

THỬ NGHIỆM DỊCH TRÍCH NHÁNH KHOAI LANG (*Ipomoea batatas*) TRONG MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY LAN *Dendrobium lituiflorum*

Phan Thị Linh Giang, Võ Thị Bạch Mai

Khoa Sinh học, Trường đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 07 tháng 10 năm 2005, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 18 tháng 11 năm 2005)

TÓM TẮT: Bằng phương pháp sinh trắc nghiệm tìm hàm lượng tương đương chất điều hoà sinh trưởng thực vật chất (ĐHSTTV) nội sinh trong các nhánh khoai lang, dịch trích nhánh khoai lang thử nghiệm trong môi trường nuôi cấy in-vitro để theo dõi sự tăng trưởng và phát triển của mẫu vật cây lan con. Kết quả thí nghiệm cho thấy cây lan con tăng trưởng và phát triển tốt trong môi trường có dịch trích nhánh khoai lang, ở những vị trí đoạn nhánh khác nhau thì sự biểu hiện tăng trưởng của chồi và rễ khác nhau sau một thời gian nuôi cấy.

1. MỞ ĐẦU

Dendrobium là một giống chiếm ưu thế cả về hình dáng, màu sắc và số lượng. Vì *Dendrobium* là nhóm lan chịu nhiệt thích ứng với nhiệt độ trên 20°C.

Khoai lang là một cây trồng rất phổ biến ở Việt Nam, có sự sinh trưởng và phát triển rất nhanh. Theo bảng thành phần dinh dưỡng thực phẩm Việt Nam.

Tên	Thành phần chính(g)			Muối khoáng(mg)						Vitamin(mg)		
	Nước	Protein	Glucid	Ca	P	Fe	Na	K	Mg	Caroten (mcg)	B1	B2
Cà chua	94,0	0,6	4,2	12	26	1,4	12	275	15	1115	0,06	0,04
Chuối	83,2	0,9	15,0	12	25	0,5	17	286	-	40	0,04	0,07
Khoai tây	75,0	2,0	21,0	10	50	1,2	7	396	32	29	0,10	0,05
Rau khoai lang	91,9	2,6	2,8	1,3	54	2,7	19	498	60	1830	0,13	0,26

Cà chua: *Lycopersicum esculentum*.

Chuối : *Musa sapientum*.

Khoai tây: *Solanum tuberosum* (L.) Urb.

Rau khoai lang: *Ipomoea batatas* (L.) Lam.

Trong phạm vi này, chúng tôi bước đầu tìm hiểu dịch trích nhánh khoai lang có thích hợp trong môi trường nuôi cấy lan *Dendrobium lituiflorum* và hiệu quả của dịch trích đến sự sinh trưởng và phát triển của các cây lan con trong môi trường.

2. VẬT LIỆU- PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

1. Khoai lang (*Ipomoea batatas* L.) được trồng tại vườn thí nghiệm Bộ môn Sinh lý Thực vật- Di truyền Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Tp. Hồ Chí Minh, điều kiện ánh sáng 70.000 ± 500 lux, nhiệt độ 33°C ± 2°C, độ ẩm 56% ± 3%. Nhánh khoai lang dài khoảng 30 cm được chia làm ba đoạn (kí hiệu đoạn 1, 2, 3 đi từ ngọn nhánh trở xuống), nhánh này phát triển từ những chồi nách của thân sau khi đã ngắt bỏ phần ngọn.

2. Lan (*Dendrobium lituiflorum*) được nuôi tại phòng nuôi cấy mô Bộ môn Sinh lý Thực vật- Di truyền Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Tp. Hồ Chí Minh, điều kiện ánh

sáng 3.000 lux \pm 500 lux, nhiệt độ 22^oC \pm 2^oC, độ ẩm 80% \pm 2%. Chọn những cây lan con có chiều cao khoảng 1,5÷2 cm để thí nghiệm.

3. Môi trường dùng để thử nghiệm các đoạn của nhánh khoai lang: Môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) có thêm các chất điều hoà sinh trưởng thực vật khác nhau và sử dụng dịch trích của nhánh khoai lang. Từng đoạn nhánh khoai lang được ly trích theo hai phương pháp: ly trích bằng nước và bằng methanol (mỗi đoạn khoảng 5,5g trong 500ml môi trường).

NT 1: MS chuẩn (không có chất điều hoà sinh trưởng thực vật ngoại sinh).

NT 2: MS + 0,5 mg/l IAA.

NT 3: MS + 0,5 mg/l BA.

NT 4: MS + dịch trích đoạn 1_N.

NT 6: MS + dịch trích đoạn 1_M.

NT 5: MS + dịch trích đoạn 3_N.

NT 7: MS + dịch trích đoạn 3_M.

1_N, 3_N: ly trích bằng nước; 1_M, 3_M: ly trích bằng methanol (xem nồng độ ở Bảng 2)

Ngoài ra trong các môi trường nuôi cấy còn có đường (30 g/l), agar (7g/l), vitamin Morel (1ml/l), pH = 5,8.

2.2. Phương pháp

1. Nuôi cấy các đoạn của nhánh khoai lang.

Nhánh khoai lang sau khi chia thành 3 đoạn (mỗi đoạn có từ 3-4 lóng), các lóng này được tách bỏ lá, rửa sạch, khử trùng. Sau đó cấy các lóng vào môi trường MS/2 (không có chất điều hoà sinh trưởng thực vật). Quan sát, so sánh khả năng ra rễ và chồi sau 1 tuần trong môi trường nuôi cấy.

2. Li trích và sinh trắc nghiệm nhánh khoai lang.

Nhánh khoai lang được li trích và sinh trắc nghiệm để ước lượng hoạt tính Auxin, Acid abscisic, Gibberelin, Cytokinin. Các chất điều hoà tăng trưởng thực vật này được xác định nhờ phương pháp sắc ký trên giấy với dung môi di chuyển là Isopropanol: Amoniac: Nước theo tỷ lệ 10:1:1.

3. Thử nghiệm dịch trích các đoạn của nhánh khoai lang.

Những cây lan con có kích thước đều nhau được chọn ra và cấy vào các nghiệm thức. Tất cả được nuôi trong phòng nuôi cấy với điều kiện ánh sáng 3.000 lux \pm 500 lux, nhiệt độ 22^oC \pm 2^oC, độ ẩm 80% \pm 2%.

Sau 8 tuần đo hàm lượng chất điều hoà sinh trưởng thực vật nội sinh có trong lá, thân cây lan con nhờ phương pháp sắc ký trên giấy.

3. KẾT QUẢ – THẢO LUẬN

3.1. Nuôi cấy các đoạn của nhánh khoai lang

Bảng 1: Quan sát khả năng ra rễ và chồi ở các đoạn của nhánh khoai lang trong 1 tuần nuôi cấy

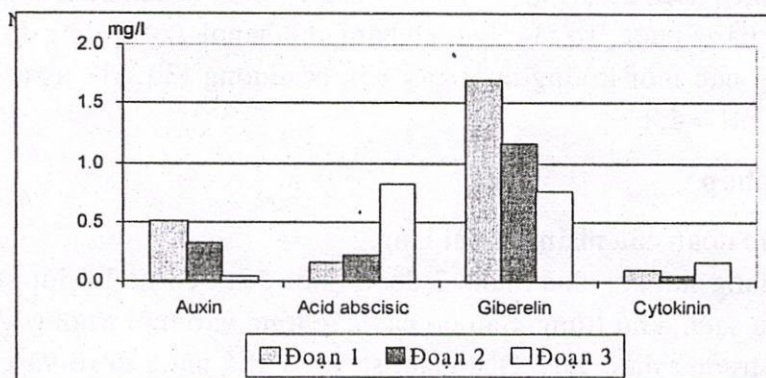
Vị trí	Sự phát triển rễ	Sự phát triển chồi
Đoạn 1	Rễ nhiều, 2-3 rễ/lóng. Rễ tròn, dài, tăng trưởng nhanh.	Khi xuất hiện rễ thì chồi tăng trưởng nhanh, lá lớn.
Đoạn 2	Có 1-2 rễ/lóng. Chiều dài rễ ngắn hơn.	Chồi phát triển tương đối, lá nhỏ.
Đoạn 3	Rễ phát triển chậm, nhỏ và ngắn, 1 rễ/lóng.	Chồi phát triển tương đối, lá còn nhỏ.

3.2. Hàm lượng các chất ĐHSTTV ở các đoạn của nhánh khoai lang

Bảng 2: Hàm lượng các chất ĐHSTTV ở các đoạn của nhánh khoai lang được ly trích trong nước

Vị trí	Hàm lượng các chất ĐHSTTV (mg/l)			
	Auxin	Acid abscisic	Giberelin	Cytokinin
Đoạn 1	0,511 ± 0,04	0,163 ± 0,01	1,691 ± 0,09	0,098 ± 0,01
Đoạn 2	0,324 ± 0,02	0,227 ± 0,01	1,162 ± 0,08	0,045 ± 0,01
Đoạn 3	0,044 ± 0,01	0,825 ± 0,05	0,769 ± 0,03	0,157 ± 0,03

Biểu đồ 1: Hàm lượng các chất ĐHSTTV ở các đoạn của nhánh khoai lang thí nghiệm



Kết quả bảng trên cho thấy hàm lượng các chất ĐHSTTV ở mỗi đoạn khác nhau. Auxin tập trung nhiều ở đoạn 1 còn cytokinin tập trung nhiều ở đoạn 3. Điều này cũng được thấy rõ khi nuôi cấy các đoạn của nhánh khoai lang (ở Bảng 1). Vì tùy theo tỷ lệ auxin và cytokinin mà các lóng có khả năng ra rễ và chồi, nếu tỷ lệ này cao sẽ giúp cho sự tạo rễ, nếu thấp giúp tạo chồi.

3.3. Hình thái của các cây lan con trong môi trường nuôi cấy

Bảng 3: Quan sát hình thái của cây lan con sau 8 tuần nuôi cấy ở các nghiệm thức

Nghiệm thức	Hình thái cây lan con
NT 1	Rễ nhiều và tương đối dài. Có chồi nhưng còn thấp và rất ít.
NT 2	Rễ nhiều và dài. Xuất hiện chồi nhưng ít và nhỏ.
NT 3	Chồi nhiều, phát triển tốt. Có rễ nhưng thấp và ngắn.
NT 4	Rễ nhiều và tương đối dài. Có chồi nhưng còn nhỏ.
NT 5	Có xuất hiện chồi nhưng thấp. Rễ ngắn và nhiều.
NT 6	Rễ nhiều và ngắn. Cây có chồi nhưng thấp và rất ít.
NT 7	Có chồi và rễ nhưng còn ít và nhỏ.

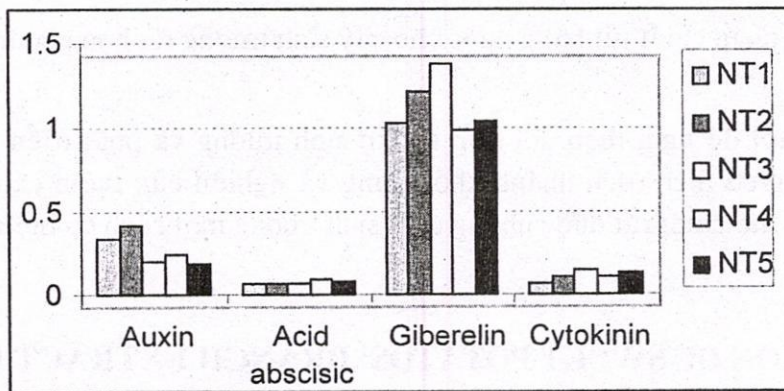
Các cây ở tất cả nghiệm thức đều phát triển và thích nghi tốt nhưng tốc độ tăng trưởng có khác nhau. Biểu hiện cho sự khác nhau đó là khả năng ra rễ và chồi, sự tăng trưởng của cây. Hầu hết các cây ở những nghiệm thức chứa dịch trích có tốc độ tăng trưởng chậm hơn so với các cây có chất ĐHSTTV tổng hợp, nhưng nhìn chung lại nhanh hơn so với đối chứng.

3.4. Thử nghiệm dịch trích các đoạn của nhánh khoai lang

Bảng 4: Hàm lượng chất ĐHSTTV có trong thân và lá lan sau 8 tuần

Nghiệm thức	Hàm lượng các chất ĐHSTTV (mg/l)			
	Auxin	Acid abscisic	Giberelin	Cytokinin
NT1	0,339 ± 0,02	0,063 ± 0,01	1,025 ± 0,09	0,068 ± 0,01
NT2	0,421 ± 0,03	0,067 ± 0,01	1,217 ± 0,10	0,103 ± 0,09
NT3	0,205 ± 0,01	0,071 ± 0,02	1,372 ± 0,12	0,145 ± 0,01*
NT4	0,247 ± 0,01	0,096 ± 0,03	0,987 ± 0,15	0,102 ± 0,03
NT5	0,185 ± 0,05	0,081 ± 0,01	1,046 ± 0,13	0,137 ± 0,09

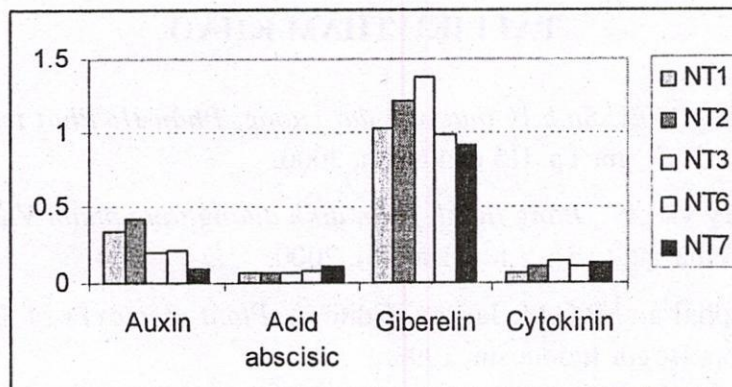
Biểu đồ 2: Hàm lượng các chất ĐHSTTV trong thân và lá lan sau 8 tuần nuôi trồng ở NT1, NT2, NT3, NT4, NT5.



Bảng 5: Hàm lượng các chất ĐHSTTV trong thân và lá lan sau 8 tuần nuôi trồng ở NT1, NT2, NT3, NT6, NT7

Nghiệm thức	Hàm lượng các chất ĐHSTTV (mg/l)			
	Auxin	Acid abscisic	Giberelin	Cytokinin
NT1	0,339 ± 0,02	0,063 ± 0,04	1,025 ± 0,09	0,068 ± 0,01
NT2	0,421 ± 0,03	0,067 ± 0,01	1,217 ± 0,10	0,103 ± 0,09
NT3	0,205 ± 0,01	0,071 ± 0,02	1,372 ± 0,12	0,145 ± 0,01
NT6	0,216 ± 0,02	0,082 ± 0,01	0,987 ± 0,08	0,102 ± 0,01
NT7	0,095 ± 0,01	0,105 ± 0,01	0,914 ± 0,07	0,135 ± 0,01

Biểu đồ 3: Hàm lượng các chất ĐHSTTV trong thân và lá lan sau 8 tuần nuôi trồng ở NT1, NT2, NT3, NT6, NT7.



Kết quả bảng 4, 5 cho thấy hàm lượng các chất ĐHSTTV ở các đoạn có khác nhau, đoạn 1 có auxin nhiều hơn còn đoạn 3 hàm lượng cytokinin cao hơn khi so với nghiệm thức đối chứng. Cả hai phương pháp ly trích đều cho kết quả tương đương nhau nhưng với phương pháp ly trích bằng nước thì tốt hơn do rút được những chất sinh trưởng nhiều hơn.

4. KẾT LUẬN – ĐỀ NGHỊ

Qua những kết quả thí nghiệm trên chúng tôi đưa ra một số kết luận sau:

- Dịch trích nhánh khoai lang có thể ứng dụng trong môi trường nuôi cấy lan
- Môi trường MS + dịch trích đoạn 1 của nhánh khoai lang (được ly trích bằng nước hoặc bằng methanol) có khuynh hướng tạo rễ.
- Môi trường MS + dịch trích đoạn 3 của nhánh khoai lang (được ly trích bằng nước hoặc bằng methanol) có khuynh hướng tạo chồi.
- Phương pháp chiết rút bằng nước cho cây sinh trưởng tốt hơn phương pháp chiết rút bằng methanol.
- Chúng tôi đề nghị theo dõi tiếp tục sự sinh trưởng và phát triển của cây lan con trong môi trường có dịch trích nhánh khoai lang và nghiên cứu thêm các phương pháp ly trích khác để có thể chiết rút được những chất sinh trưởng một cách có hiệu quả nhất.

APPLICATION OF SWEET POTATOS' BRANCH EXTRACT IN ORCHID CULTURE ENVIRONMENT

Phan Thị Linh Giang, Vo Thi Bach Mai

Faculty of Biology, University of Natural Sciences, VNU- HCM

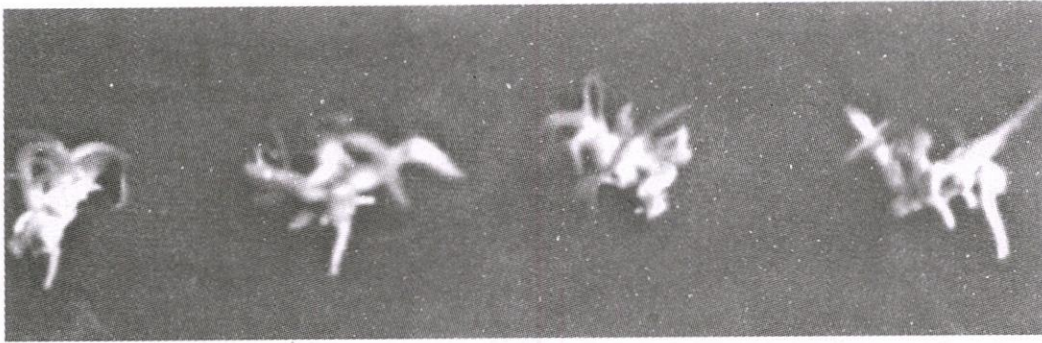
ABSTRACT: *The aim of this study is to determine the equivalent content of endogenous grow regulator of sweet potatoes' branch extract by using bioassay method.*

The in -vitro growth and development of orchid explants have been under observation. The obtained results pointed out that the orchid explants grew up and developed very well in the enviroment containing sweet potatoes branch extracts. The different extracts from divers locations on sweet potatoes branch influenced differently on the shoot and root growth.

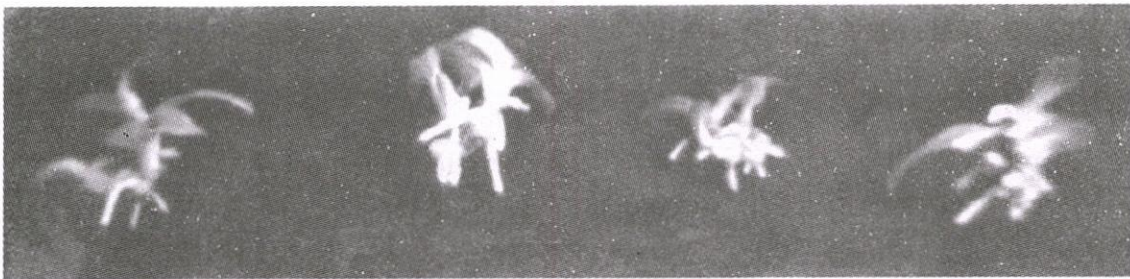
TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Bùi Trang Việt, *Sinh lý thực vật đại cương, Phần II: Phát triển*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh, 2000.
- [2]. Từ Giấy và csv., *Bảng thành phần dinh dưỡng thực phẩm Việt Nam*, Viện Dinh dưỡng. Nhà xuất bản Y học Hà Nội, 2000.
- [3]. E. Westphal and P.C.M. Jansen (Editors), *Plant resources of South- East Asia, A selection*, Bogor Indonesia, 1993.

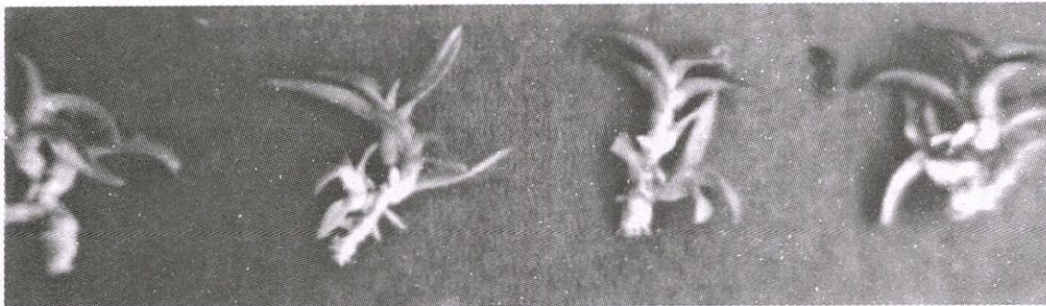
HÌNH ẢNH MINH HỌA



Hình 1: Cây lan con trong môi trường MS đối chứng (sau 8 tuần).



Hình 2: Cây lan con trong môi trường MS + dịch trích đoạn 1N (sau 8 tuần).



Hình 3: Cây lan con trong môi trường MS + dịch trích đoạn 3N (sau 8 tuần).