

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG CÂY ĐÀN HƯƠNG TRẮNG (*Santalum album* L.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY MÔ

Khuất Thị Hải Ninh¹, Nguyễn Thị Thơ¹, Kiều Thị Dung¹,
Kiều Trí Đức¹, Vũ Quang Nam¹, Vũ Thoại²

¹Trường Đại học Lâm nghiệp

²Viện nghiên cứu cây Đàn hương và Thực vật quý hiếm

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.2022.2.014-021>

TÓM TẮT

Đàn hương trắng (*Santalum album* L.) là loài cây trồng mang lại giá trị sử dụng cao. Gỗ Đàn hương trắng thường được dùng để sản xuất ra các mặt hàng có giá trị như hàng đồ gỗ mỹ nghệ, đồ gia dụng cao cấp, trang trí nội thất, dùng chiết suất tinh dầu, chất dẫn xuất nước hoa, sử dụng trong ngành mỹ phẩm để làm đẹp, chăm sóc da. Hiện nay, nhu cầu cây giống trong nước ngày càng lớn, vì vậy việc nghiên cứu nhân giống tại chỗ nhằm giảm giá thành cây giống là rất cần thiết giúp cung cấp cây giống chất lượng với số lượng lớn cho sản xuất. Kết quả nghiên cứu nhân giống Đàn hương trắng bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* cho thấy: Công thức khử trùng hiệu quả nhất để tạo mẫu sạch Đàn hương trắng sử dụng HgCl₂ 0,1%, trong vòng 4 phút cho 66,67% mẫu sạch này chồi hữu hiệu. Môi trường thích hợp để nhân nhanh chồi MS + 0,2 mg/l BAP + 0,3 mg/l Kinetin + 0,15 mg/l NAA + 30 g/l Glucose (với hệ số nhân chồi 17,01 lần và chiều cao chồi 2,72 cm). Môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l IBA là phù hợp để tạo rễ cây Đàn hương trắng cho tỷ lệ chồi tạo rễ cao nhất (71,12%), chiều dài rễ đạt 1,93 cm, chất lượng rễ tốt.

Từ khoá: BAP, IBA, Đàn Hương trắng, *in vitro*, nhân giống.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đàn hương trắng có tên khoa học là *Santalum album* L., còn gọi là Bạch đàn hương hay Bạch đường, là một loài thực vật có hoa trong họ Santalaceae. Cây Đàn hương trắng mang lại giá trị sử dụng cao, gần như tất cả các bộ phận của cây đều được sử dụng như: thân, gốc, cành, lá, giác gỗ... Gỗ Đàn hương trắng thường được dùng để sản xuất ra các mặt hàng có giá trị cao như hàng đồ gỗ mỹ nghệ, đồ gia dụng cao cấp, trang trí nội thất, dùng chiết suất tinh dầu, chất dẫn xuất nước hoa, sử dụng trong ngành mỹ phẩm để làm đẹp, chăm sóc da. Tinh dầu hạt đàn hương có tác dụng điều trị hiệu quả cho cả da khô và da lão hóa vì nó làm tăng độ ẩm và có thể cải thiện việc bảo vệ chống lại các nếp nhăn, đồng thời kích thích tuần hoàn máu. Qua nghiên cứu chỉ ra rằng, tinh dầu hạt Đàn hương giúp cải thiện độ đàn hồi của da và có tác dụng làm se, làm cho da săn chắc hơn (Vu Van Thoai *et al.*, 2020).

Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn ngày 22/4/2019 đã ban hành Quyết định số 1305/QĐ-BNN-TCLN về việc công nhận giống

cây trồng cây lâm nghiệp mới đối với giống cây Đàn hương trắng có xuất xứ Karnataka - Ấn Độ. Giống do Viện Nghiên cứu cây Đàn hương và Thực vật quý hiếm nhập nội và sản xuất thử nghiệm đã được trồng tại một số địa phương như: huyện Buôn Đôn, thành phố Buôn Mê Thuột (Đắk Lắk); huyện Lục Ngạn (Bắc Giang); huyện Thạch Thất, thị xã Sơn Tây (Hà Nội) và một số vùng sinh thái tương tự. Từ kết quả nghiên cứu này, Viện đã chọn lọc ra các cây trội có sinh trưởng nhanh, hàm lượng tinh dầu cao làm cơ sở cho các bước chọn giống tiếp theo.

Do loài cây này mới được du nhập về Việt Nam, nguồn hạt giống phải nhập từ nước ngoài, đặc biệt là từ Ấn Độ, hạt tỷ lệ nảy mầm thấp (chỉ từ 20-60%, nếu dùng GA₃ để kích thích nảy mầm sẽ ảnh hưởng đến việc phát triển lõi gỗ và hàm lượng tinh dầu do GA₃ làm dẫn tế bào) (Vu Van Thoai *et al.*, 2020), những nguyên nhân trên đã làm cho giá cây giống rất cao (80.000 – 100.000 đồng/cây, cao từ 25 – 30 cm). Mặt khác, nhu cầu cây giống trong nước ngày càng lớn, nên việc nghiên cứu nhân giống tại chỗ nhằm giảm giá thành cây giống là rất cần thiết.

Trong đó, nhân giống *in vitro* là một phương pháp nhân giống với nhiều ưu điểm như: hệ số nhân giống cao, đáp ứng đủ và kịp thời cho sản xuất. Vì vậy, “Nghiên cứu nhân giống Đàn hương trắng (*Santalum album* L.) bằng phương pháp nuôi cấy mô” giúp cung cấp cây giống với số lượng lớn cho sản xuất và góp phần hạ giá cây giống Đàn hương, góp phần hạ giá thành trồng rừng ở trong nước.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và địa điểm nghiên cứu

- *Vật liệu nghiên cứu*: Mẫu được sử dụng là chồi non được lấy từ cây mẹ 2 năm tuổi đã được chọn lọc, do Viện nghiên cứu Đàn hương và thực vật quý hiếm (ISAF) cung cấp.

- *Địa điểm nghiên cứu*: Thí nghiệm được tiến hành tại phòng Nuôi cấy mô - tế bào thực vật thuộc Viện Công nghệ sinh học Lâm nghiệp, Trường Đại học Lâm nghiệp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Nghiên cứu được tiến hành theo các bước tạo mẫu sạch, nhân nhanh chồi và tạo cây con hoàn chỉnh. Mỗi công thức thí nghiệm được bố trí 3 lần lặp, mỗi lặp 30 mẫu.

a) Tạo mẫu sạch từ chồi (thí nghiệm 1)

- *Chọn mẫu cây*: Mẫu được sử dụng là chồi non được lấy từ cây mẹ 2 năm tuổi đã được trẻ hóa trước thời điểm nuôi cấy 3 tháng bằng cách chặt cách gốc 30-40 cm để tạo chồi non.

- *Làm sạch mẫu cây*: Mẫu cây được cắt bỏ toàn bộ lá, để lại cuống lá, rồi rửa mẫu dưới vòi nước chảy. Sau đó, cho mẫu vào khay (trong khay có nước xà phòng loãng), dùng chổi lông để chải mẫu, rửa lại mẫu cho sạch dưới vòi nước chảy và tráng lại mẫu bằng nước cất trước khi mang mẫu vào box cấy.

- *Khử trùng mẫu trong box cấy*: Đầu tiên mẫu được rửa bằng nước cất vô trùng 2 - 3 lần, mỗi lần rửa khoảng 2 - 3 phút. Mẫu cây được khử trùng bằng HgCl₂ 0,1% với thời gian khác nhau 2; 4; 6 và 8 phút (bảng 1). Sau khi khử trùng bằng HgCl₂ 0,1 %, mẫu được rửa lại bằng nước cất vô trùng và cấy vào môi trường MS + đường

Sucrose 30 g/l+ agar 5,5 g/l.

- Thu thập số liệu sau 4 tuần: Số mẫu sạch nảy chồi hữu hiệu (là những mẫu sạch và nảy chồi).

b) Nhân nhanh chồi

+ *Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh chồi (thí nghiệm 2)*

- Sau 4 tuần nuôi cấy, những mẫu sạch, không nhiễm nấm và khuẩn ở giai đoạn tạo mẫu sạch được cấy chuyển sang môi trường nhân nhanh chồi MS + 30 g/l Sucrose + 5,5 g/l agar có bổ sung kết hợp BAP (benzylaminopurine), Kinetin và NAA (naphtyl acetic acid) ở các nồng độ khác nhau (bảng 2).

- Thu thập số liệu sau 6 tuần nuôi cấy: Số mẫu tạo cụm chồi, chiều cao chồi (cm), số chồi/cụm và chất lượng chồi (Chồi tốt: màu xanh non và mập khỏe, Chồi trung bình: màu vàng và mập, Chồi kém: màu vàng nhạt và nhỏ).

+ *Ảnh hưởng của nồng độ các loại đường đến khả năng nhân nhanh chồi*

- Sử dụng môi trường nhân nhanh chồi với nồng độ các chất điều hòa sinh trưởng tốt nhất ở thí nghiệm 2 để cấy chuyển những mẫu sống khoẻ mạnh, không nhiễm nấm và khuẩn sang môi trường nhân nhanh chồi MS + 5,5 g/l agar có bổ sung Glucose và Sucrose với hàm lượng khác nhau (bảng 3).

- Thu thập số liệu sau 6 tuần nuôi cấy: Số mẫu tạo cụm chồi, chiều cao chồi (cm), số chồi/cụm và chất lượng chồi (Chồi tốt: màu xanh non và mập khỏe, Chồi trung bình: màu vàng và mập, Chồi kém: màu vàng nhạt và nhỏ).

2.2.2.3. Thí nghiệm tạo cây con hoàn chỉnh

- Các chồi khoẻ mạnh, chiều cao từ 2,5-3,0 cm thu được từ giai đoạn nhân nhanh được cắt và cấy chuyển sang môi trường tạo rễ. Trong giai đoạn này, tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng ra rễ của chồi. Thành phần môi trường gồm MS có bổ sung 5,5 g/l agar + 30 g/l glucose, bổ sung IBA (indole butiric acid) riêng rẽ và kết hợp với NAA (naphtyl acetic acid) ở các nồng độ khác nhau.

- Thu thập số liệu sau 8 tuần nuôi cấy: Số chồi ra rễ, chiều dài rễ (cm), số rễ/cây và chất lượng rễ (rễ tốt: Màu trắng, mập; rễ trung bình: màu trắng và nhỏ; rễ xấu: màu đen và nhỏ).

2.2.2. Phương pháp xử lý số liệu

So sánh giữa các công thức thí nghiệm về tỉ lệ mẫu sạch, tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi, tỉ lệ chồi ra rễ bằng tiêu chuẩn khi bình phương (χ^2), đồng thời tìm công thức tốt nhất bằng tiêu chuẩn U (so sánh 2 mẫu về chất). So sánh giữa các công thức thí nghiệm về số lượng chồi/cụm, chiều dài chồi, chiều dài rễ và số

lượng rễ/cây bằng phân tích phương sai một nhân tố, tìm công thức tốt nhất bằng tiêu chuẩn duncan.

Số liệu đã thu thập được xử lý bằng phần mềm SPSS (Nguyễn Hải Tuất và Nguyễn Trọng Bình, 2005) và phần mềm Excel.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo mẫu sạch và nuôi cấy khởi động

Nghiên cứu tạo mẫu sạch, HgCl₂ 0,1% đã được sử dụng với thời gian 2; 4; 6 và 8 phút để khử trùng mẫu chồi. Kết quả thu được sau 4 tuần nuôi cấy được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian xử lý HgCl₂ 0,1% đến khả năng tạo mẫu sạch cây Đàn hương trắng (sau 4 tuần nuôi cấy)

STT	Thời gian khử trùng bằng HgCl ₂ 0,1% (phút)	Mẫu sạch nảy chồi hữu hiệu	
		Số mẫu thí nghiệm	Tỷ lệ (%)
1	2	90	50,00
2	4	90	66,67
3	6	90	57,78
4	8	90	45,56
Sig			0,009

Từ bảng 1 cho thấy khi sử dụng HgCl₂ 0,1% để khử trùng mẫu với thời gian khử trùng khác nhau đã có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng tạo mẫu sạch (sig < 0,05).

Trong đó, khi khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,1% trong thời gian 4 phút cho tỉ lệ mẫu sạch nảy chồi hữu hiệu cao nhất (đạt 66,67%), nhưng khi xử lý mẫu trong thời gian 8 phút cho tỉ lệ mẫu sạch nảy chồi hữu hiệu thấp nhất (chỉ đạt 45,56%). Khi khử trùng mẫu ở thời gian ngắn trong 2 phút không đủ thời gian khử nấm, khuẩn nên mẫu dễ bị nhiễm và chết (50%). Như vậy, khi tăng thời gian khử trùng mẫu cấy bằng HgCl₂ 0,1% thì tỷ lệ mẫu sạch nảy chồi hữu hiệu tăng lên, tuy nhiên thời gian quá lâu làm cho mẫu chồi bị gây độc từ chất khử trùng dẫn đến làm chết mẫu. Công thức khử trùng đạt hiệu quả nhất đối với Đàn hương trắng khi sử dụng HgCl₂ 0,1% trong 4 phút (hình 1).



Hình 1. Mẫu sạch Đàn hương trắng được khử trùng bằng HgCl₂ 0,1% bắt đầu nảy chồi sau 4 tuần

Khi so sánh kết quả nghiên cứu trên với các nghiên cứu trước đó có sự khác biệt. Khande Bhagyashri Prabhakar (2016) sử dụng Tween 20 (2%) trong 20 phút và HgCl₂ (2%) trong 10 phút để khử trùng chồi Đàn hương trắng với tỉ lệ mẫu sạch nảy chồi hữu hiệu đạt 81,66 %. Một nghiên cứu khác của Sweekruti Barpanda *et al.*, (2017) cũng sử dụng HgCl₂ 0,1% trong 6 phút để khử trùng chồi cho tỉ lệ mẫu sạch nảy chồi hữu hiệu đạt 86,67%, Krishnakumar và

Parthiban (2018) sử dụng HgCl₂ 0,1% trong 5 phút để khử trùng chồi từ cây trưởng thành cho tỉ lệ mẫu sạch nảy chồi hữu hiệu đạt 65,75%. Sự khác biệt này có thể do mức độ hóa gỗ và độ nhiễm nấm khuẩn của chồi khi lấy trên cây mẹ có điều kiện sống khác nhau.

3.2. Nhân nhanh chồi

Bảng 2. Kết quả nhân nhanh chồi Đền hương trắng trên môi trường MS có bổ sung BAP, Kinetin và NAA (sau 6 tuần nuôi cấy)

STT	Chất điều hòa sinh trưởng (mg/l)			Số mẫu cây (N)	Tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi (%)	Chiều cao chồi TB (cm)	Hệ số nhân chồi TB (lần)	Chất lượng chồi
	BAP	Kinetin	NAA					
1	0,2	0,2	0,15	90	100	1,79	9,10	TB
2	0,2	0,3	0,15	90	100	1,92	10,17	TB
3	0,2	0,4	0,15	90	100	1,87	9,33	Kém
4	0,2	0,5	0,15	90	100	1,81	8,47	Kém
Sig						0,02	0,07	
Lsd						0,04	0,54	
5	0,10	0,2	0,15	90	100	1,65	8,13	Kém
6	0,15	0,2	0,15	90	100	1,77	8,84	TB
7	0,25	0,2	0,15	90	100	1,70	8,74	TB
Sig						0,02	0,042	
Lsd						0,06	0,55	

Ghi chú: TB: Trung bình.

Số liệu ở bảng 2 cho thấy, các công thức thí nghiệm khác nhau đều cho 100% mẫu nảy chồi, điều này chứng tỏ Đền hương trắng có năng lực tái sinh chồi rất tốt. Mặc dù vậy, khi sử dụng các chất điều hòa sinh trưởng riêng rẽ hay kết hợp ở các nồng độ khác nhau đã có ảnh hưởng rõ rệt đến hệ số nhân chồi, chiều cao chồi (sig < 0,05) và chất lượng chồi.

Môi trường nuôi cấy cố định 0,2 mg/l BAP và 0,15 mg/l NAA, chỉ thay đổi nồng độ của Kinetin (từ 0,2 – 0,5 mg/l), công thức MS + 0,2 mg/l BAP + 0,15 mg/l NAA + 0,3 mg/l Kinetin cho kết quả tốt nhất với hệ số nhân chồi 10,17 chồi/cụm, chiều cao chồi trung bình là 1,92 cm. Trong khi đó, khi tăng nồng độ Kinetin lên 0,5 mg/l làm giảm hệ số nhân chồi (8,47 chồi/cụm), chiều cao chồi (1,81 cm) và chất lượng chồi cũng bị ảnh hưởng. Như vậy, có thể thấy bổ sung Kinetin trong môi trường giúp thúc đẩy sự phân chia tế bào và hoạt động trong các quá trình tăng trưởng, tăng hệ số nhân chồi, đồng thời làm giảm quá trình già hóa của cây.

Khi cố định 0,2 mg/l Kinetin và 0,15 mg/l NAA chỉ thay đổi nồng độ của BAP (0,1 - 0,25

3.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh chồi

Những mẫu sạch, khoẻ mạnh, không nhiễm nấm và vi khuẩn được cấy chuyển sang môi trường nhân nhanh chồi. Kết quả thu được sau 6 tuần nuôi cấy được thể hiện ở bảng 2.

mg/l) kết quả cho thấy công thức bổ sung 0,1 mg/l BAP hệ số chồi (8,13 chồi/cụm), chiều cao chồi trung bình (1,65 cm) thấp nhất, chất lượng chồi kém. Khi tăng nồng độ BAP (0,15 mg/l) hệ số nhân chồi (8,84 chồi/cụm), chiều cao chồi (1,77 cm) đều tăng lên, chất lượng chồi khá hơn song chỉ ở mức độ trung bình. Tuy nhiên khi tăng nồng độ BAP lên (0,25 mg/l) chiều cao chồi (1,70 cm), hệ số nhân (8,74 chồi/cụm) lại giảm, đồng thời chất lượng chồi xấu, rụng lá và hơi ngả vàng. Có thể thấy, khi sử dụng BAP ở nồng độ phù hợp (0,15 mg/l) giúp thúc đẩy sự sinh trưởng chồi nách, tăng trưởng chồi.

So sánh với nghiên cứu của Sanjaya *et al.*, (2006) môi trường tạo cụm chồi tối ưu nhất là MS + 0,1 mg/l NAA + 2,5 mg/l BAP (60% chồi tạo cụm, tăng trưởng chồi từ 0,5 – 2 cm, hệ số nhân chồi là 10 lần sau 90 ngày nuôi cấy). Theo nghiên cứu của Janarthanam và Sumathi (2011) thì môi trường MS + 1 mg/l 2iP (2-isopentenyl adenine) + CoM 10% tạo cụm chồi tốt nhất, 71,6% chồi tạo cụm, chiều cao chồi là 2,9 cm sau 45 ngày nuôi cấy. Như vậy, có thể thấy các nghiên cứu trên cho tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi chỉ

60-70%. Trong khi kết quả nghiên cứu này đều cho tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi đạt 100%. Có thể thấy việc bổ sung thêm Kinetin trong môi trường nuôi cấy đã có hiệu quả rõ rệt. Như vậy, môi trường MS bổ sung MS + 0,2 mg/l BAP + 0,3 mg/l Kinetin + 0,15 mg/l NAA là phù hợp để nhân nhanh chồi Đàn hương trắng.

Tuy nhiên sau 1 thời gian nuôi cấy chồi bắt đầu hơi ngả sang màu vàng và rụng lá (hình 2).



Hình 2. Cụm chồi bị vàng và rụng lá trong môi trường MS + 0,2 mg/l BAP + 0,3 mg/l K + 0,15 mg/l NAA + 30 g/l Sucrose sau 6 tuần nuôi cấy

Bảng 3. Ảnh hưởng của hàm lượng các loại đường đến khả năng nhân nhanh chồi Đàn hương trắng (sau 6 tuần nuôi cấy)

STT	Nồng độ các loại đường (g/l)		Số mẫu TN	Tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi (%)	Chiều cao chồi (lần)	Hệ số nhân chồi (cm)	Chất lượng chồi	
	Sucrose	Glucose						
1	0	40	90	100	2,53	13,01	Tốt	
2	0	30	90	100	2,72	17,01	Tốt	
3	10	20	90	100	2,32	12,37	TB	
4	20	10	90	100	2,01	11,16	TB	
5	30	0	90	100	1,92	10,17	TB	
					TB	2,3	12,34	
					Sig	0,0001	0,0001	
					Lsd	0,06	0,96	

Số liệu bảng 3 cho thấy hàm lượng các loại đường có ảnh hưởng rõ rệt đến hệ số nhân nhanh chồi, chiều cao chồi, đồng thời chất lượng chồi cũng được cải thiện đáng kể. Khi bổ sung kết hợp đường Glucose và Sucrose vào môi trường nuôi cấy cho hiệu quả tốt hơn so với chỉ sử dụng đường Sucrose. Mặc dù vậy, sử dụng riêng rẽ đường Sucrose hoặc kết hợp với Glucose sau 3-4 tuần nuôi cấy chồi vẫn có hiện tượng rụng lá và hơi ngả vàng. Tuy nhiên, khi môi trường nuôi cấy chỉ bổ sung 30 g/l Glucose thì chất lượng

Nguyên nhân có thể do Đàn hương trắng là cây bán ký sinh, phải hút dinh dưỡng từ cây ký chủ để sinh trưởng và phát triển, do vậy khả năng tự tổng hợp các chất dinh dưỡng kém. Để khắc phục hiện tượng này, nghiên cứu tiếp tục sử dụng công thức nhân nhanh chồi MS + 0,2 mg/l BAP + 0,3 mg/l Kinetin + 0,15 mg/l NAA thay đổi nồng độ các loại đường với hy vọng khắc phục được hiện tượng trên.

3.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng nồng độ các loại đường đến khả năng nhân nhanh chồi Đàn hương trắng

Để khắc phục hiện tượng chồi rụng lá, ngả vàng, môi trường MS + 0,2 mg/l BAP + 0,3 mg/l Kinetin + 0,15 mg/l NAA bổ sung nồng độ các loại đường khác nhau đã được sử dụng để nghiên cứu khả năng nhân nhanh chồi. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.

lượng chồi xanh, mập, khỏe, phát triển tốt, không còn hiện tượng rụng lá và ngả vàng, hệ số nhân chồi đạt 17,01 lần, chiều cao chồi trung bình đạt 2,72 cm. Khi tăng hàm lượng đường Glucose lên 40 g/l, hệ số nhân chồi và chiều cao chồi lại có xu hướng giảm (trương ứng đạt 13,01 lần và 2,53 cm). Khi sử dụng đường đơn (Glucose), cây sử dụng trực tiếp được dinh dưỡng ngay từ giai đoạn ban đầu giúp cho chồi xanh, mập, phát triển tốt.



Hình 3. Cụm chồi đàn hương trắng khác phục hiện tượng rụng lá trong môi trường MS + 0,2 mg/l BAP + 0,3 mg/l K + 0,15 mg/l NAA bổ sung 30 g/l Glucose sau 6 tuần nuôi cấy

Như vậy môi trường MS bổ sung 0,2 mg/l BAP + 0,3 mg/l Kinetin + 0,15 mg/l NAA và 30 g/l Glucose là phù hợp để tăng khả năng tạo cụm chồi Đàn hương trắng (hình 3).

3.3. Ảnh hưởng của chất điều hoà sinh trưởng đến khả năng ra rễ của chồi *in vitro*

Nghiên cứu khả năng ra rễ *in vitro* Đàn hương trắng bằng cách sử dụng môi trường MS có bổ sung riêng rẽ IBA hoặc kết hợp với NAA ở các nồng độ khác nhau. Kết quả tạo rễ *in vitro* được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của IBA, NAA đến khả năng ra rễ của chồi *in vitro* Đàn hương trắng (sau 8 tuần nuôi cấy)

STT	IBA (mg/l)	NAA (mg/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số lượng rễ TB/Chồi	Chiều dài rễ (cm)	Chất lượng rễ
1	0,3	0,0	65,67	1	1,42	TB
2	0,5	0,0	71,12	1	1,93	Tốt
3	0,7	0,0	61,12	1	1,51	TB
4	1,2	0,0	50,01	1	0,94	Kém
	Sig		0,0001		0,0001	
	Lsd				0,31	
5	0,3	0,25	50,00	1	1,26	TB
6	0,5	0,25	68,89	1	1,47	TB
7	0,7	0,25	58,89	1	0,83	TB
8	1,2	0,25	45,56	1	0,72	Kém
	Sig		0,0001		0,0001	
	Lsd				0,25	

Nghiên cứu khả năng ra rễ *in vitro* Đàn hương trắng bằng cách sử dụng môi trường MS có bổ sung chất IBA riêng rẽ và kết hợp với NAA ở các nồng độ khác nhau cho thấy chất điều hòa sinh trưởng chưa có ảnh hưởng rõ rệt đến số lượng rễ/chồi (tất cả các công thức thí nghiệm chỉ có 1 rễ/chồi), nhưng đã có ảnh hưởng rõ rệt đến chiều dài rễ, tỷ lệ chồi tạo rễ (sig < 0,05) và chất lượng rễ.

Khi sử dụng riêng rẽ IBA để nghiên cứu khả năng ra rễ của chồi *in vitro* Đàn hương trắng, ở

nồng độ 0,3 mg/l IBA cho kết quả tỷ lệ ra rễ (65,67%), chiều dài rễ (1,42 cm) và chất lượng rễ trung bình. Khi tăng nồng độ IBA lên 0,5 mg/l, cho hiệu quả tốt hơn, tỷ lệ chồi tạo rễ (71,12%), chiều dài rễ (1,93 cm) và chất lượng rễ tốt nhất. Tuy nhiên khi tăng nồng độ IBA (1,2 mg/l) lên quá cao làm giảm tỷ lệ chồi ra rễ (50,01%), giảm chiều dài rễ (0,94 cm) và rễ chất lượng kém. Khi sử dụng kết hợp NAA với IBA, công thức thí nghiệm 0,25 mg/l NAA + 0,5 mg/l IBA là tốt nhất với tỉ lệ chồi tạo rễ là

68,89%, chiều dài rễ đạt 1,47 cm. Tuy nhiên, vẫn kém hơn so với công thức chỉ sử dụng riêng rễ IBA nồng độ 0,5 mg/l.

So sánh kết quả nghiên cứu của Krishnakumar và Parthiban (2018) tác giả sử dụng đến 2 mg/l IBA để ra rễ chồi *in vitro* Đàn hương trắng xong tỉ lệ ra rễ chỉ đạt 66,25%, 4,89 rễ/chồi và chiều dài rễ đạt 4,72 cm. S. Aghi Zion Inbakani *et al.*, (2021) cũng sử dụng IBA với nồng độ 1mg/l cho tỉ lệ chồi ra rễ đạt 65%, chiều dài rễ đạt 4,72 cm. Hay kết quả nghiên cứu của Janarthanam và Sumathi (2011) môi trường tạo rễ thích hợp là ½ MS có bổ sung 0,5 mg/l IBA + 0,25 mg/l NAA + CoM 10% với chiều dài rễ trung bình 4,8 cm sau 6 tuần nuôi cấy. Mặc dù sử dụng nước cốt dừa 10% (CoM) cho kết quả tỷ lệ chồi ra rễ và số lượng rễ cao hơn, tuy nhiên, khi sản xuất cây giống trên qui mô lớn thì việc sử dụng nước cốt dừa làm tăng giá thành cây con.

Như vậy, khi sử dụng IBA ở nồng độ phù hợp (0,5 mg/l) giúp thúc đẩy việc kích thích quá trình tạo rễ *in vitro* Đàn hương trắng, đồng thời chất lượng rễ được cải thiện rõ rệt (hình 4).



Hình 4. Rễ Đàn hương trắng sau 8 tuần cấy chuyển sang môi trường rễ MS+0,5 mg/l IBA sử dụng 30 g/l Glucose

4. KẾT LUẬN

Công thức khử trùng hiệu quả nhất để tạo mẫu sạch Đàn hương trắng sử dụng HgCl₂ 0,1%, trong vòng 4 phút cho 66,67% mẫu sạch này chồi.

Môi trường thích hợp để nhanh nhanh chồi MS + 0,2 mg/l BAP + 0,3 mg/l Kinetin + 0,15

mg/l NAA + 30 g/l Glucose với hệ số nhân chồi 17,01 lần và chiều cao chồi 2,72 cm.

Môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l IBA là phù hợp để tạo rễ cây Đàn hương trắng cho tỷ lệ chồi tạo rễ cao nhất (71,12%), chiều dài rễ đạt 1,93 cm, chất lượng rễ tốt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hải Tuất, Nguyễn Trọng Bình (2005), *Khai thác và sử dụng SPSS để xử lý số liệu trong lâm nghiệp*. NXB Nông nghiệp, 203 trang.
2. Sweekruti Barpanda, Sashikala Beura, Sandeep Rout, and Prema Narayan Jagadev (2017). "Studies on *in vitro* regeneration of Sandalwood (*Santalum album* Linn) from Leaf disc explant" Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. pp 115 – 123.
3. Bele, Tripathi, Tiwari, Baghel and Tiwari (2012). "Microcloning of sandalwood (*Santalum album* Linn.) from cultured leaf discs". Journal of Agricultural Technology: pp 571-583.
4. Janarthanam and Sumathi (2011). "High Frequency Shoot Regeneration from Internodal Explants of *Santalum album* L." International Journal of Botany: pp 249-254.
5. Khande Bhagyashri Prabhakar (2016). "*Micropropagation studies in Indian Sandalwood Santalum album* (L.)". Publisher: Department of Botany, Dr. B. S. K. K. V., Dapoli, India, 92 pages.
6. Krishnakumar and Parthiban, (2018). Micropropagation (In vitro) techniques for sandal wood (*Santalum album* L.), Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry; pp 620-627.
7. Sanjaya, Muthan, Bagyalakshmi; Rathore, Thrilok Singh; Rai and Vittal Ravishankar (2006). "Micropropagation of an endangered Indian sandalwood (*Santalum album* L.)". Journal of Forest Research; Tokyo Vol. 11. pp 320 – 326.
8. S. Aghi Zion Inbakani, S. Sathishkumar and Bakan Jagdish Sudhakar (2021). "Micropropagation of *Santalum Album* L. (Sandalwood)". International Journal of Trend in Scientific Research and Development, pp. 1720-1722.
9. Vu Van Thoai, Ashutosh Srivastava and M Srinivasa Rao (2020). *Sandalwood Cultivation and Utilisation*. Publisher: Walnut Publication, 148 pages.

**RESEARCH ON PROPAGATION OF *Santalum album* L.
BY TISSUE CULTURE**

**Khuat Thi Hai Ninh¹, Nguyen Thi Tho¹, Kieu Thi Dung¹,
Kieu Tri Duc¹, Vu Quang Nam¹, Vu Thoai²**

¹*Vietnam National University of Forestry*

²*Institute of Sandal Wood and Rare flora*

SUMMARY

White sandalwood (*Santalum album* L., Santalaceae) is a plant species with high use-value. Its wood is often used to produce high-value products such as fine art furniture, high-class household appliances, interior decoration, essential oil extraction, perfume derivatives, and in the cosmetic industry for beauty, skincare. Currently, the domestic demand for seedlings of *Santalum album* is increasing, so it is necessary for propagation to reduce the cost of seedlings and to provide quality seedlings in large quantities for production. The results of *in-vitro* propagation's *Santalum album* showed that the optimal method for bud sterilization was soaked in HgCl 0.1% solution for 4 minutes and then culturing the sample with MS medium provided the proportion of reached survival rate of 66.67%. *Medium for shoot explants regeneration were* MS supplemented with 0.2 mg/l BAP, 0.3 mg/l Kinetin, 0.15 mg/l NAA, and 30 g/l (17.01 shoots per explants and shoot height 2.72 cm). MS medium supplemented with 0.5 mg/l IBA was suitable for rooting of *Santalum album* with the highest percentage of rooting shoots (71.12%), root length reaching 1.93 cm, and with good root quality.

Keywords: BAP, IBA, *in vitro*, propagation, *Santalum album* L.

Ngày nhận bài : 10/02/2022

Ngày phản biện : 14/3/2022

Ngày quyết định đăng : 28/3/2022