

NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY THANH LONG RUỘT ĐỎ

Ngày nhận bài: 16/7/2014

Ngày nhận lại: 10/08/2014

Ngày duyệt đăng: 09/09/2014

Đặng Văn Tùng¹
Nguyễn Trần Đông Phương²

TÓM TẮT

*Trong nghiên cứu này, chúng tôi tìm ra môi trường thích hợp để hoàn thiện quy trình nhân giống cây Thanh long ruột đỏ *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose. Hạt được khử trùng bằng javel 10% trong 10 phút. Cụm chồi được tạo thành từ cây con cao 1 cm trên môi trường MS + BA 1,5 mg/l và từ đoạn thân 1cm trên môi trường MS + BA 1 mg/l là tốt nhất. Rễ hình thành tốt nhất trên môi trường MS + 0,5 mg/l. Chất trồng để ương cây gồm 10% tro trấu, 85% cát và 5% phân bò ủ hoai.*

Từ khóa: Thanh long ruột đỏ, nuôi cấy *in vitro*, chất điều hòa sinh trưởng thực vật.

ABSTRACT

*In this study, we found out suitable mediums to improve the process of *in vitro* propagation of *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose. A maximum number of *in vitro* shoots from 1 cm high seedlings were obtained in the basal MS supplemented with BA 1,5 mg/l and many shoots were formed from trunk segments cultured on basal MS medium supplemented with BA 1 mg/l. Formation of roots on MS + 0.5 mg/l were the best. Seedlings grow well on growing mediums including 10% ash and husk; 85% sand and 5% composted cow manure.*

Keywords: *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose, *in vitro* culture, plant growth regulators.

1. Mở đầu

Thanh long ruột đỏ là loại cây ăn quả có giá trị xuất khẩu, hiệu quả kinh tế cao và đang có nhu cầu rất lớn trong và ngoài nước. Thanh long ruột đỏ được dùng làm thực phẩm, thuốc, mỹ phẩm vì có chứa nhiều khoáng chất, năng lượng, vitamin và một số hợp chất có hoạt tính sinh học^[1]. Hoạt chất lycopene trong Thanh long ruột đỏ có khả năng chống ung thư, chống lão hóa, điều trị các bệnh về mắt, vô sinh nam, viêm và loãng xương, quản lý bệnh tiểu đường và bảo vệ gan. Giảm nồng độ homocysteine và cholesterol, ngăn ngừa bệnh tim mạch vành. Làm tăng hệ thống miễn dịch, giúp tiêu hóa và tuần hoàn máu. Giúp kiểm soát các áp lực tinh thần và vô hiệu hóa các chất độc trong cơ thể^[2]. Betacyanin là hợp chất tự nhiên làm giảm đáng kể nồng độ

homocysteine (đồng phân của acid amine cysteine) trong cơ thể của chúng ta^[3].

2. Phương pháp nghiên cứu

Hạt Thanh long ruột đỏ hữu tính được khử trùng bằng dung dịch javel 10% trong 10 phút. Mẫu sau khi khử trùng được cấy vào môi trường MS để tạo cây *in vitro* làm nguồn nguyên liệu cho các thí nghiệm tiếp theo^[4].

2.1. Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của nồng độ BA lên sự tạo cụm chồi từ cây Thanh long con với các kích thước khác nhau

Tiến hành chuyển cây Thanh long ruột đỏ con (0,5; 1,0; 1,5 cm) *in vitro* lần lượt vào môi trường MS bổ sung BA (0.5 - 3 mg/l).

2.2. Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng

¹ Trường Đại học Mở TP.HCM

² ThS, Trường Đại học Mở TP.HCM. Email: nguyentrandongphuong@gmail.com

của nồng độ BA lên sự tạo cụm chồi từ đoạn thân cây Thanh long con vô trùng

Tiến hành tách các chồi Thanh long vô trùng từ các cụm chồi ở thí nghiệm 2. Sau đó cắt chồi thành các đoạn khoảng 1 cm và chuyển chúng vào chai chứa môi trường MS bổ sung BA (0.5 - 3 mg/l).

2.3. Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của NAA lên sự tạo rễ in vitro cây Thanh long ruột đỏ

Tiến hành tách các chồi Thanh long có kích thước 1,5- 2 cm vô trùng từ cụm chồi ở thí nghiệm 2, sau đó chuyển chúng vào chai chứa môi trường MS bổ sung NAA (0.5 - 3 mg/l).

2.4. Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của các tỷ lệ chất trồng đến sự sinh trưởng của cây Thanh long ruột đỏ nuôi cấy mô

Tiến hành phối trộn chất trồng theo các tỷ lệ cát, phân bò hoai và tro trấu khác nhau rồi chuyển vào chậu trồng. Sau đó, trồng các cây con *in vitro* cao 2 – 3cm và theo dõi.

2.5. Xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả thí nghiệm được lưu trữ và xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel và Statgraphics Plus 3.0.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ BA lên sự tạo cụm chồi từ cây Thanh long con với các kích thước khác nhau

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ BA lên sự tạo cụm chồi từ cây Thanh long con ở các kích thước khác nhau *in vitro*

Kích thước mẫu (cm)	Nồng độ BA (mg/l)	Số chồi
0,5	0,0	1,33 ^{hi}
0,5	0,5	1,67 ^{gh}
0,5	1,0	3,00 ^{def}
0,5	1,5	4,33 ^b
0,5	2,0	3,67 ^{bcd}
0,5	2,5	3,33 ^{cde}
0,5	3,0	0,33 ^j
1,0	0,0	1,00 ^{hij}
1,0	0,5	1,33 ^{hi}
1,0	1,0	3,33 ^{cde}
1,0	1,5	5,33^a
1,0	2,0	3,67 ^{bcd}
1,0	2,5	2,67 ^{ef}
1,0	3,0	0,67 ^{ij}
1,5	0,0	1,00 ^{hij}
1,5	0,5	2,33 ^{fg}
1,5	1,0	2,67 ^{ef}
1,5	1,5	4,00 ^{bc}
1,5	2,0	3,33 ^{bcd}
1,5	2,5	3,67 ^{bcd}
1,5	3,0	0,33 ^j

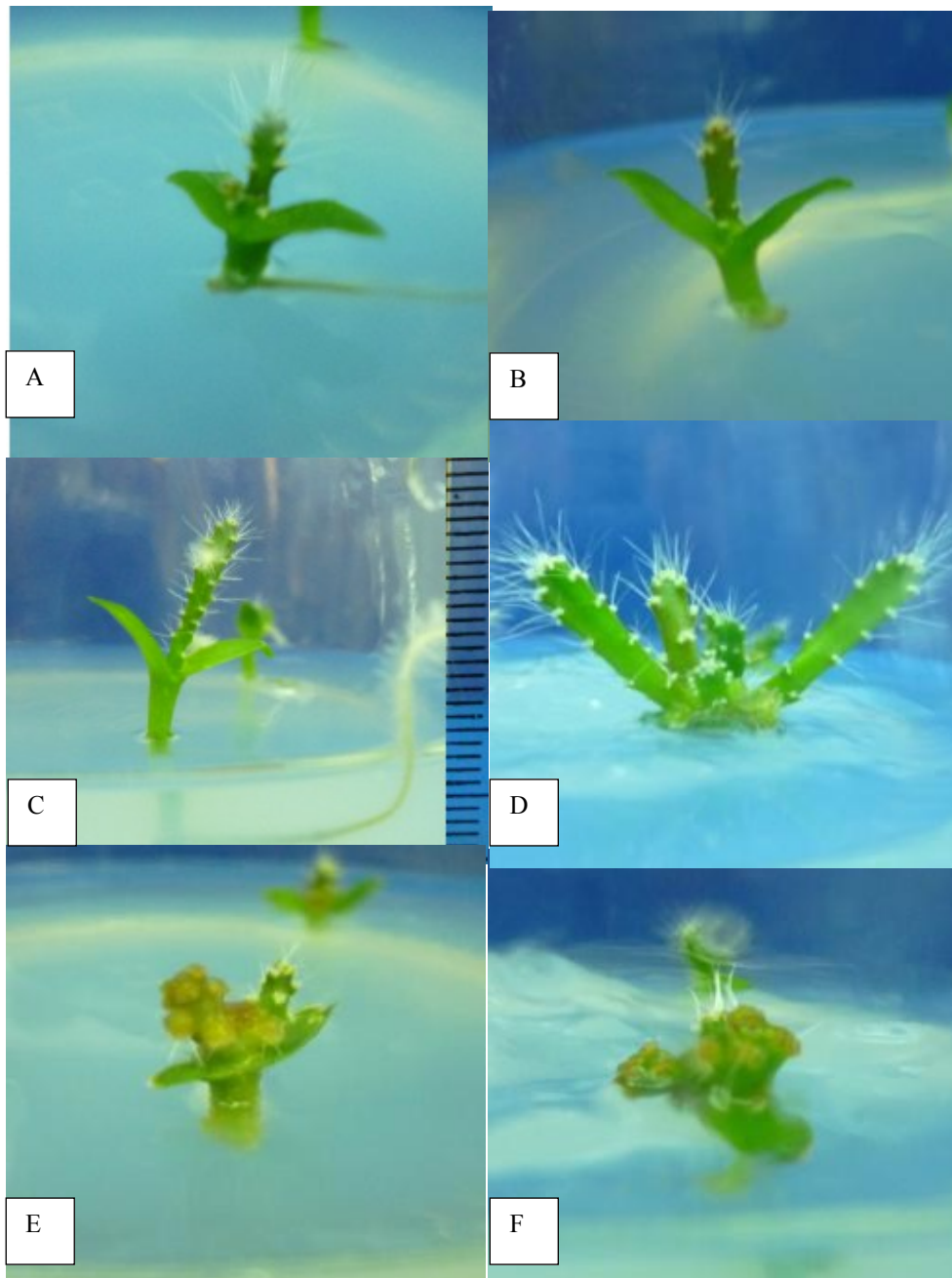
Các chữ cái theo sau số trung bình biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $P \leq 0,05$

Ở nghiệm thức MS bổ sung 1,5 mg/l BA, mẫu cao 1 cm cho tỷ lệ tái sinh chồi cao nhất đạt 5,33 chồi/mẫu, mẫu hình thành có kích thước lớn và có màu xanh đậm (Bảng 1).

Tuy nhiên, ở các nghiệm thức có bổ sung 3,0 mg/l BA thì mẫu chỉ hình thành các thể chồi nhỏ mà không phát triển thành chồi (Hình 1).

Hình 1. Mẫu trên môi trường MS (A): 0,5 cm; (B): 1 cm; (C): 1,5 cm.

Mẫu trên môi trường MS bổ sung 3,0 mg/l BA: (D): 0,5 cm; (E): 1,0 cm; (F): 1,5 cm



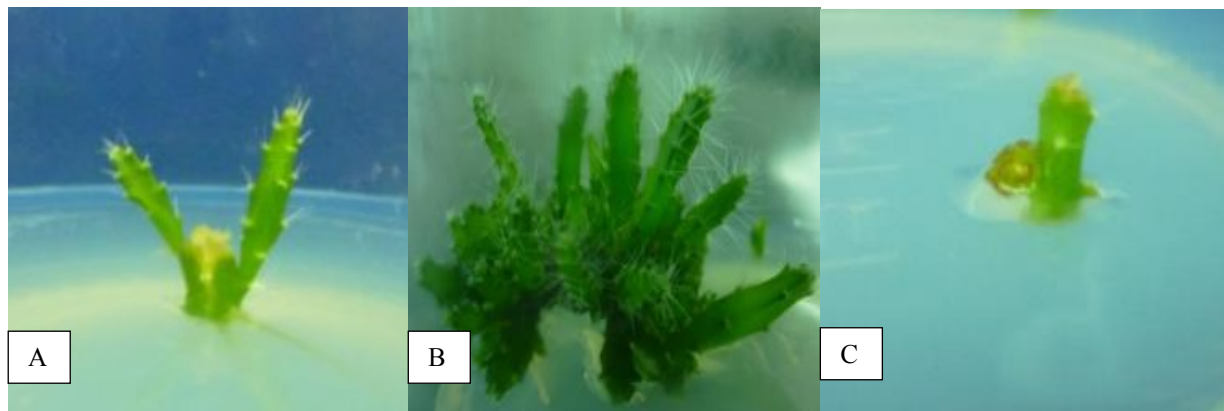
3.2. Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của nồng độ BA lên sự tạo cụm chồi từ đoạn thân cây Thanh long con vô trùng

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ BA lên sự tạo cụm chồi từ đoạn thân (1 cm) cây Thanh long *in vitro*

Nồng độ BA (mg/l)	Số chồi
0,0	2,33 ^d
0,5	6,0 ^{bc}
1,0	8,33^a
1,5	7,33 ^{ab}
2,0	6,0 ^{bc}
2,5	4,67 ^c
3,0	1,67 ^d

Các chữ cái theo sau số trung bình biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $P \leq 0,05$

Hình 2. (A): Đối chứng; (B): 1,0 mg/l BA; (C): 3,0 mg/l BA



Kết quả thí nghiệm cho thấy môi trường MS có bổ sung BA 1 mg/l có tỷ lệ tái sinh chồi cao nhất đạt 8,33 chồi/ mẫu (Bảng 2). Trên

môi trường bổ sung 3 mg/l thì mẫu chỉ hình thành các thể chồi nhỏ chứ không phát triển thành chồi (Hình 2).

3.3. Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của NAA lên sự tạo rễ *in vitro* cây Thanh long ruột đỏ

Bảng 3. Ảnh hưởng nồng độ NAA lên sự tạo rễ từ chồi Thanh long *in vitro*

Nồng độ NAA (mg/l)	Số lượng rễ	Chiều dài rễ
0,0	3,56 ^d	2,56 ^a
0,5	10,67^a	1,85^b
1,0	8,44 ^b	1,04 ^c
1,5	8,21 ^b	1,11 ^c
2,0	6,33 ^c	0,57 ^d
2,5	5,67 ^c	0,53 ^d
3,0	5,56 ^c	0,52 ^d

Các chữ cái theo sau số trung bình biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $P \leq 0,05$

Sau 50 ngày nuôi cấy, nghiệm thức MS bổ sung 0,5 mg/l NAA cho rễ sinh trưởng tốt nhất với 10,67 rễ/chồi và chiều dài trung bình là 1,85 cm (Bảng 3, Hình 3). Theo Bùi Trang Việt, nồng độ auxin cao kích thích sự hình

thành sơ khởi rễ, đồng thời cản sự tăng trưởng của các sơ khởi này [3,6]. Điều này cho thấy ở nghiệm thức bổ sung 2,5 mg/l NAA; 3,0 mg/l NAA rễ được hình thành nhiều nhưng sự kéo dài rễ yếu.

Hình 3(A). Đối chứng; (B): 0,5 mg/l NAA; (C): 3,0 mg/l NAA



3.4. Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của các tỷ lệ chất trồng đến sự sinh trưởng của cây Thanh long ruột đỏ (2 - 3cm) nuôi cấy mô

Kết quả ươm cây Thanh long trên các môi trường khác nhau sau 5 tuần cho thấy sự sinh trưởng của cây phụ thuộc vào thành phần và tỷ lệ của chất trồng.

Bảng 4. Khoảng tăng trưởng của cây Thanh long nuôi cấy mô (2 -3 cm) trên các tỷ lệ chất trồng khác nhau sau 5 tuần

Nghiệm thức	Khoảng tăng trưởng	
	3 tuần	5 tuần
A	1,37 ^b	4,07 ^b
B	1,77^a	5,37^a
C	1.43 ^b	3,60 ^b
D	1,1 ^c	3,30 ^b
E	0,57 ^d	1,53 ^c

Các chữ cái theo sau số trung bình biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức $P \leq 0,05$

Hình 4. Cây trồng trên giá thể: (A): 10% tro trấu; 90% cát; 0% phân bò hoai
(B): 10% tro trấu; 85% cát; 5% phân bò hoai
(C): 10% tro trấu; 70% cát; 20% phân bò hoai



Kết quả thu được cho thấy ở nghiệm thức chất trồng gồm : 10% tro trấu; 85% cát; 5% phân bò hoai thì tốc độ sinh trưởng tốt nhất. Khoảng tăng trưởng đã đạt 5,37 cm sau 5 tuần ươm, cây mập và xanh đậm (Bảng 4). Ở nghiệm thức NT5, cây chậm phát triển, ốm và có hiện tượng bị úa vàng phần ngọn (Hình 4). Điều này có thể cho thấy rằng nồng độ 20% phân bò hoai là quá cao đối với cây Thanh long nuôi cấy mô.

5. Kết luận

Cây con kích thước 1 cm có khả năng tạo cụm chồi tốt trên môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/l BA. Trên môi trường MS có bổ sung 1 mg/l BA, mẫu đoạn thân tạo cụm chồi tốt nhất.

Khi cấy trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l NAA thì chồi Thanh long hình thành rễ tốt nhất. Cây Thanh long nuôi cấy mô sinh trưởng tốt trên chất trồng với 10% tro trấu, 85% cát và 5% phân bò ủ hoai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Ninh Hải (2013). “Hiệu quả từ cây Thanh long ruột đỏ”. *Tạp chí số 4/2013, Sở khoa học và công nghệ tỉnh Hải Dương*.
2. Kalai Selvan V., Vijayakumar A., Suresh Kumar K., Gyanendra Nath S. (2011). “Lycopene's effects on health and diseases”. *Natural Medicine Journal* (ISSN 2157-6769).
3. Mohd M. (2010). “Diversity of *Fusarium semitectum* (Berkeley and Ravenel) associated with Red-fleshed Dragon fruit (*Hylocereus polyzhius* [Weber] Britton and Rose) in Malaysia”. *Universiti sains Malaysia*.
4. Kari R., Lukman L. A., Zainuddin R. & Ja'afar H. (2012). “Short Communication, Basal Media for *In Vitro* Germination of Red-Purple Dragon Fruit *Hylocereus polyrhizus*”. *Faculty of Agriculture and Biotechnology, Universiti Darul Iman Malaysia*.
5. Bùi Trang Việt (2000). *Sinh lý thực vật đại cương*, Phần II: Phát triển. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
6. Dương Công Kiên (2002). *Nuôi cấy mô thực vật tập 1*. NXB Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.