



KHẢO SÁT SỰ ẢNH HƯỞNG CỦA 2,4-D VÀ BA LÊN SỰ TẠO SẸO TỪ LÁ CÂY NHÀU (*MORINDA CITRIFOLIA* L.)

Nguyễn Hoàng Nhật Trinh, Lương Thị Lệ Thơ*

Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: Lương Thị Lệ Thơ – Email: tholttl@hcmue.edu.vn

Ngày nhận bài: 17-4-2019; ngày nhận bài sửa: 28-5-2019; ngày duyệt đăng: 03-6-2019

TÓM TẮT

Cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.) là một loại cây dược liệu quý nhưng việc nhân giống cây và tạo nguồn cây sạch hiện nay còn hạn chế. Mô sẹo là nguyên liệu khởi đầu có khả năng biệt hóa thành rễ, chồi và phôi để tạo cây hoàn chỉnh giúp nhân nhanh giống cây in vitro. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nghiệm thức MS có bổ sung 2,4-D 1 mg/l và BA 1 mg/l cho sự hình thành và phát triển của sẹo tốt nhất.

Từ khóa: Nhàu (*Morinda citrifolia* L.), mô sẹo, chất điều hòa tăng trưởng thực vật.

1. Mở đầu

Cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.) có nguồn gốc từ Đông Nam Á và châu Úc (Scot, 2003). Các bộ phận của cây như rễ, thân, lá, quả đều được sử dụng làm thuốc điều trị nhiều bệnh như nhứt mõi tay, chân, đau lưng, cao huyết áp, mất ngủ... Do đó, Nhàu là nguồn dược liệu hữu ích cho ngành y học (Võ Văn Chi, 1997; Phạm Hoàng Hộ, 2003).

Hiện nay, các nghiên cứu về sự ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật đến sự tạo sẹo từ các mô của cây Nhàu còn hạn chế. Bên cạnh đó, việc nhân giống cây hiện nay chủ yếu được thực hiện bằng cách gieo hạt với thời gian nảy mầm kéo dài và cây con rất dễ bị sâu bệnh tấn công.

Mô sẹo là một đám tế bào không phân hóa, có đặc tính phân chia mạnh thường được tạo ra do những xáo trộn trong quá trình tạo cơ quan. Mô sẹo phát triển không theo quy luật nhưng có khả năng biệt hóa thành rễ, chồi và phôi để tạo cây hoàn chỉnh. Do đó, cây non hay những mảnh thân non của cây trưởng thành dễ cho mô sẹo trong điều kiện nuôi cấy mô (Bùi Trang Việt, 2000; Vũ Văn Vụ và cs., 2012).

Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát sự ảnh hưởng của 2,4-D và BA lên sự tạo sẹo từ lá cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.) với mong muốn cung cấp nguồn dược liệu với năng suất cao, sạch bệnh, thời gian thu hoạch ngắn.

2. Vật liệu

Lá Nhàu non (lá thứ hai hoặc thứ ba tính từ ngọn) được thu từ cây Nhàu tại Kí túc xá Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh (351 Lạc Long Quân, phường 5, Quận 11, Hồ Chí Minh) có kích thước: chiều dài 15-18 cm, chiều rộng 6-10 cm.

3. Phương pháp

3.1. Khử trùng mẫu cấy

Lá Nhàu non được cắt thành các mảnh hình chữ nhật dọc gân chính, rửa dưới vòi nước và lắc xà phòng loãng. Tiếp tục khử trùng mẫu với cồn 70⁰ kết hợp với dung dịch NaClO hoặc dung dịch HgCl₂ ở các nồng độ và thời gian khác nhau. Sau đó mẫu cấy được cắt gọt, tạo vết cắt vuông góc với gân lá và được cấy vào các ống nghiệm chứa môi trường MS.

Sự nuôi cấy được thực hiện ở điều kiện tối, độ ẩm 60% ± 5%, nhiệt độ 22°C ± 2°C. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, mỗi lần 10 mẫu cấy.

3.2. Phương pháp khảo sát sự ảnh hưởng của chất điều hòa tăng trưởng thực vật 2,4-D riêng lẻ hay 2,4-D phối hợp với BA ở các nồng độ khác nhau đến sự tạo sẹo từ lá Nhàu

Mẫu cấy sau khi khử trùng được cắt gọt, tạo vết cắt vuông góc với gân lá rồi cấy vào môi trường MS có bổ sung 2,4-D (0,5 mg/l; 1 mg/l; 2 mg/l; 3 mg/l) riêng lẻ hoặc 2,4-D (1 mg/l; 2 mg/l) phối hợp với BA (0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l). Mẫu cấy được đặt trên môi trường nuôi cấy sao cho mặt dưới của lá hướng xuống môi trường nuôi cấy.

Sự nuôi cấy được thực hiện ở điều kiện tối, độ ẩm 60% ± 5%, nhiệt độ 22°C ± 2°C. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, mỗi lần 10 mẫu cấy.

3.3. Phương pháp cân mẫu

Mẫu cấy của các nghiệm thức được cân sau 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần và 4 tuần nuôi cấy. Mẫu cấy được cân bằng cân tiểu li có độ sai số là ± 0,01g, quá trình cân mẫu được tiến hành trong tủ cấy với các dụng cụ đã vô trùng, mẫu cấy sau khi được cân sẽ được chuyển lại vào môi trường nuôi cấy để tiếp tục theo dõi.

3.4. Quan sát hình thái giải phẫu

Những biến đổi tế bào học trong quá trình cảm ứng tạo sẹo được theo dõi sau khi thực hiện các lát cắt bằng tay, nhuộm kép với đỏ carmin và xanh metylen và quan sát dưới kính hiển vi quang học vào ngày thứ 3, 7, 10, 14 tính từ lúc bắt đầu nuôi cấy.

3.5. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý thống kê bằng chương trình Statistical Product and Services Solutions (SPSS), phiên bản 20 dùng cho Windows. Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức xác suất p = 0,05 (p: probability) của giá trị được biểu hiện bằng các mẫu tự khác nhau.

4. Kết quả

4.1. Kết quả khử trùng mẫu cấy

Mẫu lá Nhàu sau khi được khử trùng với dung dịch cồn 70⁰ kết hợp với dung dịch NaClO hoặc dung dịch HgCl₂ và nuôi cấy trên môi trường MS sau 4 tuần, kết quả cho thấy nghiệm thức khử trùng với cồn 70⁰ trong 1 phút 30 giây kết hợp với HgCl₂ ở nồng độ 0,1% trong 10 phút cho hiệu quả khử trùng cao nhất với tỉ lệ mẫu sống đạt 100% (Bảng 1 và 2). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Elakkuvan và cộng sự (2015).

Bảng 1. Hiệu quả khử trùng mẫu lá nhàu của dung dịch cồn 70⁰ kết hợp với dung dịch NaClO ở các nồng độ và thời gian khác nhau

Nghiệm thức	Thời gian khử trùng với cồn 70 ⁰ (phút)	Nồng độ NaClO (%)	Thời gian khử trùng với NaClO (phút)	Tỉ lệ mẫu sống (%)
ĐC	0 phút	0,0	0	0,00 ± 0,00 ^a
1	1 phút	0,5	10	6,67 ± 5,77 ^a
2			15	6,67 ± 5,77 ^a
3		1,0	10	10,00 ± 0,00 ^{ab}
4			15	16,67 ± 5,77 ^{abc}
5	3 phút	0,5	10	26,67 ± 5,77 ^{bcd}
6			15	30,00 ± 10,00 ^{cd}
7		1,0	10	50,00 ± 10,00 ^e
8			15	36,67 ± 11,55 ^{de}
9	5 phút	0,5	10	6,67 ± 5,77 ^a
10			15	0,00 ± 0,00 ^a
11		1,0	10	0,00 ± 0,00 ^a
12			15	0,00 ± 0,00 ^a

Các số trung bình trong một cột có các mẫu tự khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa mức $p = 0,05$

Bảng 2. Hiệu quả khử trùng mẫu lá nhàu của dung dịch cồn 70⁰ kết hợp với dung dịch HgCl₂ ở các nồng độ và thời gian khác nhau

Nghiệm thức	Thời gian khử trùng với cồn 70 ⁰ (phút)	Nồng độ HgCl ₂ (%)	Thời gian khử trùng với HgCl ₂ (phút)	Tỉ lệ mẫu sống (%)
ĐC	0 phút	0,0	0	0,00 ± 0,00 ^a
13	1 phút	0,05	10	30,00 ± 10,00 ^b
14			15	50,00 ± 10,00 ^{bc}
15		0,1	10	70,00 ± 10,00 ^{cd}
16			15	66,67 ± 5,77 ^{cd}
17	1 phút 30 giây	0,05	10	53,33 ± 5,77 ^c
18			15	60,00 ± 10,00 ^{cd}
19		0,1	10	100,00 ± 0,00^e
20			15	76,67 ± 5,77 ^d

Các số trung bình trong một cột có các mẫu tự khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa mức $p = 0,05$

4.2. Ảnh hưởng của 2,4-D riêng lẻ đến quá trình tạo sẹo từ lá Nhàu.

Các mẫu lá Nhàu được nuôi cấy trên môi trường MS sau 4 tuần dần chuyển sang màu xanh nhạt, phiến lá cứng hơn, hai bên phiến lá uốn cong về phía gân chính, tại các vết cắt bị hóa nâu, các tế bào nhu mô của thịt lá có sự tăng sinh (Hình 1a, Bảng 3 và 4).

Tuy nhiên, trên môi trường MS có bổ sung 2,4-D riêng lẻ ở các nồng độ khác nhau (0,5 mg/l; 1 mg/l; 2 mg/l; 3 mg/l), sau 4 tuần nuôi cấy 100% mẫu cấy ở các nghiệm thức đều tạo sẹo. Sẹo bắt đầu hình thành tại các vết cắt trên phiến lá, các tế bào nhu mô và các tế bào biểu bì đều có các dấu hiệu cảm ứng tạo sẹo (Hình 1b, c, d và e). Trong đó nghiệm thức MS bổ sung 2,4-D 1 mg/l có quá trình cảm ứng tạo sẹo và sự phát triển của sẹo nhanh và mạnh (Hình 1c), nên khối lượng tươi của sẹo cao nhất và có sự khác biệt về mặt thống kê so với những nghiệm thức còn lại (Bảng 3 và 4).

Bảng 3. Ảnh hưởng của 2,4-D đến khả năng tạo mô sẹo từ mẫu lá Nhàu sau 4 tuần nuôi cấy

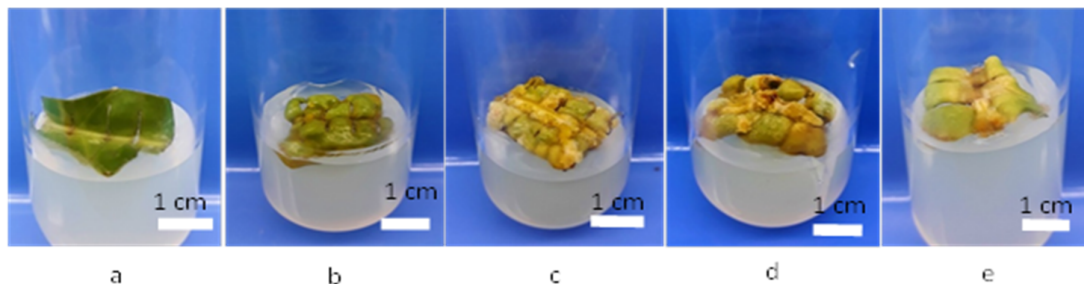
Nồng độ 2,4-D (mg/l)	Tỉ lệ mẫu tạo sẹo (%)			
	Tuần 1	Tuần 2	Tuần 3	Tuần 4
Đối chứng	0,00 ± 0,00 ^{ax}	0,00 ± 0,00 ^{ax}	0,00 ± 0,00 ^{ax}	0,00 ± 0,00 ^{ax}
0,5	0,00 ± 0,00 ^{ax}	46,67 ± 5,78 ^{by}	86,67 ± 11,55 ^{bz}	100,00 ± 0,00 ^{bz}
1,0	0,00 ± 0,00^{ax}	96,67 ± 5,78^{dy}	100,00 ± 0,00^{by}	100,00 ± 0,00^{by}
2,0	0,00 ± 0,00 ^{ax}	86,67 ± 11,55 ^{cdy}	100,00 ± 0,00 ^{by}	100,00 ± 0,00 ^{by}
3,0	0,00 ± 0,00 ^{ax}	66,67 ± 15,28 ^{bcy}	100,00 ± 0,00 ^{bz}	100,00 ± 0,00 ^{bz}

Các số trung bình trong một cột có các mẫu tự khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa mức $p = 0,05$.

Bảng 4. Ảnh hưởng của 2,4-D đến khối lượng tươi của mô sẹo từ mẫu lá Nhàu sau 4 tuần nuôi cấy

Nồng độ 2,4-D (mg/l)	Khối lượng tươi của sẹo (g)			
	Tuần 1	Tuần 2	Tuần 3	Tuần 4
Đối chứng	0,00 ± 0,00 ^{ax}	0,00 ± 0,00 ^{ax}	0,0 ± 0,00 ^{ay}	0,01 ± 0,00 ^{ay}
0,5	0,00 ± 0,00 ^{ax}	0,01 ± 0,00 ^{by}	0,04 ± 0,02 ^{bz}	0,09 ± 0,01 ^{bw}
1,0	0,00 ± 0,00^{ax}	0,06 ± 0,00^{dy}	0,15 ± 0,01^{ez}	0,28 ± 0,01^{ew}
2,0	0,00 ± 0,00 ^{ax}	0,04 ± 0,01 ^{cy}	0,11 ± 0,01 ^{dz}	0,22 ± 0,01 ^{dw}
3,0	0,00 ± 0,00 ^{ax}	0,03 ± 0,01 ^{cy}	0,09 ± 0,01 ^{cz}	0,17 ± 0,01 ^{cw}

Các số trung bình trong một cột có các mẫu tự khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa mức $p = 0,05$



Hình 1. Mẫu cây trên môi trường MS bổ sung 2,4-D ở các nồng độ khác nhau sau 4 tuần

(a) Mẫu cây trên môi trường MS sau 4 tuần; (b) Mẫu cây trên môi trường MS bổ sung 2,4-D 0,5 mg/l sau 4 tuần; (c) Mẫu cây trên môi trường MS bổ sung 2,4-D 1,0 mg/l sau 4 tuần; (d) Mẫu cây trên môi trường MS bổ sung 2,4-D 1,5 mg/l sau 4 tuần; (e) Mẫu cây trên môi trường MS bổ sung 2,4-D 2 mg/l sau 4 tuần.

4.3. Ảnh hưởng của 2,4-D phối hợp với BA ở các nồng độ khác nhau đến quá trình tạo sẹo từ lá Nhàu

Các mẫu cây trên môi trường MS có bổ sung 2,4-D (1 mg/l; 2 mg/l) phối hợp với BA (0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l) đều cảm ứng tạo sẹo ngay tuần đầu tiên nuôi cấy. Bên cạnh đó, sẹo phát triển rất nhanh nên khối lượng tươi của sẹo thu được cao hơn các nghiệm thức MS bổ sung 2,4-D riêng lẻ (Hình 2, Bảng 5 và 6)

Đặc biệt ở nghiệm thức MS có bổ sung 2,4-D 1 mg/l và BA 1 mg/l có hiệu quả tạo sẹo cao nhất. Quá trình cảm ứng và tạo sẹo diễn ra rất sớm, sự phát triển của sẹo mạnh và nhanh nên khối lượng tươi của sẹo thu được cao nhất và có khác biệt thống kê so với các nghiệm thức còn lại sau 2 tuần nuôi cấy (Hình 2b, Bảng 5 và 6).

Bảng 5. Ảnh hưởng của 2,4-D phối hợp với BA đến khả năng tạo mô sẹo từ mẫu lá Nhàu sau 4 tuần nuôi cấy

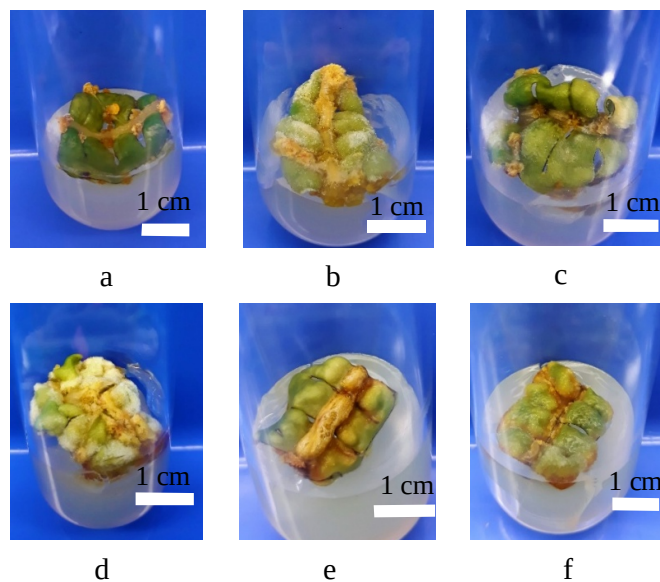
Nồng độ 2,4-D (mg/l)	Nồng độ BA (mg/l)	Tỉ lệ mẫu tạo sẹo (%)			
		Tuần 1	Tuần 2	Tuần 3	Tuần 4
0,0	0,0	0,00 ± 0,00 ^{ax}	0,00 ± 0,00 ^{ax}	0,00 ± 0,00 ^{ax}	0,00 ± 0,00 ^{ax}
1,0	0,5	0,00 ± 0,00 ^{ax}	96,67 ± 5,77 ^{by}	100,00 ± 0,00 ^{by}	100,00 ± 0,00 ^{by}
1,0	1,0	0,00 ± 0,00^{ax}	100,00 ± 0,00^{by}	100,00 ± 0,00^{by}	100,00 ± 0,00^{by}
2,0	0,5	0,00 ± 0,00 ^{ax}	96,67 ± 5,77 ^{by}	100,00 ± 0,00 ^{by}	100,00 ± 0,00 ^{by}
2,0	1,0	0,00 ± 0,00^{ax}	100,00 ± 0,00^{by}	100,00 ± 0,00^{by}	100,00 ± 0,00^{by}
2,0	1,5	0,00 ± 0,00 ^{ax}	96,67 ± 5,77 ^{by}	100,00 ± 0,00 ^{by}	100,00 ± 0,00 ^{by}
2,0	2,0	0,00 ± 0,00 ^{ax}	90,00 ± 10,00 ^{by}	100,00 ± 0,00 ^{by}	100,00 ± 0,00 ^{by}

Các số trung bình trong một cột có các mẫu tự khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa mức $p = 0,05$

Bảng 6. Ảnh hưởng của 2,4-D phối hợp với BA đến khối lượng tươi của mô sẹo từ mẫu lá Nhàu sau 4 tuần nuôi cấy

Nồng độ 2,4-D (mg/l)	Nồng độ BA (mg/l)	Khối lượng tươi của sẹo (g)			
		Tuần 1	Tuần 2	Tuần 3	Tuần 4
0,0	0,0	$0,00 \pm 0,00^{ax}$	$0,00 \pm 0,00^{ax}$	$0,00 \pm 0,00^{ay}$	$0,01 \pm 0,00^{ay}$
1,0	0,5	$0,00 \pm 0,00^{ax}$	$0,07 \pm 0,01^{dy}$	$0,14 \pm 0,01^{cz}$	$0,22 \pm 0,02^{cw}$
1,0	1,0	$0,00 \pm 0,00^{ax}$	$0,10 \pm 0,00^{ey}$	$0,22 \pm 0,02^{ez}$	$0,35 \pm 0,02^{fw}$
2,0	0,5	$0,00 \pm 0,00^{ax}$	$0,07 \pm 0,01^{dy}$	$0,14 \pm 0,02^{cz}$	$0,25 \pm 0,02^{dw}$
2,0	1,0	$0,00 \pm 0,00^{ax}$	$0,07 \pm 0,01^{dy}$	$0,18 \pm 0,01^{dz}$	$0,30 \pm 0,02^{ew}$
2,0	1,5	$0,00 \pm 0,00^{ax}$	$0,05 \pm 0,01^{cy}$	$0,14 \pm 0,01^{cz}$	$0,20 \pm 0,01^{cw}$
2,0	2,0	$0,00 \pm 0,00^{ax}$	$0,03 \pm 0,00^{by}$	$0,07 \pm 0,01^{bz}$	$0,09 \pm 0,01^{bw}$

Các số trung bình trong một cột có các mẫu tự khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa mức $p = 0,05$



Hình 2. Mẫu cấy trên môi trường MS bổ sung 2,4-D và BA ở các nồng độ khác nhau sau 4 tuần
 (a) Mẫu cấy trên môi trường MS bổ sung 2,4-D 1 mg/l và BA 0,5 mg/l sau 4 tuần; (b). Mẫu cấy trên môi trường MS bổ sung 2,4-D 1 mg/l và BA 1 mg/l sau 4 tuần; (c) Mẫu cấy trên môi trường MS bổ sung 2,4-D 2 mg/l và BA 0,5 mg/l sau 4 tuần; (d) Mẫu cấy trên môi trường MS bổ sung 2,4-D 2 mg/l và BA 1 mg/l sau 4 tuần; (e) Mẫu cấy trên môi trường MS bổ sung 2,4-D 2 mg/l và BA 1,5 mg/l sau 4 tuần; (f) Mẫu cấy trên môi trường MS bổ sung 2,4-D 2 mg/l và BA 2 mg/l sau 4 tuần.

Chất điều hòa tăng trưởng thực vật có vai trò quan trọng trong quá trình hình thành mô sẹo, đặc biệt là auxin (Hopkins, 1995). Theo Bùi Trang Việt (2000), trong số các loại auxin được sử dụng trong nuôi cấy *in vitro*, 2,4-D được xem là một auxin mạnh, có tác động mạnh mẽ lên sự tăng trưởng tế bào, sự acid hóa vách tế bào, cảm ứng sự phân chia tế bào, kích thích sự hình thành mô sẹo. Mặt khác, hiệu ứng của auxin tùy thuộc vào loại auxin, nồng độ hiện diện trong mô thực vật và môi trường nuôi cấy (Taiz & Zeiger, 2002). Vì thế nồng độ auxin ở mức quá thấp hoặc quá cao không có tác dụng hoặc ức chế quá trình tạo sẹo. Do đó đối với nghiệm thức MS bổ sung 2,4-D 1 mg/l là nồng độ thích hợp kích thích mạnh sự hình thành và phát triển của sẹo.

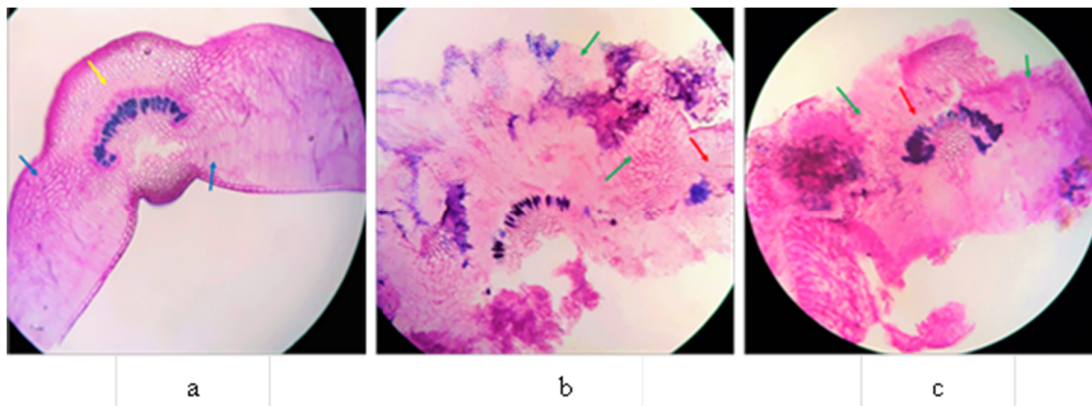
Cytokinin kích thích sự phân chia tế bào, thúc đẩy sự phiên mã tạo mRNA, kích thích sự tổng hợp protein và enzyme đặc hiệu trong các mô xác định để tạo sẹo với điều kiện có auxin (Taiz & Zeiger, 2002). Do đó các nghiệm thức MS bổ sung 2,4-D phối hợp với BA cho hiệu quả tạo sẹo cao, thể hiện qua quá trình cảm ứng tạo sẹo diễn ra sớm, sẹo phát triển mạnh và tỉ lệ auxin/cytokinin cao kích thích tạo rễ, trong khi tỉ lệ này thấp kích thích tạo chồi, ở mức trung gian sẽ kích thích tạo mô sẹo (Zakizadeh et al, 2008). Vì thế, trong môi trường MS bổ sung 2,4-D 1 mg/l phối hợp với BA 1 mg/l cho hiệu quả phát triển sẹo cao và tốt nhất trong các nghiệm thức.

Theo Hopkins (1995), các chất điều hòa tăng trưởng thực vật có nguồn gốc từ các sản phẩm trung gian hình thành trong quá trình đường phân và có ảnh hưởng đến khả năng tạo sẹo khi phối hợp với các chất điều hòa tăng trưởng thực vật ngoại sinh. Điều này giải thích vì sao môi trường MS có bổ sung 2,4-D 2 mg/l phối hợp với BA 1 mg/l cho khối lượng sẹo tương đối cao dù có sự chênh lệch tỷ lệ cao giữa auxin và cytokinin, nhưng vẫn không bằng nghiệm thức MS bổ sung 2,4-D 1 mg/l phối hợp với BA 1 mg/l. Có lẽ lượng cytokinin nội sinh trong lá Nhàu cao nên đã ảnh hưởng đến sự cân bằng giữa auxin/cytokinin trong sự tạo sẹo của nghiệm thức này.

4.4. Quan sát hình thái giải phẫu

Mô sẹo được giải phẫu sau mỗi tuần nuôi cấy và nhuộm kép với dung dịch đỏ carmin và xanh metylen. Kết quả giải phẫu cho thấy, ở nghiệm thức đối chứng, sau 3 đến 4 tuần nuôi cấy các tế bào nhu mô của thịt lá (mũi tên xanh dương) bắt đầu có sự tăng trưởng về kích thước, các tế bào này có kích thước lớn hơn các tế bào nhu mô ở gân chính của lá (mũi tên vàng) (Hình 3a).

Đối với các nghiệm thức có bổ sung chất điều hòa tăng trưởng thực vật, các khối sẹo được hình thành ngay những nơi gần với bó dẫn, ở cạnh gân chính của lá hoặc các gân bên của lá (mũi tên màu xanh lá). Các tế bào nhu mô và các tế bào biểu bì đều có các dấu hiệu cảm ứng tạo sẹo, làm xuất hiện các tế bào không có hình dạng nhất định, tạo nên sự xáo trộn trong vùng mô, khác biệt lớn so với vùng mô chưa hoạt hóa tạo sẹo (mũi tên màu đỏ). Ngoài sự phân chia, tế bào còn có sự tăng trưởng về kích thước (Hình 3b, 3c).



Hình 3. Sẹo cắt ngang từ mẫu lá Nhàu trên các môi trường sau 4 tuần

(a) Sẹo cắt ngang từ mẫu lá Nhàu trên môi trường MS sau 4 tuần; (b) Sẹo cắt ngang từ mẫu lá Nhàu trên môi trường MS bổ sung 2,4-D 1 mg/l sau 4 tuần; (c) Sẹo cắt ngang từ mẫu lá Nhàu trên môi trường MS bổ sung 2,4-D 1 mg/l và BA 1 mg/l sau 4 tuần.

Dưới sự tác động của auxin, sự tạo mô sẹo *in vitro* thuộc về một trong ba quá trình: sự phản phân hóa của tế bào nhu mô, sự phân chia của tế bào tượng tầng, các tế bào biểu bì hay dưới biểu bì phản ứng mạnh nhất với auxin; sự xáo trộn các mô phân sinh sơ khởi (Bùi Trang Việt, 2000). Trong khi đó cytokinin tác động lên cả hai bước của sự phân chia tế bào: phân nhân và phân bào. Điều này được thấy rõ trong hình thái giải phẫu của sẹo qua các tuần nuôi cấy: đầu tiên là các tế bào nhu mô giữa mạch gỗ và libe ở gân chính hay biểu bì cảm ứng tạo sẹo, các tế bào này phản phân hóa sau đó tiến hành phân chia nhiều lần, gây xáo trộn mô, hình thành sẹo.

5. Kết luận

- Mẫu lá Nhàu được khử trùng với cồn 70⁰ trong 1 phút 30 giây kết hợp với dung dịch HgCl₂ 0,1% trong 10 phút, cho hiệu quả khử trùng tối ưu, đạt 100% tỉ lệ mẫu sống.
- Nghiệm thức MS có bổ sung 2,4-D 1 mg/l và BA 1 mg/l cho sự hình thành và phát triển của sẹo tốt nhất. Tỉ lệ mẫu tạo sẹo đạt 100% sau hai tuần nuôi cấy, sự cảm ứng tạo sẹo xảy ra nhanh, sự phát triển của sẹo tốt.
- Các khối sẹo được hình thành ngay những nơi gần với bó dẫn, ở cạnh gân chính hoặc gân bên của lá.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ngô Xuân Bình. (2009). *Nuôi cấy mô tế bào thực vật – Cơ sở lí luận và ứng dụng*. NXB Khoa học và kĩ thuật.
- Võ Văn Chi. (1997). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. NXB Y học.
- Lê Văn Hoàng. (2008). *Công nghệ nuôi cấy mô và tế bào thực vật*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, 67-83.
- Phạm Hoàng Hộ (2003). *Cây cỏ Việt Nam quyển III*. NXB Trẻ.

- Nguyễn Thị Ngọc Hương, Võ Thị Bạch Mai (2009). Tìm hiểu về sự phát sinh hình thái rễ trong nuôi cấy in vitro cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.), *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, tập 12, 100-105.
- Nguyễn Thị Ngọc Hương, Võ Thị Bạch Mai. (2010). Tìm hiểu về sự phát sinh hình thái chồi trong nuôi cấy in vitro cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.). *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, tập 13.
- Ninh Thị Thảo, Nguyễn Thị Phương Thảo, Nguyễn Thị Thuỳ Linh, Nguyễn Tuấn Minh, Nguyễn Quỳnh Chi, và Trần Thị Anh Đào. (2016). Nghiên cứu cảm ứng và nuôi cấy rễ bất định cây Ba kích (*Morinda officinalis* How). *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 14(6), 921-930.
- Bùi Trang Việt. (2000). *Sinh lí thực vật đại cương, phần II: Phát triển*. NXB Đại Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- Vũ Văn Vụ, Vũ Văn Tâm, và Hoàng Minh Tấn (2012). *Sinh lí thực vật*. NXB Giáo dục Việt Nam, 229-308.
- Elakkuvan, S., & Manivannan, K. (2015). *Effect of surface sterilization on in vitro survival of explants of Noni (Morinda citrifolia L.)*. International Journal of Advance Research in Engineering, Science & Technology, 2, 2394-2444.
- Hopkins, W. G. (1995). *Introduction to Plant Physiology*. The University of Westher Ontario, 323-350.
- Scot Nelson, C. (2003). “*Morinda citrifolia* L.: Rubiaceae (Rubioidae) Coffee family”. Permant Agriculture Resources.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology, 3rd Edition*. Benjamin Cummings Publishing Company, California.
- Zakizadeh, H., Debener T., Sriskandarajah, S., Frello, S., Serek, M. (2008). Regeneration of miniature potted rose (*Rosa hybrida* L.) via somatic Embryogenesis. *European Journal of Horticultural Science*.

INVESTIGATING THE EFFECT OF 2,4-D AND BA ON CALLUS FORMATION FROM LEAF OF MORINDA CITRIFOLIA L.

Nguyen Hoang Nhat Trinh, Luong Thi Le Tho*

Department of Biology – Ho Chi Minh City University of Education

**Corresponding author: Luong Thi Le Tho – Email: tholtl@hcmue.edu.vn*

Received: 17/4/2019; Revised: 28/5/2019; Accepted: 03/6/2019

ABSTRACT

Morinda citrifolia L. is a valuable medicinal plant, however the propagation and development of disease free plants nowadays are still retracted. Callus is the starting material capable of differentiating into roots, shoots and embryos to develop complete plants. The result of the present study indicates that MS medium supplemented with 1mg/l 2,4-D and 1 mg/l BA is the best for callus formation and growth.

Keywords: *Morinda citrifolia* L., callus, plant growth regulators.