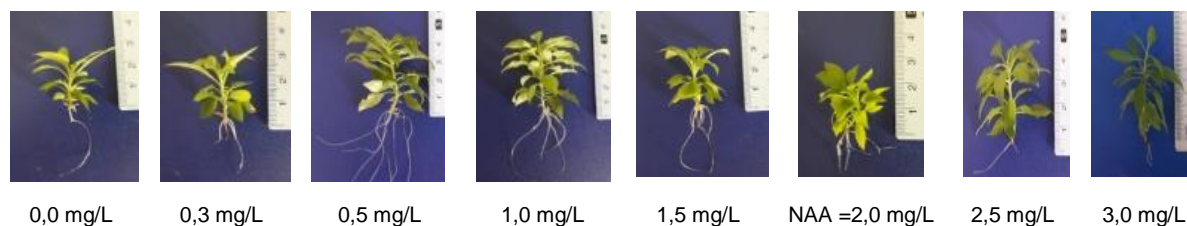
Trong thí nghiệm này, chồi *in vitro* từ các cụm chồi sinh trưởng tốt được cắt thành đoạn 1-1,5 cm cấy lên môi trường MS có bổ sung nồng độ NAA từ 0 – 3 mg/L, kết quả theo dõi sau 12 tuần nuôi cấy tại bảng 5.

**Bảng 5. Ảnh hưởng của nồng độ NAA lên khả năng hình thành rễ và tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh**

Nồng độ NAA (mg/L)	Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)	Số rễ cây	Chiều dài rễ (cm)	Đặc điểm sinh trưởng của cây
0,0	20,00	0,73 <sup>a</sup> ± 0,12	1,87 <sup>c</sup> ± 0,20	Cây nhỏ, cây sinh trưởng kém
0,3	70,00	2,33 <sup>cd</sup> ± 0,42	2,25 <sup>d</sup> ± 0,19	Cây to, cây sinh trưởng tốt
0,5	85,56	5,27 <sup>f</sup> ± 0,12	3,64 <sup>h</sup> ± 0,22	Cây to, cây sinh trưởng tốt
1,0	72,22	3,67 <sup>e</sup> ± 0,31	2,99 <sup>f</sup> ± 0,15	Cây to, cây sinh trưởng tốt
1,5	60,00	2,60 <sup>d</sup> ± 0,20	2,56 <sup>e</sup> ± 0,11	Cây có kích thước trung bình, cây sinh trưởng trung bình
2,0	36,67	2,13 <sup>c</sup> ± 0,12	1,99 <sup>cd</sup> ± 0,03	Cây có kích thước trung bình, cây sinh trưởng trung bình
2,5	22,22	1,60 <sup>b</sup> ± 0,20	1,57 <sup>b</sup> ± 0,12	Cây nhỏ, cây sinh trưởng kém
3,0	16,67	1,27 <sup>b</sup> ± 0,20	1,21 <sup>a</sup> ± 0,10	Cây nhỏ, cây sinh trưởng kém
LSD <sub>0,05</sub>		0,39	0,26	

*Các chữ cái khác nhau trong cùng 1 cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê với p<0,05.*

Kết quả bảng 5 cho thấy việc bổ sung NAA vào môi trường nuôi cấy kích thích sự hình thành rễ *in vitro* nhiều hơn so với môi trường không bổ sung nồng độ NAA và tăng nồng độ NAA cao hơn 1 mg/L thì tỷ lệ mẫu hình thành rễ giảm dần. Trên môi trường bổ sung NAA 0,5 mg/L, tỷ lệ mẫu hình thành rễ cao nhất đạt 85,56% số rễ /cây đạt 5,27 ± 0,12 rễ, chiều dài rễ đạt 3,64 ± 0,22 cm, cây sinh trưởng tốt và công thức thí nghiệm nồng độ NAA 3,0 mg/L chỉ đạt 1,21 ± 0,10 rễ, cây sinh trưởng kém. Theo Nguyễn Thị Phương Hoàng và đồng tác giả (2020) cây Đổ quyền rạng rỡ *in vitro* tái sinh rễ tốt nhất trên môi trường WPM bổ sung 1,0 g/L than hoạt tính và 1,0 mg/L IAA cho tỷ lệ tạo rễ cao nhất là 88,89% và số rễ hình thành nhiều nhất là 2,53 rễ/mẫu. So với nghiên cứu chúng tôi cho thấy chồi hình thành rễ trên môi trường MS bổ sung nồng độ NAA 0,5 mg/L với tỷ lệ mẫu hình thành rễ gần tương đương (đạt 85,56%), nhưng số rễ trung bình/cây cao hơn (đạt 5,27 rễ/cây).



Hình 4. Cây hoa Đào chuông *in vitro* 12 tuần tuổi trên các môi trường bổ sung NAA từ 0,0 – 3,0 mg/L

## KẾT LUẬN

Chồi non có mắt ngủ của cây hoa Đào chuông được chọn là vật liệu nuôi cấy ban đầu trong phương pháp nhân giống *in vitro*. Mẫu được khử trùng bằng  $HgCl_2$  0,1% trong 15 phút, môi trường MS có bổ sung 8,0 g/L agar, 30 g/L đường cho tỷ lệ sống đạt cao nhất là 51,11%, chồi *in vitro* sinh trưởng tốt. Môi trường thích hợp cho quá trình nhân nhanh chồi *in vitro* cây hoa Đào chuông là môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/L BAP với tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi 57,78% và số chồi đạt là  $6,87 \pm 0,12$  chồi/mẫu, chiều cao chồi đạt  $5,59 \pm 0,02$  cm. Môi trường hình thành rễ và tạo cây hoa Đào chuông *in vitro* tốt nhất là môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/L NAA với tỷ lệ mẫu tạo rễ đạt 85,56% và số rễ thu được  $5,27 \pm 0,12$  rễ/mẫu và cây sinh trưởng tốt.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí từ đề tài cấp thành phố “Nghiên cứu bảo tồn và phát huy nguồn gen cây hoa Đào chuông (*Enkianthus quiaqueflorus*) tại Khu Bảo tồn Thiên nhiên Bà Nà - Núi Chúa, thành phố Đà Nẵng”. Chúng tôi xin cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ thành phố Đà Nẵng, Chi cục Kiểm lâm thành phố Đà Nẵng (Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn thành phố Đà Nẵng) đã tạo điều kiện để thực hiện đề tài.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cuce M, Bektas E, Sokmen A (2023). Micropropagation of *Vaccinium arctostaphylos* L. via lateral-bud culture, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37: 40-44.
- Đỗ Thị Thu Lai, Nguyễn Thị Kim Lý, Phạm Thị Minh Phượng (2019). Một số biện pháp kỹ thuật trong nhân giống Đổ quyền cà rốt bằng phương pháp giâm cành, *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 9(106): 56 – 61.
- Lloyd G, McCown BH (1981). Woody plant medium (WPM) - A mineral nutrient formation for microculture of woody plant species. *HortScience*, 16: 453.
- Metcalfe FP (1942). Flowers of the Chinese New Year. *Arnoldia*, 2(1): 1– 8.
- Murashige T, & Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiol*, 15: 473 - 74.
- Nguyễn Thị Phượng Hoàng, Nguyễn Thị Thanh Hằng, Phan Xuân Huyền, Đinh Văn Khiêm (2020). Nghiên cứu tác động của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật đến quá trình tái sinh chồi từ mô sẹo Đổ quyền rụng rở (*Rhododendron triumphans* Yersin & A. Chev.). *Báo cáo Hội nghị công nghệ sinh học*, 930 – 934.
- Phạm Hoàng Hộ (1999). *Cây cỏ Việt Nam*. Nhà xuất bản Trẻ.
- Rosati AOG, Chacón YDIC (2019). Multiplicación *in vitro* de *Macleania rupestris* (Kunth) A.C. Sm.(Ericaceae). *Biotechnología Vegetal*, 4(19): 265 – 275.
- Singh KK, Kumar S, Shanti R (2008). Raising planting materials of Sikkim Himalayan *Rhododendron* through Vegetative propagation using “Air-wet technique”. *J Ame Rhodo Soc*, 62(4): 136-138.
- Singh KK, Gurung B (2009). *In vitro* propagation of *R. maddenii* Hook. F. an endangered *Rhododendron* species of Sikkim Himalaya. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37(1): 79-83.
- Sinh vật rừng Việt Nam (2023). *Trợ Hoa*. Truy cập ngày 12/07/2024 tại: <https://www.vncreatures.net/chitiet.php?page=1&loai=2&ID=3083>.
- Yang JF, Liu XY, Zhang SZ, Huang YX (2009). Tissue Culture and Rapid Propagation of *Enkianthus quinqueflorus* Lour. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 4(17): 383-387.

## STUDY ON THE *IN VITRO* PROPAGATION OF DAO CHUONG (*Enkianthus quinqueflorus*) AT BA NA - NUI CHUA NATURE RESERVE

Nguyen Thi Thu Huong<sup>\*</sup>, Nguyen Thi Ly Na, Nguyen Duong Thuy Ha, Dang Ngoc Minh

*Danang Biotechnology center*

### SUMMARY

Dao chuong (*Enkianthus quinqueflorus*) is an endemic and rare species with significant economic value. Conducting extensive studies on breeding is essential to provide a scientific and practical basis for conserving and preserving the genetic resources of the trees Dao chuong. In this article, we present the results of *in vitro* propagation of Dao chuong. The findings indicate that the most suitable culture material is young dormant buds. Using HgCl<sub>2</sub> 0.1% as a disinfectant with a sterilization time of 15 minutes, and MS medium supplemented with 8.0 g/L agar and 30 g/L sugar, resulted in the highest survival rate of 51.11%. The best medium for fast shoot multiplication *in vitro* is MS medium supplemented with 1.0 mg/L BAP, with a shoot multiplication coefficient of  $6.87 \pm 0.12$  shoots/sample, and a shoot height of  $5.59 \pm 0.02$  cm. For root formation, the most suitable medium is MS medium supplemented with 0.5 mg/L NAA, resulting in an 85.56% rooting rate and  $5.27 \pm 0.12$  roots/sample and good plant growth.

*Keywords:* *Enkianthus quinqueflorus*, shoot multiplication coefficient, *in vitro* propagation, growth, root formation.

---

<sup>\*</sup> Author for correspondence: Tel: 0902761855; Email: thuongtl82@gmail.com