

## NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG TẾCH DÒNG VN19, VN34 (TECHTONA GRANDIS LINN) BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY IN VITRO

Vũ Thị Phương\*, Nguyễn Thị Hồng  
Trường Đại học Khoa học – ĐH Thái Nguyên

### TÓM TẮT

Nghiên cứu nhân giống cây Téch dòng VN34 và VN19 bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật, bao gồm nghiên cứu: Nồng độ thích hợp chất khử trùng chồi nách, nghiên cứu chất kích thích sinh trưởng đến hệ số nhân chồi và tỷ lệ nảy chồi, chất kích thích ra rễ chồi Téch. Môi trường thí nghiệm nhân chồi nách cây Téch dòng VN34 và VN19 là MS\*. Kết quả, trên nền môi trường MS\*, sử dụng chất khử trùng 0,1% HgCl<sub>2</sub> 10 phút, thu được chất lượng chồi tốt nhất với các chỉ tiêu nghiên cứu (hệ số nhân chồi - HSNC, chiều cao chồi - CCC, tỷ lệ ra rễ - TLRR, chiều dài rễ - CDR, số rễ trung bình - SDTB). Chất kích thích sinh trưởng được bổ sung là tổ hợp giữa BAP, NAA (0,75 mg/l BAP + 0,25 mg/l NAA) cho kết quả nhân nhanh chồi tốt nhất so với sử dụng riêng BAP hay Kinetin. Chất kích thích ra rễ là IBA cho tỷ lệ ra rễ hiệu quả nhất với nồng độ 0,75 mg/l IBA.

**Từ khóa:** Nuôi cấy mô tế bào thực vật, *Tectona grandis linn* (dòng VN19, VN34), chất khử trùng, chất kích thích sinh trưởng, chất kích thích ra rễ.

*Ngày nhận bài: 10/12/2018; Ngày hoàn thiện: 24/01/2019; Ngày duyệt đăng: 31/01/2019*

### STUDY PROPAGATION OF *TECHTONA GRANDIS* LINN (STRAINS VN34 and VN19) BY TISSUE CULTURE METHOD

Vu Thi Phuong\*, Nguyen Thi Hong  
University of Sciences - TNU

### ABSTRACT

Study on the propagation of *Tectona grandis* L. f. (Teak) two strains VN34 and VN19 by the method of cultivating plant cell tissue, including the study: appropriate concentration of axillary bud disinfectant, growth stimulants to shoot multiplier, stimulation of Teak roots. The medium was used for the axillary buds of the teak strains VN34 and VN19 as MS\*. As a result, on MS\* medium, using disinfectant 0.1% HgCl<sub>2</sub> for 10 minutes, obtained the best axillary bud quality (shoot multiplier - SM, shoot height - SH, ratio rooting- RR, root length - RL, average roots - AR). The growth stimulant added was a combination of BAP, NAA (0.75 mg/l BAP+0.25 mg/l NAA), which resulted in the best shoot multiplication compared to using BAP or Kinetin alone. The root stimulant is IBA was the most effective rooting rate with a concentration of 0.75 mg/l IBA.

**Keywords:** *Cultivating plant cell tissue, Tectona grandis linn* (strains VN19, VN34), *sanitize chemical, growth stimulants, root stimulants.*

*Received: 10/12/2018; Revised: 24/01/2019; Approved: 31/01/2019*

\* Corresponding author: Tel: 0987 140022, Email: [phuongvt@tnu.edu.vn](mailto:phuongvt@tnu.edu.vn)

## MỞ ĐẦU

Tếch (*Tectona grandis* Linn) thuộc họ Cỏ roi ngựa, phân bố tự nhiên trong các khu rừng nhiệt đới, và đã được gây trồng ở một số nước trong đó có Việt Nam. Tếch nổi tiếng về chất lượng gỗ tốt, bền, được sử dụng trong nhiều lĩnh vực như nội thất, đóng tàu, làm bảng súng... Do có giá trị kinh tế rất cao nên Tếch trồng với diện tích lớn, tính đến 2016 diện tích rừng Tếch ở khu vực Châu Á - Thái Bình Dương lên tới 30 triệu hecta. Thực tế cho thấy, khi nguồn giống Tếch được cải thiện, năng suất rừng tăng khoảng 10% và giá trị tăng từ 15-20% so với trồng từ hạt.

Trong những năm qua Việt Nam chủ yếu nhập khẩu gỗ Tếch từ nước ngoài do diện tích và năng suất rừng trồng Tếch trong nước không cung cấp đủ gỗ nguyên liệu phục vụ sản xuất.

Để nâng cao được năng suất và chất lượng rừng trồng Tếch ở Việt Nam, việc sử dụng công nghệ tế bào thực vật (hay gọi là nuôi cấy mô tế bào) trong nhân giống nhằm tạo ra một số dòng Tếch mới thích nghi và phát triển tốt trên điều kiện lập địa của Việt Nam, nhằm cung cấp nguyên liệu gỗ trong thời gian tới là cần thiết. Vì vậy, *Nghiên cứu nhân giống cây Tếch (Tectona grandis linn) dòng VN34 và VN 19 bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào* là việc làm cấp thiết và có tính thực tiễn cao.

## VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Vật liệu nghiên cứu

Mẫu nuôi cấy lấy từ chồi bên của cây ghép 1 năm tuổi. Mẫu được lấy ở chồi 30 ngày tuổi, sinh trưởng tốt, không sâu bệnh. Chồi được cắt bỏ một phần cuống lá và toàn bộ phiến lá. Mẫu cây có chiều dài từ 3-6 cm mang từ 1-2 nách lá.

### Nội dung và phương pháp nghiên cứu

#### **Nội dung 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất khử trùng và thời gian đến khả năng nảy chồi của hai dòng Tếch VN34, VN19**

*Thí nghiệm 1:* Được bố trí với 3 công thức cho 2 loại chất khử trùng là:  $HgCl_2$  0,05% và 0,1%,  $Ca(ClO)_2$  5% và 10% với thời gian khử trùng: 5, 10 và 15 phút. Mẫu sau khi khử trùng được tráng lại bằng nước cất hấp vô

trùng 5 lần và xử lý cất tạo mẫu trước khi cấy vào môi trường nuôi cấy là  $MS^*$  (môi trường có sự thay đổi nồng độ một số nguyên tố vi lượng, bổ sung một số vitamin, như vitamin C). Lượng chồi được nuôi cấy: 3 chồi/9 bình/công thức. Trong 35 ngày nuôi cấy, tiến hành theo dõi và đo đếm các chỉ tiêu như: Tỷ lệ nảy chồi, số cặp lá/chồi, chiều cao chồi, chất lượng chồi ở tất cả các công thức.

#### **Nội dung 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh chồi của hai dòng Tếch VN34, VN19**

Gồm 3 thí nghiệm: *Thí nghiệm 2,3 và 4.*

Các thí nghiệm được tiến hành, xem xét ảnh hưởng của từng chất kích thích sinh trưởng: BAP (6-benzyl aminopurine) - *thí nghiệm 2*, KI (Kinetin) - *thí nghiệm 3*, và tổ hợp BAP+NAA ( $\alpha$  - Naphthaleneacetic acid) - *thí nghiệm 4* đến khả năng nhân nhanh chồi của 2 dòng Tếch trên; với pH= 5,6 trước khi hấp khử trùng môi trường. Ở giai đoạn nhân nhanh chồi, môi trường nuôi cấy là:  $MS^* + 30$  g Sucrose/l + 5,5 g agar/l + 5,6 pH. Các chỉ tiêu theo dõi trong giai đoạn này (sau 35 ngày): Hệ số nhân chồi, số cặp lá/chồi, chiều cao chồi, tỷ lệ sống.

Mỗi thí nghiệm bố trí 5 công thức, với nồng độ chất kích thích sinh trưởng được thay đổi theo từng công thức như sau: CT1: 0 mg/l; CT2: 0,25 mg/l; CT3: 0,5 mg/l; CT4: 0,75 mg/l; CT5: 1,0 mg/l môi trường nuôi cấy.

Tổ hợp BAP+NAA gồm 0,75 mg/l BAP kết hợp với NAA, nồng độ thay đổi từ 0-1,0 mg/l.

#### **Nội dung 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng đến khả năng ra rễ của hai dòng Tếch VN34, VN19**

*Thí nghiệm 5:* Nghiên cứu ảnh hưởng của của nồng độ IBA (Auxin) đến khả năng ra rễ hai dòng Tếch VN34, VN19. Thí nghiệm bố trí với 5 công thức, với nồng độ chất kích thích sinh trưởng được thay đổi theo từng công thức như sau: CT1: 0 mg/l; CT2: 0,25 mg/l; CT3: 0,5 mg/l; CT4: 0,75 mg/l; CT5: 1,0 mg/l môi trường nuôi cấy. Môi trường ra rễ hai dòng Tếch là:  $1/2 MS^* + 15$  g/l Sucrose+ 5 g/l agar.

*Xử lý số liệu:* Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel, SAS 9.1.

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

**Ảnh hưởng của nồng độ chất khử trùng và thời gian đến khả năng tái sinh chồi nách hai dòng Téch VN34, VN19**

Kết quả bảng 1, với độ tin cậy 95%, sau 35 ngày theo dõi, cho thấy: Với hóa chất sử dụng khử trùng là  $\text{HgCl}_2$  0,1%, thời gian 15 phút, tỷ lệ mẫu bật chồi dòng VN34:  $25,28 \pm 0,68\%$ , VN19:  $25,73 \pm 0,37\%$ . Nghiên cứu còn sử dụng  $\text{HgCl}_2$  (0,05%),  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  (5%),  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  (10%) cho thấy hiệu quả xử lý khử trùng mẫu chồi nách là không cao, chất lượng chồi bật sau khi nuôi cấy cho thấy qua các chỉ tiêu theo dõi chỉ đạt trung bình và kém. Các chỉ tiêu theo dõi của hai dòng VN34, VN19 trong giai đoạn này được thể hiện qua tỷ lệ mẫu bật chồi, như sau:  $\text{HgCl}_2$  (0,1%) >  $\text{HgCl}_2$  (0,05%) >  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  (10%) >  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  (5%). Chất khử trùng  $\text{HgCl}_2$  và  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  là hai loại hóa chất đã được một số tác giả trong nước sử dụng nghiên cứu trong nuôi cấy mô tế bào thực vật. Fermino Junior *et al.* (2009) [1], sử dụng  $\text{HgCl}_2$  0,1% với thời gian 15 phút cho tỷ lệ nhiễm khuẩn là 26,6% và tỷ lệ bật chồi là 63,3%. Từ thực nghiệm, cho thấy chất khử

trùng bề mặt mẫu chồi nách là  $\text{HgCl}_2$  0,1% với thời gian 15 phút là ưu việt nhất.

Dẫn liệu bảng 2 cho thấy, với độ tin cậy 95%, nồng độ BAP tăng từ CT1 đến CT5 của cả hai dòng VN34, VN19 cho thấy sự ảnh hưởng rõ rệt đến hệ số nảy chồi (HSNC), chiều cao chồi (CCC) và chất lượng chồi (CLC). Ở nồng độ 0,75 mg/L BAP, chỉ tiêu cao nhất tương ứng là: VN34:  $2,72 \pm 0,15$  (lần),  $4,64 \pm 0,32$  (cm); VN19:  $2,56 \pm 0,22$  (lần),  $3,81 \pm 0,12$  (cm). Khi tăng lên 1 mg/L BAP số chồi thu được có xu hướng giảm xuống VN34:  $2,48 \pm 0,11$  (lần); VN19:  $1,88 \pm 0,12$  (lần), ở công thức này HSNC giảm do nồng độ BPA cao quá có hiện tượng bắt đầu làm ức chế nhân chồi, tạo cục mô ở gốc chồi phình to và CCC có hiện tượng ngắn lại. Quan sát Hình 2, khi bổ sung BAP nồng độ 0,75 mg/l chồi sinh trưởng và phát triển tốt, thân chồi mập, lá xanh và hình thái cây khỏe hơn khi không bổ sung BAP so CT1, bên cạnh đó thì ở nồng độ 0 và 1,0 mg/l chồi sinh trưởng kém, chiều cao thấp, tạo cục ở gốc chồi, lá quăn, dày.

**Bảng 1.** Kết quả ảnh hưởng của các loại hóa chất đến khử trùng mẫu của 2 dòng Téch (3 chồi/27 bình/1 công thức)

Hóa chất	Thời gian (phút)	TL mẫu nhiễm (%)		TL mẫu bật chồi (%)		Chất lượng chồi	
		VN3	VN19	VN34	VN19	VN3	VN19
$\text{HgCl}_2$ (0,05%)	5	$76,20 \pm 0,86^D$	$73,69 \pm 1,23^{Ea}$	$8,18 \pm 0,10^{Ee}$	$9,69 \pm 0,07^{Eb}$	+	+
	10	$58,45 \pm 0,29^H$	$60,91 \pm 0,09^H$	$16,69 \pm 0,20^B$	$16,42 \pm 0,44^B$	++	++
	15	$48,51 \pm 0,43^{Ib}$	$49,35 \pm 0,39^J$	$11,13 \pm 0,61^D$	$13,81 \pm 0,24^D$	+	+
$\text{HgCl}_2$ 0,1%	5	$65,23 \pm 1,52^G$	$63,76 \pm 0,78^G$	$8,30 \pm 0,14^{Ed}$	$8,25 \pm 0,08^{Fb}$	+	+
	10	$48,43 \pm 0,33^{Ic}$	$51,40 \pm 0,52^I$	$14,97 \pm 0,12^C$	$14,68 \pm 0,38^C$	++	++
	15	$36,17 \pm 0,58^J$	$40,66 \pm 0,35^K$	<b><math>25,28 \pm 0,68^A</math></b>	<b><math>25,73 \pm 0,37^A</math></b>	+++	+++
$\text{Ca}(\text{ClO})_2$ (5%)	5	$92,49 \pm 0,34^A$	$95,43 \pm 0,60^A$	$2,94 \pm 0,07^H$	$1,61 \pm 0,20^I$	+	+
	10	$80,23 \pm 0,40^C$	$83,26 \pm 0,67^C$	$6,90 \pm 0,13^F$	$6,87 \pm 0,11^G$	+	+
	15	$68,10 \pm 0,48^F$	$72,71 \pm 0,39^{Eb}$	$8,69 \pm 0,29^{Ea}$	$8,62 \pm 0,26^{Fa}$	+++	+++
$\text{Ca}(\text{ClO})_2$ (10%)	5	$86,97 \pm 0,17^B$	$88,35 \pm 0,33^B$	$3,90 \pm 0,10^G$	$5,63 \pm 0,24^H$	+	+
	10	$71,92 \pm 0,06^E$	$76,78 \pm 0,25^D$	$8,68 \pm 0,34^{Eb}$	$9,82 \pm 0,11^{Eb}$	+++	++
	15	$49,02 \pm 1,00^{Ia}$	$65,65 \pm 0,33^F$	$8,50 \pm 0,28^{Ec}$	$10,50 \pm 0,35^{Ea}$	++	+++

(Trong đó: +. Sinh trưởng kém, chồi ngắn và nhỏ, ++. Sinh trưởng trung bình, +++. Sinh trưởng tốt)



**Hình 1.** Chồi Téch sau khi khử trùng và nuôi cấy 30 ngày

**Ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng đến quá trình nhân chồi Téch dòng VN34, VN19****Bảng 2.** Kết quả ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân nhanh và kéo dài chồi Téch sau 4 tuần nuôi cấy (7 chồi/9 bình/công thức)

Dòng	Nồng độ	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao trung bình chồi (cm)	Số đốt lá TB/chồi (lá/chồi)	Chất lượng chồi
VN34	0	1,71±0,07 <sup>E</sup>	2,30±2,30 <sup>De</sup>	3,84±0,25 <sup>Cb</sup>	+
	0,25	2,11±0,33 <sup>De</sup>	3,63±0,16 <sup>C</sup>	3,66±0,09 <sup>C</sup>	++
	0,5	2,09±0,40 <sup>De</sup>	4,44±0,08 <sup>Ab</sup>	3,72±0,10 <sup>C</sup>	++
	<b>0,75</b>	<b>2,72±0,15<sup>D</sup></b>	<b>4,64±0,32<sup>Aa</sup></b>	3,42±0,06 <sup>C</sup>	+++
	1,0	2,48±0,11 <sup>D</sup>	4,42±0,25 <sup>Ab</sup>	3,59±0,18 <sup>C</sup>	++
VN19	0	1,27±0,01 <sup>C</sup>	2,30±0,13 <sup>C</sup>	3,34±0,23 <sup>A</sup>	+
	0,25	2,28±0,04 <sup>A</sup>	3,47±0,11 <sup>B</sup>	3,40±0,16 <sup>A</sup>	++
	0,5	2,46±0,13 <sup>A</sup>	4,05±0,03 <sup>A</sup>	2,75±0,16 <sup>B</sup>	++
	<b>0,75</b>	<b>2,56±0,22<sup>A</sup></b>	<b>3,81±0,12<sup>Bb</sup></b>	3,36±0,28 <sup>A</sup>	+++
	1,0	1,88±0,12 <sup>B</sup>	3,87±0,10 <sup>Ba</sup>	3,55±0,28 <sup>Aa</sup>	+

(Trong đó: +. Sinh trưởng kém, ++. Sinh trưởng trung bình, +++. Sinh trưởng tốt, chồi mập, cao, lá đều)

**Hình 2.** Chồi nuôi cấy có bổ sung BAP 0,75mg/l của hai dòng VN34, VN19**Bảng 3.** Kết quả ảnh hưởng của Kinetin đến HSNC và CLC Téch (7 chồi/9 bình/công thức)

Dòng	Nồng độ	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao trung bình chồi (cm)	Số đốt lá TB/chồi (lá/chồi)	Chất lượng chồi
VN34	0	1,74±0,01 <sup>C</sup>	2,13±0,09 <sup>B</sup>	3,43±0,15 <sup>A</sup>	+
	0,25	1,95±0,04 <sup>B</sup>	2,80±0,12 <sup>A</sup>	3,63±0,20 <sup>A</sup>	++
	0,5	2,27±0,02 <sup>A</sup>	2,87±0,09 <sup>A</sup>	3,77±0,10 <sup>A</sup>	++
	<b>0,75</b>	<b>2,36±0,07<sup>A</sup></b>	2,89±0,08 <sup>A</sup>	3,70±0,12 <sup>A</sup>	+++
	1,0	2,24±0,04 <sup>A</sup>	3,37±0,27 <sup>A</sup>	3,47±0,20 <sup>A</sup>	++
VN19	0	1,29±0,03 <sup>B</sup>	2,38±0,24 <sup>B</sup>	3,08±0,05 <sup>A</sup>	+
	0,25	1,63±0,06 <sup>Ab</sup>	2,77±0,13 <sup>Ab</sup>	3,43±0,19 <sup>A</sup>	++
	0,5	1,83±0,38 <sup>Ab</sup>	2,64±0,13 <sup>Ab</sup>	3,37±0,18 <sup>A</sup>	++
	<b>0,75</b>	<b>1,93±0,04<sup>A</sup></b>	<b>2,92±0,09<sup>A</sup></b>	3,29±0,19 <sup>A</sup>	+++
	1,0	1,90±0,10 <sup>A</sup>	2,68±0,11 <sup>Ab</sup>	3,06±0,07 <sup>A</sup>	+

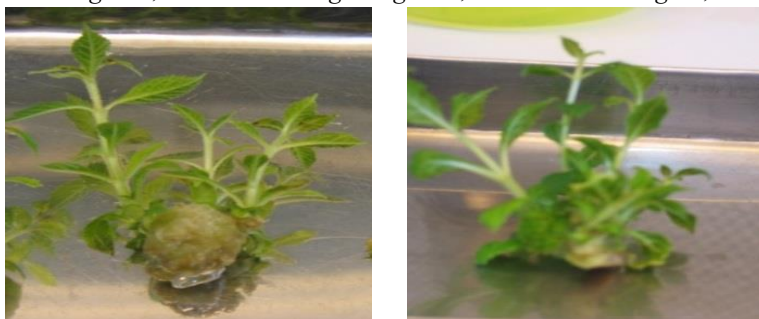
(Trong đó: +. Sinh trưởng kém, ++. Sinh trưởng trung bình, +++. Sinh trưởng tốt, chồi mập, cao, lá đều)

Kết quả bảng 3 cho thấy, môi trường bổ sung Kinetin (KI), các chỉ tiêu theo dõi như HSNC, CCC, CLC so với bổ sung BAP (Bảng 2) là thấp hơn; cùng nồng độ 0,75 mg/l nhưng ở KI dòng VN34: 2,36 ± 0,07 (lần), 2,89 ± 0,08 (cm); VN19: 1,93 ± 0,04 (lần), 2,92 ± 0,09 (cm) thấp hơn so BAP (VN34: 2,72 ± 0,15 (lần), 4,64 ± 0,32 (cm), VN19: 2,56 ± 0,22 (lần), 3,81 ± 0,12 (cm)). Cùng sử dụng 5 CT và nồng độ như nhau, cho thấy việc sử dụng KI có kết quả ảnh hưởng đến sự phát triển của chồi là thấp và chậm. Khi sử dụng riêng bổ sung vào môi trường nuôi cấy thấy KI có ảnh hưởng không tốt đến chiều dài chồi và cây có thân mập hơn, lá và thân xanh nhạt hơn, ở gốc của chồi tạo nhiều callus.

**Bảng 4.** Kết quả ảnh hưởng tổ hợp giữa BAP và NAA đến HSNC và CLC chồi Téch (7 chồi/9 bình/công thức)

Dòng	Nồng độ	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao trung bình chồi (cm)	Số đốt lá TB/chồi (lá/chồi)	Chất lượng chồi
VN34	0	2,45±0,19 <sup>B</sup>	3,42±0,17 <sup>C</sup>	2,87±0,15 <sup>C</sup>	+
	<b>0,25</b>	<b>3,11±0,16<sup>A</sup></b>	<b>5,32±0,18<sup>B</sup></b>	<b>3,31±0,19<sup>Bc</sup></b>	+++
	0,5	2,91±0,09 <sup>A</sup>	5,55±0,21 <sup>B</sup>	3,87±0,08 <sup>B</sup>	++
	0,75	2,73±0,10 <sup>Ab</sup>	6,47±0,44 <sup>A</sup>	3,88±0,11 <sup>B</sup>	+
	1,0	2,95±0,10 <sup>A</sup>	6,14±0,31 <sup>A</sup>	3,68±0,14 <sup>B</sup>	+
VN19	0	2,35±0,04 <sup>B</sup>	3,27±0,10 <sup>C</sup>	2,72±0,04 <sup>B</sup>	+
	<b>0,25</b>	<b>3,01±0,04<sup>A</sup></b>	<b>5,48±0,21<sup>B</sup></b>	<b>3,39±0,20<sup>Ac</sup></b>	+++
	0,5	2,92±0,12 <sup>A</sup>	5,47±0,17 <sup>B</sup>	3,98±0,05 <sup>A</sup>	++
	0,75	2,98±0,09 <sup>A</sup>	6,68±0,08 <sup>A</sup>	4,35±0,26 <sup>A</sup>	+
	1,0	2,02±0,01 <sup>C</sup>	6,34±0,32 <sup>A</sup>	3,63±0,08 <sup>Ab</sup>	+

(Trong đó: +. Sinh trưởng kém, ++. Sinh trưởng trung bình, +++. Sinh trưởng tốt, chồi mập, cao, lá đều)

**Hình 3.** Chồi Téch nuôi cấy bị sùi cục callus**Bảng 5.** Kết quả ảnh hưởng của IBA đến tỷ lệ ra rễ của chồi Téch (9 chồi/9 bình/công thức)

Dòng	Nồng độ	Tỷ lệ ra rễ (%)	Chiều dài của rễ (cm)	Số rễ TB/chồi (rễ)	Chất lượng chồi
VN34	0	35,43±0,87 <sup>E</sup>	3,03±0,05 <sup>C</sup>	2,61±0,15 <sup>C</sup>	+
	0,25	52,21±0,59 <sup>D</sup>	5,49±0,11 <sup>B</sup>	4,35±0,14 <sup>B</sup>	++
	0,5	73,44±1,16 <sup>B</sup>	5,41±0,08 <sup>B</sup>	4,76±0,16 <sup>B</sup>	++
	<b>0,75</b>	<b>78,28±1,37<sup>A</sup></b>	<b>6,15±0,10<sup>A</sup></b>	<b>5,67±0,12<sup>A</sup></b>	+++
	1,0	63,96±1,96 <sup>C</sup>	5,84±0,11 <sup>A</sup>	4,57±0,17 <sup>B</sup>	++
VN19	0	36,66±0,76 <sup>E</sup>	3,28±0,19 <sup>C</sup>	2,62±0,12 <sup>D</sup>	+
	0,25	55,39±1,70 <sup>D</sup>	5,23±0,14 <sup>B</sup>	4,24±0,15 <sup>C</sup>	++
	0,5	72,89±0,75 <sup>B</sup>	5,42±0,24 <sup>B</sup>	4,83±0,12 <sup>B</sup>	++
	<b>0,75</b>	<b>77,35±1,19<sup>A</sup></b>	<b>6,33±0,23<sup>A</sup></b>	<b>5,71±0,20<sup>A</sup></b>	+++
	1,0	60,55±0,34 <sup>C</sup>	5,75±0,13 <sup>Ab</sup>	4,55±0,18 <sup>Bc</sup>	++

(Trong đó: +. Sinh trưởng kém, ++. Sinh trưởng trung bình, +++. Sinh trưởng tốt, chồi mập, cao, rễ dài)

Kết quả bảng 4 cho thấy, tổ hợp này có tác động tích cực rõ ràng, tốt hơn nghiên cứu riêng từng Cytokinin. Nghiên cứu sử dụng kết quả tốt nhất từ nghiên cứu riêng 0,75 mg/L BAP kết hợp với Auxin NAA, nồng độ thay đổi từ 0-1,0 mg/L. Các chỉ tiêu theo dõi tăng ở nồng độ thấp đối với cả hai dòng VN34 và VN19 thể hiện qua các chỉ tiêu đánh giá là HSNC, CCC, CLC: VN34: 3,11 ± 0,16 (lần), 5,32 ± 0,18 (cm); VN19: 3,01 ± 0,04 (lần), 5,48 ± 0,21 (cm), CLC ở mức (+++) chất

lượng có thay đổi rõ rệt, lá to mà xanh, có thể quan sát thấy lông ở mặt trên của lá, lá to hơn và xanh thẫm, chất lượng chồi tốt và cứng hơn khi không có NAA. Khi tăng nồng độ lên ở CT3-5 thấy rằng HSNC giảm so với CT2, nhưng CCC không giảm mà còn tăng hơn so CT2 và CLC là khác về màu sắc và hình dáng chồi, quan sát cho thấy chất lượng chồi là kém vì chồi có màu xanh nhạt, chồi mềm yếu, ở gốc chồi tạo sùi cục callus to (Hình 3).

### Ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng đến đến khả năng ra rễ của hai dòng Téch VN34, VN19

Từ dẫn liệu bảng 5, ta thấy IBA có ảnh hưởng rõ đến tỷ lệ ra rễ, số rễ trung bình/cây và chiều dài trung bình của rễ. Tỷ lệ ra rễ và số rễ trung bình trên cây tăng rất nhiều khi bổ sung với nồng độ 0,5 - 0,75 mg/l, các chỉ tiêu theo dõi đạt cao nhất ở nồng độ 0,75 mg/l. Dòng VN34: TLRR:  $78,28 \pm 1,37$  (%), CDR:  $6,15 \pm 0,10$  (cm); số rễ trung bình/cây (SRTB):  $5,67 \pm 0,12$  (rễ); VN19:  $77,35 \pm 1,19$  (%), SRTB:  $6,33 \pm 0,23$  (cm), CDR:  $5,71 \pm 0,20$  (rễ). Nhưng số rễ TB cao nhất là dòng VN19, ở nồng độ 0,75 mg/l là  $5,71 \pm 0,20$  (rễ). Nồng độ IBA tăng ở các nồng độ 1,0 nhưng các chỉ tiêu trên lại giảm, chất lượng chồi xấu như: Rễ ngắn, phình to, có màu trắng đục, số rễ trên chồi ít. Nghiên cứu cho thấy, bổ sung chất kích thích ra rễ ở nồng độ cao sẽ gây ức chế đến khả năng ra rễ và chất lượng rễ của hai dòng Téch VN34, VN19. Theo báo cáo của R. Sreedevi and. T. Damodharam, 2015 [4], cho thấy môi trường sử dụng 1,5 mg/l IBA cho tỷ lệ ra rễ cao nhất đạt 100%, số lượng rễ/ chồi:  $7,4 \pm 0,11$  (rễ); chiều dài rễ:  $9,7 \pm 0,15$  (cm). Bên cạnh đó công bố của Evandro V. Tambaruss *et al.* (2017) [2], khi sử dụng 0,5-1,0 mg/l sau 2 tuần nuôi cấy đạt tỷ lệ ra rễ là 65% và hoàn thành ra rễ trong vòng 6 tuần. Tương tự như vậy Shirin *et al.* (2005) [3], khi sử dụng nồng độ chất kích thích ra rễ là IBA nồng độ 2,6 mg/l đạt tỷ lệ ra rễ là 66%.



**Hình 4.** Chồi Téch nuôi cấy ra rễ có bổ sung 0,75 mg/L IBA hai dòng VN34, VN19

### KẾT LUẬN

Quá trình nghiên cứu nhân giống chồi nách hai dòng Téch VN34 và VN19 chịu ảnh

hưởng của nồng độ và thời gian khử trùng cho giai đoạn vào mẫu, tạo mẫu chồi cho giai đoạn nhân nhanh chồi, môi trường nuôi cấy và chất kích thích nhân nhanh và chất kích thích ra rễ. Môi trường sử dụng là: MS\*+100 mg Inositol/l + 30 g Sucrose/l + 6 g agar/l, pH=5,8.

1. Nồng độ chất khử trùng và thời gian khử trùng đối hai dòng Téch VN34 và VN19 là: HgCl<sub>2</sub> 0,1% với thời gian 15 phút cho tỷ lệ bật chồi cao nhất của cả 2 dòng là: VN 34:  $25,28 \pm 0,68$ %; VN19:  $25,73 \pm 0,37$ %.

2. Nồng độ chất kích thích nhân nhanh BAP tốt nhất bổ sung vào môi trường nhân chồi là: 0,75 mg/l cho tỷ lệ nhân nhanh chồi với HSNV và CCC của hai dòng là: VN34:  $2,72 \pm 0,15$  (lần);  $4,64 \pm 0,32$  (cm) và VN19:  $2,56 \pm 0,22$  (lần);  $3,81 \pm 0,12$  (cm)

3. Môi trường nhân nhanh thích hợp cho hai dòng Téch VN34 và VN 19 là tổ hợp của chất kích thích nhân nhanh chồi và chất kích thích ra rễ 0,75 mg/l BAP + 0,25 mg/l NAA cho tỷ lệ nhân nhanh chồi với chất lượng chồi rất tốt, với chỉ tiêu theo dõi HSNV và CCC là: VN34:  $3,11 \pm 0,16$  (lần);  $5,32 \pm 0,18$  (cm); VN19:  $3,01 \pm 0,04$  (lần);  $5,48 \pm 0,21$  (cm).

4. Nồng độ chất kích thích ra rễ thích hợp cho hai dòng Téch VN34 và VN19 ra rễ là: 0,75 mg/l với các chỉ tiêu TLRR và CDR là: VN34:  $78,28 \pm 1,37$  (%);  $6,15 \pm 0,10$  (cm); VN19:  $77,35 \pm 1,19$  (%);  $6,33 \pm 0,23$  (cm)

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fermio Junior *et al.* (2009), "In vitro establishment, germination and multiplication of teak (*Tectona grandis*L.f) from genotypes of South-Western Amazon", *Sci. For., Piracicaba*, 37(84), pp. 427-435.
2. Sreedevi R. and Damodharam T. (2015), "In vitro propagation and phytochemical studies of Indian Teak (*Tectona grandis*L.)", *Archives of Applied Science Research*, 7 (6), pp. 22-27.
3. Evandro V. Tambaruss *et al.* (2017), "Efficient and new method for *Tectona grandis* In vitro regeneration", *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 17, pp. 124-132.
4. Shirin F., Rana P. K. and Mandal A. K. (2005), "In vitro clonal propagation of mature *Tectona grandis* through axillary bud proliferation", *Journal of Forest Research*, 10, pp. 465-469.