

KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG LÊN SỰ TẠO CHỒI VÀ TẠO RỄ CÂY TRE TỨ QUÝ (*Bambuseae* sp.) TRONG ĐIỀU KIỆN IN VITRO

Lê Nguyễn Tiểu Ngọc¹, Phạm Ngọc Trung Tân², Đỗ Hải Hiến²

Ngày nhận bài: 28/03/2024; Ngày phản biện thông qua: 03/04/2024; Ngày duyệt đăng: 15/04/2024

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm mục đích khảo sát ảnh hưởng của hai nhóm chất điều hòa sinh trưởng thực vật cytokinin (BA và Kinetin) và auxin (NAA) lên khả năng tạo chồi và tạo rễ ở cây tre Tứ Quý in vitro. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khả năng tạo chồi từ các mẫu cây trên môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) có chứa BA riêng lẻ hoặc kết hợp 1mg/L NAA với Kinetin ở các nồng độ khác nhau không đạt hiệu quả cao, chồi được hình thành ở tất cả các nghiệm thức, trong đó môi trường MS chứa 1 mg/L BA hoặc kết hợp giữa NAA và 1mg/L Kinetin cho hiệu quả tạo chồi tốt hơn các nghiệm thức còn lại, tuy nhiên số lượng chồi rất ít, chỉ đạt khoảng 2 chồi/mẫu. Bên cạnh đó, sự ra rễ in vitro ở chồi cũng được thực hiện trên môi trường MS chứa NAA ở các nồng độ khác nhau, kết quả cho thấy sự hình thành rễ không xảy ra ở tất cả các nghiệm thức, 100% chồi hóa nâu và chết sau 10 ngày nuôi cấy. Những kết quả trên đưa đến kiến nghị tiếp tục khảo sát các loại phytohormone khác để xác định được môi trường tối ưu cho sự tăng sinh chồi và cảm ứng ra rễ ở cây tre Tứ Quý trong điều kiện in vitro.

Từ khóa: BA, chồi, Kinetin, NAA, ra rễ, Tre Tứ quý.

1. MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, loài tre Tứ Quý (*Bambuseae* sp.) được đưa vào trồng thử nghiệm và sản xuất tại một số tỉnh miền Tây Việt Nam. Loài tre này có đặc tính cho măng quanh năm, măng tre có chất lượng cao, giòn ngọt, cây ít sâu bệnh, dễ thích nghi với nhiều vùng đất và vùng khí hậu khác nhau. Cũng như những loài tre khác, ngoài nhu cầu thực phẩm, cây tre Tứ Quý góp phần bảo vệ đất, chống xói mòn, bảo vệ hệ sinh thái, loài tre còn là cây tiềm năng trong nhiều lĩnh vực như sản xuất hàng thủ công mỹ nghệ, làm nhạc cụ, dụng cụ thể thao, công nghiệp giấy, ứng dụng trong y học, trang trí ... Chính những lợi ích, công dụng mang lại mà loài tre này đang mở ra hướng chuyển đổi cây trồng mới giúp người dân địa phương phát triển kinh tế, góp phần cho công cuộc xóa đói giảm nghèo. Chính vì vậy, việc tiến hành nhân giống loại tre này là rất cần thiết.

Ngoài các phương pháp nhân giống truyền thống, kỹ thuật nuôi cấy mô thực vật từ lâu đã được các nước trên thế giới áp dụng để nhân giống các loài tre phục vụ mục đích thương mại, nhân nhanh, cung ứng giống và bảo tồn nguồn gen. Khi nghiên cứu xây dựng quy trình vi nhân giống in vitro ở các loài tre khác thuộc tông *Bambuseae*, nhiều nhóm chất điều hòa sinh trưởng thực vật với dãy nồng độ khác nhau cho hiệu quả cao đối với cảm ứng tạo chồi, nhân nhanh chồi và ra rễ in vitro đã được báo cáo chi tiết (Ramanayake,

2006; Ogita et al., 2008; Negi and Saxena, 2011; Lê Văn Hòa và cs, 2012; Mehta, 2012; Brar, 2014; Ornellas et al., 2019). Nồng độ BA (6 – Benzylaminopurine) từ 1-10mg/L được sử dụng trong nhiều thí nghiệm tăng sinh chồi trên các loài tre như *Dendrocalamus asper*, *Drepenostachyum falcatum*, và *D. hamiltonii* (I.D. Arya and S. Arya, 2015), nồng độ 1mg/L BA cho hiệu quả bật chồi cao nhất khi nuôi cấy các mẫu đốt thân ở loài *Bambusa nutans* (Mudoj et al., 2014), ở loài *Bambusa balcooa* là 4mg/L (Gantait et al., 2018), loài *Bambusa vulgaris* là 2mg/L BAP và 0,5 mg/L NAA (Goncalves et al., 2023) hoặc sử dụng Kinetin 2,5 mg/L kết hợp với 2,5 mg/L BAP (Malini and Anandakumar, 2013). Trong thí nghiệm tạo rễ in vitro, sử dụng môi trường MS bổ sung từ 1 - 5 mg/l NAA hoặc 5- 10mg/l IBA phù hợp với nhiều loài cây trong họ Tre, Trúc như loài *D.s asper*, *D. falcatum*, *D. hamiltonii* (I.D. Arya and S. Arya, 2015; Saini et al., 2016), loài *Bambusa vulgaris* ra rễ tốt khi sử dụng 7,5 mg/L IBA (Goncalves et al., 2023), 2 mg/L NAA đối với loài *Bambusa nutans* (Mudoj et al., 2014). Các kết quả nghiên cứu trước đó đã chỉ ra rằng, sự đáp ứng của mẫu cây với môi trường trong quá trình phát sinh hình thái khác nhau hoàn toàn giữa các loài thực vật, loại mẫu cây, phương pháp cấy, môi trường nuôi cấy, điều kiện nuôi cấy, ... Chính vì vậy, việc lựa chọn loại phytohormone với nồng độ thích hợp có ý nghĩa quyết định cho

¹Viện Công nghệ sinh học & Môi trường, Trường Đại học Tây Nguyên;

²Lớp Khoa học cây trồng K20, Trường Đại học Tây Nguyên;

Tác giả liên hệ: Lê Nguyễn Tiểu Ngọc; ĐT: 0865769027; Email: lntngoc@ttn.edu.vn.

từng giai đoạn và mục đích thí nghiệm. Trong nghiên cứu này, nhằm mục đích nhân nhanh hệ số chồi và ra rễ tạo cây hoàn chỉnh in vitro, với mục tiêu tạo được nguồn giống cây tre Tứ Quý trên địa bàn tỉnh Đắk Lắk, chúng tôi lựa chọn và khảo sát ảnh hưởng của một số chất điều hòa sinh trưởng với nồng độ được đánh giá có hiệu quả cao trong cảm ứng tạo chồi và ra rễ in vitro trên các loài cây họ Tre trúc như NAA, BA và Kinetin, từ đó xác định được môi trường nuôi cấy thích hợp cho sự tăng sinh chồi và phát sinh rễ bất định ở cây tre Tứ Quý in vitro.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Vật liệu dùng trong thí nghiệm thu từ cây tre Tứ Quý được trồng giữ giống tại Trung tâm ứng dụng & Tư vấn Kỹ thuật Nông Lâm Nghiệp, Trường Đại học Tây Nguyên (Hình 1). Các đoạn thân chứa 3 mắt ngủ có kích thước ~17cm được khử trùng bằng dung dịch NaOCl 40% (Xilong, Trung Quốc) trong 20 phút, sau đó được cắt thành từng đoạn chứa mắt ngủ có kích thước 1 – 2cm và được dùng làm mẫu cấy trong hai thí nghiệm nhân chồi, các chồi có kích thước 2,0 – 2,5 cm được dùng làm mẫu cấy trong thí nghiệm tạo rễ.



Hình 1. Cây tre Tứ Quý

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng (BA, Kinetin, NAA (Duchefa, Hà

Lan)) lên sự tạo chồi và ra rễ ở cây tre Tứ Quý in vitro

Các mẫu được nuôi trên môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962 (Duchefa, Hà Lan)) có bổ sung 30 g/L đường saccharose (Việt Nam) và 7 g/L agar (Việt Nam). Các chất điều hòa sinh trưởng BA (0, 1, 2, 5 mg/L), và sự kết hợp giữa 1mg/L NAA và Kinetin (0; 0,5; 1; 1,5; 2 mg/L) được bổ sung vào môi trường MS trong thí nghiệm nhân chồi. Ở thí nghiệm tạo rễ, mẫu được nuôi cấy trong môi trường MS bổ sung 0,5 g/L than hoạt tính kết hợp với NAA (0, 1, 3, 5 mg/L); pH của các môi trường nuôi cấy được điều chỉnh tại 5,8 trước khi hấp khử trùng. Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại có 15 mẫu.

Điều kiện nuôi cấy

Mẫu cấy được chuyển vào phòng nuôi với điều kiện 16 giờ chiếu sáng/8 giờ trong tối, cường độ ánh sáng 2500 ± 500 lux, nhiệt độ $25^\circ\text{C} \pm 2$, độ ẩm 50-65%.

Chỉ tiêu theo dõi

Các thí nghiệm theo dõi trong 4 tuần và lấy số liệu theo từng tuần.

Ở các thí nghiệm nhân chồi, chỉ tiêu theo dõi bao gồm: số chồi/mẫu, chiều cao chồi (cm), khối lượng tươi, khối lượng khô (g), hình thái chồi.

Ở thí nghiệm tạo rễ, chỉ tiêu theo dõi bao gồm: chiều dài rễ dài nhất (cm), chiều cao cây (cm), số lá/mẫu, số rễ/mẫu, khối lượng tươi và khô (g), hình thái cây.

Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu các thí nghiệm được phân tích bằng phần mềm SPSS 20 và phần mềm Microsoft Office Excel 2010. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức được đánh giá bằng trắc nghiệm phân hạng Duncan với $P \leq 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

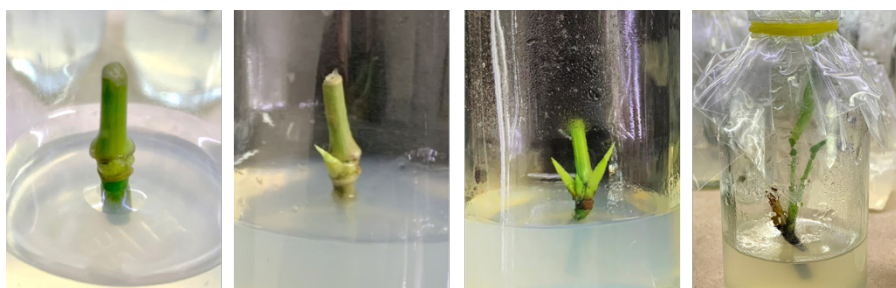
Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng BA lên khả năng tạo chồi ở mẫu tre in vitro

Sau 4 tuần nuôi cấy và thu nhận số liệu, kết quả nghiên cứu cho thấy phần lớn các mẫu ở các nghiệm thức đều có cảm ứng bật chồi, tuy nhiên chất điều hòa sinh trưởng BA ít có vai trò then chốt trong sự phát sinh chồi của các đoạn đốt thân trong điều kiện in vitro. Kết quả được thể hiện như trong Bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BA đến sự tạo chồi ở đốt thân tre

Nghiệm thức	% tỷ lệ bật chồi	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá mở/chồi
B0	81,11 ± 3,33 ^c	0,93 ± 0,07 ^d	0,97 ± 0,04 ^c	0,31 ± 0,3
B1	90,74 ± 0,64 ^a	2,35 ± 0,17 ^a	2,22 ± 0,07 ^a	0,73 ± 0,07
B2	88,52 ± 2,79 ^{ab}	1,38 ± 0,34 ^c	1,18 ± 0,11 ^b	0,45 ± 0,17
B5	84,81 ± 1,70 ^{bc}	1,95 ± 0,22 ^b	0,98 ± 0,08 ^c	0,27 ± 0,07
ANOVA	*	**	**	ns

Ghi chú: Sự khác biệt của các chữ cái a, b, c trong cùng một cột là khác biệt có ý nghĩa thống kê theo trắc nghiệm Duncan với $P < 0.05$.



Hình 2. Sự phát sinh chồi trên môi trường MS có bổ sung 1mg/L BA

Ở tuần đầu nuôi cấy, các mẫu cây chưa có sự thay đổi rõ rệt. Sau 2 tuần nuôi cấy, các mẫu cây ở một số nghiệm thức có hiện tượng bật chồi từ các mắt ngủ. Sang tuần thứ 3, số lượng chồi hình thành trên các mẫu cây ở các nghiệm thức đã được xác định và các chồi có sự gia tăng về chiều cao (Hình 2). Kết quả ghi nhận ở tuần thứ 4 cho thấy, tỷ lệ bật chồi của các mẫu ở các nghiệm thức là khác nhau, tỷ lệ bật chồi thấp nhất trên môi trường không bổ sung BA (B0), với 81,11% và cao nhất trên môi trường chứa 1mg/L BA (B1), đạt 90,74%, khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại, tuy nhiên số chồi hình thành được rất ít, chỉ 2,35 chồi/mẫu và chiều cao trung bình của chồi đạt 2,22cm. Hình thái chồi ở tất cả các nghiệm thức không khác biệt nhiều về hình dạng, màu sắc, các chồi đều to, mập mạp, có màu xanh nhạt, và các chồi hầu như không xuất hiện lá mở, cao nhất trên môi trường B1 cũng chỉ có 0,73 lá/mẫu.

Trong những nghiên cứu trước đây về nuôi cấy mô các loài tre khác thuộc tông *Bambuseae*, các nhóm tác giả đã sử dụng nồng độ BA từ 1- 8 mg/L riêng lẻ hoặc kết hợp với các nhóm chất điều hòa sinh trưởng khác (auxin, cytokinin) và đạt hiệu quả cao trong thí nghiệm tăng sinh chồi ở nồng độ BA 1 mg/L hoặc 2 mg/L ở các loài *Bambusa balcooa*, *B. bambos*, *D. membranaceus* (Brar, 2014); *B. tulda*; *Dendrocalamus asper* (Nadha, 2012); hoặc *D. giganteus* (Mehta, 2012). Một vài báo cáo sự tạo chồi hiệu quả khi sử dụng BA ở nồng độ cao (5mg/L) ở loài *Drepanostachyum falcatum* (11,08 chồi) (Saini et al. 2016) hoặc *D. latiflorus* (32,0 chồi/mẫu) (Thounaojam et al., 2018). Kết quả

nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, nồng độ BA 1mg/L cho kết quả tốt hơn các nghiệm thức khác ở tất cả các chỉ tiêu theo dõi. Tuy nhiên, số chồi tạo thành rất ít (2,35 chồi/mẫu) và chiều cao trung bình của chồi chỉ đạt 2,22cm, trong khi ở nồng độ 5mg/L BA ức chế sự hình thành chồi ở mẫu cây; những số liệu này khác hoàn toàn so với kết quả các nhóm nghiên cứu trước đây. Sự khác biệt này có thể do khả năng đáp ứng của mẫu trên các môi trường nuôi khác nhau ở các loài tre trong tông, sự lựa chọn mẫu cây, tuổi mẫu và điều kiện nuôi cấy cũng là những yếu tố quan trọng khác tác động đến kết quả thí nghiệm. Trong thí nghiệm này, vai trò của BA trong môi trường nuôi cấy gần như không biểu hiện nhiều đối với sự tạo chồi ở mẫu cây. Số chồi hình thành trên mẫu xuất phát từ mắt ngủ và các chồi chỉ duy trì sự tăng trưởng theo thời gian nuôi cấy.

Theo báo cáo của nhiều nghiên cứu trước đây, thí nghiệm tái sinh chồi trên các loài Tre trúc thường trải qua hai giai đoạn: giai đoạn bật chồi và giai đoạn tăng sinh chồi (Mudoji et al, 2014; I.D. Arya and S. Arya, 2015; Saini et al., 2016). Ở giai đoạn bật chồi, các chất điều hòa sinh trưởng thực vật cytokinin được sử dụng với nồng độ: BA (1- 5 mg/L) và Kinetin (1- 5 mg/L) được cho là phù hợp trên nhiều loài, mục đích của giai đoạn này nhằm khởi tạo cụm chồi, tạo nguồn mẫu để thực hiện thí nghiệm tăng sinh chồi. Các nhóm tác giả này cũng chỉ ra rằng, các chồi non hình thành ở mẫu cây cần phải được cấy chuyển sang môi trường mới. Cấy chuyển mẫu là bước chuyển tiếp quan trọng trong nuôi cấy mô các loài Tre trúc. Số lần cấy

chuyên tùy thuộc vào đặc tính loài và mẫu cấy, thông thường, việc bố trí thí nghiệm nhân nhanh chồi được thực hiện ở lần cấy chuyên thứ 4, và các mẫu cấy dùng cho thí nghiệm là các cụm chồi (3 chồi/mẫu). Giai đoạn tăng sinh chồi cần có sự hiện diện của các chất điều hòa sinh trưởng cytokinin đơn lẻ (BA hoặc Kinetin) hoặc có sự kết hợp giữa hai loại hoặc hai nhóm chất điều hòa sinh trưởng khác nhau.

Khi so sánh với các nghiên cứu trước đây, trong thí nghiệm này, việc sử dụng các mẫu đốt thân sau giai đoạn khử trùng không cho hiệu quả tạo chồi cao có thể giải thích được, và kết quả này khá tương đồng với kết quả tạo chồi ở nồng độ 1,5 mg/L BA (1, 75 chồi/mẫu) (Saini et al., 2016) hoặc 1mg/L BA (2-3 chồi/mẫu) (I.D. Arya and S. Arya, 2015). Như vậy, nghiệm thức cho hiệu quả

bật chồi tốt nhất ở các mẫu đốt thân là nghiệm thức chứa 1mg/L BA.

Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng Kinetin và NAA lên khả năng tạo chồi ở mẫu tre in vitro

Để tạo được nguồn mẫu cụm chồi đủ lớn cho các thí nghiệm tiếp theo, việc lựa chọn được môi trường phù hợp cho sự tăng sinh chồi là bước quan trọng trong quá trình nuôi cấy in vitro. Sử dụng BA riêng lẻ ở các nồng độ khác nhau không có hiệu quả trong việc tạo cụm chồi, do đó chúng tôi tiến hành nuôi cấy các mẫu trên các môi trường MS có bổ sung 1mg/L NAA kết hợp với Kinetin ở các nồng độ khác nhau (0; 0,5; 1; 1,5; 2 mg/L) nhằm khảo sát ảnh hưởng của NAA và Kinetin lên sự tạo chồi ở mẫu cấy. Kết quả ghi nhận sau 4 tuần nuôi cấy được thể hiện như Bảng 2.

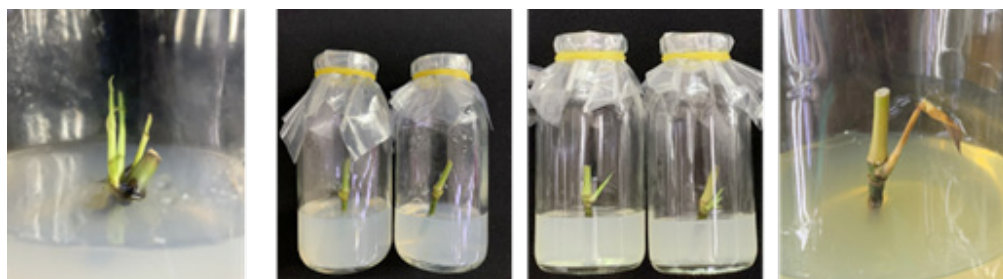
Bảng 2. Ảnh hưởng của Kinetin và NAA đến sự tạo chồi ở mẫu cấy

Nghiệm thức	% tỷ lệ bật chồi	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá mở/chồi
K0	77,41 ± 5,01 ^d	0,84 ± 0,10 ^d	0,36 ± 0,05 ^d	0,27 ± 0,07
K0,5	87,78 ± 3,34 ^c	1,20 ± 0,13 ^c	1,08 ± 0,06 ^c	0,49 ± 0,08
K1	92,96 ± 0,64 ^b	2,25 ± 0,17 ^a	1,41 ± 0,01 ^b	1,11 ± 0,20
K1,5	98,52 ± 1,70 ^a	1,24 ± 0,10 ^c	1,51 ± 0,07 ^a	0,55 ± 0,17
K2	94,07 ± 0,64 ^{ab}	1,94 ± 0,19 ^b	1,03 ± 0,02 ^c	0,56 ± 0,10
ANOVA	*	**	**	ns

Ghi chú: Sự khác biệt của các chữ cái a, b, c trong cùng một cột là khác biệt có ý nghĩa thống kê theo trắc nghiệm Duncan với P<0.05

Sau 4 ngày nuôi cấy, một số mẫu cấy ở các nghiệm thức đã bắt đầu xuất hiện chồi, tuy nhiên chưa có sự khác biệt rõ giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Sau 10 ngày nuôi cấy, các chồi xuất hiện rõ và không có sự khác biệt nhiều về hình thái, màu sắc giữa các nghiệm thức. Các chồi đều có màu xanh nhạt, khỏe và không xuất hiện lá thật (Hình 3). Kết quả ghi nhận sau 4 tuần nuôi cấy ở bảng 1 cho thấy, tỷ lệ bật chồi khác nhau ở các nghiệm thức, trong đó môi trường không có Kinetin tỷ lệ

bật chồi thấp nhất với 77,41%, và cao nhất trên môi trường chứa 1,5mg/L Kinetin với 98,52%. Số chồi hình thành ở tất cả các nghiệm thức đều thấp, cao nhất chỉ đạt 2,25 chồi/mẫu ở nghiệm thức chứa 1mg/L Kinetin. Kết quả này khác hoàn toàn so với các nghiên cứu trước đây về việc sử dụng kết hợp các nhóm chất điều hòa sinh trưởng nhằm kích thích sự tăng sinh chồi (Brar, 2014; Mehta, 2012; Arya et al., 2002).



Hình 3. Sự phát sinh và tăng trưởng của chồi trên môi trường nuôi cấy

Theo quan sát, khi kéo dài thời gian nuôi cấy mẫu sang tuần thứ 5, sự tăng trưởng của các chồi gần như không xảy ra ở tất cả các nghiệm thức và các mẫu rụng dần theo thời gian, các chồi hóa nâu

và chết sau 6 tuần nuôi cấy, điều này chứng tỏ môi trường MS bổ sung NAA và Kinetin ở các nồng độ khác nhau không phù hợp cho sự tăng sinh chồi ở mẫu tre Tứ Quý trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Nguyên nhân chính của hiện tượng chết mẫu có thể là do loài tre là loài thân gỗ, dễ tiết ra các hợp chất phenolic xung quanh mẫu, chất này ngăn chặn quá trình hấp thụ chất dinh dưỡng của mẫu cây, các chồi mới hình thành không nhận được dinh dưỡng và chết dần.

Như chúng tôi đã đề cập ở trên, quá trình nhân nhanh chồi/cụm chồi ở các loài Tre Trúc cần trải qua hai giai đoạn, và việc duy trì sự sống hoặc/ và sự trẻ hóa của mẫu cây cần thực hiện qua công đoạn cấy chuyên. Trong thí nghiệm của chúng tôi, việc khảo sát ảnh hưởng của BA lên khả năng bật chồi ở mẫu cây đã được thực hiện, tuy nhiên, khi tiến hành tách chồi non hoặc cụm (2 chồi) và cấy sang môi trường mới không thu được kết quả mong muốn. Tất cả các mẫu cây đều hóa nâu và chết. Hiện tượng chết mẫu lặp lại nhiều lần, chính

vi vậy, chúng tôi khảo sát ảnh hưởng của tổ hợp NAA và Kinetin lên sự tạo chồi của các mẫu sau giai đoạn khử trùng. Kết quả thu được trong thí nghiệm này không khác biệt nhiều so với kết quả sử dụng BA riêng lẻ trong sự tạo chồi ở mẫu đốt thân. Như vậy, nghiệm thức chứa MS có bổ sung 1 mg/L NAA và 1mg/L Kinetin có hiệu quả cao nhất lên sự bật chồi ở mẫu cây.

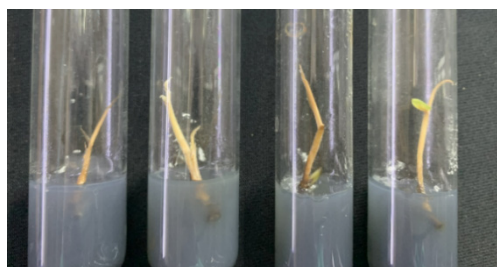
Khảo sát ảnh hưởng của NAA đến sự ra rễ in vitro của chồi tre Tứ Quý

Các chồi đơn có kích thước từ 2,0 – 2,5 cm được cấy trên môi trường MS chứa NAA ở các nồng độ khác nhau (0, 1, 3, 5 mg/L) để khảo sát quá trình ra rễ in vitro. Kết quả âm tính được ghi nhận ở tất cả các chỉ tiêu theo dõi trên tất cả các nghiệm thức thí nghiệm (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của NAA đến sự ra rễ in vitro ở chồi tre Tứ Quý sau 4 tuần nuôi cấy

Nghiệm thức	% tỷ lệ mẫu tạo rễ	Số rễ/mẫu	Chiều dài rễ (cm)	Chiều cao chồi (cm)
N0	00	-	-	-
N1	00	-	-	-
N3	00	-	-	-
N5	00	-	-	-

Sau 10 ngày nuôi cấy, tất cả các mẫu ở các nghiệm thức thí nghiệm đều có hiện tượng hóa nâu và chết. Rễ cây không được hình thành ở tất cả các nghiệm thức (Hình 4). Kết quả tương tự khi thay đổi loại chất điều hòa sinh trưởng gồm IAA (Indole-3-acetic acid) hoặc IBA (Indole-3-butyric acid) bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Điều này chứng tỏ các chất điều hòa sinh trưởng không có tác động lên mẫu và hiện tượng chết mẫu ở tất cả các nghiệm thức có thể là do mẫu cây hoặc thành phần môi trường nuôi cấy. Hiện tượng mẫu chết sau hơn 10 ngày nuôi cấy có thể do: (1) mẫu cây không đáp ứng với môi trường, (2) mẫu tiết ra các hợp chất phenolic làm ngăn cản sự hấp thụ chất dinh dưỡng của mẫu, sự bổ sung 0,5g/L than hoạt tính vào môi trường nuôi cấy không đủ làm giảm tác động của các hợp chất phenol có trong môi trường nuôi cấy, (3) điều kiện nuôi cấy không phù hợp. Chính vì vậy, các chồi non sinh trưởng một thời gian, hóa nâu và chết dần.



Hình 4. Mẫu chết sau 10 ngày nuôi cấy

Những nghiên cứu về sự ra rễ in vitro các loài tre khác thuộc tông *Bambuseae* đã được báo cáo khá chi tiết, các nhóm tác giả đã chỉ ra vai trò của các loại auxin khác nhau đối với sự cảm ứng ra rễ như: NAA ở loài *B. arundinacea* (Arya et al., 2002); *B. balcooa* (Islam and Rahman, 2005) và *Dendrocalamus latiflorus* (Lin et al., 2006); IBA ở loài *D. asper* (Arya et al., 1999) và *D. membranaceus* (Yasodha et al., 1997); IAA, NAA và indole-3-propionic acid (IPA) loài *B. tulda* (Saxena, 1990) và gibberellic acid (GA3) ở *B. vulgaris*, *D. giganteus* và *D. strictus* (Rout and Das, 1994). Những tiêu chí chọn chồi cho thí nghiệm ra rễ in vitro như số lượng chồi/mẫu, kích thước chồi, điều kiện nuôi cấy, thành phần nuôi cấy ... cũng đã được đề cập đến, tuy nhiên không có ghi nhận bất kỳ trường hợp mẫu chết hàng loạt như trong thí nghiệm của chúng tôi.

Trong quá trình thực hiện thí nghiệm và so sánh với các giai đoạn trong quy trình nhân giống in vitro các loài Tre Trúc trước đây, chúng tôi nhận thấy rằng, kết quả âm tính ở thí nghiệm ra rễ in vitro ở chồi tre Tứ Quý có thể do một số nguyên nhân chủ yếu: (1) mẫu cây sử dụng trong thí nghiệm ra rễ: hầu hết mẫu cây trong các nghiên cứu trước đây là các chồi tách từ cụm chồi tăng sinh sau 3-4 lần cấy chuyên, và mỗi lần cấy chuyên cách nhau khoảng 3-4 tuần nuôi cấy; (2) số lượng chồi/ mẫu dùng làm mẫu cấy: theo nhiều báo cáo, trong khi

các chồi đơn không có khả năng hình thành rễ thì một cụm chồi chứa 03 chồi dài từ 1 – 2 cm là tốt nhất cho sự cảm ứng rễ ở cây tre (Arya et al., 2002; Mudoi et al., 2013). Từ những lí do trên, việc sử dụng các chồi đơn hình thành từ các đốt thân và trải qua chỉ 1 lần cấy chuyền có thể là nguyên nhân chính gây chết mẫu và dẫn đến kết quả âm trong thí nghiệm này.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng của các chất điều hoà sinh trưởng BA, Kinetin và NAA lên khả năng nhân chồi và tạo rễ ở cây tre Tứ Quý trong điều kiện in vitro cho thấy, việc sử dụng BA riêng lẻ hoặc kết hợp giữa 1mg/L NAA và Kinetin

ở các nồng độ khác nhau tác động lên sự bật chồi ở các mẫu đốt thân, các chồi hình thành ít, không đáng kể. Bên cạnh đó, các chồi đơn in vitro không tạo được rễ, chồi có hiện tượng hóa nâu và chết sau 10 ngày nuôi trên môi trường MS bổ sung các loại auxin khác nhau. Từ những kết quả này, chúng tôi kiến nghị cần khảo sát thêm một vài yếu tố có khả năng ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình nhân chồi và tạo rễ ở cây tre như số lần cấy chuyền, thay đổi nồng độ hoặc loại chất điều hoà sinh trưởng, điều kiện nuôi cấy, mẫu cấy, ... nhằm tìm ra môi trường và điều kiện tối ưu cho sự tăng sinh chồi và cảm ứng ra rễ tạo cây hoàn chỉnh in vitro.

STUDY ON EFFECTS OF PHYTOHORMONES ON SHOOTING AND ROOTING OF TU QUY BAMBOO (*Bambuseae* sp.) UNDER IN VITRO CONDITIONS

Le Nguyen Tieu Ngoc¹, Pham Ngoc Trung Tan², Do Hai Hien²

Received Date: 28/03/2024; Revised Date: 03/04/2024; Accepted for Publication: 15/04/2024

ABSTRACT

The study was conducted to investigate the effect of two groups of plant growth regulators are cytokinin (BA and Kinetin) and auxin (NAA) on the ability to generate shoots and roots in Tu Quy bamboo plants in vitro. The results showed that the ability to produce shoots from explants on MS medium (Murashige and Skoog, 1962) containing BA alone or in combination with 1mg/L NAA with Kinetin at different concentrations is not highly efficient, shoots were formed in all treatments, in which MS medium supplemented with 1 mg/L BA or a combination of NAA and 1mg/L Kinetin had the best effect on shoot formation, but the number of shoot was small, only about 2 buds/explant. Besides, in vitro rooting of shoots was also performed on MS medium containing different concentrations of NAA. The results showed that root formation did not occur in all treatments, 100% of shoots turned brown and died after 10 days of culture. These results lead to recommendations to continue investigating on the culture conditions and other phytohormones to determine the optimal medium for shoot proliferation and root induction in Tu Quy bamboo under in vitro conditions.

Keywords: BA, shoot, Kinetin, NAA, rooting, Tu Quy bamboo

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Lê Văn Hòa, Nguyễn Văn Ấy và Phan Thị Ánh Nguyệt. (2012). Sự tạo phôi soma và tái sinh chồi tre rỗng (*Dendrocalamus giganteus* Wall. Ex Munro) từ nuôi cấy lớp mỏng tế bào. Tạp chí Khoa học 2012:21b 68-77. Trường Đại học Cần Thơ.

Arya S., Sharma S. (1999). Micropropagation technology of *Bambusa bambos* through shoot proliferation. Indian For. 124, 725-731.

¹Institute of Biotechnology and Environment, Tay Nguyen University;

²Crop Science Class K2020, Faculty of Agriculture and Forestry, Tay Nguyen University;

Corresponding author: Le Nguyen Tieu Ngoc; Tel: 0865769027; Email: Intngoc@ttn.edu.vn.

- Arya I.D. et al. (2002). Rapid and mass multiplication of bamboos through tissue culture techniques. In: S.K. Nandi, L.M.S. Palni, A. Kumar (eds). role of plant tissue culture in biodiversity conservation and economic development, Gyanodaya Prakashan, Nainital, India, pp 29-39.
- Arya I.D and Arya S. (2015). In vitro shoot Proliferation and Somatic Embryogenesis: Means of Rapid Bamboo multiplication. 10th World Bamboo Congress, Korea.
- Brar, J. (2014). Micropropagation of some edible bamboo species and molecular characterization of the regenerated plants. Ph. D thesis. Thapar University, Patiala.
- Gantait S., Pramanik B.R., Banerjee M. (2018). Optimization of planting materials for large scale plantation of *Bambusa balcooa* Roxb.: Influence of propagation methods. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 17, 79–87.
- Goncalves D.S. et al. (2023). In vitro cloning of *Bambusa vulgaris* Schrad. ex J. C. Wendl.: Effect of culture systems, sucrose and activated charcoal supplementation. Advances in Bamboo Science, 3, 100024.
- Islam S., Rahman M.M. (2005). Micro-cloning in commercially important six bamboo species for mass propagation and at a large scale. Plant Tiss. Cult. Biotech, 15, 103-111.
- Lin C.S. et al. (2006). Albino inflorescence proliferation of *Dendrocalamus latiflorus*. In Vitro Cell Dev. Biol.- Plant, 42, 331-335.
- Malini and Anandakumar. (2013). Micropropagation of bamboo (*Bambusa vulgaris*) through nodal segment. International Journal of Forestry and Crop Improvement, 4(1), 36-39.
- Mehta, R. et al. (2010). Induction of somatic embryogenesis and analysis of genetic fidelity of in vitro derived plantlets of *Bambusa nutans* Wall., using AFLP markers. European Journal of Forest Research, 130(5), 729-736.
- Mudoji K.D., Saikia S.P. and Borthakur M. (2014). Effect of nodal positions, seasonal variations, shoot clump and growth regulators on micropropagation of commercially important bamboo, *Bambusa nutans* Wall. ex. Munro. African Journal of Biotechnology, 13(19), 1961-1972.
- Nadha, H.K. (2012). In vitro clonal propagation of some important woody bamboos and ascertaining their clonal fidelity. Ph.D. thesis. Thapar University, Patiala.
- Negi D and Saxena S. (2011). Micropropagation of *Bambusa balcooa* Roxb. through axillary shoot proliferation. In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant, 47, 604–610.
- Ogita S., Harutsugu Kashiwagi, Yasuo Kato. (2008). In vitro node culture of seedlings in bamboo plant, *Phyllostachys meyeri* McClure. Plant Biotechnology, 25, 381–385.
- Ornellas T.S. et al. (2019). Micropropagation of *Guadua chacoensis* (Rojas) Londoño & P. M. Peterson. Pesq. Agropec. Trop., Goiânia, v.49, e55450.
- Ramanayake SMSD. (2006). Micropropagation of tropical bamboos. Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues Vol 2 Global Science Books, Isleworth, UK, 540–550.
- Rout GR and Das P. (1994). Somatic embryogenesis and in vitro flowering of 3 species of bamboo. Plant Cell Rep. 13, 683-686.
- Saini H. et al. (2016). In vitro micropropagation of Himalayan weeping bamboo, *Drepanostachyum falcatum*. American Journal of Plant Sciences, 7, 1317-1324.
- Saxena S. (1990). In vitro propagation of the bamboo (*Bambusa tulda* Roxb.) through shoot proliferation. Plant Cell Rep, 9, 431-434.
- Thounaojam P., C. Nirmala, M.S. Bisht. (2018). In vitro propagation of an edible bamboo *Dendrocalamus Latiflorus* Munro using nodal explants. Conference: 11th World Bamboo Congress at Xalapa, Mexico.
- Yasodha R. et al. (1997). Genetic enhancement and mass production of quality propagules of *Bambusa nutans* and *Dendrocalamus membranaceus*. Indian For, 123, 303- 306.