

NGHIÊN CỨU TẠO NGUỒN VẬT LIỆU KHỞI ĐẦU TRONG NUÔI CÂY MÔ CÂY TRE TỨ QUÝ

Lê Nguyễn Tiểu Ngọc¹, Nguyễn Ngọc Hữu², Đỗ Hải Hiến³

Ngày nhận bài: 25/03/2024; Ngày phản biện đánh giá: 13/04/2024; Ngày đăng: 15/04/2024

TÓM TẮT

Cây tre Tứ Quý là loài tre lấy măng có nguồn gốc từ Đài Loan và có giá trị kinh tế cao. Nghiên cứu tạo nguồn vật liệu khởi đầu trong nhân giống *in vitro* cây tre Tứ quý là cần thiết trong việc nhân giống và phát triển loài tre này tại tỉnh Đắk Lắk. Trong nghiên cứu này, dung dịch NaOCl được sử dụng để khử trùng các mẫu đốt thân và măng tre với các nồng độ, thời gian xử lý khác nhau nhằm tạo nguồn mẫu *in vitro*. Kết quả cho thấy, khử trùng bằng NaOCl nồng độ 20% trong 30 phút cho hiệu quả tốt nhất đối với mẫu măng tre, với tỷ lệ mẫu sống không nhiễm đạt 72,59%, trong khi sử dụng NaOCl 40% trong 20 phút cho hiệu quả với các đốt thân, với tỷ lệ mẫu sống không nhiễm là 63,15%. Bên cạnh đó, nghiên cứu sự phát sinh hình thái ở mẫu măng tre trên môi trường Murashige và Skoog, 1962 (MS) bổ sung 1 mg/L BA và các nồng độ NAA khác nhau cho thấy, sự hình thành chồi xảy ra trên môi trường chỉ chứa BA và sự cảm ứng tạo mô sẹo tốt nhất trên môi trường chứa 5 mg/L NAA. Kết quả nghiên cứu là nguồn vật liệu khởi đầu trong việc xây dựng quy trình nhân giống cây tre Tứ quý bằng phương pháp nuôi cấy mô.

Từ khóa: Khử trùng, mô sẹo, NaOCl, NAA, tre Tứ quý.

1. MỞ ĐẦU

Tre Tứ Quý là loài tre lấy măng, có nguồn gốc từ Đài Loan, măng tre này có các đặc điểm quý như ăn giòn ngọt, không có hạt đắng, không bị xơ, vỏ măng không lông tơ như các loại măng khác và cho măng quanh năm. Chính vì vậy, măng tre Tứ quý có giá trị kinh tế khá cao. Hiện nay, loài tre này đang được nhân rộng và trồng ở một số tỉnh như Vũng Tàu, Cần Thơ đem lại nguồn thu nhập đáng kể cho người dân địa phương và đang có xu hướng trở thành loại cây trồng thay thế cho các loại cây không thể canh tác được trên những vùng đất cằn cỗi, thiếu nước tưới.

Nhân giống cây trồng bằng kỹ thuật nuôi cấy mô phục vụ mục đích thương mại nhân nhanh trên nhiều loại đối tượng khó nhân giống bằng các phương pháp truyền thống. Ở cây tre, các phương pháp nhân giống như hom gốc, thân ngâm, hom cành, đoạn thân khí sinh thường cho hệ số nhân giống thấp, cây không đồng nhất, tốn thời gian và chưa đáp ứng được nhu cầu về số lượng lớn cây tre giống. Cho đến nay, nhiều nghiên cứu về quy trình nhân giống *in vitro* các loài thuộc ba chi *Bambusa*, chi *Dendrocalamus* và *Phyllostachys* đã được công bố (Chang and Ho, 1997; Ramanayake et al., 2006; Hassan and Debergh, 1987; Huang et al., 1989; Huang et al., 2002; Ogita et al., 2008). Các kỹ thuật nuôi cấy mô cây tre bao gồm nghiên cứu sự nảy mầm của hạt ở chi *Phyllostachys* trong ống nghiệm (Ogita et al., 2008), ra hoa trong ống

nh nghiệm (Nadguada et al., 1990; Rout and Das, 1994; Singh et al., 2000), tái sinh chồi từ nuôi cấy đốt thân (Ogita et al., 2008; Negi and Saxena, 2011; Mudoj et al., 2014; Ornellas et al., 2019; Verma and Mishra, 2018), nuôi cấy phôi (Ravikumar et al., 1998), nuôi cấy mô sẹo và huyền phù tế bào (Ogita, 2005). Các nghiên cứu trên thế giới mô tả khá chi tiết các giai đoạn chính trong quy trình nhân giống cây tre bằng phương pháp nuôi cấy mô, tuy nhiên, tại Việt Nam chưa ghi nhận được bất kỳ quy trình hoàn chỉnh về nhân giống *in vitro* cây tre, ngoại trừ báo cáo về sự tạo phôi soma và tái sinh chồi tre Ròng (*Dendrocalamus giganteus* Wall. ex Munro) bằng nuôi cấy lớp mỏng tế bào (Lê Văn Hòa và cs, 2012). Nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định nồng độ và thời gian khử trùng đến khả năng tạo nguồn mẫu vô trùng từ các đốt thân và măng tre non nhằm bước đầu xây dựng quy trình nhân giống vô tính *in vitro* và tạo được nguồn giống cây tre Tứ quý ổn định trên địa bàn tỉnh Đắk Lắk.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Trong nghiên cứu này, 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 được dùng để lấy mẫu. Mẫu cây dùng cho thí nghiệm khử trùng là các đoạn thân tre chứa 03 đốt có kích thước khoảng 15 – 17 cm, và các búp măng tre (Hình 1) được thu trực tiếp tại vườn, chất khử trùng được sử dụng là dung dịch NaOCl có nồng độ

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

²Khoa Nông Lâm Nghiệp, Trường Đại học Tây Nguyên

³Lớp Khoa học cây trồng K20, Khoa Nông Lâm nghiệp, Trường Đại học Tây Nguyên

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

chlorine 8% (Xilong, Trung Quốc).

Môi trường nuôi cấy được sử dụng trong thí nghiệm là môi trường khoáng đa lượng, vi lượng, vitamin MS (Duchefa, Hà Lan) bổ sung 30 g/L đường saccharose, 7 g/L agar; pH 5,8 được hấp khử trùng bằng autoclave ở 121°C, 1 atm trong thời gian 20 phút và bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng thực vật ở tỉ lệ khác nhau theo từng giai đoạn của thí nghiệm.



Hình 1. Vật liệu dùng làm mẫu cấy

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát ảnh hưởng của chất khử trùng lên khả năng tạo mẫu sạch, không nhiễm

Mẫu được rửa sạch dưới vòi nước chảy sau đó lắc trong cồn 70% trong 2 phút, rửa lại bằng nước cất tiệt trùng 2 lần và ngâm trong dung dịch NaOCl được pha theo tỷ lệ thể tích v : v (NaOCl : nước cất) với các nồng độ tương ứng 20%, 40% và 60% với các mốc thời gian khác nhau (20, 30 phút). Mẫu ở thí nghiệm thức đối chứng được khử trùng bằng nước cất tiệt trùng. Sau khi khử trùng, các đốt thân được cắt thành từng đoạn có kích thước khoảng 2 cm có chứa chồi ngủ, các mẫu măng tre sau khi lột bỏ hoàn toàn lớp lá bao, dùng dao phẫu thuật tách lấy những phần chứa chồi ngủ và cấy trên môi trường.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ và thời gian khử trùng đến khả năng tạo mẫu sạch, không nhiễm

| Thí nghiệm thức | Mẫu đốt thân | | | Mẫu măng | | |
|-----------------|--------------------------------|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| | Tỷ lệ mẫu sống không nhiễm (%) | Tỷ lệ mẫu nhiễm (%) | Tỷ lệ mẫu chết không nhiễm (%) | Tỷ lệ mẫu sống không nhiễm (%) | Tỷ lệ mẫu nhiễm (%) | Tỷ lệ mẫu chết không nhiễm (%) |
| NT1 | 19,07 ± 2,85 ^c | 80,19 ± 4,09 ^a | 0,74 ± 1,28 ^c | 43,33 ± 8,82 ^b | 56,67 ± 8,82 ^a | 0 ± 0 ^d |
| NT2 | 41,29 ± 6,63 ^b | 58,70 ± 6,63 ^b | 0 ± 0 ^c | 72,59 ± 10,79 ^a | 14,63 ± 13,10 ^b | 4,07 ± 3,69 ^d |
| NT3 | 63,15 ± 7,46 ^a | 22,22 ± 4,20 ^c | 14,63 ± 4,24 ^d | 74,44 ± 11,09 ^a | 0 ± 0 ^c | 25,55 ± 11,09 ^c |
| NT4 | 17,97 ± 7,78 ^c | 7,41 ± 1,28 ^d | 74,63 ± 7,54 ^c | 18,70 ± 5,5 ^c | 1,11 ± 1,92 ^c | 81,30 ± 5,56 ^b |
| NT5 | 3,70 ± 0,64 ^d | 6,48 ± 4,53 ^d | 89,81 ± 4,31 ^b | 2,22 ± 3,85 ^d | 1,11 ± 1,92 ^c | 97,78 ± 3,85 ^a |
| NT6 | 0 ± 0 ^d | 0 ± 0 ^d | 100 ± 0 ^a | 0 ± 0 ^d | 0 ± 0 ^c | 100 ± 0 ^a |
| ANO-VA | Nồng độ | ** | ** | ** | ** | ** |
| | Thời gian | ** | ** | ** | ** | ** |

*Ghi chú: Sự khác biệt của các chữ cái a, b, c, ... trong cùng một cột có ý nghĩa thống kê theo trắc nghiệm Duncan với P < 0,05

Mỗi thí nghiệm tiến hành 30 bình, mỗi bình cấy 1 mẫu. Chỉ tiêu theo dõi là tỷ lệ mẫu sạch, không nhiễm (%), tỷ lệ mẫu sống không nhiễm (%), tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ mẫu chết không nhiễm (%).

Khảo sát ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy lên khả năng phát sinh hình thái ở măng tre

Các mẫu măng được khử trùng và cấy trên môi trường MS có bổ sung 30 g/L đường saccharose, 7 g/L agar, than hoạt tính, 1 mg/L BA và NAA (0, 1, 2, 3, 5 mg/L) ở các nồng độ khác nhau; pH của môi trường nuôi cấy được điều chỉnh bằng 5,8 trước khi hấp khử trùng. Mỗi thí nghiệm gồm 15 bình, mỗi bình cấy 02 mẫu. Chỉ tiêu theo dõi là tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (%), hình thái mô sẹo, màu sắc mô sẹo, tỷ lệ mẫu tạo chồi (%), hình thái chồi, chiều cao chồi (nếu có), số lá/chồi (nếu có).

Điều kiện nuôi cấy

Mẫu cấy được nuôi trong điều kiện 16 giờ chiếu sáng, cường độ ánh sáng 2000 ± 500 lux, nhiệt độ 25°C ± 2, độ ẩm 50 - 60%.

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 thí nghiệm thức được đánh giá bằng trắc nghiệm phân hạng Duncan với P ≤ 0,05.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của chất khử trùng NaClO lên khả năng tạo mẫu sạch, không nhiễm

Sau 15 ngày nuôi cấy, kết quả ghi nhận được thể hiện như trong Bảng 1.

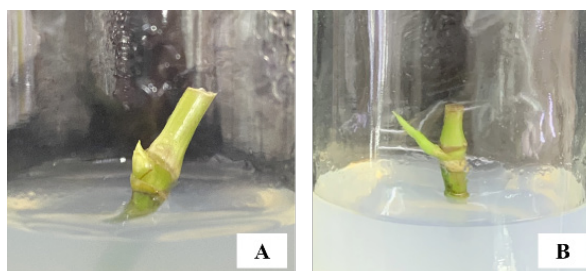
Sau 3 ngày nuôi cấy, 100% mẫu cấy ở nghiệm thức đối chứng sử dụng nước cất để khử trùng bị nhiễm nấm và vi khuẩn (Hình 2), một số mẫu cấy ở nghiệm thức khử trùng bằng dung dịch NaOCl nồng độ 20% trong thời gian 20 phút (NT1) xuất hiện nấm và vi khuẩn. Trong khi đó, ở các nghiệm thức còn lại (NT3 - NT6) có NaOCl nồng độ cao hơn (40% và 60%) hoặc xử lý mẫu trong thời gian lâu hơn (NT2), các mẫu vẫn còn tươi và chưa có dấu hiệu nhiễm vi sinh vật.



Hình 2. Mẫu cấy nhiễm nấm và vi khuẩn ở nghiệm thức đối chứng

Sau 7 ngày nuôi cấy, tỷ lệ nhiễm ở các bình nuôi cấy giảm theo sự gia tăng nồng độ chất khử trùng, cụ thể các mẫu ở các nghiệm thức NaOCl 20% có tỷ lệ nhiễm cao hơn so với các nghiệm thức NaOCl 40% và NaOCl 60% ở cả hai loại mẫu cấy. Kết quả thí nghiệm cho thấy, sự gia tăng nồng độ chất khử trùng tỷ lệ nghịch với tỷ lệ nhiễm của các bình cấy và tăng biến thiên so với tỷ lệ mẫu chết không nhiễm ở các nghiệm thức. Trong khi các mẫu cấy ở nghiệm thức NT1- NT4 vẫn duy trì màu xanh (đốt thân) hoặc màu vàng nhạt (măng tre) thì một số mẫu cấy ở nghiệm thức NT5 và NT6 đã có hiện tượng hóa nâu ở cả hai loại mẫu.

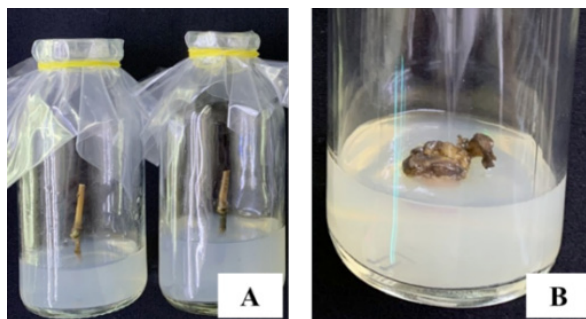
Kết quả ghi nhận sau 15 ngày nuôi cấy cho thấy, khả năng khử trùng của dung dịch NaOCl ở nồng độ và thời gian khác nhau cho hiệu quả khác nhau trên hai loại mẫu cấy. Đối với đốt thân, sử dụng NaOCl nồng độ 20% trong 20 phút cho hiệu quả khử trùng thấp nhất, chỉ đạt tỷ lệ 19,07% mẫu sống không nhiễm. Khi kéo dài thời gian xử lý mẫu lên 30 phút ở cùng nồng độ (NT2), tỷ lệ mẫu sống không nhiễm tăng lên (41,3%) và tỷ lệ nhiễm giảm (58,7%). Nghiệm thức NT3 với NaOCl nồng độ 40% xử lý mẫu trong 20 phút cho hiệu quả cao nhất với 63,15% mẫu sống không nhiễm, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại, tuy nhiên, ở nghiệm thức này cũng xuất hiện các mẫu chết không nhiễm, chiếm 14,63%.



Hình 3. Mẫu đốt thân vô trùng sau 7 ngày (A) và 15 ngày (B) nuôi cấy

Kết quả tương tự được ghi nhận đối với các mẫu măng tre, cụ thể, nghiệm thức NT1 cho hiệu quả khử trùng thấp, với tỷ lệ mẫu sống không nhiễm đạt 43,33% so với hai nghiệm thức NT2 và NT3, lần lượt là 72,59% và 74,44%. Tuy hai nghiệm thức NT2 và NT3 không khác biệt ý nghĩa về tỷ lệ mẫu sống không nhiễm, nhưng ở nghiệm thức NT2, tỷ lệ mẫu chết không nhiễm chỉ chiếm 4,07%, trong khi đó tỷ lệ này ở NT3 chiếm đến 25,55%.

Việc kéo dài thời gian ngâm mẫu trong NaOCl 40% đến 30 phút (NT4) hoặc tăng nồng độ NaOCl lên 60% ở cả hai mốc thời gian 20 phút (NT5) và 30 phút (NT6) làm giảm tỷ lệ nhiễm đáng kể ở cả hai loại mẫu cấy, tuy nhiên phần lớn các mẫu trên các nghiệm thức NT4, NT5 và NT6 đều bị hóa nâu và chết, trong đó nghiệm thức NT6 có tỷ lệ chết 100%. Điều này do ngâm mẫu trong thời gian dài ở nồng độ cao, chất khử trùng thâm nhập sâu vào mô, gây độc và làm chết mô cấy.



Ghi chú: (A) Mẫu đốt thân (B) Mẫu măng tre
Hình 4. Mẫu chết không nhiễm sau 21 ngày theo dõi

Dung dịch NaOCl là chất khử trùng phổ biến dùng trong nuôi cấy mô thực vật. Nồng độ NaOCl được sử dụng để khử trùng mẫu cấy phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau như tuổi mẫu, loại mẫu, vị trí lấy mẫu, cách xử lý trước và sau khi thu mẫu, ... Các nghiên cứu về khử trùng mẫu tre trước đây phần lớn sử dụng dung dịch HgCl₂ và có 02 nhóm công bố về khả năng khử trùng mẫu đốt thân bằng dung dịch NaOCl đậm đặc cho hiệu quả ở nồng độ 2,5% trong thời gian 30 phút (Verma and Mishra,

2018) hoặc 4% trong thời gian 20 phút (Ornellas et al., 2019). Kết quả thí nghiệm này khá tương đồng với các kết quả trước đây về nồng độ và thời gian khử trùng. Như vậy, theo kết quả nghiên cứu, nghiệm thức phù hợp cho thí nghiệm khử trùng mẫu là nghiệm thức NT3 (NaOCl 40% trong 20 phút) đối với đốt thân, và nghiệm thức NT2 (NaOCl 20% trong 30 phút) đối với mẫu măng tre.

Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật lên sự phát sinh hình thái ở mẫu măng tre *in vitro*

Các chất điều hòa sinh trưởng thực vật là thành phần quan trọng bậc nhất trong môi trường nuôi

cây. Hai nhóm chất điều hòa sinh trưởng thực vật thường dùng phổ biến trong quá trình phát sinh hình thái mẫu là auxin và cytokinin. NAA là loại auxin thường được dùng trong nuôi cấy *in vitro*, có tác dụng kích thích sự phân bào và sinh trưởng của mô sẹo, và cũng có tác dụng tạo *in vitro*. BA là loại cytokinin thường được dùng trong việc kích thích phân hóa chồi ở nhiều loài thực vật (Schaller et al., 2015). Trong nghiên cứu này, môi trường MS bổ sung 1 mg/L BA và NAA ở các nồng độ khác nhau (0, 1, 2, 3 và 5 mg/L) được dùng để khảo sát khả năng phát sinh hình thái ở mẫu măng tre *in vitro*. Kết quả sau 30 ngày nuôi cấy được thể hiện như trong Bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BA và NAA đến sự phát sinh hình thái ở mẫu măng tre

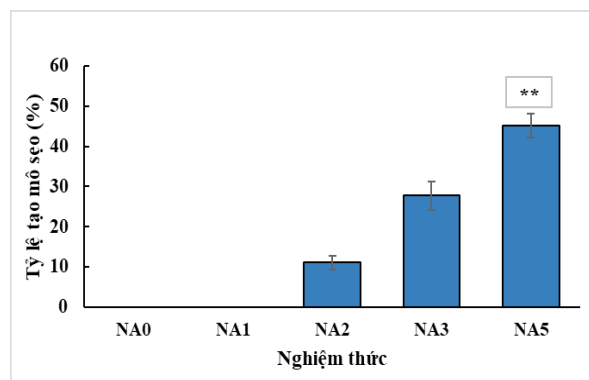
| Nồng độ NAA (mg/L) | Nồng độ BA (mg/L) | Tỷ lệ tạo mô sẹo (%) | Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%) | Hình thái mẫu |
|--------------------|-------------------|---------------------------|------------------------|--|
| 0 | | 0 ± 0 ^d | 100 | Chồi có màu xanh, vàng nhạt hoặc trắng |
| 1 | | 0 ± 0 ^d | - | Xuất hiện cấu trúc giống lá, không tạo chồi, không tạo mô sẹo |
| 2 | 1 | 11,11 ± 2,94 ^c | - | Mô sẹo màu trắng, xuất hiện lốm đốm trên bề mặt mẫu |
| 3 | 1 | 27,77 ± 6,19 ^b | - | Mô sẹo màu trắng hoặc vàng nhạt, rời rạc hoặc từng đốm trên bề mặt mẫu |
| 5 | 1 | 45,18 ± 5,25 ^a | - | Mô sẹo có màu vàng nâu, vàng nhạt hoặc trắng đục, kết thành khối nhỏ tại vết cắt |

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



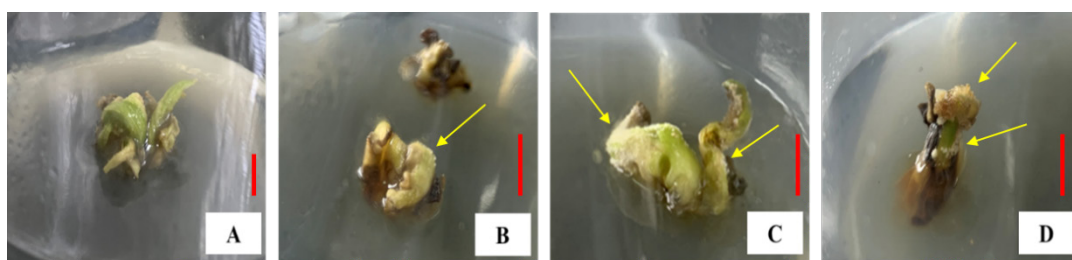
Hình 5. Chồi hình thành (mũi tên) trên mẫu sau 15 ngày nuôi cấy, thanh ngang 10 mm

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nghiệm thức chỉ chứa 1 mg/L BA có sự hình thành chồi (Hình 5), chồi xuất hiện ở tất cả các mẫu cấy, với số lượng 2,07 chồi/mẫu. Sự hình thành chồi trên môi trường MS chỉ chứa BA (1 mg/L) có thể do hàm lượng cytokinin nội sinh kết hợp với hàm lượng cytokinin bổ sung vào môi trường kích thích sự hình thành chồi trên mô cấy. Mỗi búp măng tre chứa nhiều chồi ngủ nhỏ, khi tiến hành tách và nuôi cấy trên môi trường chứa nồng độ BA thích hợp đã thúc đẩy sự phân chia tế bào, hình thành chồi bất định. Các chồi xuất hiện trong thí nghiệm này chưa rõ ràng, có màu xanh, vàng nhạt hoặc màu trắng, và chưa hình thành lá thật.



Hình 6. Ảnh hưởng của BA và NAA đến sự tạo mô sẹo ở mẫu sau 30 ngày nuôi cấy

Trong khi đó, ở các nghiệm thức có sự kết hợp giữa BA và NAA ở các nồng độ 2, 3, 5 mg/L ghi nhận sự cảm ứng tạo mô sẹo trên các mẫu cấy với tỷ lệ tương ứng là 11,11%; 27,78% và 45,19% (Bảng 2). Trong cả 3 loại môi trường này đều không có sự tạo chồi sau 4 tuần nuôi cấy. Riêng các mẫu ở môi trường chứa BA và 1 mg/L NAA không ghi nhận được bất cứ phản ứng nào của mẫu cấy (Hình 7A).



Hình 7. Mẫu cây cảm ứng tạo mô sẹo (mũi tên) sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường MS chứa 1 mg/L BA và NAA ở các nồng độ (1 (A), 2 (B), 3 (C) và 5 (D) mg/L), thanh ngang 10 mm

Kết quả ghi nhận được ở Hình 6 cho thấy, sau 4 tuần nuôi cấy, tỷ lệ tạo mô sẹo tăng theo sự gia tăng nồng độ NAA ở các nghiệm thức thí nghiệm, kết quả xử lý thống kê cho thấy có sự sai khác về tỷ lệ hình thành mô sẹo ở các nghiệm thức, trong đó nghiệm thức cho tỷ lệ tạo mô sẹo cao nhất trên môi trường chứa 5 mg/L NAA, đạt 45,19%. Tuy có sự khác biệt về tỷ lệ tạo mô sẹo giữa các nghiệm thức thí nghiệm, nhưng về chất lượng, màu sắc, hình dạng và khối lượng mô sẹo tạo thành không có sự khác biệt đáng kể. Tất cả các mô sẹo xuất hiện tại các vết cắt, trên bề mặt lá hoặc rìa mép lá hình thành từ chồi ngủ trên mẫu cây. Trong những nghiên cứu về nhân giống *in vitro* các loài tre, các nhóm tác giả khi sử dụng kết hợp cả hai loại phytohormone (Kinetin/BA và NAA/2,4-D) ở nồng độ cao đều có hiệu quả tăng sinh chồi, phát sinh phôi soma (Mehta et al., 2010), sự cảm ứng tạo mô sẹo đạt hiệu quả cao khi sử dụng 2,4-D kết hợp với NAA (Brar, 2014) hoặc 10% nước dừa (Nadha, 2012), điều này khác hoàn toàn so với kết

quả thí nghiệm này. Trong nghiên cứu này, sự cảm ứng tạo mô sẹo có thể do vai trò của NAA trong việc kích thích mạnh mẽ sự phân chia tế bào, thúc đẩy quá trình phản biệt hóa xảy ra và khi kết hợp với BA ở nồng độ thấp sẽ thành lập mô sẹo trên mẫu cây, cũng có thể do khác loài tre và khác loại mẫu cây (các thí nghiệm trước đều sử dụng đốt thân).

4. KẾT LUẬN

Nghiệm thức thí nghiệm chứa NaOCl nồng độ 40% trong 20 phút cho hiệu quả tốt nhất đối với khả năng khử trùng mẫu đốt thân, và NaOCl nồng độ 20% trong 30 phút có hiệu quả đối với mẫu măng tre. Nghiên cứu sự phát sinh hình thái ở măng tre trên môi trường MS bổ sung 30 g/L đường saccharose, 7 g/L agar, than hoạt tính, 1 mg/L BA với các nồng độ NAA khác nhau cho thấy, sự hình thành chồi xảy ra trên môi trường chỉ chứa BA và sự cảm ứng tạo mô sẹo tốt nhất trên môi trường chứa 5 mg/L NAA.

STUDY ON GENERATION OF THE INITIAL MATERIALS IN TISSUE CULTURE OF TU QUY BAMBOO PLANT

Le Nguyen Tieu Ngoc¹, Nguyen Ngoc Huu², Do Hai Hien³

Received Date: 25/03/2024; Revised Date: 13/04/2024; Accepted for Publication: 15/04/2024

ABSTRACT

Tu Quy bamboo is a bamboo species originating from Taiwan and has high economic value. Study on generation of the initial materials in *in vitro* propagation protocol of Tu Quy bamboo is necessary in propagating and developing this bamboo species in Dak Lak province. In this study, NaOCl solution was used to disinfect stem and bamboo shoot explants with different concentrations and treatment times in order to generate *in vitro* samples. The results showed that the sterilization with NaOCl concentration of 20% for 30 minutes had the best effect for bamboo shoot samples, with a contamination-free survival rate of 72.59%, while using NaOCl 40% for 20 minutes was effective to stem explants (63.15%).

¹Institute of Biotechnology & Environment, Tay Nguyen University;

²Faculty of Agriculture and Forestry, Tay Nguyen University;

³Class of Crop Science K20, Faculty of Agriculture and Forestry, Tay Nguyen University;

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

Besides, study on the morphogenesis of bamboo explants on Murashige and Skoog (MS) medium, 1962 supplemented with 1 mg/L BA and different concentrations of NAA showed that, shoot was formed on the medium containing BA alone, and the best induction of callus formation on the medium had 5 mg/L NAA. The research result is the initial material in developing a propagation protocol of Tu Quy bamboo plant using the tissue culture method.

Keywords: Sterilization, callus, NaOCl, NAA, Tu Quy bamboo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lê Văn Hòa, Nguyễn Văn Ấy & Phan Thị Ánh Nguyệt. (2012). Sự tạo phôi soma và tái sinh chồi tre rồng (*Dendrocalamus giganteus* Wall. Ex Munro) từ nuôi cấy lớp mỏng tế bào. *Tạp chí Khoa học (Trường Đại học Cần Thơ)*, 21b, 68-77.
- Brar, J. (2014). *Micropropagation of some edible bamboo species and molecular characterization of the regenerated plants*. Ph. D thesis. Thapar University, Patiala.
- Chang W.C. and Ho C.W. (1997). Micropropagation of Bamboos. In *Biotechnology in Agriculture and Forestry. High-tech and Micropropagation V* (pp 203-219). New York: Springer Berlin, Heidelberg.
- Schaller G.E., Bishopp A., and Kieber J.J. (2015). “The yin-yang of hormones: cytokinin and auxin interactions in plant development,” *The Plant Cell*, 27 (1), 44-63.
- Hassan A.A.E. and Debergh P. (1987). Embryogenesis and plantlet development in the bamboo *Phyllostachys viridis* (Young) McClure. *Plant Cell Tiss Org Cult* 10, 73-77.
- Huang L.C., Huang B.L., and Chen W.L. (1989). Tissue culture investigations of bamboo - IV. Organogenesis leading to adventitious shoots and plants in excised shoot apices. *Environ Exp Bot*, 29, 307-315.
- Huang L.C. et al. (2002). High polyphenol oxidase activity and low titratable activity in browning bamboo tissue culture. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 38, 358-365.
- 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. *Eur. J. For. Res.*, 130(5), 729-736.
- Mudoi 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.
- Nadgauda R.S., Parasharami V.A. and Mascarenhas A.F. (1990). Precocious flowering and seeding behaviour in tissue-cultured bamboos. *Nature*, 344, 335-336.
- 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 Cell Dev Biol Plant*, 47, 604-610.
- Ogita S. (2005). Callus and cell suspension culture of bamboo plant, *Phyllostachys nigra*. *Plant Biotechnol*, 22, 119-125.
- Ogita S., Kashiwagi H., Kato Y. (2008). *In vitro* node culture of seedlings in bamboo plant, *Phyllostachys meyeri* McClure. *Plant Biotechnol*, 25, 381-385.
- Ornellas T.S. et al. (2019). Micropropagation of *Guadua chacoensis* (Rojas) Londoño & P. M. Peterson. *Pesq. Agropec. Trop*, 49, e55450.
- Ramanayake S.M.S.D. (2006). Micropropagation of tropical bamboos. *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues Vol 2* Global Science Books (pp 540-550). UK: Isleworth.
- Ravikumar R. et al. (1998). *In vitro* shoot propagation of *Dendrocalamus strictus* Nees. *Plant Cell Tiss. Organ Cult*, 52, 189-192.
- Rout G.R. and Das P. (1994). Somatic embryogenesis and *in vitro* flowering of 3 species of bamboo. *Plant Cell Rep*, 13, 683-686.
- Singh M., Jaiswal U., Jaiswal V.S. (2000). Thidiazuron - induced *in vitro* flowering in *Dendrocalamus strictus* Nees. *Curr. Sci*, 79, 1529-1530.
- Verma P. and Mishra N. (2018). A review *in vitro* regeneration of bamboo plants by plant culture techniques. *Int. J. Adv. Sci. Eng. Tech*, 6(4), 2321-8991.