

## **NGHIÊN CỨU TỐI ƯU QUY TRÌNH TÁI SINH TẠO ĐA CHỒI TỪ MÔ SẸO CÂY XOAN TA (*Melia azedarach* L.)**

**Nguyễn Văn Phong<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Kim Anh<sup>2</sup>, Phan Thị Thu Hiền<sup>2,\*</sup>**

**Tóm tắt:** Hệ thống tái sinh tạo đa chồi từ mô sẹo cây xoan ta (*Melia azedarach* L.) được xây dựng là một trong những biện pháp bước đầu giúp cải thiện chất lượng giống cây trồng. Kết quả nghiên cứu cho thấy, với vật liệu ban đầu là hạt xoan ta, môi trường tối ưu là MS cơ bản cho ra các mầm phát triển tốt. Từ cây mầm trong ống nghiệm, các đoạn thân mầm, lá mầm được tách ra nuôi cấy tạo mô sẹo. Kết quả cho thấy, môi trường MS bổ sung 1,0 mg/L BAP và 1,5 mg/L NAA là công thức thí nghiệm tạo mô sẹo tối ưu với cả 2 vật liệu là lá mầm và đoạn thân mầm với tỉ lệ tạo mô sẹo lần lượt là 93,33% và 96,67%. Mô sẹo được chuyển đến môi trường tái sinh chồi với công thức tái sinh chồi tối ưu MS bổ sung 0,3mg/L BAP; 0,5 mg/L kinetin và 0,2 mg/L NAA, tỉ lệ mẫu tạo chồi cao nhất đạt 96,67%. Môi trường ra rễ thích hợp là MS có bổ sung 1,5 mg/L NAA, cho tỷ lệ tạo rễ đạt 95,17%, rễ khỏe và có nhiều lông hút. Nghiên cứu này xây dựng thành công hệ thống tái sinh tạo đa chồi từ mô sẹo cây xoan ta. Quy trình này có thể áp dụng nghiên cứu các thí nghiệm chuyển gen hoặc nhân nhanh chồi xoan ta trong thời gian tiếp theo.

**Từ khóa:** *Melia azedarach* L., cây xoan ta, mô sẹo, tái sinh.

### **1. MỞ ĐẦU**

Xoan ta (*Melia azedarach* L.) là cây thân gỗ, sớm rụng lá, thuộc họ Xoan (Meliaceae), có nguồn gốc ở Ấn Độ, miền Nam Trung Quốc và Australia,... Xoan ta được phân bố ở nhiều nước như Việt Nam, Lào, Campuchia. Riêng ở Việt Nam từ Bắc vào Nam hầu như tỉnh nào cũng thấy sự hiện diện của cây xoan ta, chúng mọc tự nhiên hoặc được mọc thành rừng. Xoan ta là một trong những cây trồng quan trọng trong chiến lược phát triển lâm nghiệp, được trồng ở 6 trong số 9 vùng sinh thái lâm nghiệp, trong đó có các vùng: vùng Đồng bằng Sông Hồng, vùng Trung du, vùng Tây Bắc, vùng Nam Trung Bộ, vùng Tây Nguyên, vùng Đông Nam Bộ. Xoan ta đứng đầu trong những cây trồng được ưu tiên phát triển với nhiều giá trị kinh tế. Hiện nay cây xoan ta đang được khuyến khích trồng và ngày càng được mở rộng diện tích. Để đáp ứng được nhu cầu sản xuất thì cần đưa các giống mới có đặc tính kháng bệnh, chống chịu tốt, có chất lượng gỗ tốt, sinh trưởng và phát triển nhanh (Bùi Văn Thắng et al., 2013). Cây có giá trị kinh tế cao, có thể chiết xuất dịch chiết từ lá để tăng cường tính chống giun, lợi tiểu và kháng nấm rất tốt (Husai et al., 2009). Ngoài ra, các hợp chất limonoid trong cây xoan còn được biết đến như chất có hoạt tính diệt côn trùng (Huang et al., 1996, Schmidt et al., 1997). Cây xoan ta mang lại giá trị kinh tế cao, cung cấp gỗ có giá trị, chống lại sự tàn công của môi mọt, thực sự hữu ích trong thiết kế đồ nội thất, đồ chơi cũng như cung cấp chất đốt

<sup>1</sup>Trường Đại học Lâm nghiệp

<sup>2</sup>Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

\*Email: hienphandt87@gmail.com

(Anonymous, 2003). Với công dụng đa dạng như vậy, cây xoan ta được canh tác ngày càng nhiều. Từ trước đến nay, rất nhiều nghiên cứu đã sử dụng cây xoan ta làm mô hình để nghiên cứu khả năng tái sinh chồi thông qua nhiều nguyên liệu thực vật: chồi đỉnh (Domecq, 1988), chồi nách (Ahmad et al., 1990) của cây trưởng thành, mô phân sinh đỉnh cây non (Thakur et al., 1998; Vila et al., 2002), qua mảnh lá và thân mầm (Handro và Floh 2001; Vila et al., 2003). Các báo cáo này đều cho thấy hiệu quả tái sinh của cây xoan ta còn vẫn còn nhiều vấn đề cần nghiên cứu sâu hơn. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo của cây xoan ta, làm cơ sở nền tảng cho các nghiên cứu chuyên sâu về đối tượng này tiếp theo.

## **2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Vật liệu và hóa chất nghiên cứu**

Hạt xoan ta được Viện Công nghệ sinh học Lâm nghiệp, Trường Đại học Lâm nghiệp cung cấp, gieo hạt tạo cây mầm trong ống nghiệm. Sử dụng đoạn thân mầm, lá mầm tạo mô sẹo để tái sinh chồi.

Các hóa chất thông dụng trong nuôi cấy mô tế bào thực vật như: các chất khử trùng (xà phòng, cồn 90°, javen,...), các hóa chất trong thành phần môi trường MS cơ bản, các chất điều hòa sinh trưởng (BAP, NAA,...).

### **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

Thí nghiệm được tiến hành trong phòng thí nghiệm có các điều kiện môi trường vật lí: số giờ chiếu sáng 10h/ngày, cường độ ánh sáng 2000 - 3000 lux, nhiệt độ phòng nuôi  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .

#### **2.2.1. Tạo mẫu sạch xoan ta**

Hạt được sấy 50 - 60 °C trong thời gian 30 phút. Sau đó tiến hành đập hạt, tách phôi. Tiếp tục khử trùng kép theo các bước như sau: Khử trùng sơ bộ bằng xà phòng 2-3 lần (5 phút) để loại bỏ tạp chất, vi sinh vật lạ; Khử trùng bằng cồn 90° trong 4 - 5 phút; Tẩy tiếp bằng Javen 5% trong 30 - 50 phút; Rửa sạch bằng nước cất; cho hạt ra giấy thấm, thấm khô hạt; Cấy hạt trong môi trường vào mẫu (MS+ 30g/l sucroza+ 6,8g/l agar, pH= 5,8). Số mẫu  $\geq 30$  mẫu/lô thí nghiệm.

#### **2.2.2. Tạo mô sẹo từ vật liệu xoan ta**

Xoan ta sau khi được nảy mầm trong ống nghiệm 7 - 10 ngày được cắt thành các đoạn thân dài 0,5 cm bỏ các chồi nách, lá, ngọn. Các mảnh cắt đoạn thân sau đó được nuôi cấy trên môi trường: MS+30g/L sucroza+ 6,8g/L agar có bổ sung BAP và NAA, pH=5,8. Điều kiện nuôi cấy: nuôi cấy tối trong 1 tuần, sau đó chuyển sang nuôi sáng. Số mẫu  $\geq 30$  mẫu/ lô thí nghiệm.

#### **2.2.3. Tái sinh chồi từ vật liệu mô sẹo xoan ta**

Những mô sẹo đã lọc hóa được cấy chuyển sang môi trường tái sinh chồi: MS có bổ sung BAP, NAA, kinetin với nồng độ khác nhau, pH=5,8. Sau 30 ngày thống kê số liệu. Số mẫu  $\geq 30$  mẫu/lô thí nghiệm.

#### 2.2.4. Tạo rễ và cây mô xoan ta hoàn chỉnh

Chồi đạt kích thước chiều cao 3-5 cm được chuyển sang môi trường kích thích tạo rễ: MS có bổ sung IBA nồng độ khác nhau, pH=5,8. Sau đó cây được trồng trên giá thể đất và đất mùn với tỉ lệ 1:1. Số mẫu  $\geq 30$  mẫu/lô thí nghiệm.

#### 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành năm 2018 tại phòng thí nghiệm và nhà lưới thực nghiệm Khoa Sinh-KTNN, Trường ĐHSP Hà Nội 2.

#### 2.4. Xử lý số liệu

Số liệu thu được được trình bày bằng  $MEAN \pm SE$ . Các kết quả thu được được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel. Số mẫu đem nghiên cứu  $\geq 30$  mẫu/lô thí nghiệm.

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng khi dùng dung dịch Javen 5% đến khả năng tạo mẫu sạch

Trong nuôi cấy mô thực vật, quá trình tạo mô sẹo hay còn gọi là quá trình vào mẫu nuôi cấy mô là một bước làm khó, trong đó phương pháp khử trùng mẫu là yếu tố rất quan trọng. Do vậy, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu tạo mẫu sạch và thu được kết quả ở Bảng 1.

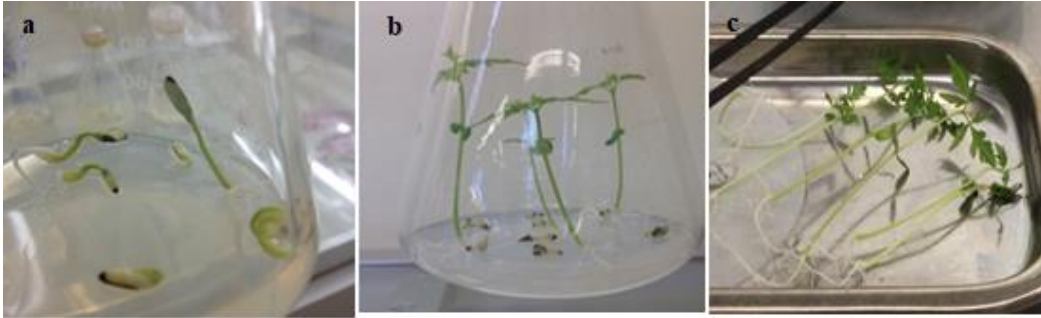
**Bảng 1.** Ảnh hưởng của thời gian khử trùng khi dùng dung dịch Javen 5% đến khả năng tạo mẫu sạch

Hóa chất	Thời gian khử trùng (phút)	Thời gian khử lần 1 (phút)	Thời gian khử lần 2 (phút)	Tỉ lệ mẫu chết (%)	Tỉ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỉ lệ mẫu sạch nảy mầm (%)
Javen 5%	30	30	-	30,00	50,00	20,00
		15	15	20,00	36,67	43,33
	40	40	-	16,67	33,33	50,00
		<b>20</b>	<b>20</b>	<b>3,33</b>	<b>10,00</b>	<b>86,67</b>
	50	50	-	46,67	10,00	43,33
		25	25	23,33	26,67	50,00

Kết quả thu được ở Bảng 1 cho thấy: dùng chất khử trùng Javen 5% với thời gian từ 30-50 phút thì số mẫu bị chết tăng, tương ứng từ 20-46,67%, số mẫu bị nhiễm giảm từ 50-10%. Khi chia thời gian khử làm 2 lần với tổng thời gian không đổi thì lượng mẫu chết khác nhau, cụ thể ở thời gian khử trùng trong 40 phút: tỉ lệ mẫu chết khi khử trùng liên tục là 16,67% và khi chia làm 2 lần khử trùng là 3,33%. Trong các công thức nghiên cứu này thì khử trùng Javen 5% ở thời gian 40 phút (2 lần) cho tỉ lệ tái sinh tốt nhất lên tới 86,67% sau 5-7 ngày, mẫu sạch nảy mầm thành các cây sạch khỏe, sinh trưởng, phát triển (Hình 1b) tốt hơn so với khử trùng vào mẫu bằng các công thức khác. Ở công thức này tỉ lệ mẫu nhiễm và chết tương đối thấp tương ứng 10% và 3,33%.

Như vậy, công thức khử trùng phôi hạt xoan ta phù hợp nhất là Javen 5% làm chất khử trùng với thời gian 40 phút chia làm 2 lần, mỗi lần 20 phút để tạo mẫu sạch từ hạt xoan ta cho tỉ lệ mẫu sạch nảy mầm cao, đạt 86,67%. Kết quả cho thấy, ở công thức khử

trùng này, chồi mầm xoan ta được sử dụng làm nguyên liệu thực vật cho các thí nghiệm tiếp theo (Hình 1a, b, c).



**Hình 1.** Mẫu sạch được tạo từ hạt xoan ta

a: Phôi mầm 02 tuần tuổi; b: Cây con 03 tuần tuổi; c: Cây con 04 tuần tuổi

### 3.2. Ảnh hưởng của sự phối kết hợp các chất điều hòa sinh trưởng tới khả năng tạo mô sẹo

Mô sẹo là những khối tế bào chưa phân hóa chức năng. Những thân và rễ bất định thường được phân hóa từ mô sẹo. Chất lượng mô sẹo ảnh hưởng trực tiếp tới khả năng tái sinh và sức sống của cây non sau này. Việc nghiên cứu kỹ các yếu tố tác động tới mô sẹo và tìm ra hàm lượng chính xác các chất điều hòa sinh trưởng cũng như loại vật liệu ban đầu cho chất lượng mô sẹo tốt nhất là điều kiện cần thiết. Chúng tôi tiếp tục cải biến môi trường tạo mô sẹo của Hồ Văn Giảng và nnk. (2010) bằng cách sử dụng hai chất kích thích sinh trưởng là BAP và NAA bổ sung vào môi trường tạo mô sẹo từ hai vật liệu thực vật khác nhau.

#### Vật liệu từ lá mầm xoan ta

Lá của cây xoan ta được cắt thành mảnh nhỏ có kích thước 1,5 x 1,5 cm và được cấy lên môi trường tạo mô sẹo. Kết quả nghiên cứu thu được trình bày ở Bảng 2.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tạo mô sẹo từ vật liệu lá mầm xoan ta

Thí nghiệm	BAP (mg/L)	NAA (mg/L)	Tỉ lệ tạo mô sẹo (%) ± SD	Đặc điểm mô sẹo
ĐC	-	-	00,00	
CT1	1,0	1,0	43,33 ± 0,58	Trắng, xanh, cứng
<b>CT2</b>	<b>1,0</b>	<b>1,5</b>	<b>93,33 ± 0,33</b>	<b>Trắng, xanh</b>
CT3	0,5	1	86,67 ± 0,62	Trắng, xanh, cứng
CT4	0,5	1,5	26,67 ± 0,84	Trắng, vàng, xốp

Kết quả thu được ở Bảng 2 cho thấy, khi bổ sung chất điều hòa sinh trưởng vào môi trường nuôi cấy đã kích thích khả năng tạo mô sẹo từ vật liệu lá mầm khá tốt, tất cả các công thức đều cho tỉ lệ tạo mô sẹo cao hơn công thức đối chứng. Ở công thức đối chứng không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng, không có mẫu nào tạo được mô sẹo, khi bổ sung chất điều hòa sinh trưởng BAP là 1 mg/L, NAA tăng dần 1-1,5 mg/L thì khả năng cảm ứng tạo mô sẹo tăng theo. Tuy nhiên, số lượng và chất lượng mô sẹo cũng thay đổi theo hàm lượng NAA, khi nồng độ tăng lên thì tỉ lệ mẫu tạo mô sẹo cũng tăng lên từ 43,33 đến

93,33%. Khi giảm nồng độ BAP xuống 0,5 mg/L, NAA từ 1 - 1,5 mg/L, kết quả cho thấy tỉ lệ hình thành mô sẹo giảm mạnh, thấp nhất ở CT4 (26,67%), chất lượng mô sẹo cũng thay đổi chuyển từ xanh, cứng sang vàng, xốp. Nguyên nhân của hiện tượng này do tỷ lệ auxin/cytokinin cao, dẫn đến tăng tỉ lệ tạo mô sẹo ở CT2. Ở CT3 và CT4, tỷ lệ tạo mô sẹo giảm, điều này có nghĩa khi giảm nồng độ các chất thuộc nhóm cytokinin sẽ làm cho tỷ lệ tạo mô sẹo giảm. Kết quả nghiên cứu cho thấy 2 công thức: CT2, CT4 đều cho tỉ lệ mô sẹo cao tuy nhiên chất lượng mô sẹo có ảnh hưởng rất lớn đến khả năng tái sinh chồi, do đó ở môi trường CT2 chỉ rõ màu sắc trắng, xanh, cứng là công thức thích hợp nhất để tạo mô sẹo (Hình 2a, b,c). Như vậy, đối với vật liệu lá mầm, môi trường thích hợp để tạo mô sẹo là MS có bổ sung 1 mg/L BAP, 1,5 mg/L NAA cho tỷ lệ tạo mô sẹo cao nhất, đạt 93,33%. Mô sẹo có đặc điểm hình thái tốt, có màu trắng, xanh. Kết quả này cũng tương đương với kết quả của Bùi Văn Thắng và nnk. (2013).

### Vật liệu từ thân mầm xoan ta

Thân mầm xoan ta được cắt thành các đoạn nhỏ có chiều dài 0,5cm, được cấy lên môi trường tạo mô sẹo. Kết quả thu được thể hiện ở Bảng 3.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tạo mô sẹo từ vật liệu thân mầm xoan ta

Thí nghiệm	BAP (mg/L)	NAA (mg/L)	Tỉ lệ tạo mô sẹo (%) $\pm$ SD	Đặc điểm mô sẹo
ĐC	-	-	-	-
CT1	1,0	1,0	46,67 $\pm$ 0,52	Trắng, xanh, xốp
<b>CT2</b>	<b>1,0</b>	<b>1,5</b>	<b>96,67 <math>\pm</math> 0,56</b>	<b>Trắng, xanh, xốp</b>
CT3	0,5	1	86,67 $\pm$ 0,92	Trắng, xanh, xốp
CT4	0,5	1,5	33,33 $\pm$ 0,62	Trắng, vàng, xốp

Xét chi tiết kết quả thể hiện ở Bảng 3 cho thấy: thân xoan ta nuôi cấy trên môi trường tạo mô sẹo trong 30 ngày đã cho kết quả tốt hơn so với vật liệu từ lá mầm. Tỉ lệ tạo mô sẹo đạt từ 33,33-96,67%, màu sắc và đặc điểm của mô sẹo cũng thay đổi rất nhanh. Khi môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng thì không xuất hiện mô sẹo. Khi tăng chất điều hòa sinh trưởng, khả năng tạo mô sẹo cũng tăng và đạt tỉ lệ cao nhất ở CT2 là 96,67%. Đặc điểm cho mô sẹo cũng thay đổi, khi tăng chất điều hòa sinh trưởng NAA từ 1-1,5mg/L, BAP là 0,5mg/L thì chất lượng mô sẹo sẽ giảm theo màu sắc từ trắng, xanh, xốp sang trắng, vàng, xốp.



**Hình 2.** Mô sẹo được hình thành sau 5 tuần nuôi cấy

*a: Mô sẹo từ vật liệu lá; b: Mô sẹo từ vật liệu thân; c: Mô sẹo từ các đoạn thân khác nhau*

Ở đây, khi quan sát tỉ mỉ thì hầu hết ở các công thức nuôi cấy mô sẹo đều xốp. So với kết quả của Hồ Văn Giảng và nnk. (2010), Đỗ Xuân Đồng và nnk. (2008) khi nuôi cấy mô sẹo từ các vật liệu cũng như các vị trí thân mầm, lá mầm khác nhau thì đều cho tỉ lệ khác nhau. Điều này cũng chỉ rõ rằng chất lượng và tỉ lệ tạo mô sẹo còn phụ thuộc vào độ già của thân và lá mầm, thân mầm, lá mầm càng già thì càng khó tạo mô sẹo. Như vậy, chất lượng mô sẹo tốt, tỉ lệ tạo mô sẹo cao nhất ở CT2 đạt 96,67% và màu sắc là màu trắng, xanh, xốp (Hình 2a, b, c).

### 3.3. Ảnh hưởng của phối kết hợp các chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh chồi của mô sẹo

Khả năng tái sinh chồi của cây phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó chất điều hòa sinh trưởng đóng vai trò quan trọng để chồi phát triển nhiều và tốt. Vì vậy, việc nghiên cứu công thức thí nghiệm thay đổi chất điều hòa sinh trưởng là cần thiết để xác định được công thức thích hợp nhất cho khả năng tái sinh chồi tốt nhất.

Sử dụng những mô sẹo đã lục hóa đem nuôi cấy trong môi trường tái sinh tạo chồi để kiểm tra khả năng tái sinh của mô sẹo. Sau 04 tuần khảo sát, kết quả thu được thể hiện ở Bảng 4.

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh từ mô sẹo

CTTN	BAP (mg/L)	NAA (mg/L)	Kinetin (mg/L)	Tỉ lệ tái sinh (%) $\pm$ SD
ĐC	-	-	-	00,00
CT1	0,2	0,2	-	23,33 $\pm$ 0,33
CT2	0,2	-	0,5	46,67 $\pm$ 0,64
CT3	0,2	0,2	0,5	73,33 $\pm$ 0,92
<b>CT4</b>	<b>0,3</b>	<b>0,2</b>	<b>0,5</b>	<b>96,67 <math>\pm</math> 0,58</b>
CT5	0,3	-	0,5	53,33 $\pm$ 0,41
CT6	0,3	0,2	-	33,33 $\pm$ 0,34

Kết quả thu được ở Bảng 4 cho thấy, trên môi trường dinh dưỡng bổ sung chất điều hòa sinh trưởng với hàm lượng khác nhau cho kết quả của mô sẹo tái sinh chồi là khác nhau, tất cả các công thức đều cho tỉ lệ mô sẹo tái sinh cao hơn công thức đối chứng, các công thức dùng để tái sinh mô sẹo đều cho kết quả mô sẹo tạo chồi.

Ở công thức đối chứng không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng, tỉ lệ mô sẹo tái sinh là rất thấp, do vật liệu tái sinh là mô sẹo nên khi không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng hoặc quá ít thì mô sẹo không thể kích thích tái sinh tạo thành chồi. Khi bổ sung chất điều hòa sinh trưởng BAP là 0,2 mg/L, bổ sung thay đổi là NAA 0,2 mg/L và Kinetin 0,5 mg/L thì khả năng tái sinh mô sẹo thay đổi từ 23,33% - 46,67%. Tỉ lệ tái sinh mô sẹo chỉ ở mức trung bình. Nhưng khi lần lượt cho cả 3 chất với nồng độ BAP 0,2 mg/L, NAA 0,2 mg/L, kinetine 0,5 mg/L, khả năng tái sinh thay đổi rõ rệt lên tới 73,33%. Sở dĩ có hiện tượng này vì khi bổ sung một lượng hợp lí kinetin (một loại hoocmon sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin) sẽ làm tăng khả năng tái sinh của mô sẹo. Khi tăng hàm lượng BAP lên 0,3 mg/L, cũng bổ sung thay thế là NAA 0,2 mg/L và kinetin 0,5 mg/L thì tỉ lệ tái sinh mô sẹo thay đổi từ 33,33% lên 53,33%. Khi có cả 3 chất thì tỉ lệ tái sinh mô sẹo là

96,67%. Tất cả các công thức bổ sung chất điều hòa sinh trưởng đều thích hợp với khả năng tạo chồi. Công thức có chứa tất cả 3 chất BAP, NAA, kinetin cho tỉ lệ tái sinh mô sẹo cao nhất so với các công thức còn lại (Hình 3 a, b, c). Tỷ lệ này cho kết quả cao hơn so với kết quả của Bùi Văn Thắng và nnk. (2013), nguyên nhân của hiện tượng này có thể do sự kết hợp thêm của kinetin làm tăng hiệu quả tái sinh.



**Hình 3.** Chồi tái sinh từ mô sẹo sau 3-5 tuần nuôi cấy

a: chồi tái sinh sau 3 tuần nuôi cấy, b: chồi tái sinh sau 04 tuần, c: chồi tái sinh sau 05 tuần

Như vậy, công thức tối ưu để tái sinh mô sẹo tạo chồi là CT4 có thành phần: MS có bổ sung 0,3 mg/L BAP, 0,2 mg/L NAA và 0,5 mg/L kinetin. Khi sử dụng công thức nuôi cấy này, tỉ lệ tạo chồi là 96,67%. Chồi tái sinh từ mô sẹo mọc khỏe mạnh, xanh tốt, có thể tạo cây non hoàn chỉnh.

### 3.4. Tạo rễ và cây mô hoàn chỉnh

Chồi xoan ta tái sinh từ các mô sẹo được chuyển sang môi trường ra rễ để tạo cây hoàn chỉnh và trồng vào bầu huân luyện ngoài môi trường tự nhiên. Kết quả thể hiện như Bảng 5.

**Bảng 5.** Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ của cây xoan ta in vitro

Công thức	Nồng độ IBA (mg/L)	Tỉ lệ tạo rễ (% ± SD)	Hình thái rễ
ĐC	0	-	-
TR1	0,5	28,33 0 ± 0,58	Rễ bé, hơi vàng
TR2	1	50,67 ± 0,58	Rễ bé, có nhiều lông hút
<b>TR3</b>	<b>1,5</b>	<b>95,17 ± 0,64</b>	<b>Rễ to, nhiều lông hút</b>
TR4	2	40,67 ± 0,52	Không xuất hiện lông hút

Kết quả thu được ở Bảng 5 cho thấy, trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng chất điều hòa sinh trưởng là IBA thì khả năng tạo rễ của cây xoan ta là khá cao. Tỉ lệ chồi ra rễ là 95,17% với chất lượng rễ to, nhiều lông hút. Tiếp sau đó cây được trồng trên giá thể đất và đất mùn với tỉ lệ 1:1 (Hình 4 a, b).



**Hình 4.** a: Tạo rễ xoan in vitro, b: Cây mô hoàn chỉnh được trồng trong nhà lưới



#### 4. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu này, chúng tôi đã thiết lập được quá trình tái sinh cây xoan ta hiệu quả. Môi trường vào mẫu thích hợp nhất là khử trùng bằng Javen 5% trong thời gian 40 phút chia làm 2 lần lắc với dung dịch Javen 5%. Công thức tạo mô sẹo thích hợp nhất là môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/L NAA và 1 mg/L BAP tỉ lệ tạo mô sẹo từ lá mầm đạt 93,33% và từ thân mầm đạt 96,67%. Khi bổ sung 0,3 mg/L BAP, 0,2 mg/L NAA và 0,5 mg/L kinetin thì tỉ lệ tái sinh chồi đạt 96,67%. Việc tạo rễ và cây mô hoàn chỉnh cho kết quả cao nhất khi bổ sung thêm vào môi trường nuôi cấy IBA 1,5 mg/L, tỉ lệ chồi ra rễ nhiều và khỏe là 95,17%. Quy trình này đã được tối ưu trên cây xoan ta để sử dụng cho các nghiên cứu chuyên sâu tiếp theo.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anonymous, 2003. The wealth of India, raw materials. Publication and Information Directorate. CSIR, New Delhi VI: 323-325.
- Ahmad Z., Zaidi N., Shah F., 1990. Micropropagation of *Melia azedarach* from mature tissue. Pak J Bot, 22: 172-178.
- Domecq C.M., 1988. *In vitro* culture of shoot tips of *Melia azedarach* var. *gigantea*. Phyton, 48: 33-42.
- Đỗ Xuân Đồng, Bùi Văn Thắng, Hồ Văn Giảng, Nông Văn Hải, Chu Hoàng Hà, 2008. Nghiên cứu hệ thống tái sinh cây Xoan ta (*Melia azedarach* L.) thông qua phôi soma từ thân mầm phục vụ chuyên gen. Tạp chí Công nghệ Sinh học, 6 (2): 227-232.
- Hồ Văn Giảng, Hà Văn Huân, Vũ Kim Dung, Chu Hoàng Hà, Bùi Văn Thắng, 2011. Tạo giống Xoan ta (*Melia azedarach* L.) sinh trưởng nhanh bằng kỹ thuật chuyên gen. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn 3 (2): 11-14.
- Bùi Văn Thắng, Lê Văn Sơn, Chu Hoàng Hà, 2013. Chuyển gen CodA mã hóa choline vào cây xoan ta *Melia azedarach* L. tăng cường khả năng chịu hạn. Tạp chí Khoa học và Công nghệ lâm nghiệp 2: 3-10.
- Huang R. C., Tadera K., Yagi F., Minami Y., Okamura H., Iwagawat T., Nakatani M, 1996. Limonoids from *Melia azedarach*. Phytochemistry, 43:581-583. doi:10.1016/0031-9422(96)00353-6.
- Schmidt G. H., Ahmed A. A. I., Breuer M., 1997. Effect of *Melia azedarach* extract on larval development and reproduction parameters of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (Hufn.) (Lep., Noctuidae) Anz. Scha. dlingskd. Pflanzenschutz Umweltschutz, 70: 4-12. doi:10.1007/BF02009609.
- Mohd K. H., Mohammad A., 2009. Rapid *in vitro* multiplication of *Melia azedarach* L. (a multipurpose woody tree). Acta Physiol Plant, 31: 765-772.
- Thakur R., Rao P.S., Bapat V. A., 1998. *In vitro* plant regeneration in *Melia azedarach*. Plant Cell Rep, 18:127-131. doi:10.1007/s002990050544.
- Vila S.K., Gonzalez A. M., Rey H. Y., Mroginski L. A., 2003. *In vitro* plant regeneration of *Melia azedarach* L. shoot organogenesis from leaf explants. BiolPlant, 47: 13-19. doi:10.1023/A:1027364427795.



## STUDY ON PROCESS FOR REGENERATION OF SHOOTS FROM CALLUS OF *Melia azedarach* L.

Nguyen Van Phong<sup>1</sup>, Nguyen Thi Kim Anh<sup>2</sup>, Phan Thi Thu Hien<sup>2,\*</sup>

**Abstract:** The regeneration system of multiple shoots from scar tissue of *Melia azedarach* L. was built as one of the initial measures to help improve the quality of plant varieties. The research results show that, with the starting material of *Melia azedarach* L. seeds, the optimal environment is basic MS for good growth of sprouts. From *in vitro* germplasm, stems and leaves are separated and cultured to create scar tissue. The results showed that MS medium supplemented with 1.0 mg/L BAP and 1.5 mg/L NAA was the optimal experimental formula for creating callus with both cotyledon and stem section material. The callus was 93.33% and 96.67% respectively. The callus was then transferred to a shoot regeneration medium with optimal MS regeneration formula, and supplemented with 0.3 mg/L BAP, 0.5 mg/L kinetin and 0.2 mg/L NAA. The rate of shoot formation was highest at 96.67%. An appropriate rooting medium is MS supplemented with 1.5 mg/L NAA, giving the rooting ratio of 95.17%, strong roots and a lot of feathering. This study successfully established a regeneration system of multiple shoots from the callus of *Melia azedarach* L. This protocol can be applied to study transgenic experiments or to quickly multiply shoots of *Melia azedarach* L.

**Keywords:** *Melia azedarach* L., callus, regeneration.

---

<sup>1</sup>Vietnam National University of Forestry

<sup>2</sup>Hanoi Pedagogical University 2

\*Email: hienphandt87@gmail.com