

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA TÁI SINH QUA MÔ SẸO ĐẾN SINH TRƯỞNG VÀ HÌNH THÁI Ở MỘT SỐ DÒNG KEO LAI

Lê Thị Thủy, Lê Sơn

Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Mức độ biến dị về hình thái và sinh trưởng của các dòng keo lai BV16, BV350 và BV376 tái sinh qua mô sẹo (dòng tái sinh) và các dòng nuôi cấy *in vitro* (dòng đối chứng) trong điều kiện phòng thí nghiệm và giai đoạn vườn ươm đã được đánh giá nhằm so sánh khả năng sinh trưởng và phát triển các dòng keo lai từ các phương pháp nhân giống khác nhau. Kết quả cho thấy, các dòng keo lai từ tái sinh qua mô sẹo cho hệ số nhân chồi đạt từ 6,08 - 8,72 chồi/cụm, chiều cao chồi đạt từ 3,79 - 4,16 cm và có tỷ lệ ra rễ trên 85%, các chỉ số này tương đương với các dòng từ nhân giống *in vitro* thông thường. Sau 3 tháng tuổi tại vườn ươm, cây keo lai nhân từ tái sinh chồi qua mô sẹo có tỷ lệ sống trên 90%, không có biểu hiện bị sâu bệnh. Kết quả cho thấy, các chỉ tiêu sinh trưởng và hình thái của các dòng tái sinh đều đạt giá trị tương đương với dòng đối chứng, P - value ở các chỉ tiêu đều lớn hơn 0,001, chứng tỏ không có khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê. Như vậy, chưa phát sinh các biến dị hình thái và sinh lý bất thường ở cây con từ tái sinh chồi qua mô sẹo đến giai đoạn 3 tháng tuổi tại điều kiện vườn ươm.

Từ khóa: Biến dị, keo lai, mô sẹo, tái sinh.

EVALUATION OF THE EFFECTS OF CALLUS - MEDIATED REGENERATION ON GROWTH AND MORPHOLOGY IN SELECTED HYBRID ACACIA CLONES

Le Thi Thuy, Le Son

Institute of Forest Tree Improvement and Biotechnology

ABSTRACT

This study evaluated the differences in morphology and growth abilities of Acacia hybrid explants that regenerated via callus formation with those from *in vitro* cultured in the same culture and nursery conditions. The results showed that fast - growing A. hybrid clones 6.08 - 8.72 shoots/clump, plant height ranged from 3.79 - 4.16 cm, thick shoots, internodes, open and green leaves. When rooting, A. hybrid clones rooted rates of over 85%, with well - developed roots, white color, and light yellow root tips. After 3 months in the nursery, A. hybrid clones have rates of over 90%, sturdy, healthy plants, no truncated tops, green leaves and no signs of pests or diseases. The use of the initial source of materials as regenerated callus and *in vitro* cultured in the stages of rapid shoot multiplication, rooting and tree formation in the nursery up to 3 months old has not had a clear effect on the growth and morphology of A. hybrid clones. The level of variation in morphology and growth between A. hybrid clones at these stages is not different, however, these are only initial assessments, so it is necessary to conduct experimental planting for more accurate assessments and comparisons.

Keywords: Acacia hybrid, callus, mutation, regeneration

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Keo lai (*Acacia hybrid*) là giống lai tự nhiên có đặc điểm vượt trội, với khả năng sinh trưởng tốt, khả năng thích ứng rộng, chất lượng gỗ phù hợp cho làm gỗ nguyên liệu giấy cũng như làm đồ mộc gia dụng, đồng thời có khả năng cố định đạm và gây trồng, chăm sóc đơn giản nên được ưa chuộng trong trồng rừng. Đây là một trong nhóm loài cây trồng rừng chính ở nước ta có nhu cầu trồng rừng hàng năm lớn, với diện tích rừng keo đã đạt trên 2,2 triệu ha và chiếm khoảng 60% tổng diện tích trồng rừng sản xuất của cả nước (Tổng cục Lâm nghiệp, 2022). Do đó, các nghiên cứu về chọn giống và nhân giống keo lai đã được quan tâm rất nhiều ở nước ta với các nghiên cứu nhân giống bằng nuôi cấy mô và giâm hom đã được chú trọng.

Các nghiên cứu nhân giống keo lai đã được tiến hành và thu được các kết quả phù hợp cho từng dòng keo lai riêng biệt (Nguyễn Ngọc Tân *et al.*, 1995; Lê Sơn *et al.*, 2013; Cấn Thị Lan, 2014; Đoàn Thị Mai và Lê Sơn, 2011; Đỗ Mạnh Hùng, 2020; Văn Thu Huyền *et al.*, 2021; Tạ Thị Thu Trang *et al.*, 2021). Trong những năm gần đây, đã có nhiều giống keo lai cho năng suất cao, chất lượng gỗ tốt thích hợp với các vùng sinh thái khác nhau và được Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn công nhận và đang được một số đơn vị sử dụng trồng rừng sản xuất. Một số giống keo lai đã được công nhận như BV10, BV16, BV32, BV340, BV350, BV376, BV586, AH1, AH7... được sử dụng chủ yếu tại rừng trồng ở nước ta và đã đáp ứng phần lớn nhu cầu thương mại hóa như sản xuất bột giấy và giấy, xuất khẩu dăm cho thị trường ngoài nước.

Song song với nhân giống keo từ các nguồn mẫu như đỉnh sinh trưởng, chồi bất định thì các nghiên cứu nhân giống và cải thiện giống thông qua hệ thống tái sinh mô sẹo và phát sinh phôi soma đã được tiến hành trên một số loài keo như *A. catechu* (Rout *et al.*, 1995), *A. nilotica* (Garg *et al.*, 1996), *A. mangium* (Xie và Hong, 2001),

A. crassicaarpa (Yang *et al.*, 2006), *A. hybrid* (BV10, BV16, BV33, BV350, BV376) (Nguyễn Thị Huyền *et al.*, 2020; Lê Thị Thủy *et al.*, 2024). Kết quả thu được cho thấy, mỗi loài có khả năng tái sinh chồi là khác nhau và đây là một trong những hướng đi mới, có tiềm năng phát triển mạnh mẽ đối với các loài cây rừng. Phương pháp này có ưu điểm là có thể mở rộng nguồn vật liệu đầu vào nhưng lại thường gây ra hiện tượng biến dị soma và làm thay đổi khả năng sinh trưởng và phát triển ở cây con. Bài viết này giới thiệu một số kết quả đánh giá mức độ biến dị về hình thái và sinh trưởng của các dòng keo lai BV16, BV350 và BV376 tạo ra bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* và phương pháp tái sinh chồi thông qua mô sẹo nhằm xác định mức độ biến dị (nếu có) của phương pháp nhân giống thông qua tái sinh chồi qua mô sẹo.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu gồm hai nhóm chính:

- Nhóm vật liệu đối chứng (dòng đối chứng): Là các bình giống gốc của các dòng keo lai BV16 (được công nhận theo Quyết định số 132/QĐ/BNN - KHCN ngày 17 tháng 01 năm 2000), BV350 và BV376 (được công nhận theo Quyết định số 761/QĐ-BNN - TCLN ngày 06 tháng 3 năm 2019). Các dòng này được nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* truyền thống và được sử dụng làm đối chứng trong nghiên cứu.

- Nhóm vật liệu tái sinh (dòng tái sinh): Cũng gồm các dòng BV16, BV350 và BV376, nhưng được tạo ra thông qua quy trình tái sinh chồi từ mô sẹo đã trải qua 8 chu kỳ nuôi cấy liên tiếp, theo phương pháp của Nguyễn Thị Huyền và đồng tác giả (2020), và Lê Thị Thủy và đồng tác giả (2024). Quá trình tái sinh nhằm đánh giá ảnh hưởng tích lũy của việc nhân giống lặp lại đến đặc tính sinh trưởng và ổn định di truyền của các dòng vô tính qua quá trình tái sinh chồi thông qua mô sẹo.

2.2. Điều kiện thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành tại phòng thí nghiệm nuôi cấy mô và tại vườn ươm thuộc Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp.

Môi trường nuôi cấy MS (Murashige & Skoog, 1962) bổ sung thêm các chất điều hòa sinh trưởng với nồng độ khác nhau, điều chỉnh pH đạt 5,8 và hấp khử trùng 121°C, 1,5 atm trong thời gian 20 phút. Phòng thí nghiệm nuôi cấy mẫu có nhiệt độ phòng từ 25 - 27°C, có giàn đèn chiếu ánh sáng trắng với cường độ 2.000 - 2.500 lux, thời gian chiếu sáng 8 giờ/ngày.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Giai đoạn phòng thí nghiệm

Môi trường nhân nhanh chồi: MS + 30 g/l Sucrose + 6,5 g/l Agar có bổ sung chất ĐHST 1,5 mg/l BAP và 0,5 mg/l NAA được sử dụng để nhân nhanh 3 dòng đối chứng và 3 dòng tái sinh (BV16, BV350 và BV376). Các cụm có từ 3 - 4 chồi được nhân trong thời gian 25 - 30 ngày, và cấy 3 cụm/bình với 10 bình/dòng, lặp lại 3 lần. Theo dõi và thu thập các chỉ tiêu sinh trưởng và hình thái của các dòng keo lai trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*.

Các chồi keo lai cao trên 2,5 - 3 cm, thẳng, cứng cáp, lá mở và xanh được cấy sang môi trường ra rễ 1/2MS + 15 g/l Sucrose + 7 g/l Agar + 1,5 mg/l IBA. Cây đơn chồi và cắm thẳng đứng trong môi trường, cấy 50 chồi/dòng và lặp lại 3 lần lặp. Sau 15 - 20 ngày, cây ra rễ hoàn chỉnh, tiến hành theo dõi tỷ lệ ra rễ, số rễ/cây và chiều dài rễ của từng dòng keo lai.

2.3.2. Giai đoạn vườn ươm

Các bình keo lai ra rễ và được huấn luyện trong nhà lưới có mái che trong thời gian 7 - 14 ngày trước khi cấy cây vào bầu. Sau thời gian huấn luyện, cây con sinh trưởng tốt, lá xanh, bộ rễ trắng và không bị nhiễm bệnh được cấy vào bầu với thành phần cơ giới đất theo thể tích cát $\leq 10\%$,

sét $\leq 30\%$ và tỷ lệ chất độn thô (phân, than bùn, than trâu...) $\leq 10\%$ có khả năng giữ ẩm tốt và đủ nguồn dinh dưỡng.

Cây con được chăm sóc và thu thập các chỉ tiêu sinh trưởng (50 cây/dòng g/lặp với 3 lần lặp lại) và hình thái (50 cây/dòng g/lặp với 2 lá/cây và lặp lại 3 lần) sau khi trồng 3 tháng ngoài vườn ươm của từng dòng keo lai.

2.4. Thu thập và xử lý số liệu

Các chỉ tiêu sinh trưởng trong điều kiện *in vitro* bao gồm: số chồi/cụm (hệ số nhân chồi), chiều cao chồi, chất lượng chồi, tỷ lệ ra rễ, chiều dài rễ và số rễ/cây.

Các chỉ tiêu hình thái gồm hình thái chồi, màu sắc lá thời điểm xuất hiện lá giả trong điều kiện *in vitro* của các chồi nuôi cấy.

Các chỉ tiêu so sánh trong điều kiện vườn ươm gồm tỷ lệ mẫu sống, số liệu sinh trưởng đo đếm theo phương pháp thông dụng trong điều tra rừng (tỷ lệ sống, chiều cao vút ngọn) và một số chỉ tiêu hình thái (số lá trên cây, màu sắc lá, thân và hình thái lá).

Các số liệu thu thập được xử lý bằng ứng dụng Data Analysis (Excel) với giá trị $P - value \leq 0,001$ có ý nghĩa giữa các công thức có sự sai khác rõ rệt ở mức ý nghĩa 99% và $P - value \geq 0,001$ có nghĩa là các công thức đồng nhất về giá trị so sánh ở mức có nghĩa 99%.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả đánh giá mức độ biến dị về sinh trưởng và hình thái của các dòng keo lai trong điều kiện *in vitro*

3.1.1. Giai đoạn nhân nhanh chồi

Các cụm chồi có chiều cao chồi đạt 2 - 2,5 cm được tách ra và cấy vào môi trường nhân nhanh chồi: MS + 30 g/l Sucrose + 6,5 g/l Agar + 1,5 mg/l BAP và 0,5 mg/l NAA. Kết quả thu được ở bảng 1 là các chỉ tiêu hình thái và sinh trưởng các dòng keo lai BV16, BV350 và BV376 (đối chứng và tái sinh) khi nhân nhanh chồi trong cùng điều kiện *in vitro*.

Bảng 1. Các chỉ tiêu hình thái và sinh trưởng của các dòng keo lai ở giai đoạn nhân nhanh chồi

Dòng keo lai		Chỉ tiêu sinh trưởng		Chỉ tiêu hình thái		
		Số chồi/cụm	Chiều cao chồi (cm)	Hình thái chồi	Màu sắc lá	Thời điểm xuất hiện lá giả
BV16	Đối chứng	8,72 ± 0,12	4,16 ± 0,12	Chồi mập, phân lông và lá mở	Màu xanh	Xuất hiện sau 2 tuần nhân nhưng ít
	Tái sinh	8,67 ± 0,09	4,12 ± 0,08	Chồi mập, phân lông và lá mở	Màu xanh đậm	Xuất hiện sau 3 tuần nhân nhưng ít
<i>P - value</i>		0,669	0,625	<i>Chồi mập, phân lông rõ, màu xanh đậm và xuất hiện lá giả sau 2 - 3 tuần nhân chồi nhưng ít</i>		
BV350	Đối chứng	6,27 ± 0,09	3,79 ± 0,12	Chồi mập, phân lông rõ ràng, lá giả lớn và nhiều	Màu xanh non	Có sẵn
	Tái sinh	6,08 ± 0,10	3,84 ± 0,06	Chồi mập, phân lông rõ ràng, lá giả lớn và nhiều	Màu xanh non	Có sẵn
<i>P - value</i>		0,072	0,586	<i>Chồi phân lông rõ, màu xanh non, lá giả nhiều và to</i>		
BV376	Đối chứng	7,77 ± 0,03	3,90 ± 0,05	Chồi mập, phân lông và lá mở	Màu xanh	Xuất hiện sau 3 tuần nhân nhưng rất ít
	Tái sinh	7,92 ± 0,05	3,96 ± 0,03	Chồi mập, phân lông và lá thật mở	Màu xanh đậm	Chưa xuất hiện
<i>P - value</i>		0,091	0,150	<i>Chồi mập mập, phân lông, màu xanh đậm, lá mở và lá giả ít hoặc không có</i>		

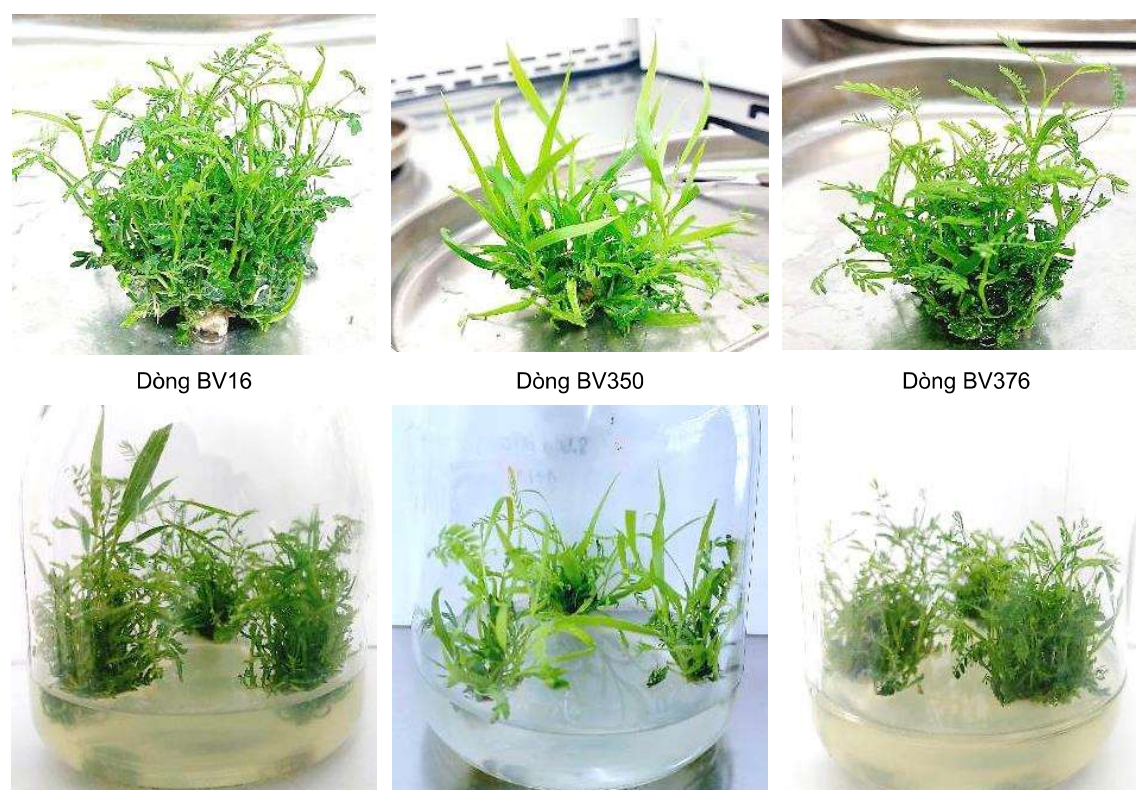
Kết quả nhân nhanh thu được các chỉ tiêu sinh trưởng với số chồi/cụm là 6,08 - 8,72 và chiều cao chồi là 3,79 - 4,16 cm; chất lượng chồi thu được có màu xanh, cao, mập mập và đồng đều nhau (hình 1). Bên cạnh đó, thời điểm xuất hiện lá giả của mỗi dòng keo lai là khác nhau với số lượng lá giả là khác nhau.

Trong cùng điều kiện nhân nhanh chồi, dòng BV16 cho kết quả cao nhất ở chỉ tiêu sinh trưởng với số chồi/cụm và chiều cao chồi ở cả mẫu đối chứng (8,72 chồi/cụm và 4,16 cm) và mẫu tái sinh (8,67 chồi/cụm và 4,12 cm). Kết quả cho thấy, không có sự khác biệt về sinh trưởng giữa mẫu đối chứng và mẫu tái sinh ($P \geq 0,001$). Tuy nhiên, về hình thái nhận thấy thời điểm xuất hiện lá giả của mẫu đối chứng sớm hơn so với mẫu tái sinh, sau 2 tuần nhân nhanh lá giả đã xuất hiện nhưng với số lượng không nhiều.

Dòng BV350 nhân nhanh thu được số chồi/cụm là 6,08 (tái sinh) - 6,27 (đối chứng) và chiều cao chồi là 3,79 cm (đối chứng) - 3,84 cm (tái sinh). Nhận thấy, chỉ tiêu sinh trưởng không có sự sai

khác nhiều và về mặt hình thái chồi thu được mập, phân lông rõ ràng, màu xanh non và số lượng lá giả nhiều, bản to xuất hiện từ bình gốc ban đầu. Đối với dòng BV376, mẫu tái sinh cho số chồi/cụm (7,92) và chiều cao chồi (3,96 cm), là cao hơn và khi so sánh với mẫu đối chứng thì giá trị thu được không có sự khác biệt nhiều (7,77 chồi/cụm và 3,93 cm). Ngoài ra, lá giả xuất hiện sau 3 tuần nhân (đối chứng) hoặc chưa xuất hiện (tái sinh) nhưng với số lượng rất ít.

Như vậy, các dòng keo lai được nhân nhanh trong cùng điều kiện *in vitro* không có sự sai khác về mức độ biến dị sinh trưởng (số chồi/cụm và chiều cao chồi) với giá trị $P - value \geq 0,001$ (với sự tin cậy 99%) cũng như không có sự khác biệt lớn về hình thái giữa dòng đối chứng và dòng tái sinh ở cả 3 dòng BV16, BV350 và BV376. Chứng tỏ, các dòng keo tái sinh được sử dụng nhân nhanh không gây ra biến dị về hình thái cũng như sinh trưởng và chất lượng cụm chồi thu được tương đồng so với các dòng đối chứng.



Hình 1. Cụm chồi và bình nhân nhanh của các dòng keo lai tái sinh

Khi so sánh kết quả nghiên cứu với một số công bố nhân nhanh chồi của dòng keo lai BV350 (Tạ Thị Thu Trang *et al.*, 2021) và BV376 (Văn Thu Huyền *et al.*, 2021) thu được là tương đương nhau. Đối với dòng BV350 cho hệ số nhân chồi đạt 2,66 lần, chiều dài trung bình chồi là 2,80 cm với chồi mập, màu xanh và thân phân lông rõ ràng. Dòng BV376 thu được hệ số nhân chồi đạt 5,5 lần và chiều dài chồi đạt 5,8 cm.

3.1.2. Giai đoạn ra rễ

Bảng 2 thể hiện kết quả các chỉ tiêu sinh trưởng và hình thái của các dòng keo lai ở giai đoạn ra rễ tạo cây hoàn chỉnh. Sau 15 - 20 ngày cấy vào môi trường ra rễ thu được tỷ lệ ra rễ là 86,67 - 91,33%; số rễ/chồi là 2,81 - 4,43 cái và chiều dài trung bình của rễ là 3,60 - 4,49 cm.

Bảng 2. Các chỉ tiêu sinh trưởng và hình thái của các dòng keo lai ở giai đoạn ra rễ

Dòng keo lai		Chỉ tiêu sinh trưởng			Chỉ tiêu hình thái	
		Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ/chồi (cái)	Chiều dài rễ (cm)	Màu sắc lá	Màu sắc rễ
BV16	Đối chứng	91,33 ± 3,05	4,43 ± 0,07	4,49 ± 0,02	Lá màu xanh đậm	Bộ rễ trắng, đầu ngả vàng
	Tái sinh	90,67 ± 2,31	4,35 ± 0,05	4,41 ± 0,02		
<i>P - value</i>		0,778	0,216	0,004		
BV350	Đối chứng	87,33 ± 3,05	2,81 ± 0,08	3,60 ± 0,03	Lá màu xanh non	Bộ rễ trắng, đầu ngả vàng
	Tái sinh	86,67 ± 3,05	2,85 ± 0,05	3,68 ± 0,04		
<i>P - value</i>		0,802	0,336	0,059		
BV376	Đối chứng	90,67 ± 3,05	3,37 ± 0,07	3,82 ± 0,02	Lá màu xanh đậm	Bộ rễ trắng, đầu ngả vàng
	Tái sinh	89,33 ± 2,31	3,35 ± 0,05	3,72 ± 0,04		
<i>P - value</i>		0,579	0,709	0,021		

Trong 3 dòng keo lai được đánh giá, dòng BV16 cho các giá trị sinh trưởng cao hơn hai dòng còn lại, với tỷ lệ ra rễ 90,67 - 91,33%, số rễ/chồi 4,35 - 4,43 và chiều dài rễ 4,41 - 4,49 cm. Khi so sánh từng giá trị giữa dòng đối chứng và dòng tái sinh của mỗi dòng nhận thấy, không có sự chênh lệch lớn, chẳng hạn như dòng BV350 có tỷ lệ ra rễ là 87,33 - dòng đối chứng và 86,67 - dòng tái sinh; số rễ/chồi là 2,81 cái - dòng đối chứng và 2,85

cái - dòng tái sinh; chiều dài rễ là 3,60 cm - dòng đối chứng và 3,68 cm - dòng tái sinh.

Bên cạnh đó, khi đánh giá chỉ tiêu hình thái của cả 3 dòng ở giai đoạn này nhận thấy bộ rễ phát triển có màu trắng, không bị gãy dập, đầu rễ trắng ngà màu vàng nhạt, lá màu xanh đậm (riêng dòng BV350 lá màu xanh non), mở và cây hoàn chỉnh có từ 3 - 5 lá (hình 2).



Hình 2. Chồi ra rễ keo lai sau 20 ngày cấy vào môi trường ra rễ từ 2 nguồn vật liệu: dòng tái sinh (A) và dòng đối chứng (B)

Kết quả phân tích các dòng tái sinh và dòng đối chứng ở giai đoạn ra rễ của mỗi dòng keo lai đều cho giá trị $P - value \geq 0,001$. Điều này chứng tỏ, nghiên cứu ở giai đoạn ra rễ của dòng tái sinh so sánh với dòng đối chứng cho thấy, sự sai khác là không đáng kể về sinh trưởng cũng như hình thái ở cả ba dòng keo lai được nghiên cứu, với độ tin cậy 99%.

So sánh với một số công bố nhân giống *in vitro* giai đoạn ra rễ dòng keo lai BV350 (Tạ Thị Thu Trang *et al.*, 2021) và BV376 (Văn Thu Huyền *et al.*, 2021) nhận thấy, kết quả của nghiên cứu thu được là tương đương hoặc cao hơn. Trong công bố của Tạ Thị Thu Trang và đồng tác giả (2021), tỷ lệ ra rễ cao nhất đạt 86,7%, đạt 2,92 số rễ/chồi và có chiều dài rễ trung bình là 1,47 cm đối với dòng keo lai BV350. Theo Văn Thu Huyền và đồng tác giả (2021) cho ra rễ dòng keo lai BV376 thu được tỷ lệ ra rễ cao nhất là 79,45% với chiều dài rễ trung bình đạt 3,8 cm và số rễ trung bình là 4,5 rễ/chồi.

3.2. Kết quả đánh giá mức độ biến dị về sinh trưởng và hình thái của các dòng keo lai sau khi trồng 3 tháng ở vườn ươm

Về sinh trưởng

Số liệu ở bảng 3 cho thấy, sinh trưởng của các dòng keo lai sau 3 tháng tuổi ở vườn ươm. Kết quả thu được cây sau 3 tháng tuổi kể từ khi cấy vào bầu có tỷ lệ sống đạt 92,00 - 95,33%; chiều cao vút ngọn 22,17 - 24,71 cm và số lá/cây 10,48 - 10,95. Cây cứng cáp, không bị cụt ngọn và không có biểu hiện bị sâu bệnh.

Khi so sánh với các dòng đối chứng, các dòng tái sinh BV16, BV350 và BV376 có tỷ lệ sống sau 3 tháng tuổi từ 92,67 - 95,33%; chiều cao tương ứng là 24,71 cm, 22,17 cm và 23,51 cm; số lá/cây tương ứng là 10,70; 10,61 và 10,87. Kết quả thu được cho thấy, sinh trưởng của các dòng tái sinh và dòng đối chứng không có sự sai khác nào đáng kể, với giá trị $P - value$ phân tích đều $\geq 0,001$.

Bảng 3. Các chỉ tiêu sinh trưởng của các dòng keo lai giai đoạn 3 tháng tuổi ở vườn ươm

Dòng keo lai		Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao (cm)	Số lá/cây
BV16	Đối chứng	93,33	24,41 ± 0,212	10,95 ± 0,090
	Tái sinh	92,67	24,71 ± 0,185	10,70 ± 0,250
<i>P - value</i>		0,802	0,138	0,174
BV350	Đối chứng	92,00	22,31 ± 0,186	10,48 ± 0,111
	Tái sinh	92,67	22,17 ± 0,242	10,61 ± 0,064
<i>P - value</i>		0,829	0,491	0,163
BV376	Đối chứng	95,33	23,71 ± 0,212	10,75 ± 0,181
	Tái sinh	94,67	23,78 ± 0,131	10,87 ± 0,095
<i>P - value</i>		0,741	0,637	0,367



Hình 3. Cây keo lai được nhân giống theo phương pháp tái sinh qua mô sẹo (B) và nhân giống *in vitro* thông thường ở giai đoạn 3 tháng tuổi

Về hình thái

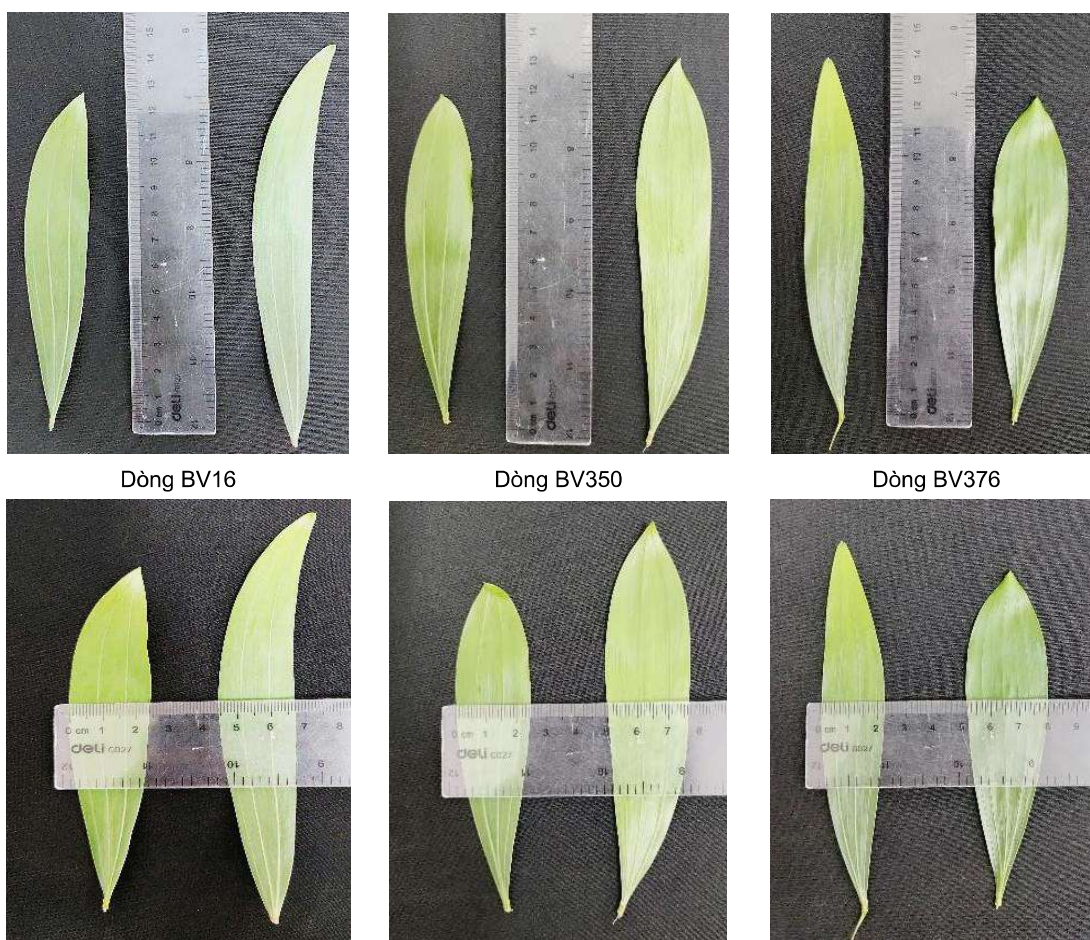
Số liệu ở bảng 4 thể hiện các chỉ tiêu hình thái các dòng keo lai 3 tháng tuổi ở giai đoạn vườn ươm, mẫu lá được lấy là lá trưởng thành đã định hình. Trong đó, các dòng keo lai có chiều dài lá 10,26 - 11,76 cm; chiều rộng lá 2,42 - 2,97 cm và có số gân/lá là 2,75 - 3,07. Kết quả thu được cho thấy, ở mỗi dòng keo lai được đánh giá thì các chỉ tiêu so sánh giữa dòng đối chứng và dòng tái sinh là tương đương nhau, không có sự khác biệt với độ tin cậy 99% (*P - value* phân tích đều $\geq 0,001$).

Bảng 4. Các chỉ tiêu hình thái của các dòng keo lai giai đoạn 3 tháng tuổi ở vườn ươm

Dòng keo lai		Chiều dài lá (cm)	Chiều rộng lá (cm)	Số gân/lá	Màu sắc lá
BV16	Đối chứng	11,56	2,53	2,93	Lá xanh đậm
	Tái sinh	11,76	2,42	2,99	
<i>P - value</i>		0,495	0,357	0,436	
BV350	Đối chứng	10,35	2,75	2,91	Lá xanh đậm
	Tái sinh	10,26	2,81	2,95	
<i>P - value</i>		0,408	0,489	0,603	
BV376	Đối chứng	11,45	2,88	2,96	Lá xanh đậm
	Tái sinh	11,33	2,97	2,92	
<i>P - value</i>		0,337	0,392	0,629	

Từ kết quả đánh giá mức độ biến dị về hình thái cũng như sinh trưởng của các dòng keo lai được nghiên cứu cho thấy, nguồn vật liệu ban đầu (dòng tái sinh/dòng đối chứng) không gây biến dị về sinh trưởng cũng như về hình thái ở giai đoạn 3 tháng tuổi tại vườn ươm. Mặc dù vậy, nghiên cứu hiện tại mới chỉ là bước đánh giá ban đầu, kết quả bước đầu cho thấy, chưa phát hiện biến dị hình thái rõ rệt ở cây con sau 8 chu kỳ tái

sinh mô sẹo. Tuy nhiên, chưa đủ cơ sở để khẳng định mức độ ổn định di truyền về lâu dài. Bên cạnh đó, các nghiên cứu tiếp theo cần được bố trí thí nghiệm so sánh rõ giữa các chu kỳ tái sinh khác nhau (chu kỳ 1 đến 8) để xác định ngưỡng xuất hiện biến dị, từ đó có thể đưa ra được các khuyến cáo khoa học về số vòng nuôi cấy tối ưu phục vụ cho quá trình nghiên cứu và phát triển tiếp theo.



Hình 4. Hình thái lá các dòng keo lai tái sinh giai đoạn 3 tháng tuổi ở vườn ươm

IV. KẾT QUẢ

Các chỉ tiêu sinh trưởng và hình thái lá ở giai đoạn nhân nhanh, ra rễ trong phòng thí nghiệm và giai đoạn 3 tháng tuổi ở vườn ươm thì gần như không có sự sai khác giữa dòng đối chứng và dòng tái sinh ở cả 3 dòng BV16, BV350 và BV376:

- Các dòng keo lai nhân nhanh chồi đều cho 6,08 - 8,72 số chồi/cụm, chiều cao chồi từ 3,79 -

4,16 cm và không xuất hiện các bất thường về hình thái.

- Các dòng keo lai ra rễ đều cho tỷ lệ ra rễ trên 85% và bộ rễ phát triển có màu trắng, không bị gãy dập, đầu rễ trắng ngà màu vàng nhạt, lá màu xanh.

- Sau 3 tháng tuổi ở vườn ươm, các dòng keo lai đều đạt tỷ lệ sống trên 90%. Cây cứng cáp, khỏe

mạnh, không cụt ngọn, lá xanh và không có biểu hiện bị sâu bệnh.

Kết quả bước đầu cho thấy, cây con tái sinh từ mô sẹo sau 8 chu kỳ chưa có biểu hiện rõ rệt về biến dị hình thái và sinh lý trong giai đoạn ươm. Tuy nhiên, cần thêm các nghiên cứu chuyên sâu hơn ở nhiều chu kỳ tái sinh khác nhau và đánh

giá ngoài hiện trường để xác định tính ổn định di truyền trước khi đưa vào sản xuất đại trà.

Mẫu tái sinh chồi từ mô sẹo sẽ góp phần bổ sung thêm một nguồn vật liệu mới trong nhân giống các dòng keo lai, làm giảm công đoạn vào mẫu ban đầu và hạn chế được tỷ lệ nhiễm khi vào mẫu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cấn Thị Lan, 2014. Báo cáo tổng kết đề tài cấp Nhà nước: Nghiên cứu nhân nhanh một số giống keo và bạch đàn mới bằng công nghệ tế bào thực vật, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.
2. Đỗ Mạnh Hùng, 2020. Báo cáo tổng kết đề tài “Sản xuất các giống keo lai và bạch đàn lai quy mô công nghiệp phục vụ trồng rừng các tỉnh trung du và miền núi phía Bắc”.
3. Đoàn Thị Mai, Lê Sơn, 2011. Báo cáo tổng kết đề tài KHCN cấp Nhà nước “Nghiên cứu nhân nhanh giống keo lai tự nhiên, keo lai nhân tạo, Bạch đàn uro, bạch đàn lai nhân tạo (mới chọn tạo) và Lát hoa bằng công nghệ tế bào”. Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.
4. Garg L, Bhandari NN, Rani V, Bhojwani SS, 1996. Somatic embryogenesis and regeneration of triploid plants in endosperm cultures of *Acacia nilotica*. Plant Cell Reports, 15: 855 - 858.
5. Lê Sơn, 2013. Hoàn thiện quy trình nhân nhanh bằng nuôi cấy mô cho 6 giống keo lai đã được công nhận, Báo cáo dự án SXTN cấp Nhà nước, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.
6. Lê Thị Thủy, Nguyễn Thị Huyền, Nguyễn Thị Việt Hà, Trần Thị Thu Hà, Lê Sơn, 2024. Nghiên cứu tái sinh chồi thông qua mô sẹo và phát sinh phôi soma các dòng keo lai BV350 VÀ BV376. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp số 5/2024: 12 - 23.
7. Nguyễn Ngọc Tân, 1995. Nhân giống keo lai bằng nuôi cấy mô phân sinh, In trong kết quả Nghiên cứu khoa học công nghệ giai đoạn 1990 - 1995, NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
8. Nguyễn Thị Huyền, Trần Thị Thu Hà, Hà Thị Huyền Ngọc, Nguyễn Thị Việt Hà, Lê Thị Thủy, Lê Sơn, 2020. Nghiên cứu tái sinh cây keo lai (*Acacia hybrid*) thông qua mô sẹo và phát sinh phôi soma phục vụ chuyển gen. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp số 4/2020, 30 - 40.
9. Rout, G. R., Samantaray, S., & Das, P., 1995. Somatic embryogenesis and plant regeneration from callus culture of *Acacia catechu*-a multipurpose leguminous tree. Plant cell, tissue and organ culture, 42: 283 - 285.
10. Tạ Thu Trang, Khuất Thị Hải Ninh, Đỗ Hữu Sơn, Cấn Thị Lan, Kiều Thị Hà, Nguyễn Thị Thu Dung, 2021. Nghiên cứu nhân giống các dòng keo lai mới (*Acacia mangium* & *Acacia auriculiformis*) BV350 và BV523 bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp, số 3/2021.
11. Văn Thu Huyền, Mai Thị Phương Thúy, Đồng Thị Ứng, Nguyễn Anh Dũng, Lê Thị Hoa, Lưu Thị Quỳnh, Hoàng Thị Hồng Hạnh, Đỗ Hữu Sơn, Nguyễn Đức Kiên, Đỗ Tiến Phát, Lê Sơn, 2021. Nghiên cứu nhân giống các dòng keo lai năng suất cao BV376, BV586, BB055 bằng phương pháp nuôi cấy mô. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp số 3/2021, tr20 - 31.
12. Xie, D. Y., & Hong, Y., 2001. Regeneration of *Acacia mangium* through somatic embryogenesis. Plant Cell Reports, 20: 34 - 40.
13. Yang, M., Xie, X., He, X., & Zhang, F., 2006. Plant regeneration from phyllode explants of *Acacia crassicaarpa* via organogenesis. Plant cell, tissue and organ culture, 85: 241 - 245.

Email tác giả liên hệ: leson@vafs.gov.vn

Ngày nhận bài: 30/04/2025

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 11/05/2025; 14/05/2025

Ngày duyệt đăng: 22/05/2025