

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG CHO MỘT SỐ ĐỒNG KEO TAM BỘI (X101, X102) MỚI ĐƯỢC CÔNG NHẬN GIỐNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY MÔ TẾ BÀO

Đồng Thị Ứng, Nghiêm Quỳnh Chi, Lưu Thị Quỳnh, Văn Thu Huyền

Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Đa bội hóa là sự tăng bội bộ nhiễm sắc thể đơn bội trong một tế bào hoặc cùng loài (thể tự đa bội) hoặc của 2 loài khác nhau (thể dị đa bội) và là một hiện tượng tự nhiên, xuất hiện tương đối hiếm ở các loài động vật, song khá phổ biến ở các loài thực vật (khoảng 70% loài thực vật có hoa) với tần suất khác nhau. Trong lâm nghiệp, việc chọn tạo và sử dụng giống đa bội là một hướng đi mới và kỳ vọng có được những giống mới với sự khác biệt lớn về kiểu gen và kiểu hình. Kết quả của việc nhân lên về số lượng nhiễm sắc thể sẽ dẫn đến tăng liều lượng gen, tăng mức độ dị hợp tử, tăng mức độ tương tác giữa thông tin di truyền. Nghiên cứu nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô cho một số đồng keo tam bội (X101, X102) mới được công nhận giống sẽ góp phần hoàn thiện quy trình chọn tạo giống keo tam bội, làm cơ sở xây dựng chiến lược cải thiện giống đa bội cho các loài cây Keo nhiệt đới ở Việt Nam. Kết quả nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô cho một số đồng keo tam bội cho thấy việc sử dụng chồi vượt hay chồi nách làm vật liệu vào mẫu, khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,05% trong thời gian 5 phút cho hiệu quả cao nhất: tỷ lệ mẫu sống (80%); tỷ lệ bật chồi hữu hiệu (28,4%). Tuy nhiên, việc sử dụng javen 3% trong thời gian 20 phút cũng cho hiệu quả khá tốt: tỷ lệ mẫu sống (70,6%); tỷ lệ bật chồi hữu hiệu (18,2%). Để giảm bớt độc hại cho người dùng và cho môi trường thì việc dùng javel trong khử trùng được khuyến khích hơn là dùng $HgCl_2$ mặc dù hiệu quả kém hơn. Các cụm chồi hữu hiệu được nuôi cấy tiếp trong môi trường Murashige và Skoog cải tiến (MS) có bổ sung điều hòa sinh trưởng riêng lẻ hoặc tổ hợp. Số chồi/cụm cao nhất đạt được trong môi trường $MS^* + 1,0$ mg/l BAP + 0,25 mg/l GA_3 (5,0 - 5,5 chồi/cụm) và tỷ lệ chồi hữu hiệu (48,6 - 51,9%). Chồi hữu hiệu đạt tiêu chuẩn được ra rễ trong môi trường $1/2MS^* + 2$ mg/l IBA, tỷ lệ ra rễ đạt 78,4 - 80,1%.

Từ khóa: Nuôi cấy mô, keo tam bội

Study on propagation of new triploid acacia (X101, X102) by tissue culture method

Polyploid is a natural phenomenon. Polyploid in animals is rather rare. However, it is quite common in plants, occurring in more than 70% of flowering plants. In forestry, the selection and use of polyploid varieties is a new direction and it is expected to have new varieties with large differences in genotypes and phenotypes, because forest trees are often heterozygous. Research on tissue culture method for some promising triploid acacia lines (X101, X102) will contribute to the completion of the triploid breeding process, as well as a basis for creating a strategy to improve the variety polyploid for tropical Acacia species in Vietnam. Tissue culture method results for a number of triploid colloidal lines showed that the use of excess shoots or axillary buds sterilized with 0.05% $HgCl_2$ for 5 minutes has the highest efficiency: the survival rate (80%); the

Keywords: Tissue culture method, triploid acacia

adventitious shoot rate (28.4%). Beside, the use of 3% javel solution for 20 minutes also gave a quite good result: the survival rate (70.6%); the adventitious shoot rate (18.2%). To protect the environment and human health, javel solution is recommended to use in disinfection. Effective clusters of shoots were further cultured in Murashige and Skoog modified medium (MS) with supplementation of individual or synthetic growth. The highest number of shoots/cluster was achieved in MS * + 1.0 mg/l BAP + 0.25 mg/l GA3 (5.0 - 5.5 shoots/cluster) and the rate of effective shoots (48.6 - 51.9%). Effective shoots were up to the standard for rooting in 1/2MS * + 2 mg/l IBA, the rooting rate was 78.4 - 80.1%.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Keo tai tượng (*Acacia mangium* Willd.) và Keo lá tràm (*A. auriculiformis* A. Cunn. ex Benth.) là hai loài cây bản địa của Australia, Papua New Guinea (PNG), và Indonesia. Ở các nước Đông Nam Á, Keo tai tượng và Keo lá tràm được biết đến như các loài cây nhiệt đới sinh trưởng nhanh và thích nghi tốt. Hơn nữa, gỗ của chúng được sử dụng với nhiều mục đích: gỗ xẻ, giấy và năng lượng.

Ở Việt Nam, Keo tai tượng, Keo lá tràm và keo lai tự nhiên giữa chúng (*A. mangium* × *A. auriculiformis* gọi tắt là keo lai) đang được xem như các loài cây trồng rừng sản xuất gỗ luân kỳ ngắn. Rừng trồng các loài keo này đã phần nào đáp ứng được nhu cầu gỗ xẻ chất lượng cao như: Khối gỗ với kích cỡ tiêu chuẩn, đường kính tối thiểu 15 cm, phù hợp với sản xuất đồ gỗ và xây dựng; làm khung và sàn nhà... (Griffin *et al.* 2011; Harwood *et al.* 2008; Phi Hong Hai 2009). Đến nay, các vườn giống và rừng giống của 2 loài keo này có khả năng cung cấp hạt cho nhu cầu trồng rừng trong nước. Bên cạnh đó, việc phát hiện và phát triển dòng vô tính cho keo lai đã được tiến hành từ năm 1991 (Le Dinh *et al.* 2012) và 17 dòng keo lai ưu trội về sinh trưởng và hình dạng thân đã được Bộ NN & PTNT công nhận là giống quốc gia và giống tiến bộ kỹ thuật tính đến năm 2008. Tuy nhiên, thực tế chỉ có 7 dòng keo lai được gây trồng rộng rãi trên toàn quốc. Chính vì thế, việc nghiên cứu ứng dụng công

nghệ tiên tiến để tạo ra các quần thể chọn giống có tính đa dạng di truyền cao phục vụ cho công tác chọn tạo giống, bổ sung cho tập đoàn giống hiện có của các loài keo là việc làm cấp bách. Do đó, việc phát triển các dòng tam bội (3x) được kỳ vọng sẽ đạt được sự vượt trội về sinh trưởng và một số chỉ tiêu đáng quan tâm khác (khả năng chống chịu gió bão, sâu bệnh và tính chất gỗ) nếu sử dụng nguồn vật liệu di truyền tốt để xây dựng quần thể chọn giống đa bội.

Đề tài “Nghiên cứu chọn tạo giống keo tam bội sinh trưởng nhanh phục vụ trồng rừng gỗ lớn” được thực hiện thông qua việc kế thừa vật liệu 3x (11 dòng keo tam bội) tạo ra từ dự án ACIAR năm 2016. Nghiên cứu nhân giống bằng nuôi cấy mô cho một số dòng keo tam bội (X101, X102) đã được triển khai nhằm hoàn thiện quy trình nuôi cấy, rút ngắn thời gian ứng dụng kết quả chọn giống vào sản xuất, cung cấp cây giống chất lượng cao, đồng đều và với số lượng lớn cho trồng rừng kinh tế.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các chồi bánh tẻ thu từ cây keo tam bội 1 - 1,5 tuổi đã được xử lý tạo chồi tại vườn ươm của Bộ môn Công nghệ tế bào thực vật và trung tâm thực nghiệm chuyển giao giống cây rừng - Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Mẫu vật nuôi cấy là các đoạn chồi đỉnh sinh trưởng có kích thước 10 - 15 cm lấy từ cây vật liệu gốc đã được xử lý tạo chồi; rửa thô dưới vòi nước chảy; cọ rửa bằng xà phòng hoặc nước rửa chén; tráng rửa lại với nước cất vô trùng và cồn 70° trong vòng 30 giây - 1 phút; ngâm lactic trong thủy ngân clorua (HgCl₂ - 0,05% và 0,1%) với thời gian khử trùng 3, 5, 7, 9 phút và javen 3% trong khoảng thời gian 10, 15, 20, 25 phút. Mẫu nuôi cấy trong môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962) + 30g/l đường + 4,5 g/l agar (môi trường tái sinh chồi ban đầu). Các chồi hữu hiệu được nuôi cấy trong môi trường MS* có bổ sung riêng lẻ hay kết hợp giữa BAP (6 - benzylaminopurine) và GA₃ (Gibberellic acid) ở các nồng độ khác nhau: BAP (0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l và 2 mg/l); GA₃ (0,25 mg/l; 0,5 mg/l; 0,75 mg/l và 1 mg/l). Thí nghiệm ra rễ được nuôi cấy trong môi trường 1/2MS* có bổ sung IBA (Indol butyric acid) (1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l và 2,5 mg/l). Mẫu nuôi cấy trong môi trường được hấp khử trùng ở điều kiện áp suất 1,2 atm, nhiệt độ 121°C trong thời gian 20 phút và có

pH = 5,8; Chế độ nuôi mẫu được thực hiện với cường độ chiếu sáng 2.000 - 3.000 lux, thời gian chiếu sáng 10 giờ, nhiệt độ phòng nuôi cấy 25 ± 2°C và chu kỳ cấy chuyển 20 - 25 ngày. Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp, 30 mẫu/lặp. Các chỉ tiêu đo đếm số liệu như tỷ lệ nhiễm, tỷ lệ bất chồi hữu hiệu, số chồi/cụm, chiều dài chồi được thu thập và xử lý trên phần mềm Excel theo phương pháp phân tích thống kê toán học.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của loại hóa chất, nồng độ và thời gian khử trùng đến kết quả tạo mẫu sạch *in vitro*

Để hoàn thiện một quy trình nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô thì khâu vào mẫu là bước tạo mẫu nuôi cấy khởi đầu cho cả quá trình nuôi cấy. Phương pháp vô trùng mô cấy thông dụng nhất hiện nay là dùng các chất hóa học có hoạt tính diệt nấm, khuẩn. Hiệu lực diệt nấm, khuẩn của các chất này phụ thuộc vào thời gian xử lý, nồng độ và khả năng xâm nhập của chúng vào các kẽ ngách lỗ lổm trên bề mặt mô nuôi cấy.

Bảng 1. Kết quả khử trùng mẫu keo tam bội

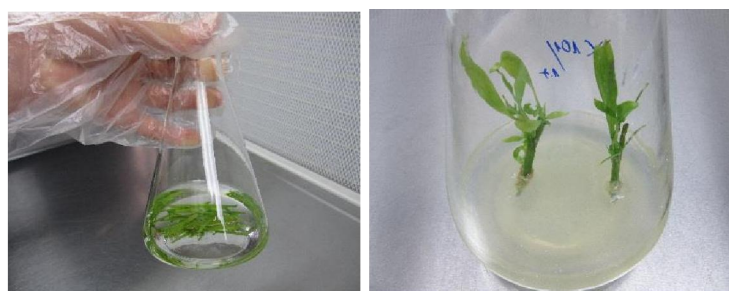
Dòng	Hóa chất	Thời gian (phút)	Dung lượng mẫu	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	TLNC HH (%)	
Keo tam bội	HgCl ₂ 0,05%	3	90	90,0	73,4	12,8	
		5	90	80,0	56,7	28,4	
		7	90	66,1	44,5	18,5	
		9	90	53,9	31,7	16,4	
	HgCl ₂ 0,1%	3	90	62,2	33,9	19,7	
		5	90	53,3	28,4	18,8	
		7	90	50,0	23,3	13,5	
		9	90	41,7	16,7	10,7	
	Javel 3%	10	90	92,8	82,2	7,8	
		15	90	83,9	69,5	12,6	
		20	90	70,6	56,1	18,2	
		25	90	56,2	47,3	10,9	
	F _{tính}				50,3	117,3	10,6
	F _(0,05, 11, 24)					2,72	
BV10	HgCl ₂ 0,05%	3	90	95,6	78,9	16,3	
		5	90	88,9	61,1	28,8	
		7	90	72,2	44,4	23,1	
		9	90	58,9	31,1	17	

Dùng	Hóa chất	Thời gian (phút)	Dung lượng mẫu	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	TLNC HH (%)	
	HgCl ₂ 0,1%	3	90	64,4	38,9	15,5	
		5	90	58,9	31,1	22,7	
		7	90	54,4	25,6	18,4	
		9	90	45,6	14,4	14,7	
	Javel 3%	10	90	94,4	82,2	8,2	
		15	90	84,4	65,6	14,5	
		20	90	70	52,2	22,2	
		25	90	57,8	37,8	17,4	
	F _{tính}				160,3	295	37,7
	F _(0,05,11,24)				2,2		

TLNCHH: Tỷ lệ này chồi hữu hiệu.

Kết quả phân tích thống kê cho thấy khi sử dụng HgCl₂ và Javen ở các nồng độ, thời gian khử trùng khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt tới tỷ lệ mẫu sống, tỷ lệ mẫu nhiễm và tỷ lệ mẫu bất chồi hữu hiệu (F_{tính} > F_{tra bảng}) (bảng 1).

Dùng HgCl₂ 0,05% trong thời gian 5 phút cho hiệu quả khử trùng cao nhất cho keo tam bội: Tỷ lệ mẫu sống (80%); tỷ lệ bất chồi hữu hiệu (28,4%) tương đương mẫu đối chứng BV10 (28,8%) (bảng 1).



(a) (b)

Hình 1. Khử trùng chồi X102 (a); Chồi X101 bật sau 25 ngày khử trùng (b)

Trong các kết quả nghiên cứu của Đoàn Thị Mai (2003, 2005, 2009, 2011) về nhân giống cho các giống keo lai và bạch đàn dùng HgCl₂ 0,1% trong thời gian 8 - 10 phút và Triệu Thị Thu Hà và đồng tác giả (2014) về nhân giống Keo lá tràm dùng HgCl₂ 0,1% trong 5 phút cho hiệu quả tốt nhất. Tuy nhiên, để lựa chọn loại hóa chất, nồng độ và thời gian thích hợp phụ thuộc vào nhiều yếu tố (loài, loại mẫu, vị trí lấy mẫu, thời gian lấy, kích thước mẫu...), ngay cả khi trong cùng loài, trên cùng một cây vật liệu thì việc lựa chọn cũng khác nhau bởi đối tượng khác nhau sẽ có phản ứng không giống nhau với các hóa chất khử trùng.

Trong danh mục hóa chất khử trùng bên cạnh thủy ngân clorua (HgCl₂) hay được dùng còn có Canxi hypochlorit (Ca(ClO)₂), Natri

hypochlorit - Javen (NaOCl), nước Brom, oxy già (H₂O₂)... Kết quả thí nghiệm cho thấy khi dùng javen 3% trong thời gian 20 phút cũng cho hiệu quả khá tốt: Tỷ lệ mẫu sống (70,6%); tỷ lệ bất chồi hữu hiệu (18,2%). Với mục tiêu để giảm bớt độc hại cho người dùng và cho môi trường thì việc dùng javen trong khử trùng được khuyến khích hơn là dùng HgCl₂ mặc dù hiệu quả kém hơn.

3.2. Ảnh hưởng của Cytokinin đến khả năng nhân chồi của keo tam bội

3.2.1. Ảnh hưởng của BAP (6 - benzylaminopurine) đến khả năng nhân chồi keo tam bội

Việc xác định được môi trường nuôi cấy thích hợp cho đối tượng nhân giống là việc làm cần thiết. Bên cạnh đó thì các công bố về môi trường nhân giống cho keo tam bội chưa có ở

Việt Nam. Kế thừa các kết quả nghiên cứu của Lê Đình Khả (2003) và Đoàn Thị Mai (2003, 2009, 2011) về nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô cho các giống keo lai và bạch

đàn. Sử dụng môi trường MS là môi trường tái sinh, môi trường MS*(môi trường cải tiến) là môi trường nhân nhanh có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng.

Bảng 2. Kết quả nhân chồi keo tam bội

Dòng	MS* +	Nồng độ (mg/l)	Dung lượng mẫu	Số chồi/cụm	TLCHH (%)	Chất lượng chồi
X101	Đ/c	0,0	90	2,4	35	+
	BAP	0,5	90	3,2	38,8	+
		1,0	90	4,9	45,2	+++
		1,5	90	4,2	42,5	++
		2,0	90	3,6	38	+
				$F_{tính}$	92,5	215,5
			$F_{(0.05, 4,145)}$	2,43		
X102	Đ/c	0,0	90	2,3	34,7	+
	BAP	0,5	90	3,5	38,3	+
		1,0	90	4,5	44,3	+++
		1,5	90	3,9	41,3	++
		2,0	90	3,5	39,1	+
				$F_{tính}$	75,6	134,4
			$F_{(0.05, 4,145)}$	2,43		
BV10	Đ/c	0,0	90	2,2	33,6	+
	BAP	0,5	90	3	36,7	+
		1,0	90	3,9	46,7	+++
		1,5	90	3,7	45,4	++
		2,0	90	3,6	43,8	+
				$F_{tính}$	112,1	25,4
			$F_{(0.05, 4,145)}$	2,43		

TLCHH: Tỷ lệ chồi hữu hiệu.

Kết quả phân tích thống kê ở bảng 2 cho thấy nồng độ BAP có ảnh hưởng khác nhau đến số chồi/cụm và tỷ lệ chồi hữu hiệu ($F_{tính} > F_{tra\ bảng}$).

Theo kết quả nghiên cứu của Đoàn Thị Mai & cộng sự (2003, 2005, 2009, 2011) về nhân giống *in vitro* cho các giống keo lai sử dụng môi trường nhân chồi: MS* + 1,5 - 2 mg/l BAP. Với

đôi tượng nghiên cứu là keo tam bội có khả năng sinh trưởng nhanh, chồi dễ khô nên môi trường MS* chỉ cần bổ sung 1 mg/l BAP đã cho hiệu quả sinh chồi, nhân chồi cao: Số chồi/cụm (4,5 - 4,9 chồi/cụm) gấp 1,2 lần so với BV10; tỷ lệ chồi hữu hiệu (44,3 - 45,2%) tương đương ĐC - BV10; chồi khỏe mạnh lá mở.



(c)



(d)

Hình 2. Chồi X101 và X102 trong môi trường nhân (c, d)

3.2.2. Ảnh hưởng của BAP (6 - benzylaminopurine) và GA₃ (Gibberellic acid) đến khả năng nhân nhanh chồi keo tam bội

Sự phối hợp giữa các Cytokinin trong môi trường nhân chồi với liều lượng và tỷ lệ hợp lý

có tác dụng kích thích các chồi phát triển hài hòa cả về số lượng và chất lượng chồi, tạo tiền đề tốt cho quá trình ra rễ.

Bảng 3. Kết quả nâng cao chất lượng chồi keo tam bội

Dòng	MS* +	Nồng độ (mg/l)	Dung lượng mẫu	Số chồi/cụm	TLCHH (%)	Chất lượng chồi
X101	Đ/c	0,0	90	4,9	45,2	++
	GA3	0,25	90	5,5	51,9	+++
		0,5	90	5,4	46,3	++
		0,75	90	5,1	44,3	++
		1	90	4,7	40,7	+
F _{tính}		9,9		140,3		
F _(0,05, 4,145)		2,43				
X102	Đ/c	0,0	90	4,5	44,3	++
	GA3	0,25	90	5,0	48,6	+++
		0,5	90	4,7	44,6	++
		0,75	90	4,3	41,2	+
		1	90	4,1	39	+
F _{tính}		18,7		117,7		
F _(0,05, 4,145)		2,43				
BV10	Đ/c	0,0	90	3,9	46,7	++
	GA3	0,25	90	4,3	52,3	+++
		0,5	90	4,5	50	++
		0,75	90	4,4	48,1	++
		1	90	4,2	47,5	++
F _{tính}		21		8,2		
F _(0,05, 4,145)		2,43				

Kết quả phân tích thống kê cho thấy sự kết hợp của BAP + GA₃ có ảnh hưởng khác nhau đến số chồi/cụm và tỷ lệ chồi hữu hiệu ($F_{tính} > F_{tra\ bảng}$) (bảng 3).

Môi trường MS* +1,0 mg/l BAP + 0,25 mg/l GA₃ cho hiệu quả tốt nhất: 5,0 - 5,5 (chồi/cụm) gấp 1,2 lần so với BV10, tỷ lệ chồi hữu hiệu (48,6 - 51,9%), chồi cứng cáp, lá xanh và mủ (bảng 3).

Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung thêm GA₃ vào môi trường nuôi cấy trong khi đã có mặt BAP với nồng độ thấp cho hiệu quả nhân chồi cao nhưng khi tăng nồng độ GA₃ lên thì số chồi/cụm và TLCHH lại giảm. Như vậy, với một số đối tượng khi bổ sung thêm

Cytokinin khác sẽ làm kìm hãm quá trình kích thích tạo chồi. Do nồng độ Cytokinin quá cao làm ức chế quá trình phát sinh và phát triển của chồi.

3.3 Ảnh hưởng của IBA đến tỷ lệ ra rễ keo tam bội

IBA là chất điều hòa sinh trưởng được sử dụng phổ biến trong nuôi cấy mô tế bào thực vật, có tác dụng lớn trong việc kích thích tạo rễ. Nó được sử dụng với nồng độ khác nhau tùy từng đối tượng. Nghiên cứu xác định ảnh hưởng của IBA tới hiệu quả ra rễ được tiến hành bằng việc bổ sung IBA với thang nồng độ khác nhau (0 mg/l (ĐC), 1 mg/l, 1,5 mg/l, 2 mg/l và 2,5 mg/l vào môi trường 1/2 MS*.

Bảng 4. Kết quả ra rễ của keo tam bội

Dòng	1/2 MS* +	Nồng độ (mg/l)	Dung lượng mẫu	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ TB (rễ/cây)	Chiều dài rễ TB (cm)
X101	Đ/c	0	90	31	1,6	0,8
	IBA	1	90	45	2,1	1,3
		1,5	90	60,3	2,9	1,6
		2	90	78,4	3,5	2,2
		2,5	90	67,4	3	1,7
		F _{tính}			451	180
	F _(0,05, 4,145)			2,43		
X102	Đ/c	0	90	30,1	1,7	0,8
	IBA	1	90	46,3	2,1	1,4
		1,5	90	62	2,8	1,6
		2	90	80,1	3,2	2,1
		2,5	90	73	2,5	1,7
		F _{tính}			496	151
	F _(0,05, 4,145)					
BV10	Đ/c	0	90	34	1,2	0,6
	IBA	1	90	51,1	1,8	1
		1,5	90	62,2	2,5	1,3
		2	90	86,7	3,4	1,7
		2,5	90	81	3,1	1,4
		F _{tính}			722,6	296,5
F _(0,05, 4,145)			2,43			

Phân tích thống kê cho thấy IBA có ảnh hưởng khác nhau đến tỷ lệ chồi ra rễ, chiều dài rễ và số rễ (F_{tính} > F_{tra bảng}) (bảng 4).

Môi trường 1/2MS* + 2 mg/l IBA cho hiệu quả ra rễ tốt nhất: Tỷ lệ chồi ra rễ 78,4 -

80,1%; số rễ trung bình từ 3,2 - 3,5 (rễ/cây); chiều dài rễ 2,1 - 2,2 cm. So với BV10 có tỷ lệ ra rễ cao hơn 1,1 lần so với keo tam bội song chiều dài rễ kém hơn, số rễ trung bình tương đương.



Hình 3. Chồi X101 ra rễ (20 ngày)

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy khi tăng nồng độ của IBA lên trong môi trường ra rễ thì hiệu quả ra rễ cũng tăng lên. Nhưng khi tăng vượt quá 2 mg/l thì hiệu quả ra rễ lại giảm đi rõ

rệt. Tỷ lệ chồi ra rễ giảm, phần tiếp xúc với môi trường ra rễ bị sùi nhiều nguyên nhân là do hàm lượng Auxin ngoại sinh cao có thể gây ức chế sự ra rễ, rễ sinh mảnh, ngắn và thâm đen.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy khi dùng $HgCl_2$ 0,05% trong thời gian 5 phút cho hiệu quả khử trùng cao nhất cho keo tam bội: Tỷ lệ mẫu sống trung bình (80%); tỷ lệ bật chồi hữu hiệu trung bình (28,4%). Khi khử trùng bằng javen 3% trong thời gian 20 phút cũng cho hiệu quả khá tốt: Tỷ lệ mẫu sống (70,6%); tỷ lệ bật chồi hữu hiệu (18,2%). Tuy hiệu quả khử trùng của Javen kém hơn $HgCl_2$ nhưng

do giảm thiểu được mức độ độc hại với người dùng và môi trường nên được khuyến cáo dùng thay thế. Môi trường MS* bổ sung 1 mg/l BAP + 0,25 mg/l GA_3 cho hiệu quả tốt nhất: 5,0 - 5,5 (chồi/cụm), tỷ lệ chồi hữu hiệu 48,6 - 51,9%, chồi cứng cáp, lá xanh và mỡ (bảng 3). Môi trường 1/2MS* + 2 mg/l IBA cho hiệu quả ra rễ tốt nhất: Tỷ lệ chồi ra rễ 78,4 - 80,1%; số rễ trung bình từ 3,2 - 3,5 rễ/cây; chiều dài rễ 2,1 - 2,2 cm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. 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.
2. Triệu Thị Hà, Cấn Thị Lan và Đông Thị Ứng, 2014. Nghiên cứu nhân giống Keo lá tràm (*Acacia auriculiformis* A. Cunn. Ex Benth) bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp, số 4, 3508 - 3515.
3. 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, tháng 11 năm 2003.
4. Đoàn Thị Mai, Lê Sơn, Lương Thị Hoan, Ngô Thị Minh Duyên, Nguyễn Thiên Hương, 2005. Nhân giống một số loài cây trồng rừng có năng suất, chất lượng cao bằng phương pháp nuôi cấy mô. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp.
5. Đoàn Thị Mai, Nguyễn Thị Mỹ Hương, Vũ Thị Ngọc, Trần Thanh Hương, Văn Thu Huyền, 2009a. Nuôi cấy một số giống keo lai mới chọn tạo. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp, số 2: trang 905 - 910.
6. 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.
7. Griffin A, Midgley S, Bush D, Cunningham P, Rinaudo A, 2011. Global uses of Australian acacias - recent trends and future prospects. Diversity and Distributions 17, 837 - 847.
8. Hai PH, Harwood C, Kha LD, Pinyopusarerk K, Thinh HH, 2008. Genetic gain from breeding *Acacia auriculiformis* in Vietnam. Journal of Tropical Forest Science 20, 313 - 327.
9. Phi Hong Hai, 2009. Genetic improvement of plantation - grown *Acacia auriculiformis* for sawn timber production. PhD Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

Email tác giả liên hệ: dongung.fuv@gmail.com

Ngày nhận bài: 19/11/2020

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 30/11/2020

Ngày duyệt đăng: 01/12/2020