

# NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *In vitro* CÁC GIA ĐÌNH ƯU VIỆT KEO TAI TƯỢNG (*Acacia mangium* Willd.) PHỤC VỤ TRỒNG RỪNG DÒNG VÔ TÍNH THEO GIA ĐÌNH

Lưu Thị Quỳnh<sup>1</sup>, La Ánh Dương<sup>1</sup>, Phí Hồng Hải<sup>2</sup>, Nghiêm Quỳnh Chi<sup>1</sup>  
Đồng Thị Ứng<sup>1</sup>, Triệu Thị Thu Hà

<sup>1</sup>Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp

<sup>2</sup>Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

## TÓM TẮT

Trồng rừng vô tính theo gia đình (CFF - Clonal Family Forestry) là phương pháp nhằm nhân giống sinh dưỡng hàng loạt các cá thể ưu việt trong các gia đình ưu việt, không giữ lại dòng vô tính đồng nhất. Ứng dụng phương pháp này nghiên cứu về nhân giống cho 10 gia đình Keo tai tượng có chất lượng di truyền đã được cải thiện. Mục đích đưa kỹ thuật nhân giống CFF cho Keo tai tượng bằng nuôi cấy mô vào sản xuất giúp tạo ra số lượng lớn cây giống có chất lượng nhằm mở rộng có hiệu quả phương pháp trồng rừng vô tính theo gia đình. Phương pháp khử trùng cho 10 lô hạt Keo tai tượng đạt hiệu quả tốt nhất khi sử dụng kết hợp 2 loại chất khử trùng: dung dịch oxy già H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20% với thời gian 30 phút và dung dịch Natri Dichloroisocyanurate NaDCC 1% với thời gian 10 phút, tỷ lệ mẫu sạch đạt 84,4%, hạt bắt đầu nảy mầm sau 3 ngày, sau 5 ngày hạt nảy mầm hoàn toàn. Môi trường nhân nhanh chồi thích hợp là: MS\* (MS cải tiến) + 1,5 mg/l BAP + 30 g/l đường + 4,25 g/l Agar cho hệ số nhân chồi 2,9 lần, chiều cao chồi đạt 2,7 cm và tỷ lệ chồi hữu hiệu đạt 71,8%. Môi trường kích thích tạo rễ tốt nhất là: 1/2MS\* + 2,0 mg/l IBA + 15 g/l đường + 4,3 g/l Agar, với tỷ lệ chồi ra rễ đạt 96,7%, số rễ/cây là 2,7 rễ và chiều dài rễ đạt 1,5 cm. Thời gian huấn luyện cây thích hợp là 20 - 30 ngày cho tỷ lệ sống của cây con ngoài vườn ươm đạt trên 75%. Sau 7 - 8 chu kỳ nhân chồi với mỗi chu kỳ là 25 ngày cụp chồi Keo tai tượng bắt đầu già hóa hệ số nhân giảm mạnh, vì vậy cần tiến hành hủy mẫu và vào mẫu mới để tiếp tục sản xuất. Với kết quả nhân chồi, có thể xác định nhanh sau 7 - 8 chu kỳ nhân chồi từ 1 hạt Keo tai tượng có thể tạo được 1.800 - 1.900 cây con giống đủ điều kiện xuất vườn sau 3 tháng nuôi dưỡng.

**Từ khóa:** Keo tai tượng, trồng rừng dòng vô tính theo gia đình, nhân nhanh chồi, kích thích tạo rễ

**Keywords:** Acacia, plantation of clonal forest according to family, fast multiplication of buds, stimulating root formation

## ***In vitro* propagation for superior families of *Acacia mangium* Willd. providing for clonal family forestry**

Clonal Family Forestry (CFF) is a method for vegetative propagation of a series of preeminent individuals in superior families, without keeping the homogeneous clones. The aim of the research was to introduce the CFF propagation technique for *Acacia mangium* by tissue culture for production which will help create a large number of quality seedlings and expand the family clonal afforestation method. The CFF method was applied to 10 families of Acacia that had shown superior genetic quality. The best disinfection method was a combination of 2 disinfectants; 20% hydrogen peroxide solution for 30 minutes and 1% Natri Dichloroisocyanurate solution for 10 minutes which achieved a clean sample rate of 84.4%,

reached germination after 3 days and fully germinated after 5 days. The most suitable medium for rapid shoot multiplication was: MS \* (Improved MS) + 1.5 mg/l BAP + 30 g/l sugar + 4.25 g/l Agar for shoot multiplier 2.9 times, producing a bud height of 2.7 cm with an effective rate of shoot of 71.8%. The best rooting stimulating medium was: 1/2MS \* + 2.0 mg/l IBA + 15 g/l of sugar + 4.3 g/liter of Agar, resulting in a root shoot rate of 96.7%, 2.7 roots/plants and root length of 1.5 cm. The appropriate training time was 20 - 30 days for the survival rate of seedlings outside the nursery to reach over 75%. After 7 - 8 bud multiplication cycles, with each cycle of 25 days, Acacia bud clusters began to age and the multiplier factor decreased, hence it was necessary to destroy and replace the sample to continue production. The results of the shoot multiplication show that after 7 - 8 bud multiplication cycles, 1 *Acacia mangium* seed produces approximately 1,800 - 1,900 seedlings eligible for outplanting after 3 months of nurturing.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Keo tai tượng (*Acacia mangium* Willd.) được đưa vào Việt Nam từ những năm 1960 dưới dạng khảo nghiệm loài và xuất xứ. Tuy nhiên, với khả năng sinh trưởng nhanh, thích nghi tốt Keo tai tượng đã được xem là một trong số các loài cây trồng rừng chu kỳ ngắn (6 - 8 năm) (Lê Đình Khả, Nguyễn Hoàng Nghĩa, 1991) và đến đầu những năm 1980 một chương trình cải thiện giống Keo tai tượng chính thức được bắt đầu, qua đó một số xuất xứ như Pongaki, Cardwell, Iron Range, SW Cairns và Bloomfield đã được Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (Bộ NN&PTNT) công nhận là nguồn giống tiến bộ kỹ thuật để đưa vào sản xuất.

Cây con được sử dụng để trồng rừng hiện nay chủ yếu là được sản xuất thông qua phương pháp nhân giống hữu tính (gieo hạt). Phương pháp nhân giống này có nhiều hạn chế đó là nguồn hạt giống không đủ lớn để phục vụ đủ nhu cầu trồng rừng, trong khi giá hạt nhập khẩu thì quá cao; hơn nữa Keo tai tượng là loài có tốc độ già hóa nhanh và tính bảo lưu cục bộ lớn vì thế khả năng sử dụng cây hom cho trồng rừng kinh tế không được tính đến. Do đó, giải pháp trồng rừng dòng vô tính theo gia đình (CFF - Clonal Family Forestry) đã được xem xét bởi khả năng nhân số lượng lớn những gia

đình ưu việt được thu hái từ các vườn giống và rừng giống đã cải thiện chất lượng di truyền để cung cấp cây giống đáp ứng nhu cầu trồng rừng chất lượng cao. Năm 2016, kỹ thuật nhân giống vô tính theo gia đình (CFF) cho Keo tai tượng bằng phương pháp nuôi cấy mô được thực hiện bởi tác giả TS. Phí Hồng Hải và Triệu Thị Thu Hà (2016). Nghiên cứu đã xác định được ảnh hưởng của nồng độ hóa chất và thời gian đến kết quả khử trùng, ảnh hưởng của Cytokinin và Auxin đến khả năng nhân chồi và ảnh hưởng của Auxin tới khả năng ra rễ trong nhân giống gia đình dòng vô tính Keo tai tượng. Đồng thời các tác giả cũng đã đưa ra khuyến cáo đối với phương pháp nhân giống CFF cho Keo tai tượng chỉ nên nhân chồi đến vòng thứ 7, mỗi vòng 25 ngày, sau đó hủy mẫu. Trong nghiên cứu này chúng tôi sẽ tiếp tục đưa ra các kết quả nghiên cứu về các nội dung tương tự trước đó của TS. Phí Hồng Hải và Triệu Thị Thu Hà (2016). Tuy nhiên hướng nghiên cứu sẽ chủ yếu tập trung để nâng cao hiệu quả khi áp dụng đưa cây Keo tai tượng vào thực tiễn sản xuất. Để sản xuất thực tiễn có hiệu quả và lợi nhuận cao nhất thì bắt buộc chi phí sản xuất phải thấp, thời gian sản xuất ngắn đồng thời năng suất vẫn được đảm bảo và trong quá trình sản xuất thì vấn đề về môi trường cần được quan tâm.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

10 lô hạt có chất lượng di truyền đã được cải thiện thu hái từ các vườn giống thế hệ 2 của Keo tai tượng.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Môi trường và điều kiện nuôi cấy

Quá trình nuôi cấy Keo tai tượng sử dụng môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962). Tuy nhiên, đối với mỗi loài cây khác nhau môi trường MS sẽ được cải tiến cho phù hợp thông qua việc thay đổi hàm lượng các chất đa lượng, vi lượng, vitamin. Môi trường MS sau khi thay đổi hàm lượng các chất gọi là môi trường cải tiến MS\*. Tùy theo các thí nghiệm mà môi trường MS\* được bổ sung vào các chất điều hòa sinh trưởng như: BAP (6 - benzylaminopurine), IBA (3 - Indol Butyric Acid), sucrose và agar. Tất cả môi trường nuôi cấy đều được điều chỉnh pH = 5,8.

Quá trình nuôi cấy được tiến hành tại phòng thí nghiệm nuôi cấy mô và vườn ươm của Bộ môn Công nghệ tế bào thực vật thuộc Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp. Các thí nghiệm được duy trì trong điều kiện phòng thí nghiệm với: Số giờ chiếu sáng trong ngày là 10 giờ/ngày, nhiệt độ  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , cường độ chiếu sáng  $35.5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  được cung cấp từ bóng đèn huỳnh quang Phillips TL 40w/54. Các dụng cụ và môi trường nuôi cấy được hấp khử trùng ở điều kiện áp suất 1,2 atm, nhiệt độ  $121^\circ\text{C}$  trong thời gian 20 - 40 phút.

#### 2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

##### 2.2.2.1. Xác định nồng độ hóa chất và thời gian khử trùng thích hợp

- *Tiền xử lý:* Gồm hai bước:

*Bước 1:* 10 lô hạt Keo tai tượng được trộn lẫn, rửa sạch với xà phòng và nước máy, sau đó ngâm trong cồn  $70^\circ$  2 - 3 phút, tráng sạch bằng

nước máy. Tiếp theo ngâm hạt trong dung dịch oxy già 20%, thời gian từ 0 - 60 phút, tráng sạch 3 - 5 lần bằng nước cất vô trùng.

*Bước 2:* Mẫu được khử trùng trong tủ cấy với dung dịch NaDCC 1% trong 10 phút, tráng lại 3 - 5 lần bằng nước cất vô trùng. Sau đó, hạt được cắt 1 phần (không bao gồm phôi) để tăng quá trình hút nước rồi đặt nảy mầm trong bình tam giác có lót 2 lớp giấy thấm đã vô trùng, được tưới thấm bằng nước cất vô trùng.

- Bố trí thí nghiệm gồm 4 công thức tiến hành với 3 lần lặp và 30 mẫu/lặp. Các công thức thí nghiệm được bố trí theo bảng sau:

CTTN	$\text{H}_2\text{O}_2$		Javen	
	Nồng độ	Thời gian	Nồng độ	Thời gian
	(%)	(phút)	(%)	(phút)
CT1	0	0	1	10
CT2	20	10	1	10
CT3	20	30	1	10
CT4	20	60	1	10

- Lựa chọn ra công thức khử trùng tốt nhất.

##### 2.2.2.2. Xác định môi trường nhân chồi thích hợp

- So sánh các công thức thí nghiệm nhân chồi có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng BAP ở các nồng độ: 0 mg/l; 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l vào môi trường MS có cải tiến về thành phần và nồng độ các chất đa lượng, vi lượng, vitamin.

- Bố trí thí nghiệm gồm 5 công thức tiến hành với 3 lần lặp và 30 mẫu/lặp.

- Từ đó lựa chọn ra môi trường thích hợp cho quá trình nhân chồi Keo tai tượng.

##### 2.2.2.3. Xác định môi trường ra rễ thích hợp

- So sánh các công thức thí nghiệm ra rễ có bổ sung IBA ở các nồng độ: 0 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l; 2,5 mg/l được bổ sung vào môi trường 1/2MS cải tiến.

- Bố trí thí nghiệm gồm 5 công thức tiến hành với 3 lần lặp và 30 mẫu/lặp.

2.2.2.4. *Xác định thời gian huấn luyện của cây con ở giai đoạn vườn ươm*

- Đánh giá tỷ lệ sống và sinh trưởng về chiều cao của cây tại vườn ươm với 4 công thức thí nghiệm: CT1: 0 - 10 ngày, CT2: 10 - 20 ngày, CT3: 20 - 30 ngày, CT4: 30 - 40 ngày.
- Thí nghiệm tiến hành với 3 lần lặp và 30 mẫu/lặp.

2.3. **Thu thập và xử lý số liệu**

- Các chỉ tiêu quan sát và đo đếm.
  - Giai đoạn khử trùng: Số hạt chết, số hạt nhiễm, số hạt nảy mầm, thời gian hạt bắt đầu nảy mầm, thời gian hạt nảy mầm hoàn toàn.
  - Giai đoạn nhân chồi: Số chồi/cụm; chiều dài chồi (cm).
  - Giai đoạn ra rễ: Số chồi ra rễ, số rễ/cây, chiều dài rễ (cm).
  - Giai đoạn ở vườn ươm: Số cây sống, số cây chết, chiều cao cây (cm).

*Chú ý:*

- Chồi hữu hiệu là chồi có chiều cao trên 1,5 cm, thân lá và ngọn rõ ràng, có nhiều hơn 2 cặp lá.

- Chiều dài rễ được đo trên các rễ có chiều dài  $\geq 0,3$  cm và chồi có rễ như vậy được coi là ra rễ, ngược lại chồi có rễ  $< 0,3$  cm được coi là không ra rễ.

- Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và SPSS 20.0 theo phương pháp thống kê hiện hành.

III. **KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

3.1. **Xác định nồng độ hóa chất và thời gian khử trùng thích hợp**

Hiện nay, phương pháp hóa học được sử dụng phổ biến trong nuôi cấy mô để khử trùng mẫu cấy. Những hóa chất có tác dụng diệt khuẩn được sử dụng trong nuôi cấy mô tế bào thực vật như:  $HgCl_2$ ,  $NaClO$ ,  $NaDCC$ ,  $Ca(OCl)_2$ ,  $H_2O_2$ ,  $AgNO_3$ , các chất kháng sinh,... cũng có thể bổ sung thêm Tween 20, Tween 80,... để tăng độ xâm nhập và bám dính của các chất diệt khuẩn vào bề mặt mẫu cấy.

**Bảng 1.** Kết quả thí nghiệm khử trùng hạt Keo tai tượng

CTKT	Tỷ lệ hạt nảy mầm (%)	Tỷ lệ hạt nhiễm (%)	Tỷ lệ hạt không nảy mầm (%)	Thời gian hạt bắt đầu nảy mầm (ngày)	Thời gian hạt nảy mầm hoàn toàn (ngày)
CT1	52,2	41,1	6,7	3	5
CT2	66,7	25,6	7,8	3	5
CT3	84,4	5,6	10,0	3	5
CT4	77,8	1,1	21,1	3	5
$F_{tính}$	19,5	39,7	10,2		
$F_{tra\ bảng}$	$F_{(0,5;3;8)} = 4,07$				

Kết quả phân tích phương sai một nhân tố:  $F_{tính} > F_{0,5\ tra\ bảng}$ , chứng tỏ khi sử dụng kết hợp dung dịch  $NaDCC$  1% trong 10 phút với dung dịch  $H_2O_2$  20% trong các khoảng thời gian khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt tới khả năng tạo mẫu sạch của hạt Keo tai tượng.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy sau 3 ngày khử trùng, hạt Keo tai tượng bắt đầu nảy mầm và sau 5 ngày hạt nảy mầm hoàn toàn. Trong đó,

CT1 - đối chứng cho tỷ lệ mẫu sạch thấp nhất do chỉ sử dụng một chất khử trùng là dung dịch  $NaDCC$  1% trong 10 phút. CT4 cho tỷ lệ hạt nhiễm thấp nhất (1,1%), nhưng tỷ lệ hạt không nảy mầm lại là cao nhất (21,1%). Điều này cũng tương đối phù hợp bởi mẫu vật khi ngâm trong dung dịch khử trùng quá lâu sẽ gây tổn thương hoặc làm hỏng mô thực vật. Vì vậy, CT3 sẽ cho kết quả khử trùng tốt nhất với tỷ lệ

mẫu sạch (84,4%), tỷ lệ hạt nhiễm (5,6%) và tỷ lệ hạt không nảy mầm (10%).

### 3.2. Xác định môi trường nhân chồi thích hợp

Nhân nhanh chồi là giai đoạn có ý nghĩa hết sức quan trọng đối với việc tạo ra số lượng lớn cây con *in vitro*. Các chất điều hòa sinh trưởng thực vật như Kinetin, BAP, NAA

thường được bổ sung vào môi trường nuôi cấy làm tăng hệ số nhân của chồi. Trong nghiên cứu này thí nghiệm xác định môi trường nhân chồi thích hợp được tiến hành với 4 công thức thí nghiệm có sử dụng chất điều hòa sinh trưởng là BAP ở các nồng độ khác nhau và 1 công thức đối chứng không bổ sung BAP (bảng 2).

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân chồi Keo tai tượng

CTTN	BAP (mg/l)	Số chồi/cụm (chồi)		HSNC (lần)		Chiều cao chồi (cm)		TLCHH (%)		Chất lượng chồi
		TB	Sđ	TB	Sđ	TB	Sđ	TB	Sđ	
CT1	0	3,3	1,4	1,3	2,1	2	1,7	38,5	1,3	+
CT2	0,5	4,6	1	1,8	2,4	2,3	1,5	41,6	1,5	+
CT3	1	6,2	1,1	2,4	5,1	2,5	1,9	55,7	4,1	++
CT4	1,5	7,9	1,3	2,9	5,3	2,7	2,2	71,8	6,2	+++
CT5	2	5,3	1,2	2,2	3,7	2,5	1,8	53,2	1,6	++
F <sub>tính</sub>		78,7		91,5		51,9		97,1		
F <sub>tra bảng</sub>		F <sub>(,05;4;145)</sub> = 2,43								

Ghi chú: (+) chồi sinh trưởng kém; (++) chồi sinh trưởng trung bình; và (+++) chồi sinh trưởng tốt

\*\* HSNC: hệ số nhân chồi; TLCHH: tỷ lệ chồi hữu hiệu.

Kết quả phân tích phương sai một nhân tố cho thấy  $F_{tính} > F_{,05}$  tra bảng, như vậy nồng độ của BAP đã ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng nhân nhanh chồi.

Kết quả bảng 2 cho thấy khi sử dụng công thức môi trường nuôi cấy khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng nhân nhanh chồi Keo tai tượng. Số chồi/cụm đạt 4,6 - 7,9 chồi, HSNC đạt 1,8 - 2,9 lần, chiều cao chồi đạt 2,3 - 2,7 cm và tỷ lệ chồi hữu hiệu đạt 41,6 - 71,8%. Ở công thức đối chứng không bổ sung BAP, tất cả các chỉ tiêu đều thấp hơn so với các công thức có bổ sung BAP, chất lượng chồi kém... CT4 khi bổ sung BAP với nồng độ 1,5 mg/l cho kết quả tốt nhất với giá trị trung bình:

7,9 chồi/cụm, HSNC đạt 2,9 lần, chiều cao chồi đạt 2,7 cm và TLCHH là 75,1%, chồi xanh, lá mở, kích thước chồi lớn.

### 3.3. Xác định môi trường ra rễ thích hợp

Tạo cây hoàn chỉnh là giai đoạn cuối cùng của quá trình nhân giống *in vitro* với mục đích tạo cây con có bộ rễ cứng cáp nhằm tăng tỷ lệ sống của cây con ở vườn ươm.

Vì mục đích chính của giai đoạn này là tạo rễ cho cây nên thành phần các khoáng chất và đường trong môi trường nuôi cấy được điều chỉnh giảm đi một nửa (1/2 MS\*). Môi trường nuôi cấy có bổ sung IBA ở các nồng độ cho kết quả thu được ở bảng 3.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của IBA tới khả năng ra rễ Keo tai tượng

IBA (mg/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Sđ	Số rễ (rễ/cây)	Sđ	Chiều dài rễ (cm)	Sđ
0,0	28,6	1,2	1,2	0,7	0,5	0,8
1,0	56,7	1,4	1,4	0,9	0,9	0,8
1,5	83,3	1,6	1,8	1,1	1,2	0,6
2,0	96,7	1,5	2,7	0,9	1,5	0,9
2,5	76,7	1,4	2,3	1	1,2	0,7
F <sub>tính</sub>		37,9		13,7		9,4
F <sub>tra bảng</sub>		F <sub>(,05;4; 145)</sub> = 2,43				

Kết quả bổ sung IBA với các nồng độ khác nhau vào môi trường ra rễ cho thấy tỷ lệ chồi ra rễ, số rễ/cây và chiều dài rễ của Keo tai tượng tại các công thức thí nghiệm khác nhau là có sự khác biệt rõ rệt ( $F_{tính} > F_{tra\ bảng}$ ).

Công thức bổ sung 2,0 mg/l IBA cho hiệu quả ra rễ tốt nhất với tỷ lệ ra rễ là 96,7%, số rễ/cây đạt 2,7 rễ, chiều dài rễ đạt 1,5 cm. Kết quả này cao hơn hẳn so với công thức đối chứng không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng.

### 3.4. Xác định thời gian huấn luyện thích hợp

Cây con *in vitro* sau khi được tạo rễ trong điều kiện phòng thí nghiệm sẽ được chuyển ra khu huấn luyện trong thời gian nhất định để thích nghi với điều kiện tự nhiên. Khu huấn luyện được xây dựng gần vườn ươm, được che sáng bằng lưới đen với tỷ lệ chắn sáng 75%. Kết quả thí nghiệm về thời gian huấn luyện cây con đối với Keo tai tượng được trình bày tại bảng 4.

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến tỷ lệ sống và chiều cao của cây con Keo tai tượng tại vườn ươm

TG huấn luyện	Tỷ lệ sống (%)		Chiều cao (cm)	
	TB	Sđ	TB	Sđ
0 - 10 ngày	56,5	5,1	4,5	4,7
10 - 20 ngày	63,4	4,8	5	4,9
20 - 30 ngày	81,2	5,2	6,4	5,3
30 - 40 ngày	72,7	5,6	8,8	6,4
$F_{tính}$	51,8		43,2	
$F_{tra\ bảng}$	$F_{(0,05;4;115)} = 2,51$			

Bảng 4 cho thấy có sự sai khác về thời gian huấn luyện ở các công thức thí nghiệm ( $F_{tính} > F_{tra\ bảng}$ ). Thời gian huấn luyện cây từ 20 - 30 ngày cho hiệu quả tốt nhất với tỷ lệ cây sống cao 81,2%, chiều cao cây đạt 5,3 cm. Vào thời điểm này lá xanh, thân cứng cáp, rễ đã ổn định, đặc biệt chiều cao cây đã đủ tiêu chuẩn để phơi sáng hoàn toàn nên thời gian huấn luyện trên là phù hợp nhất. Thời gian huấn luyện từ 0 - 10 ngày cho tỷ lệ cây sống thấp nhất chỉ 56,5%.

### 3.5. Xác định khả năng nhân giống gia đình dòng vô tính (CFF) bằng kỹ thuật nuôi cấy mô cho Keo tai tượng

Nhân giống CFF cho Keo tai tượng đã được một số công ty giấy lớn ở Indonesia và

Malaysia thực hiện thành công. Năng suất rừng trồng CFF đã tăng 15% so với việc trồng rừng bằng hạt giống từ các vườn giống (Wong & Muhammad, 2013).

Vì vậy, việc áp dụng phương pháp này trong nuôi cấy mô hoàn toàn có thể mang lại hiệu quả tốt. Để đánh giá được hiệu quả của việc nhân giống gia đình dòng vô tính bằng kỹ thuật nuôi cấy mô cho đối tượng nghiên cứu, cần phải xác định số lượng chồi tiêu chuẩn có thể tạo ra từ 1 hạt được đưa vào nuôi cấy. Do đó, cần tiến hành đánh giá các chỉ số nhân chồi, bao gồm hệ số nhân chồi và chiều dài chồi qua các lần cấy chuyển (25 ngày) trước khi cụm chồi hoàn toàn già và không có khả năng sinh chồi, đặc biệt là chồi hữu hiệu.

**Bảng 5.** Các chỉ tiêu nhân giống qua các chu kỳ cấy chuyển của Keo tai tượng

Số lần cấy chuyển	Hệ số nhân chồi (lần)		Chiều dài chồi (cm)		Tỷ lệ chồi hữu hiệu (%)		Chất lượng chồi
	TB	Sd	TB	Sd	TB	Sd	
Lần 1	1,6	2,1	2	2,2	40,6	4,2	+++
Lần 2	2,4	1,8	2,4	2	60,2	5,3	+++
Lần 3	2,8	1,9	2,9	1,7	75,8	4,7	+++
Lần 4	2,9	2,2	2,9	1,8	75,4	4,9	+++
Lần 5	3,1	2	2,8	2,2	76,3	4,1	+++
Lần 6	2,9	1,7	2,7	2,4	72,4	5,5	+++
Lần 7	2,4	1,7	2,5	1,5	39,8	5,3	++
Lần 8	1,8	1,8	2,4	2,1	25,1	3,9	+
F <sub>tính</sub>	51,7		59,6		22,4		
F <sub>bảng</sub>	F <sub>(,05; 7; 16)</sub> = 3,24						

Kết quả đánh giá tại bảng 5 cho thấy, các chỉ tiêu nhân chồi đạt giá trị cao trong các lần cấy chuyển thứ 3, 4, 5 và thứ 6, với hệ số nhân chồi đạt 2,8 - 3,1 lần, chiều dài chồi đạt 2,7 - 2,9 cm và tỷ lệ chồi hữu hiệu 72,4 - 76,3%. Tuy nhiên, các chỉ số này giảm từ lần cấy chuyển thứ 7 và thứ 8 với hệ số nhân chồi giảm mạnh

xuống 2,4 - 1,8 lần, chiều cao chồi giảm còn 2,5 - 2,4 cm và tỷ lệ chồi hữu hiệu giảm mạnh từ 39,8 - 25,1%. Hơn nữa, về hình thái các chồi chuyển màu vàng, thân phân lóng ngắn, không mở lá, lá vàng và rụng lá. Như vậy, đối với Keo tai tượng chỉ nên nhân chồi đến vòng thứ 7, mỗi vòng 25 ngày sau đó hủy mẫu.



(a)



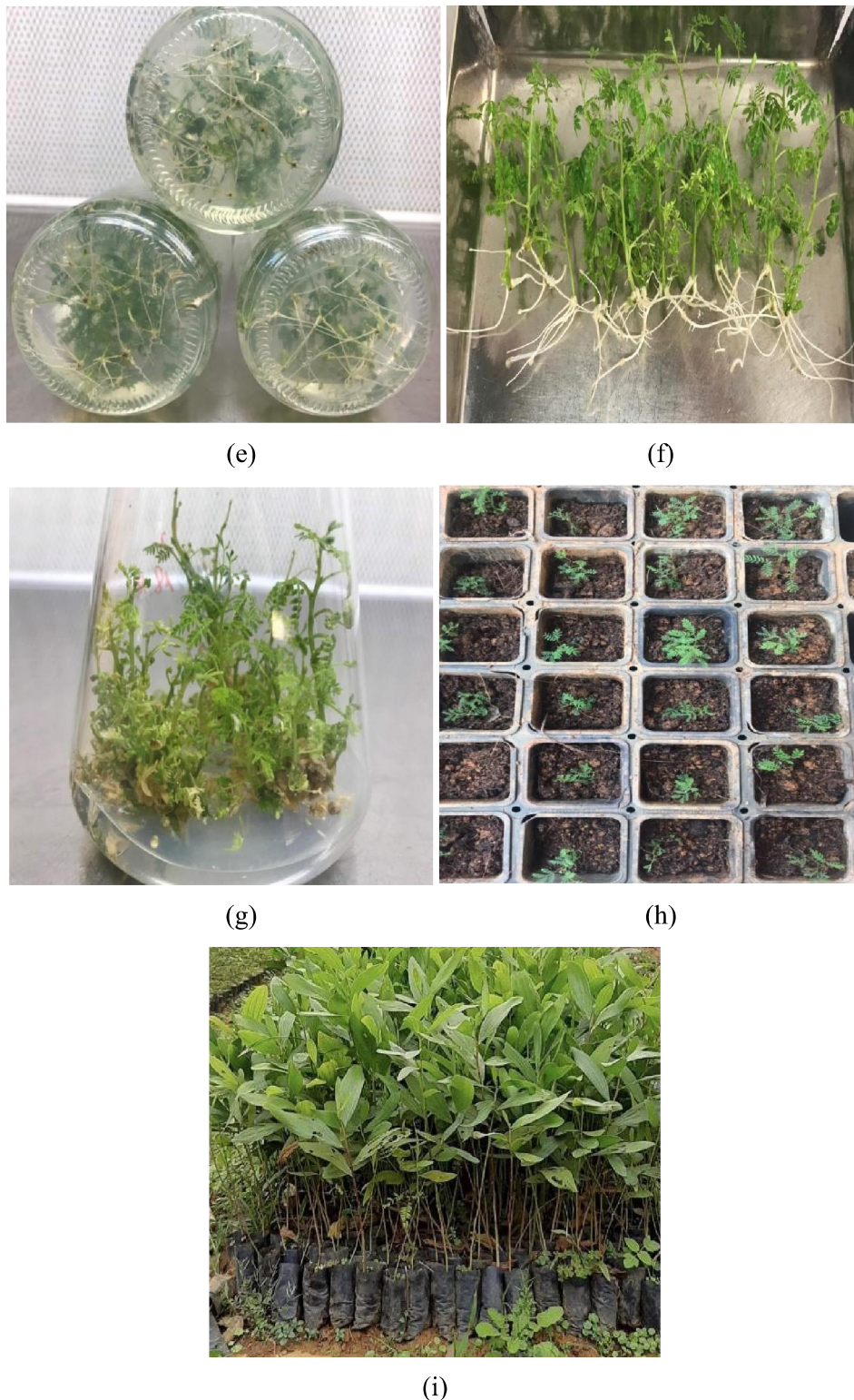
(b)



(c)



(d)



**Hình 1.** Một số hình ảnh về kết quả nghiên cứu nhân giống CFF Keo tai trọng  
 (a), (b): Hạt sau khử trùng nảy mầm trên giấy thấm và cất hạt nuôi trên môi trường tái sinh chồi;  
 (c), (d): Cụm chồi giai đoạn nhân nhanh chồi; (e), (f): Cây ra rễ hoàn chỉnh; (g): Cụm chồi già hóa sau  
 7 - 8 chu kỳ nhân chồi; (h), (i): Cây con sau 2 tuần cấy vào bầu đất và cây con đủ tiêu chuẩn xuất vườn.



#### IV. KẾT LUẬN

Phương pháp khử trùng thích hợp cho hạt Keo tai tượng là sử dụng kết hợp 2 loại hóa chất: dung dịch oxy già H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20% trong 30 phút và dung dịch NaDCC 1% trong 10 phút cho tỷ lệ mẫu sạch đạt 84,4%. Môi trường nhân nhanh chồi thích hợp là: MS\* + 1,5 mg/l BAP + 30 g/l đường + 4,2 g/l Agar. Môi trường ra rễ thích hợp: 1/2MS\* + 2,0 mg/l IBA + 15 g/l đường + 4,3 g/l Agar. Thời gian huấn luyện cây thích hợp là 20 - 30 ngày giúp cây cứng cáp, bộ rễ

phát triển khỏe, cây có thời gian làm quen và thích nghi dần với môi trường tự nhiên bên ngoài (tỷ lệ sống của cây con ngoài vườn ươm đạt trên 75%).

Đối với Keo tai tượng, chỉ nên nhân chồi đến chu kỳ thứ 7 - 8, mỗi chu kỳ 25 ngày, sau đó hủy mẫu. Thông thường, sau 7 - 8 chu kỳ cây chuyển từ 1 hạt Keo tai tượng có khả năng tạo được khoảng 1.800 - 1.900 cây con (nuôi dưỡng ở giai đoạn 3 tháng tuổi).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Griffin, A.R; Tran Duc Vuong; Harbard J.L.; Wong C.Y.; Brooker C.; Vaillancourt R. E., 2010. Improving controlled pollination methodology for breeding *Acacia mangium* Willd. *New Forest*, 1 - 12.
2. Muhammad Shahinozzaman, Mustafa Abul Kalam Azad, Muhammad Nurul Amin, 2012. *In vitro* Clonal Propagation of a Fast Growing Legume Tree - *Acacia mangium* Willd. Employing Cotyledonary Node Explants. *Not Sci Biol*, 4 (2): pp 79 - 85.
3. Phí Hồng Hải, Triệu Thị Thu Hà, 2016. Nghiên cứu nhân giống *in vitro* các gia đình ưu việt Keo tai tượng (*Acacia mangium* Willd.) phục vụ trồng rừng dòng vô tính theo gia đình.
4. Phí Hồng Hải, Văn Thu Huyền, 2016. Nhân giống *in vitro* các gia đình ưu việt Keo lá liềm (*Acacia crassicarpa* A. Cunn. ex Benth.) phục vụ trồng rừng.
5. Lê Đình Khả, 2003. Chọn tạo và nhân giống cho một số loài cây trồng rừng chủ yếu ở Việt Nam. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
6. Đoàn Thị Mai, 2003. Nhân giống cho một số loài cây trồng rừng có năng suất, chất lượng cao bằng phương pháp nuôi cấy mô. Báo cáo Hội nghị "Công nghệ sinh học" toàn quốc, Hà Nội.
7. Đoàn Thị Mai, 2009. Nuôi cấy mô một số giống keo lai mới chọn tạo. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp, số 2.
8. Đoàn Thị Mai, Lê Sơn, 2011. Nhân nhanh giống keo lai tự nhiên, keo lai nhân tạo, Bạch đàn Uro, bạch đàn lai nhân tạo và lát hoa mới chọn tạo bằng công nghệ tế bào. Báo cáo tổng kết đề tài thuộc chương trình công nghệ sinh học trong nông nghiệp và phát triển nông thôn.

**Email tác giả liên hệ:** nhuquynh1509@gmail.com

**Ngày nhận bài:** 03/12/2020

**Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa:** 13/12/2020

**Ngày duyệt đăng:** 14/12/2020