

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG CÂY DÓ TRẦM (*Aquilaria crassna* Pierre) BẰNG NUÔI CÂY MÔ

Lê Văn Thành, Nguyễn Thị Hiền,
Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Kết quả nghiên cứu nhân giống vô tính cây Dó trầm bằng công nghệ mô hom cho thấy các biện pháp kỹ thuật đều rất có triển vọng. Trong nghiên cứu nuôi cấy mô: a) môi trường tối ưu nhất cho giai đoạn nhân nhanh chồi *in vitro* là môi trường MTBS có bổ sung tổng hợp (0,2 mg/l BAP + 0,25 mg/l kinetin + 0,25 mg/l adenin), hệ số nhân đạt 14,6 chồi; b) môi trường thích hợp nhất trong giai đoạn tạo rễ của cây *in vitro* là môi trường: 3/4 WPM + 0,1 mg/l BAP, bổ sung thêm 0,25 mg/l IBA + 0,25 mg/l NAA, tỷ lệ ra rễ đạt 60,2%; c) Điều kiện thuần hoá cây *in vitro* ngoài vườn ươm được chọn như sau: đưa cây ra ngoài phòng thí nghiệm 5 – 7 ngày, trước khi trồng vào bầu đất trộn xơ dừa theo tỷ lệ 3 : 1, cần huấn luyện cây con trong bể cát giâm khoảng 2 tuần cho phát sinh rễ mới, tỷ lệ sống đạt 54,3%. Trong nghiên cứu công nghệ mô – hom kết hợp, thực nghiệm bước đầu cho thấy khả năng ra rễ của cây Dó trầm *in vitro* bằng phương pháp giâm hom cao hơn so với quy trình ra rễ trong nuôi cấy mô, tỷ lệ hom ra rễ và thành cây đạt 67,3%.

Từ khoá: Nuôi cấy mô, giâm hom, Dó trầm.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Dó trầm (*Aquilaria crassna* Pierre.) còn có tên gọi là cây Dó bầu, cây Dó, cây Trầm hương, cây Tóc. Những năm gần đây, Dó trầm được gây trồng nhiều ở một số tỉnh thuộc Bắc Trung Bộ và Nam Trung Bộ như tỉnh Hà Tĩnh, Quảng Nam,... Mục đích chính của việc trồng Dó trầm là để tạo tinh dầu và trầm hương. Các sản phẩm này được con người biết tới từ xa xưa do có nhiều công dụng: Trong y học cổ truyền dùng làm thuốc chữa trị các chứng bệnh như đau ngực, hen suyễn, khó thở, cảm hàn, đau bụng, lợi tiểu, trợ tim, thấp khớp,... Trong công nghiệp mỹ phẩm dùng làm chất định hương, chế biến các loại dầu thơm, nước hoa cao cấp,... Trong tín ngưỡng dùng làm hương nhang và nền đốt trong các dịp lễ Tết, dùng khi hoá táng hoặc ướp xác người quá cố, người theo Đạo Hồi dùng tinh dầu trầm xịt lên người vào những ngày lễ hội.

Tuy nhiên, trong trồng rừng hiện nay hầu hết các địa phương đều sử dụng các nguồn giống Dó trầm không được tuyển chọn, giống trồng được gieo ươm từ hạt những cây không được chọn lọc. Do đó, sinh trưởng của cây Dó trầm cũng như năng suất và chất lượng tinh dầu trầm đạt được chưa cao. Vì vậy, nghiên cứu cải thiện giống cây Dó trầm đáp ứng mục đích tạo ra nguồn giống cho năng suất và chất lượng tinh dầu cao bằng biện pháp chọn cây trội và nhân giống nuôi cấy mô là rất cần thiết. Biện pháp này không những cung cấp nguồn giống bảo đảm chất lượng di truyền được lấy từ cây trội, tạo ra giống có năng suất, chất lượng cao, cho thu hoạch nhanh hơn, đáp ứng nhu cầu cải thiện giống trong sản xuất mà còn tăng nhanh hệ số nhân giống.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu: các chồi đỉnh sinh trưởng, chồi nách trên cây Dó trầm 10 năm tuổi.

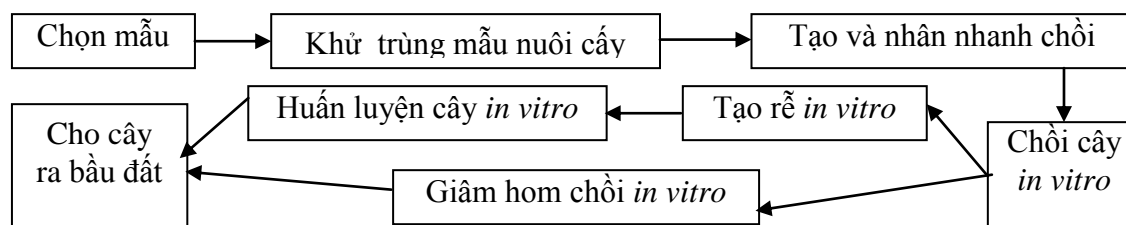
Môi trường sử dụng nuôi cấy: môi trường MS (Murashige Skoog, 1962); môi trường WPM (McCown Lloyed, 1981); môi trường bổ sung (MTBS) là kết hợp giữa MS và WPM gồm có: thành phần đa lượng của môi trường MS + thành phần vi lượng của môi trường WPM + Sắt và Vitamin (thành phần giống của cả hai môi trường MS và WPM).

Địa điểm nghiên cứu: Bộ môn Nuôi trồng và Khai thác đặc sản rừng, Trung tâm Nghiên cứu Lâm đặc sản, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.

Các giai đoạn nghiên cứu tiến hành từ chọn mẫu và khử trùng đến giai đoạn cây giống được xuất vườn.

Phương pháp nghiên cứu

Các bước nghiên cứu được tiến hành theo sơ đồ sau:



- **Chọn mẫu:** Hom thân cành còn non được tuyển chọn từ các chồi đỉnh sinh trưởng và chồi nách trên cây Dó trầm sinh trưởng, phát triển tốt và sạch bệnh ở cây trội 10 năm tuổi. Mẫu cắt dài từ 7cm đến 10cm. Chọn mẫu vào mùa khô.

- **Khử trùng mẫu nuôi cấy:** Mẫu đem khử trùng dài khoảng 3 - 4cm (2 – 3 đốt thân), cắt bỏ lá, chừa 1-1,5cm từ cuống. Rửa mẫu sạch, để ráo nước. Khử trùng sơ bộ bằng cồn 70° trong 1 phút rồi rửa lại bằng nước cất vô trùng 3 lần. Tiếp theo, khử trùng mẫu bằng HgCl₂ trong 14 phút. Rửa lại mẫu 4 lần bằng nước vô trùng. Cắt bỏ phần mô chết, cấy vào môi trường nuôi cấy đã được chuẩn bị sẵn trong ống nghiệm. (Chú ý: các thao tác này làm

trong box cấy đã vô trùng). Bố trí thí nghiệm: cây 1 mẫu/ ống nghiệm, lặp lại 3 lần, 20 ống nghiệm/1 lần lặp, các thí nghiệm bố trí trong phòng để ngẫu nhiên.

- **Tạo và nhân nhanh chồi:** Tiến hành nghiên cứu tổ hợp 3 chất BAP, kinetin và adenin bổ sung vào MTBS + đường (30 g/l) và nước dừa (10% v/v) được tiến hành thí nghiệm theo 4 công thức như sau: CT 1: MTBS + 0,25 mg/l BAP; CT 2: MTBS + 0,25 mg/l BAP + 0,25 mg/l kinetin; CT 3: MTBS + 0,25 mg/l BAP + 0,25 mg/l adenin; CT 4: MTBS + 0,25 mg/l BAP + 0,25 mg/l kinetin + 0,25 mg/l adenin, lặp lại 5 lần/thí nghiệm. [**Thí nghiệm 1**]

- **Tạo rễ in vitro:** giai đoạn chuyển chồi từ môi trường nhân nhanh chồi sang môi trường tạo rễ để có được cây con hoàn chỉnh.

+ Nghiên cứu ảnh hưởng của các thành phần môi trường cơ bản đến quá trình tạo rễ chồi *in vitro*, tiến hành thí nghiệm 9 công thức [1/2 MS, 1/2 WPM, 1/2 MTBS, 3/4 MS, 3/4 WPM, 3/4MTBS, MS, WPM, MTBS], lặp lại 3 lần với 10 mẫu/CT/lặp. [**Thí nghiệm 2**].

+ Cây chồi *in vitro* trên nền môi trường cơ bản đã chọn lọc ở các thí nghiệm trên là 3/4 WPM bổ sung 0,1 mg/l BAP và các chất thuộc nhóm Auxin (gồm IAA, ABA và NAA ở các nồng độ 0,1; 0,5 và 1 mg/l), lặp lại 3 lần với 10 mẫu/CT/lặp. [**Thí nghiệm 3**]

+ Cây chồi *in vitro* trên nền môi trường cơ bản đã chọn lọc ở các thí nghiệm trên là 3/4 WPM bổ sung 0,1 mg/l BAP và bổ sung tổ hợp nhóm auxin lần lượt là: 0,25mg/l IAA + 0,25mg/l IBA; 0,25mg/l IBA + 0,25mg/l NAA; 0,25mg/l IAA + 0,25mg/l NAA. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, 10 mẫu/CT/lặp. [**Thí nghiệm 4**]

- **Đưa cây in vitro ra bầu đất:** nghiên cứu ảnh hưởng của các giá thể đến tỷ lệ sống của cây *in vitro*, đề tài sử dụng 2 phương pháp: PP1- trồng cây *in vitro* trực tiếp vào bầu đất với thành phần đất: xơ dừa (3:1) và PP2- trồng cây trong bể cát được phủ nilon trắng cho hệ rễ *in vitro* ổn định (sau khoảng 2 tuần) cây *in vitro* phát sinh mầm rễ mới thì trồng vào bầu đất. [**Thí nghiệm 5**]

- **Giâm hom chồi in vitro:** đưa chồi *in vitro* ra khỏi môi trường trong ống nghiệm, rửa sạch môi trường rồi chấm vào thuốc bột giâm hom IBA, nồng độ 1500ppm, cấy vào bể cát tại vườn ươm, được chăm sóc như đối với phương pháp giâm hom thông thường, bố trí thí nghiệm 30 mẫu/lần, 5 lần lặp lại [**Thí nghiệm 6**]. Mùa vụ giâm hom chồi *in vitro* được tiến hành vào thời điểm cuối hè, đầu đông.

- **Chuyển hom ra bầu đất:** Khi hom giâm trong giá thể đã ra rễ thứ cấp, có màu vàng thì cây chuyển hom ra bầu đất kích thước 7x12cm.

- **Kỹ thuật chăm sóc cây in vitro:**

+ Che bóng: ban đầu được che bóng 50% trong khoảng 1 tuần, sau đó giảm dần và dỡ bỏ hoàn toàn.

+ Tưới nước: tưới dưới dạng phun sương nhiều lần trong tuần đầu (3 - 4 lần/ngày) sau đó, tưới đều 1 lần/ngày (những ngày nắng nóng tưới 2 lần/ngày vào sáng sớm và chiều mát).

+ Bón thúc: bón thúc phân NPK 0,3% 2 tuần một lần. Sau khi bón thúc phải tưới lại bằng nước lã để rửa phân còn bám trên lá.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Tiến hành chọn lọc chồi khỏe, đã ổn định trong môi trường nuôi cấy rồi đưa vào môi trường dinh dưỡng được bố trí theo thí nghiệm 1. Kết quả thí nghiệm tạo chồi *in vitro* sau 8 tuần nuôi cấy được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng đến hệ số nhân chồi in vitro

Công thức	Hệ số nhân chồi (chồi)		Số lá TB		Chiều cao TB (mm)		Trạng thái chồi
	TB	CV%	TB	CV%	TB	CV%	
CT 1	6.0	11.79	7.4	7.40	15.0	10.54	Chồi gầy, yếu
CT 2	12.4	5.89	10.0	7.07	16.2	15.98	Chồi gầy
CT 3	10.8	5.17	8.6	13.26	18.4	9.87	Bình thường
CT 4	14.6	3.75	10.6	10.76	23.6	9.75	Bình thường

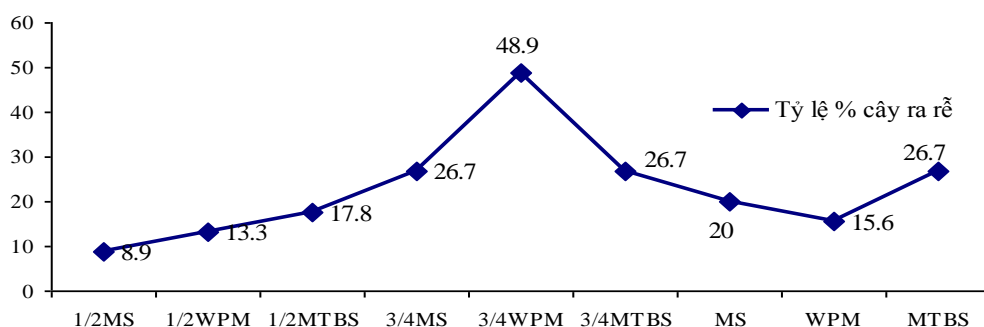
Bảng 1 cho thấy, sự kết hợp của các chất thuộc nhóm Cytokinin cho hệ số nhân chồi rất cao. Ở các công thức khác nhau, trạng thái chồi *in vitro* đều gần giống nhau cả về hình thái lá và khả năng sinh trưởng, phát triển. Kết quả cho thấy, hệ số nhân chồi cao nhất ở CT 4, các chồi phát triển đồng đều, thân mập, có khả năng nảy chồi tiếp (nếu tiếp tục cấy chuyển sang môi trường để tạo hệ số nhân tiếp theo). Môi trường tối ưu nhất cho giai đoạn nhân nhanh chồi *in vitro* là môi trường MTBS + đường (30 g/l) và nước dừa (10% v/v) có bổ sung tổ hợp (0,2 mg/l BAP + 0,25 mg/l kinetin + 0,25 mg/l adenin). Với môi trường này, hệ số nhân đạt 14,6 chồi; chồi cao, cây khỏe, lá phát triển tốt.

Tiếp tục tuyển chọn các chồi khỏe, sinh trưởng và phát triển tốt, có 10 – 12 lá thật tách riêng, cấy vào môi trường cơ bản không bổ sung tổ hợp các chất sinh trưởng. Khi tiến hành thực nghiệm với môi trường ra rễ cây Dó trăm *in vitro*, đề tài chuyển các chồi ra các môi trường ra rễ khác nhau; nhưng kết quả ra rễ không cao. Để cây Dó trăm *in vitro* có thể ra rễ tốt thì trước khi chuyển vào môi trường ra rễ, các chồi *in vitro* phải phát triển mạnh cả về

chiều cao và thân lá. Thực nghiệm nghiên cứu cho thấy: chỉ có các chồi khoẻ mạnh, thân lá phát triển tốt mới có khả năng phát sinh mầm rễ. Từ đó, đề tài nghiên cứu theo hai hướng: 1) ra rễ trực tiếp trong phòng thí nghiệm (tiếp tục phương pháp nuôi cấy mô); 2) giâm hom chồi *in vitro* (phương pháp mô – hom kết hợp)

Tạo rễ *in vitro* bằng phương pháp nuôi cấy mô

Nghiên cứu ảnh hưởng của các thành phần môi trường cơ bản đến quá trình tạo rễ chồi *in vitro*, đề tài bố trí thí nghiệm theo thí nghiệm 2. Sau 6 tuần theo dõi, kết quả thu được thể hiện trên đồ thị 1.



Biểu đồ 1. Biểu diễn tỷ lệ % ra rễ của các công thức môi trường khác nhau

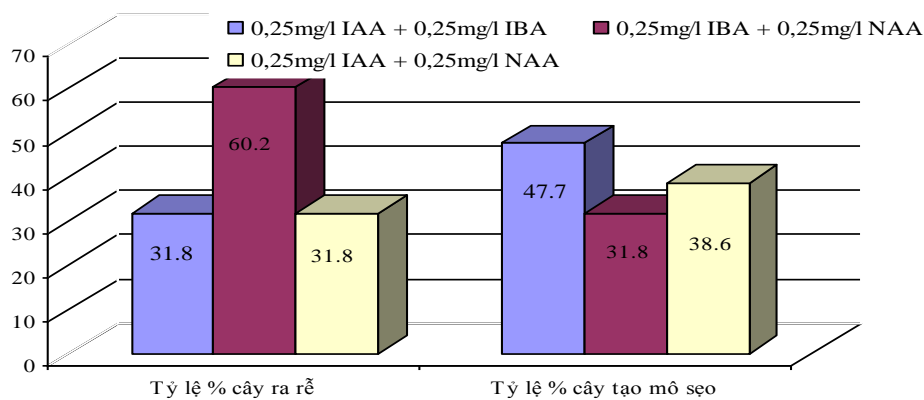
Phân tích phương sai một nhân tố cho kết quả F tính = 6,2 > F tra bảng = 2,5, điều này chứng tỏ các công thức khác nhau cho tỷ lệ ra rễ khác nhau. Biểu đồ 1 chỉ rõ môi trường có khả năng phát sinh mầm rễ, tối ưu nhất là 3/4 WPM, đạt 48,9%. Trong thực nghiệm, khi quan sát ở các môi trường còn đầy đủ hàm lượng dinh dưỡng, cây *in vitro* sinh trưởng tốt về chiều cao nhưng lá phát triển kém, ở các môi trường giảm 1/2 hàm lượng dinh dưỡng thì cây *in vitro* không tăng trưởng mạnh về chiều cao nhưng lá phát triển và các cây chỉ tạo nốt sần (mô sẹo).

Trong quá trình sinh trưởng và phát triển của cây, Auxin tác động lên các mầm rễ đang ở trạng thái ngủ trở nên hoạt động và ngay cả với những cấu trúc không có mầm rễ thì Auxin vẫn có thể kích thích sự hình thành rễ bất định từ lớp ngoài của phloem. Đề tài tiến hành nghiên cứu với nền môi trường cơ bản đã chọn lọc ở các thí nghiệm trên là 3/4 WPM bổ sung 0,1 mg/l BAP và các chất thuộc nhóm Auxin (bố trí theo thí nghiệm 3). Theo dõi thí nghiệm sau 8 tuần nuôi cấy, kết quả được đưa ra ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các chất thuộc nhóm Auxin đến quá trình tạo rễ *in vitro*.

Au	Nồng độ (mg/l)	Tỷ lệ % cây ra rễ		Tỷ lệ % cây tạo mô sẹo	
		TB	CV%	TB	CV%
IAA	0,1	6.7	86.60	86.7	6.66
	0,5	23.3	24.74	56.7	10.19
	1	3.3	173.21	23.3	24.74
IBA	0,1	10.0	0.00	83.3	6.93
	0,5	46.7	12.37	50.0	0.00
	1	6.7	86.60	50.0	20.00
a - NAA	0,1	0.0	0.00	90.0	11.11
	0,5	26.7	21.65	63.3	9.12
	1	3.3	173.21	13.3	43.30

Bảng trên cho thấy khi nồng độ nhóm auxin tăng cao, khả năng tạo rễ rất thấp và có độ biến động rất lớn (không đáng tin cậy). Kết quả nghiên cứu khả năng tạo rễ của IAA là kém nhất, môi trường có hàm lượng IBA tỷ lệ ra rễ đạt cao hơn so với các chất khác cùng nồng độ. Tuy nhiên, hệ số ra rễ vẫn còn tương đối thấp, với nồng độ IBA 0,5 mg/l cho thấy cây sinh trưởng tốt nhất và cho tỷ lệ ra rễ là cao nhất (46,7%). Qua theo dõi và nghiên cứu các thí nghiệm nuôi cấy *in vitro* cây Dó trầm so với một số loài cây khác như keo lai, bạch đàn..., đề tài nhận thấy cây Dó trầm là một trong những loài cây có phần còn nhiều hạn chế trong quá trình nuôi cấy *in vitro*. Để tìm hiểu khả năng kết hợp giữa các chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm Auxin đến khả năng tạo rễ cây Dó trầm *in vitro*, đề tài tiến hành thí nghiệm với hàm lượng 0,5 mg/l chia đều cho 2 loại chất trong nhóm Auxin (bố trí theo thí nghiệm 4). Sau 8 tuần theo dõi, thu được kết quả biểu diễn trên biểu đồ 2.



Biểu đồ 2. Biểu diễn ảnh hưởng của hàm lượng auxin đến khả năng ra rễ chồi in vitro

Trong nghiên cứu nuôi cấy mô, thành phần môi trường cơ bản, hàm lượng các chất sinh trưởng rất quan trọng và thích hợp với từng loài cây khác nhau. Với cây Dó trăm, nếu chỉ sử dụng độc lập một loại chất kích thích sinh trưởng trong 1 nhóm thì cho hiệu quả rất thấp, cũng như nhóm chất Cytokinin, sự phối hợp các chất BAP, Kinetin và adenin cho tỷ lệ nhân chồi cao thì với nhóm Auxin cũng tương tự. Biểu đồ 2 cho thấy sự khác biệt giữa việc phối hợp tỷ lệ 0,5 mg/l cho cả IBA và NAA cho kết quả cao hơn hẳn so với chỉ sử dụng 0,5 mg/l IBA, cụ thể nếu trong môi trường nuôi cấy chỉ bổ sung 0,5 mg/l IBA thì cho tỷ lệ ra rễ là 46,7% nhưng khi sử dụng kết hợp 0,25 mg/l IBA + 0,25 mg/l NAA cho tỷ lệ ra rễ đạt 60,2%.

Môi trường thích hợp nhất trong giai đoạn tạo rễ của cây *in vitro* là môi trường: 3/4 WPM + 0,1 mg/l BAP, bổ sung thêm 0,25 mg/l IBA + 0,25 mg/l NAA.

Giai đoạn cuối cùng của quy trình nuôi cấy mô là đưa cây *in vitro* từ phòng thí nghiệm ra ngoài vườn ươm. Giai đoạn này là bước quyết định khả năng ứng dụng toàn bộ quá trình nuôi cấy *in vitro* vào thực tiễn sản xuất. Đây là giai đoạn cây *in vitro* chuyển từ trạng thái sống dị dưỡng sang sống hoàn toàn tự dưỡng có nghĩa là sống từ môi trường nhân tạo ra ngoài môi trường tự nhiên bên ngoài có nhiều yếu tố biến động như nhiệt độ, thời tiết, đất đai, sâu bệnh,... Chính do sự thay đổi đột ngột của điều kiện sống nên đã gây không ít khó khăn trong việc đưa cây *in vitro* ra ngoài môi trường đất. Để giảm khó khăn này, đề tài thí nghiệm mang bình mẫu ra khỏi phòng nuôi trước khi đưa cây ra vườn ươm khoảng từ 5 – 7 ngày. Sau đó, tiến hành lấy cây ra khỏi bình, rửa sạch lớp thạch và các chất điều hòa sinh trưởng còn bám vào rễ cây *in vitro*, sau cùng cấy cây vào bầu đất. Nghiên cứu ảnh hưởng của các giá thể đến tỷ lệ sống của cây *in vitro*, đề tài bố trí theo thí nghiệm 5. Sau 8 tuần đưa cây *in vitro* ra ngoài, đề tài thu được kết quả ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của giá thể trồng cây Dó trăm in vitro ngoài vườn ươm.

Thí nghiệm	Tỷ lệ % cây sống							Tỷ lệ % TB cây sống	CV%
	30.0	23.3	36.7	20.0	16.7	26.7	13.3		
PP 1	30.0	23.3	36.7	20.0	16.7	26.7	13.3	29.0	21.69
PP2	60.0	56.7	53.3	56.7	36.7	56.7	40.0	54.3	16.52
PTPS	F tính = 37			F tra bảng = 5				LSD = 11.9	

Kết quả phân tích phương sai cho thấy $F_{\text{tính}} = 37 > F_{\text{tra bảng}} = 5$, chứng tỏ 2 phương pháp thử nghiệm cho tỷ lệ % cây sống sót khác nhau rõ rệt. Chỉ số $LSD = 11,9 < 25,3$ (hiệu số tỷ lệ % trung bình cây sống của 2 phương pháp), điều này chỉ rõ PP2 tốt hơn hẳn so với PP1. Bảng kết quả cũng chỉ rõ việc huấn luyện cây *in vitro* trước khi đưa ra trồng vào bầu đất có ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng sống của cây như: nếu đưa cây *in vitro* trực tiếp trồng vào bầu thì tỷ lệ sống chỉ đạt trung bình là 29,0%, nhưng khi để cây *in vitro* trong bể cát giâm trong nhà lưới sau khi hình thành rễ mới rồi mới đưa cây ra bầu đất thì tỷ lệ sống đạt 54,3%. Vì vậy, điều kiện chăm sóc cây *in vitro* giai đoạn đầu đòi hỏi phức tạp hơn cây gieo hạt trồng ngoài tự nhiên. Điều kiện thuần hoá cây *in vitro* ngoài vườn ươm được thực hiện như sau: Bước 1, đưa cây ra ngoài phòng thí nghiệm để từ 5 – 7 ngày; Bước 2, huấn luyện cây con trong bể cát thời gian giâm khoảng 2 tuần cho phát sinh rễ mới; Bước 3, trồng cây *in vitro* ngoài vườn ươm ở trong nhà có lưới đen che 40% ánh sáng, chế độ chăm sóc tưới phun sương liên tục trong thời gian khoảng 5 – 6 tuần; Bước 4, đưa cây con ra khỏi nhà lưới và chăm sóc theo chế độ bình thường ở vườn ươm cho đến khi cây đạt tiêu chuẩn trồng rừng.

Tạo rễ bằng phương pháp giâm hom

Việc kết hợp công nghệ mô – hom (giâm hom cây *in vitro*) với kỹ thuật cho ra rễ trực tiếp mà không qua giai đoạn tạo rễ trong phòng thí nghiệm là hướng đi mới cho hiệu quả sản xuất cao như giảm chi phí nhân công và vật tư, đồng thời vẫn cho phép nhân nhanh những cá thể đồng nhất về mặt di truyền, cho hệ số nhân cao ở mọi thời điểm sinh trưởng của cây. Áp dụng công nghệ này sẽ là phương pháp chọn lọc các ưu điểm của 2 phương pháp giâm hom và nuôi cấy mô; đồng thời rút ngắn được thời gian nghiên cứu, đưa nhanh các giống có nguồn gen tốt vào sản xuất.

Đề tài tiến hành nghiên cứu thử nghiệm cải tiến phương pháp ra rễ trực tiếp cho cây Dó trầm *in vitro*, bố trí thí nghiệm theo thí nghiệm 6. Sau 3 tuần, kết quả thu được ở bảng 4.

Bảng 4: Khả năng ra rễ trực tiếp của cây Dó trầm *in vitro* ngoài phòng thí nghiệm

Tỷ lệ %	lần lặp					TB	CV%
	1	2	3	4	5		
Ra rễ	56.7	80	63.3	60	76.7	67.3	15.42
Tạo mô sẹo	30	3.3	23.3	20	10	17.3	61.42
Cây chết	13.3	16.7	13.3	20	13.3	15.3	19.44

Kết quả từ bảng 4 cho thấy, cây Dó trầm *in vitro* có khả năng ra rễ ngoài phòng thí nghiệm đạt tỷ lệ ra rễ là 67,3%, cao hơn so với tỷ lệ ra rễ trong phòng thí nghiệm là 60,2% (mức độ sai số trong thực nghiệm là 15,42% nằm trong khoảng tin cậy). Thực nghiệm bước đầu cho thấy khả năng ra rễ của cây Dó trầm *in vitro* bằng phương pháp giảm hom là rất có triển vọng. Đồng thời, áp dụng công nghệ mô – hom rút ngắn được thời gian so với nuôi cấy mô (bỏ hẳn giai đoạn tạo rễ trong phòng thí nghiệm).

Một số hình ảnh quá trình nuôi cấy mô - hom cây Dó trầm



H1: tạo cụm chồi *in vitro* sau 6 tuần



H2: Sau 8 tuần tạo rễ



H3: Đưa cây *in vitro* ra khỏi ống nghiệm



H4: Cây Dó trầm *in vitro* trong bầu



H5: Cây Dó trầm *in vitro* chưa ra rễ



H6: Giảm hom cây Dó trầm *in vitro*



H7: Hệ rễ cây Dó trầm *in vitro*



H8: Cây hom Dó trầm *in vitro* trồng trong bầu đất

KẾT LUẬN

- Môi trường nhân nhanh chồi *in vitro* thích hợp nhất là: môi trường MTBS + đường (30 g/l) và nước dừa (10% v/v), có bổ sung tổ hợp các chất: 0,2 mg/l BAP; 0,25 mg/l (kinetin + adenin). Có thể cây chuyển 2 tháng/lần, từ một mẫu ban đầu đạt 10 - 15 chồi/lần.

- Môi trường thích hợp nhất trong giai đoạn tạo rễ của cây *in vitro* là: 3/4 WPM + 0,1 mg/l BAP, bổ sung thêm 0,25 mg/l IBA + 0,25 mg/l NAA. Tỷ lệ ra rễ *in vitro* trong ống nghiệm đạt 60,2%.

- Điều kiện thuần hoá cây *in vitro* ngoài vườn ươm: đưa cây ra ngoài phòng thí nghiệm 5 - 7 ngày, trước khi trồng vào bầu đất trộn xơ dừa theo tỷ lệ 3 : 1 cần huấn luyện cây con trong bể cát giảm khoảng 2 tuần cho phát sinh rễ mới. Sau đó trồng cây *in vitro* ra bầu đất ngoài vườn ươm ở trong nhà có lưới đen che 40% ánh sáng, chế độ chăm sóc tưới phun sương liên tục. Tỷ lệ sống đạt 54,3%.

- Kết hợp công nghệ mô – hom: cây Dó trầm *in vitro* có khả năng ra rễ ngoài phòng thí nghiệm đạt tỷ lệ ra rễ là 67,3%; bước đầu cho thấy khả năng ra rễ của cây Dó trầm *in vitro* bằng phương pháp giảm hom là rất có triển vọng, rút ngắn được thời gian và chi phí vật tư, nhân công hơn so với nuôi cấy mô.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Thị Hiền, Vũ Văn Vụ, 2005. Sự sinh trưởng và phát triển của chồi *in vitro* cây Dó bầu *Aquilaria crassna* Pierre trong môi trường nuôi cấy. Báo cáo khoa học, Hội nghị toàn quốc lần thứ 4, Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, tr 521 - 523.

Đoàn Thị Mai và CS, 2005. Bước đầu ứng dụng công nghệ mô hom trong nhân giống trầm hương (*Aquilaria crassna*). Khoa học Công nghệ Nông nghiệp & PTNT, 20 năm đổi mới, Lâm nghiệp, Tập 5. Bộ NN & PTNT. Nhà xuất bản Chính trị Quốc gia, Hà Nội.

Nguyễn Hoàng Nghĩa, 2001. Nhân giống vô tính và trồng rừng dòng vô tính. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

Phạm Văn Tuấn, 1997. Nhân giống cây rừng bằng hom, thành trụ và khả năng áp dụng ở Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

STUDY RESULT OF *AQUILARIA CRASSNA* PIERRE ULTIPLICATION USING TISSUE CULTURE

Nguyen Thi Hien, Le Van Thanh

Forest Science Institute of Vietnam

SUMMARY

Result of the study on *Aquilaria crassna* Pierre cloning using grafting propagation technology has shown that applied technical options are very promising. In tissue culture it is observed that: a) optimum medium for fast coppiced multiplication *in vitro* is combined supplemental MTBS (0.2 mg/l of BAP + 0.25 mg/l of kinetin + 0.25 mg/l of adenin), achieved multiplier factor was 14.6 coppices; b) most suitable medium during root creation of seedlings *in vitro* consists of: 3/4 WPM + 0.1 mg/l of BAP added with 0.25 mg/l of IBA + 0.25 mg/l of NAA, with this combination, successful rate of root creation is 60.2%; c) in non-nursery garden condition, requirements for domesticating *Aquilaria crassna* Pierre *in vitro* are formulated as following: move the seedlings to non-laboratory condition in 5-7 days before transplanting into potting with soil and coconut fibre mixture in 3:1 ratio, it is necessary to train seedlings in raising tank filled with sand in about 2 weeks for the creation of new roots, survival rate in this stage is about 54.3%. Initially, the applying of grafting propagation technology with combination of experimentation has shown a higher rate of root creation of *Aquilaria crassna* Pierre *in vitro* than using tissue culture, rate of cutting with successful root creation and later becomes seedling is about 67.3%.

Keywords: Tissue culture, grafting propagation, *Aquilaria crassana* Pierre