

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG MỘT SỐ DÒNG BẠCH ĐÀN LAI MỚI (*Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus pellita*) UP223, UP171, UP164 BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY *IN VITRO*

Lê Thị Xuân Quỳnh¹, Khuát Thị Hải Ninh³, Cấn Thị Lan¹
Kiều Thị Hà¹, Hà Thị Lệ¹, Đỗ Hữu Sơn²

¹ Trung tâm Thực nghiệm và Chuyển giao giống cây rừng
- Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp

² Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp

³ Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhân giống các dòng bạch đàn lai mới (*Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus pellita*) UP223, UP171, UP164 bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* giúp đưa nhanh các giống mới được chọn tạo vào sản xuất. Kết quả nghiên cứu giai đoạn khử trùng tạo mẫu sạch *in vitro* và nhân nhanh chồi của ba dòng bạch đàn lai cho thấy: Khử trùng mẫu bằng dung dịch HgCl₂ 0,05% trong thời gian 6 phút cho tỷ lệ mẫu bật chồi hữu hiệu cao nhất với 3 dòng bạch đàn lai lần lượt là 32,6%; 34,4% và 31,2%; khử trùng mẫu bằng dung dịch javen 2,5% trong thời gian 8 phút cho tỷ lệ mẫu bật chồi hữu hiệu tương ứng là 20,4%; 21,1% và 19,5%. Hệ số nhân chồi (HSNC) cao nhất đạt được trong môi trường MS* + 0,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l Kinetin (dòng UP223 có hệ số nhân chồi là 2,84 lần và chiều cao chồi đạt 2,87 cm; dòng UP171 có các chỉ tiêu tương ứng 2,93 lần và 2,98 cm; dòng UP164 có các chỉ tiêu tương ứng là 2,77 lần và 2,75 cm). Môi trường ra rễ thích hợp cho dòng bạch đàn UP223 là 1/2 MS* + 30 g/l đường + 5,5 g/l Agar + 1,5 mg/l IBA + 0,75 mg/l ABT + 100 mg/l AC (than hoạt tính) cho tỷ lệ chồi ra rễ đạt 88,9% và số rễ trung bình /chồi là 3,88. Dòng UP171 và UP164 là 1/2 MS* + 30 g/l đường + 5,5 g/l Agar + 1,5 mg/l IBA + 0,5 mg/l ABT + 100 mg/l AC cho tỷ lệ chồi ra rễ là 90% và số rễ trung bình/chồi là 3,91. Thời gian huấn luyện cây mầm trước khi cho ra vườn ươm là 15 ngày với tỷ lệ cây sống đạt từ 85,6 - 88,9%, lượng tăng trưởng chiều cao từ 5,03 - 5,22 cm.

Từ khóa: Bạch đàn lai,
kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*

***In vitro* propagation techniques of new eucalyptus hybrid clones (*Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus pellita*) UP223, UP171 and UP164**

Keywords: Eucalyptus
hybrid, *in vitro* propagation
techniques

Study on propagating of new eucalyptus hybrid clones (*Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus pellita*) UP223, UP171 and UP164 by *in vitro* propagation techniques was investigated. The results have the potential to contribute to completing the process of selecting and creating new Eucalyptus hybrids. The results of the research on sterilization phase to produce *in vitro* clean samples and rapidly multiply shoots of three eucalyptus hybrid clones showed that: sterilization of samples with 0.05% HgCl₂ in 6 minutes provided the highest effective rate of shoots with all

eucalyptus lines. The effective budding of UP223, UP171 and UP164 were 32.6%; 34.4% and 31.2% respectively; while sample sterilization with 2.5% javen in 8 minutes achieved 20.4%; 21.1% and 19.5% respectively. Effective shoots were regenerated in modified Murashige and Skoog medium (MS*) supplemented in MS* + 0.5 mg/l BAP + 0.5 mg/l kinetin (shoot multiplier of UP223 was 2.84 while average shoot height was 2.87cm; these values for UP171 line were 2.93 and 2.98 cm, respectively. The shoot multiplier and average shoot height of UP164 line were 2.77 and 2.75 cm, respectively). The suitable rooting medium for UP223 line was 1/2 MS* + 30 g/l sugar + 5.5 g/l Agar + 1.5 mg/l IBA + 0.75 mg/l ABT + 100 mg/l AC (activated charcoal) to get the rooting rate of 88.9% and the number of roots/buds was 3.88. Medium for UP171 and UP164 lines were 1/2 MS* + 30 g/l sugar + 5.5 g/l Agar + 1.5 mg/l IBA + 0.5 mg/l ABT + 100 mg/l AC to have 90% rooting rate and number of roots/buds was 3.91. The nursering time was 15 days with the survival rate from 85.6 - 88.9%, the height growth reached 5.03 - 5.22 cm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bạch đàn là loài cây trồng rừng được ưa chuộng và đang được gây trồng với diện tích lớn ở nước ta. Đến tháng 6 năm 2018, tổng diện tích rừng trồng bạch đàn ở Việt Nam là 157.000 ha (Dự án FORMIS, 2018). Bạch đàn là cây mọc nhanh, chu kỳ kinh doanh ngắn, có khả năng sinh trưởng trên nhiều dạng lập địa khác nhau, thích hợp cho trồng rừng sản xuất nguyên liệu như: gỗ, ván dăm, gỗ trụ mỏ, gỗ xây dựng... Bạch đàn được trồng rộng rãi ở nhiều nơi trên thế giới. Nhiều giống bạch đàn được cải thiện cùng với kỹ thuật trồng rừng thâm canh cho năng suất cao. Trong những năm qua, Viện Nghiên cứu giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp đã chọn tạo được những tổ hợp lai UP (*Eucalyptus urophylla* × *E. pellita*), PU (*E. pellita* × *E. urophylla*) và được trồng khảo nghiệm tại một số lập địa chủ yếu ở nước ta. Trên hiện trường, nhiều tổ hợp lai UP đã biểu hiện được khả năng sinh trưởng tốt. Sức sống mạnh mẽ với tán lá khỏe mạnh trong điều kiện mùa đông lạnh, khô và chống chịu sâu bệnh tốt. Gần đây nhất là kết quả khảo nghiệm dòng vô tính trên hiện trường cho thấy: Các dòng bạch đàn lai UP223, UP171 và UP164 là những dòng triển vọng và cho năng suất cao

UP223: 32,5 m³/ha/năm; UP164: 33 m³/ha/năm; UP171: 29,3 m³/ha/năm, thích hợp cho trồng rừng cung cấp nguồn nguyên liệu trong cả nước.

Phương pháp nhân giống bằng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào giúp đưa nhanh các giống tốt đã được chọn tạo vào sản xuất. Hiện nay, có nhiều kết quả nghiên cứu về nhân giống bạch đàn nói chung và bạch đàn lai nói riêng bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào. Tuy nhiên, mỗi giống lại phản ứng với điều kiện nuôi cấy khác nhau nên cần nghiên cứu cho từng giống cụ thể. Đề tài “Nghiên cứu nhân giống các dòng bạch đàn lai mới (*Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus pellita*) UP223, UP171, UP164 bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào” nhằm hoàn thiện quy trình nuôi cấy và áp dụng vào sản xuất cây giống trên quy mô lớn đã được tiến hành.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các chồi bánh tẻ thu từ cây mẹ 1 - 1,5 tuổi (đã được trẻ hóa trước thời điểm lấy mẫu 2,5 tháng) của các dòng vô tính bạch đàn lai UP223; UP171 và UP164 trồng tại vườn ươm

của Trung tâm Thực nghiệm và Chuyển giao giống cây rừng - Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành theo các bước tạo mẫu sạch, tái sinh chồi, tạo cụm chồi và tạo cây con hoàn chỉnh. Mỗi công thức thí nghiệm được bố trí 3 lần lặp, mỗi lặp 30 mẫu. Môi trường cơ bản MS* + 30 g/l đường + 3,5 g/l Agar, pH môi trường nuôi cấy 5,8 (Kế thừa kết quả nghiên cứu của giai đoạn trước đối với bạch đàn lai của Đoàn Thị Mai, 2000 - 2011; Cán Thị Lan, 2012 - 2014)

Điều kiện thí nghiệm:

- + Nhiệt độ phòng nuôi 25 ± 2⁰C.
- + Các dụng cụ sử dụng và môi trường nuôi cấy được hấp khử trùng ở điều kiện áp suất 1,2 atm, nhiệt độ 120 - 130⁰C trong thời gian 20 - 40 phút.

2.2.1. Tạo mẫu sạch và nuôi cấy khởi động

Ảnh hưởng của thời gian xử lý bằng HgCl₂ 0,05% và javen 2,5% đến tỷ lệ mẫu sạch

- Các chồi bánh tẻ dài 10 -15 cm được thu thập trên cây mẹ đã được trẻ hóa trước thời điểm lấy mẫu 2,5 tháng. Làm sạch mẫu cây ngoài box: Các chồi được cắt bỏ lá (để lại cuống lá) rồi rửa mẫu dưới vòi nước chảy bằng chổi lông mềm, sau đó rửa mẫu bằng nước xà phòng loãng và làm sạch mẫu dưới vòi nước chảy. Trước khi đưa mẫu vào box cấy tráng lại bằng nước cất và cồn 70% trong khoảng 1 phút sau đó tráng lại nước cất hấp khử trùng 2 - 3 lần.
- Khử trùng trong box cấy: Mẫu cây được đựng trong bình scott, sau đó lắc mẫu trong dung dịch HgCl₂ 0,05% với thời gian là 2; 4; 6; 8 phút và javen 2,5% với thời gian khác nhau từ 4; 8; 12; 15 phút, sau đó dùng nước cất đã hấp khử trùng tráng mẫu 3 - 5 lần.
- Nuôi cấy khởi động: Dùng panh và dao cắt chồi thành các đoạn dài 2 - 3 cm, có ít nhất 1

mắt ngủ rời cấy vào môi trường tái sinh chồi ban đầu là MS*.

Các chỉ tiêu theo dõi gồm: Số mẫu nảy chồi hữu hiệu sau 30 ngày vào mẫu.

2.2.2. Phương pháp nhân nhanh chồi

- Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân nhanh chồi

Các chồi hữu hiệu được cấy chuyển trong môi trường MS* có bổ sung BAP (6 - benzylaminopurine) ở các nồng độ: 0,25 mg/l; 0,5 mg/l; 0,75 mg/l và 1 mg/l.

- Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP và Kinetin đến khả năng tạo cụm chồi.

Tìm được nồng độ BAP thích hợp nhất (ở thí nghiệm 2) tiến hành bổ sung Kinetin ở các mức nồng độ: 0,25 mg/l; 0,5 mg/l; 0,75 mg/l và 1 mg/l.

Giai đoạn nhân nhanh chồi nuôi trong điều kiện chiếu sáng 10 h/ngày với cường độ chiếu sáng 2000 lux trong thời gian 1/4 chu kỳ nuôi, sau đó chuyển sang điều kiện tối hoàn toàn (dùng vải đen để che sáng) trong thời gian 1/2 chu kỳ nuôi tiếp theo và cuối cùng chuyển sang điều kiện chiếu sáng 10 h/ngày với cường độ chiếu sáng 2000 lux trong thời gian 1/4 chu kỳ nuôi còn lại.

Các chỉ tiêu theo dõi gồm: Hệ số nhân chồi, chiều dài chồi và chất lượng chồi sau 20 ngày nuôi cấy

2.2.3. Phương pháp tạo cây hoàn chỉnh

Các chồi có chiều cao từ 2 cm trở lên, có thân, lá ngọn rõ ràng và nhiều hơn 2 cặp lá sẽ được cấy chuyển sang môi trường ra rễ 1/2 MS* có bổ sung riêng rẽ IBA (Indol butyric acid) (1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l và 2,5 mg/l).

Sau khi xác định được hàm lượng IBA thích hợp tiến hành bổ sung ABT được phối hợp bởi Indol Acetic Acid (IAA) và axit naphthaleneacetic (NAA) ở các nồng độ 0,25 mg/l - 1 mg/l.

Sau đó từ môi trường ra rễ thích hợp bổ sung than hoạt tính với hàm lượng khác nhau từ 50 mg/l - 200 mg/l.

Các chỉ tiêu được xác định gồm: Số cây ra rễ, số rễ/cây và chiều dài rễ sau 20 ngày nuôi cấy.

2.2.4. Phương pháp huấn luyện cây mô

Cây mô có rễ hoàn chỉnh trong bình được huấn luyện dưới ánh sáng tán xạ trong thời gian khác nhau 5, 10, 15 và 20 ngày. Sau đó cây mô được lấy ra khỏi bình và dùng nước rửa sạch thạch bám ở rễ rồi cấy vào bầu đất ngoài vườn ươm (thành phần bầu đất gồm 70% đất đồi + 20% than trấu + 10% phân chuồng hoai đậy là loại giá thể phổ biến được sử dụng để trồng các giống cây mô bạch đàn).

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ cây sống (%) và lượng tăng trưởng chiều cao (cm).

Thời gian thu thập số liệu: 45 ngày kể từ khi cấy cây mô ra bầu đất.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp, 30 mẫu/lặp.

So sánh giữa các công thức thí nghiệm về tỷ lệ nảy chồi hữu hiệu, tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi, tỷ lệ chồi ra rễ bằng tiêu chuẩn Khi bình phương (χ^2), đồng thời tìm công thức tốt nhất bằng tiêu chuẩn U (so sánh 2 mẫu về chất). So sánh giữa các công thức thí nghiệm về hệ số nhân chồi, chiều dài chồi, chiều dài rễ, số lượng rễ/cây và lượng tăng trưởng chiều cao bằng phân tích phương sai một nhân tố, tìm công thức tốt nhất bằng tiêu chuẩn Duncan.

Số liệu đã thu thập được xử lý bằng phần mềm SPSS (Nguyễn Hải Tuất và Nguyễn Trọng Bình, 2005) và phần mềm Excel.

2.4. Địa điểm nghiên cứu

Địa điểm nghiên cứu: Phòng nuôi cấy mô - Trung tâm Thực nghiệm và Chuyển giao giống cây rừng - Viện nghiên cứu Giống và CNSH Lâm nghiệp.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định chế độ khử trùng thích hợp cho các dòng bạch đàn lai

Phương pháp vô trùng mô cây 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. HgCl₂ nồng độ 0,05% và javen 2,5% đã được sử dụng để khử trùng mẫu với các thời gian khác nhau. Kết quả được thể hiện ở bảng 1 và hình 1.

Bảng 1. Kết quả khử trùng mẫu cho ba dòng bạch đàn lai (sau 30 ngày vào mẫu)

TT	Loại hóa chất	Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu nảy chồi hữu hiệu (%)		
			UP223	UP171	UP164
1	HgCl ₂ 0,05%	2	8,9	10,0	7,8
2		4	17,4	18,6	16,2
3		6	32,6	34,4	31,1
4		8	21,8	22,5	20,0
Sig.			0,001	0,001	0,001
5	javen 2,5%	4	6,7	7,8	5,6
6		8	20,4	21,1	19,5
7		12	15,6	16,7	14,4
8		15	11,1	12,2	10,0
Sig.			0,033	0,032	0,024

Kết quả kiểm tra thống kê bằng tiêu chuẩn χ^2 về chỉ tiêu tỷ lệ mẫu nảy chồi hữu hiệu đối với ba dòng bạch đàn khi khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,05% và javen 2,5% trong các thời gian khác nhau đều có Sig. < 0,05. Điều đó chứng tỏ công thức khử trùng khác nhau đã có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng tạo mẫu nảy chồi của ba dòng bạch đàn lai.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, đối với ba dòng bạch đàn nghiên cứu thì HgCl₂ 0,05% cho hiệu quả khử trùng cao hơn javen 2,5% (sử dụng tiêu chuẩn U để so sánh). Khử trùng mẫu bằng

HgCl₂ 0,05% trong thời gian 6 phút cho tỷ lệ mẫu sạch nảy chồi hữu hiệu cao nhất: UP223 đạt 32,6%; UP171 đạt 34,4% và UP164 đạt 31,2%; kết quả khử trùng mẫu bằng javen 2,5% trong 8 phút có tỷ lệ mẫu nảy chồi hữu hiệu cho ba dòng bạch đàn lai tương ứng 20,4%; 21,1% và 19,5%.

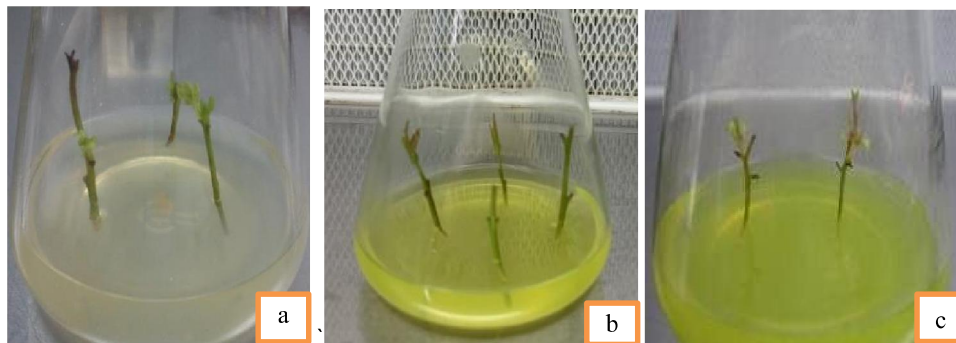
Các kết quả nghiên cứu trước đây đối với dòng bạch đàn lai UP35, UP58, UP59, UP72 và UP99 khử trùng bằng HgCl₂ 0,05% trong thời gian 7 phút cho kết quả mẫu nảy chồi hữu hiệu là cao nhất (Cần Thị Lan, 2014). Đối với dòng bạch đàn lai UE35 khử trùng bằng cách ngâm mẫu vật trong HgCl₂ 0,1% có thêm 1 - 2 giọt

Tween 20 trong vòng 8 - 10 phút cho hiệu quả khử trùng cao nhất, (Đoàn Thị Mai, 2011). Như vậy các đối tượng khác nhau sẽ có phản ứng không giống nhau với các hóa chất khử trùng. Và để lựa chọn loại hóa chất, nồng độ và thời gian thích hợp phụ thuộc vào nhiều yếu tố như loài, loại mẫu, vị trí lấy mẫu, thời gian lấy, kích thước mẫu.

Hiện nay, nếu sản xuất cây giống trên quy mô công nghiệp khuyến khích khử trùng mẫu bằng javen thay cho thủy ngân giảm độc hại cho nhân viên vào mẫu cũng như chất thải độc ra môi trường.



Chồi bạch đàn lai sau khi khử trùng



Hình 1. Chồi vào mẫu và mẫu sạch nảy chồi các dòng bạch đàn lai sau 30 ngày nuôi cấy (hình a dòng UP223, hình b dòng UP171, hình c dòng UP164)

3.2. Xác định môi trường nhân chồi cho ba dòng bạch đàn nghiên cứu

Môi trường nuôi cấy mô bổ sung cytokinin có tác dụng kích thích tạo chồi. Trong đó BAP và

Kinetin là những cytokinin có hoạt tính sinh học cao nên thường được sử dụng để thúc đẩy sự phân chia tế bào và phát triển chồi của các mô nuôi cấy.

3.2.1. Ảnh hưởng BAP đến khả năng nhân chồi của ba dòng bạch đàn lai

Thí nghiệm xác định ảnh hưởng riêng rẽ của BAP ở các nồng độ khác nhau (0,25 mg/l;

0,5 mg/l; 0,75 mg/l; 1 mg/l) được bổ sung vào môi trường cơ bản MS* với các chỉ tiêu theo dõi là hệ số nhân chồi, chiều dài chồi và chất lượng chồi. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân chồi của ba dòng bạch đàn lai (sau 20 ngày nuôi cấy)

Đối tượng	Công thức	Nồng độ BAP (mg/l)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều dài trung bình chồi (cm)	Chất lượng chồi
UP223	CT1	0,25	1,59 ± 0,04 ^c	1,79 ± 0,18 ^d	+
	CT2	0,50	2,44 ± 0,05 ^a	2,58 ± 0,35 ^a	+++
	CT3	0,75	2,06 ± 0,32 ^b	2,25 ± 0,47 ^b	++
	CT4	1,00	1,58 ± 0,47 ^c	1,95 ± 0,48 ^c	+
Sig.			0,0001	0,0001	
UP171	CT1	0,25	1,53 ± 0,41 ^d	1,75 ± 0,35 ^c	+
	CT2	0,50	2,33 ± 0,35 ^a	2,32 ± 0,38 ^a	+++
	CT3	0,75	2,07 ± 0,32 ^b	2,04 ± 0,31 ^b	++
	CT4	1,00	1,79 ± 0,35 ^c	2,23 ± 0,17 ^a	+
Sig.			0,0001	0,0001	
UP164	CT1	0,25	1,66 ± 0,31 ^c	1,89 ± 0,18 ^d	+
	CT2	0,50	2,41 ± 0,24 ^a	2,49 ± 0,24 ^a	+++
	CT3	0,75	2,15 ± 0,18 ^b	2,20 ± 0,27 ^b	++
	CT4	1,00	1,67 ± 0,52 ^c	2,01 ± 0,18 ^c	+
Sig.			0,0001	0,0001	

(Các số liệu được theo sau bởi các ký tự khác nhau chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% (tiêu chuẩn Duncan) và được sử dụng cho các bảng tiếp theo)

Ghi chú: (+) Màu sắc chồi kém xanh, thân chồi rất mảnh, thân phân lông kém;

(++) Màu sắc chồi xanh, thân chồi mảnh, thân phân lông rõ ràng;

(+++) Màu sắc chồi tươi xanh, chồi mập, thân phân lông rõ ràng.

Qua kết quả phân tích phương sai một nhân tố về chỉ tiêu hệ số nhân chồi và chiều dài chồi đều có Sig. = 0,0001 < 0,05. Điều đó chứng tỏ nồng độ BAP khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến hệ số nhân chồi và chiều dài chồi của ba dòng bạch đàn.

Khi sử dụng hàm lượng BAP là 0,25 mg/l trong giai đoạn nhân chồi cho hệ số nhân chồi thấp (1,53 lần đối với dòng UP171, 1,59 lần với UP223 và 1,66 lần với UP164), cây sinh trưởng kém và chiều cao cây thấp. Bổ sung 0,5 mg/l BAP vào môi trường nuôi cấy hiệu quả nhân chồi tốt nhất với cả ba dòng bạch đàn nghiên cứu (dòng UP223: Hệ số nhân chồi là 2,44 lần và chiều dài chồi trung bình là 2,58 cm, dòng UP171 tương ứng 2,33 lần và 2,32 cm, dòng

UP164 tương ứng 2,41 lần và 2,49 cm) (hình 2). Khi tăng hàm lượng BAP lên 0,75 mg/l cho hệ số nhân chồi giảm hơn so với môi trường bổ sung 0,5 mg/l BAP nhưng cũng tương đối tốt (hệ số nhân chồi đều trên 2 lần) và chồi sinh trưởng ở mức độ trung bình. Khi tăng hàm lượng BAP lên 1 mg/l thì hệ số nhân chồi của các dòng bạch đàn lai giảm xuống rõ rệt (UP223 hệ số nhân chồi giảm xuống chỉ còn 1,58 lần; UP171 hệ số nhân chồi là 1,79 và UP164 hệ số nhân chồi là 1,67 lần) cụm chồi nhỏ, chồi phát triển kiểu mảnh, chồi hình thành không rõ rệt về thân, lá; nhiều chồi cây hình thành khối mô sẹo to ở gốc. Sử dụng nồng độ BAP cao sẽ gây ức chế sinh trưởng và phát triển của chồi.

Bảng kết quả 2 cho thấy, với cả ba dòng bạch đàn lai khi bổ sung 0,5 mg/l BAP vào môi trường nhân chồi cho hệ số nhân chồi và chiều dài chồi là tốt nhất. Một số nghiên cứu trước đây về giai đoạn nhân nhanh chồi cũng chỉ ra rằng khi bổ sung BAP vào môi trường có hiệu quả rõ rệt với giai đoạn nhân chồi, như dòng bạch đàn lai UE35 bổ sung 1 mg/l BAP cho hiệu quả nhân chồi cao nhất (hệ số nhân chồi

đạt 2,16 lần - Đoàn Thị Mai, 2011) hay các dòng bạch đàn lai UP35, UP58, UP59, UP72, UP99 sử dụng BAP ở nồng độ 1 - 1,5 mg/l cho hiệu quả nhân chồi tốt nhất (hệ số nhân chồi trung bình đạt 3,13 lần - Cán Thị Lan, 2014). Như vậy các dòng bạch đàn lai khác nhau sẽ cho phản ứng khác nhau với môi trường có bổ sung BAP.



Hình 2. Cụm chồi các dòng bạch đàn lai trong môi trường MS* + 0,5 mg/l BAP sau 20 ngày nuôi cấy (hình a dòng UP223, hình b dòng UP171, hình c dòng UP164)

3.2.2. Ảnh hưởng phối hợp của BAP + Kinetin (Kn) đến khả năng nhân chồi của ba dòng bạch đàn lai

Sự có mặt của Kinetin trong môi trường nuôi cấy thường có tác dụng kích thích quá trình tổng hợp diệp lục (Trần Văn Minh, 1998); bên cạnh đó, khi sử dụng tổ hợp BAP + Kn có tác dụng làm giảm quá trình lão hóa của chồi, kích thích các chồi phát triển đồng đều về cả số lượng và chất lượng chồi.

Môi trường MS* + 0,5 mg/l BAP (kết quả tốt nhất từ thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP) có bổ sung Kn ở các nồng độ 0,25 mg/l; 0,5 mg/l; 0,75 mg/l và 1 mg/l để tiếp tục nghiên cứu ảnh hưởng của phối hợp BAP và Kn đến khả năng nhân chồi. Kết quả được trình bày ở bảng 3 và hình 3.

Qua kết quả phân tích phương sai một nhân tố về ảnh hưởng phối hợp của BAP + Kn đến hệ số nhân chồi và chiều dài chồi của các dòng bạch

đàn lai đều có kết quả Sig. = 0,0001 < 0,05. Điều đó chứng tỏ hàm lượng Kn khác nhau sẽ ảnh hưởng khác nhau đến hệ số nhân chồi và chiều dài chồi của ba dòng bạch đàn lai.

Từ bảng kết quả 3 cho thấy, đối với ba dòng bạch đàn thì khi sử dụng phối hợp môi trường 0,5 mg/l BAP bổ sung 0,5 mg/l Kn cho kết quả hệ số nhân chồi và chiều dài chồi là cao nhất (dòng UP223 có HSNC là 2,83 lần và chiều dài chồi trung bình là 2,87cm; dòng UP171 có HSNC là 2,93 là chiều dài chồi trung bình là 2,98 cm; dòng UP164 có HSNC là 2,77 và chiều dài chồi trung bình là 2,75 cm). Bổ sung Kinetin ở nồng độ này không những tăng hệ số nhân chồi, tăng chiều dài chồi mà chồi mới hình thành phát triển đồng đều, lá mở hơn là tiền đề cho giai đoạn tạo rễ. Khi bổ sung Kinetin ở nồng độ thấp thì chưa làm thay đổi hiệu quả nhân chồi song khi tăng nồng độ Kinetin lên cao thì hiệu quả nhân chồi lại giảm. Như vậy, khi bổ sung hàm lượng Kinetin

ở mức độ thích hợp thì giúp tăng hiệu quả nhân chồi, tạo cụm chồi to khỏe, thân chồi mập song nếu bổ sung với nồng độ thấp hoặc quá cao thì không những không làm tăng hiệu quả nhân chồi mà thậm chí còn làm cho hệ số nhân chồi ở những vòng sau bị giảm, chồi mới hình thành nhỏ và yếu.

Bảng 3. Ảnh hưởng phối hợp của 0,5 mg/l BAP+ Kn đến khả năng nhân nhanh chồi của ba dòng bạch đàn lai (sau 20 ngày nuôi cấy)

Đối tượng	Công thức	Nồng độ Kinetin (mg/l)	Hệ số nhân chồi	Chiều dài trung bình chồi (cm)	Chất lượng chồi
UP223	CT5	0,25	2,46 ± 0,03 ^c	2,48 ± 0,03 ^b	++
	CT6	0,50	2,84 ± 0,01 ^a	2,87 ± 0,05 ^a	+++
	CT7	0,75	2,55 ± 0,2 ^b	2,39 ± 0,03 ^c	++
	CT8	1,00	2,42 ± 0,03 ^c	2,30 ± 0,01 ^c	+
Sig.			0,0001	0,0001	
UP171	CT5	0,25	2,47 ± 0,02 ^c	2,43 ± 0,04 ^c	++
	CT6	0,50	2,93 ± 0,03 ^a	2,98 ± 0,02 ^a	+++
	CT7	0,75	2,63 ± 0,03 ^b	2,58 ± 0,03 ^b	++
	CT8	1,00	2,47 ± 0,02 ^c	2,42 ± 0,02 ^c	+
Sig.			0,0001	0,0001	
UP164	CT5	0,25	2,51 ± 0,02 ^c	2,42 ± 0,02 ^c	++
	CT6	0,50	2,77 ± 0,02 ^a	2,75 ± 0,03 ^a	+++
	CT7	0,75	2,62 ± 0,02 ^b	2,53 ± 0,04 ^b	++
	CT8	1,00	2,49 ± 0,02 ^c	2,46 ± 0,03 ^c	+
Sig.			0,0001	0,0001	

Ghi chú: (+) Màu sắc chồi kém xanh, thân chồi rất mảnh, thân phân lỏng kém;
 (++) Màu sắc chồi xanh, thân chồi mảnh, thân phân lỏng rõ ràng;
 (+++) Màu sắc chồi tươi xanh, chồi mập, thân phân lỏng rõ ràng.



Hình 3. Cụm chồi các dòng bạch đàn lai trong môi trường MS* + 0,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l Kn sau 20 ngày nuôi cấy (hình a dòng UP223, hình b dòng UP171, hình c dòng UP164)

3.3. Xác định môi trường ra rễ cho ba dòng bạch đàn lai

Tạo cây ra rễ là giai đoạn cuối cùng của quá trình vi nhân giống với mục đích để tạo cây con hoàn chỉnh với yêu cầu cây khỏe mạnh, có bộ rễ cứng cáp để có thể sinh trưởng và phát triển tốt khi đưa ra ngoài vườn ươm hoặc vườn sản xuất.

3.3.1. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ của ba dòng bạch đàn lai

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. Thí nghiệm xác định ảnh hưởng của IBA tới hiệu quả ra rễ sẽ được tiến hành với các nồng độ: 1 mg/l; 1,5 mg/l; 2 mg/l và 2,5 mg/l và công thức đối chứng (ĐC) là không sử dụng IBA, được bổ sung vào môi trường 1/2 MS* + 5,5 g/l agar.

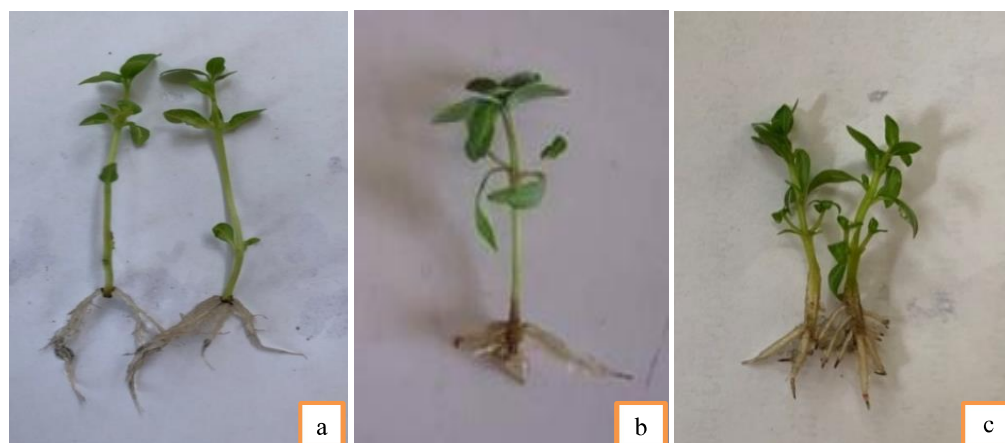
Bảng 4. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ của ba dòng bạch đàn (sau 20 ngày cấy)

Đối tượng	Công thức	Nồng độ IBA (mg/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ/chồi (cái)	Chiều dài TB của rễ (cm)
UP223	ĐC	0,0	26,7	1,54 ± 0,07 ^c	0,4 ± 0,02 ^o
	CT9	1,0	45,6	2,05 ± 0,04 ^b	0,65 ± 0,02 ^d
	CT10	1,5	65,6	2,52 ± 0,02 ^a	1,27 ± 0,02 ^a
	CT11	2,0	53,3	2,12 ± 0,02 ^b	1,09 ± 0,02 ^b
	CT12	2,5	44,4	2,01 ± 0,02 ^b	0,96 ± 0,03 ^c
Sig.			0,0001	0,0001	0,0001
UP171	ĐC	0,0	24,4	1,19 ± 0,02 ^d	0,55 ± 0,02 ^c
	CT9	1,0	47,8	2,01 ± 0,02 ^c	0,83 ± 0,03 ^b
	CT10	1,5	66,7	2,62 ± 0,02 ^b	1,49 ± 0,02 ^b
	CT11	2,0	52,2	2,20 ± 0,03 ^a	1,16 ± 0,02 ^a
	CT12	2,5	43,3	2,00 ± 0,01 ^b	0,98 ± 0,02 ^b
Sig.			0,0001	0,0001	0,0001
UP164	ĐC	0	24,4	1,17 ± 0,03 ^d	0,52 ± 0,02 ^c
	CT9	1,0	48,9	1,93 ± 0,03 ^c	0,83 ± 0,03 ^b
	CT10	1,5	67,8	2,50 ± 0,03 ^b	1,44 ± 0,01 ^b
	CT11	2,0	51,1	2,23 ± 0,02 ^a	1,12 ± 0,03 ^a
	CT12	2,5	44,4	2,04 ± 0,01 ^b	1,06 ± 0,04 ^b
Sig.			0,0001	0,0001	0,0001

Qua kết quả phân tích thống kê về ảnh hưởng của nồng độ IBA đến tỷ lệ ra rễ, số rễ và chiều dài rễ của ba dòng bạch đàn nghiên cứu đều có kết quả Sig. = 0,0001 < 0,05. Điều đó chứng tỏ nồng độ IBA khác nhau ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng ra rễ đối với cả ba dòng bạch đàn.

Từ bảng kết quả 4 cho thấy nồng độ 1,5 mg/l IBA cho hiệu quả ra rễ tốt nhất đối với cả ba dòng bạch đàn nghiên cứu, dòng UP223 có tỷ lệ chồi ra rễ (65,43%) gấp 2,5 lần so với ĐC

và số rễ trung bình (đạt 2,52/cây) cao gấp 1,6 lần so với công thức ĐC; dòng UP171 tỷ lệ chồi ra rễ (67,17%) gấp 2,7 lần ĐC và số rễ trung bình (2,62) gấp 2,2 lần ĐC; UP164 có tỷ lệ chồi ra rễ là 68,23% cao gấp gần 3 lần so với ĐC và số rễ trung bình (đạt 2,5 rễ/chồi) cao gấp 2,1 lần ĐC, rễ hình thành trong môi trường này có bộ rễ dạng chùm, có hệ lông hút phát triển, tuy nhiên nhiều chồi có hiện tượng sùi và thâm đen ở gốc, không ra được rễ.



Hình 4. Cây con hoàn chỉnh các dòng bạch đàn lai sau 20 ngày nuôi cấy trong môi trường 1/2 MS* + 1,5 mg/l IBA (hình a dòng UP223, hình b dòng UP171, hình c dòng UP164)

3.3.2. Ảnh hưởng phối hợp của IBA và ABT đến hiệu quả ra rễ của ba dòng bạch đàn lai

Từ kết quả ở trên cho thấy, khi sử dụng riêng rẽ IBA vào môi trường ra rễ cho ba dòng bạch đàn lai thì tỷ lệ ra rễ chỉ đạt được 62 -

65%. Tiếp tục sử dụng môi trường 1/2MS* + 1,5 mg/l IBA được xác định ở trên, bổ sung ABT ở các nồng độ 0,25 mg/l-1 mg/l để nâng cao hiệu quả ra rễ. Kết quả được thể hiện ở bảng 5 và hình 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng phối hợp của 1,5 mg/l IBA + ABT đến hiệu quả ra rễ của ba dòng bạch đàn lai UP (sau 20 ngày nuôi cấy)

Tên dòng bạch đàn	Công thức	1,5 mg/l IBA +... ABT (mg/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ/chồi (cái)	Chiều dài trung bình của rễ (cm)
UP223	ĐC	0	66,7	2,49 ± 0,02 ^c	1,35 ± 0,02 ^c
	CT13	0,25	71,1	2,55 ± 0,04 ^c	1,47 ± 0,01 ^b
	CT14	0,5	76,7	2,76 ± 0,02 ^b	1,52 ± 0,02 ^b
	CT15	0,75	82,2	3,14 ± 0,03 ^a	1,67 ± 0,02 ^a
	CT16	1	70,0	2,72 ± 0,02 ^b	1,47 ± 0,03 ^b
Sig.			0,140	0,0001	0,0001
UP171	ĐC	0	66,7	2,56 ± 0,02 ^c	1,49 ± 0,02 ^c
	CT13	0,25	72,2	2,71 ± 0,02 ^b	1,54 ± 0,01 ^b
	CT14	0,5	84,4	3,03 ± 0,02 ^a	1,68 ± 0,02 ^a
	CT15	0,75	76,7	2,75 ± 0,02 ^b	1,53 ± 0,02 ^b
	CT16	1	68,9	2,69 ± 0,01 ^b	1,56 ± 0,01 ^b
Sig.			0,055	0,0001	0,0001
UP164	ĐC	0	65,6	2,53 ± 0,01 ^d	1,45 ± 0,02 ^c
	CT13	0,25	73,3	2,67 ± 0,01 ^c	1,55 ± 0,02 ^b
	CT14	0,5	83,3	3,04 ± 0,01 ^a	1,70 ± 0,01 ^a
	CT15	0,75	77,8	2,79 ± 0,04 ^b	1,58 ± 0,01 ^b
	CT16	1	70,0	2,51 ± 0,02 ^d	1,53 ± 0,02 ^b
Sig.			0,065	0,0001	0,0001

Qua kết quả phân tích thống kê bằng tiêu chuẩn Khi bình phương cho thấy khi kết hợp ABT vào môi trường ra rễ có IBA chưa có sự sai khác về tỷ lệ ra rễ (có kết quả Sig. > 0,05) song kết quả phân tích phương sai một nhân tố chứng tỏ ABT có ảnh hưởng rõ rệt đến đến số rễ/chồi và chiều dài rễ (có Sig. < 0,05) của ba dòng bạch đàn lai UP223, UP164, UP171.

Bảng kết quả 5 cho thấy, dòng bạch đàn UP223 bổ sung ABT ở nồng độ 0,75 mg/l cho hiệu quả ra rễ tốt nhất (tỷ lệ ra rễ đạt 82,2% và số rễ TB là 3,24 rễ); với 2 dòng bạch đàn UP171 và UP164 bổ sung 0,5 mg/l ABT vào

môi trường ra rễ cho hiệu quả ra rễ tốt nhất (tỷ lệ ra rễ lần lượt đạt 84,4% và 83,3%, số rễ trung bình khoảng 3 rễ/chồi); ở môi trường này cho hệ rễ phát triển đồng đều, rễ trắng nhưng bên cạnh đó một số chồi vẫn còn hiện tượng sùi góc rồi mới bắn rễ.

Kết quả trên cũng tương tự kết quả nghiên cứu cho dòng bạch đàn lai UE35 khi bổ sung kết hợp 2 mg/l IBA và 0,5 mg/l ABT cho tỷ lệ ra rễ đạt trên 90%, (Đoàn Thị Mai, 2011), nên việc bổ sung kết hợp IBA và ABT nâng cao hiệu quả ra rễ của các dòng bạch đàn lai.



Hình 5. Cây ra rễ hoàn chỉnh các dòng bạch đàn lai UP223 (hình a) trong môi trường 1/2 MS* + 1,5 mg/l IBA + 0,75 mg/l ABT và dòng bạch đàn lai UP171 (hình b) và UP164 (hình c) trong môi trường 1/2 MS* + 1,5 mg/l IBA + 0,5 mg/l ABT sau 20 ngày nuôi cấy

3.3.3. Ảnh hưởng của than hoạt tính đến hiệu quả ra rễ của ba dòng bạch đàn lai nghiên cứu

Than hoạt tính (Activated charcoal - AC) được bổ sung vào môi trường nuôi cấy để tăng cường sự sinh trưởng và phát triển của cây nuôi cấy *in vitro*. Than hoạt tính đóng vai trò rất quan trọng trong việc hút độc cho cây, giúp tăng năng suất và giảm thiểu nhiễm mẫu. Do ba dòng bạch đàn lai được nghiên cứu có hình thái thân mập, nhiều nước thì việc bổ sung than hoạt tính ở giai đoạn tạo rễ còn giúp giảm tình trạng mất nước của cây, giúp cây khỏe và

đeo dai hơn. Sử dụng công thức ra rễ tốt nhất (1/2 MS* + 1,5 mg/l BAP + 0,75 mg/l ABT đối với dòng UP223 và 1/2 MS* + 1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l ABT đối với dòng UP171 và UP164 có bổ sung than hoạt tính ở nồng độ khác nhau, kết quả của thí nghiệm được thể hiện ở bảng 6.

Kết quả phân tích thống kê cho thấy, than hoạt tính chưa có ảnh hưởng đến tỷ lệ ra rễ (Sig. > 0,05) nhưng than hoạt tính lại có ảnh hưởng rõ rệt đến số rễ/ chồi và chiều dài rễ (Sig. < 0,05) của ba dòng bạch đàn lai nghiên cứu.

Bảng 6. Ảnh hưởng của than hoạt tính đến hiệu quả ra rễ của ba dòng bạch đàn (sau 20 ngày nuôi cấy)

Đối tượng	Công thức	$\frac{1}{2}$ MS* + ...AC (mg/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ/chồi (cái)	Chiều dài trung bình của rễ (cm)
UP223	ĐC	0	82,2	3,37 ± 0,03 ^c	1,67 ± 0,02 ^a
	CT17	50	85,6	3,54 ± 0,03 ^b	1,56 ± 0,01 ^b
	CT18	100	88,9	3,88 ± 0,03 ^a	1,56 ± 0,01 ^b
	CT19	150	85,6	3,41 ± 0,02 ^c	1,50 ± 0,01 ^c
	CT20	200	76,7	3,21 ± 0,06 ^d	1,45 ± 0,02 ^d
Sig.			0,226	0,0001	0,0001
UP171	ĐC	0	83,3	3,08 ± 0,03 ^c	1,65 ± 0,02 ^a
	CT17	50	86,7	3,42 ± 0,02 ^b	1,55 ± 0,02 ^b
	CT18	100	90,0	3,91 ± 0,02 ^a	1,49 ± 0,02 ^c
	CT19	150	84,1	3,38 ± 0,02 ^b	1,48 ± 0,02 ^c
	CT20	200	75,6	3,11 ± 0,02 ^c	1,48 ± 0,02 ^c
Sig.			0,105	0,0001	0,0001
UP164	ĐC	0	81,1	3,04 ± 0,04 ^d	1,66 ± 0,01 ^a
	CT17	50	86,7	3,45 ± 0,02 ^b	1,48 ± 0,03 ^b
	CT18	100	91,1	3,91 ± 0,03 ^a	1,51 ± 0,02 ^b
	CT19	150	83,3	3,34 ± 0,04 ^c	1,48 ± 0,03 ^b
	CT20	200	76,7	3,11 ± 0,02 ^d	1,49 ± 0,02 ^b
Sig.			0,094	0,0001	0,0001

Từ bảng kết quả 6 cho thấy khi bổ sung than hoạt tính ở nồng độ 100 mg/l cho hiệu quả cao nhất. Dòng UP223 tỷ lệ ra rễ đạt 88,9% và số rễ/ chồi là 3,88 cái; dòng UP171 tỷ lệ ra rễ đạt 90% và số rễ/chồi là 3,91 cái; dòng UP164 tỷ lệ ra rễ đạt 91,1% và số rễ/chồi là 3,91 cái. Khi bổ sung than hoạt tính rễ ra đều, trắng và cứng cáp hơn, giảm hiện tượng sùi và thâm đen ở gốc đồng thời chiều dài rễ cũng ngắn hơn giúp dễ dàng cho việc rửa cây và cấy cây ra vườn ươm. Cây ra rễ khi được bổ sung than hoạt tính có lá mở hơn, cây khỏe và dẻo dai hơn; giảm khả năng mất nước, tăng tỷ lệ cây sống ở thời gian đầu khi cấy ngoài vườn ươm.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến tỷ lệ cây sống và chiều cao của cây con ở vườn ươm

Huấn luyện cây mô là giai đoạn tạo điều kiện cho cây con trong bình nuôi làm quen dần với

môi trường tự nhiên bên ngoài để cây cứng cáp, khỏe mạnh, đạt tỷ lệ cây sống cao, cây sinh trưởng đồng đều khi đưa cây ra ngoài vườn. Đây được coi là một bước thuần hóa trước khi tách khỏi điều kiện *in vitro* và là giai đoạn có ý nghĩa thiết thực để ứng dụng công nghệ vi nhân giống đi vào thực tiễn sản xuất.

Sau khi ra rễ, các bình ra rễ bạch đàn lai UP được chuyển ra khu huấn luyện để thích nghi dần với điều kiện ánh sáng, nhiệt độ tự nhiên trước khi cấy vào giá thể tại vườn ươm. Thí nghiệm xác định thời gian huấn luyện trước giai đoạn vườn ươm gồm 5; 10; 15 và 20 ngày. Cây con sau khi được huấn luyện sẽ được cấy vào giá thể với 70% đất đồi + 20% than trấu + 10% phân chuồng hoai (loại giá thể phổ biến được sử dụng để cấy các giống cây mô bạch đàn). Kết quả ảnh hưởng của thời gian huấn luyện được thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7. Ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến sinh trưởng của cây con ở vườn ươm (sau 45 ngày cấy vào giá thể)

Dòng	Thời gian huấn luyện (ngày)	Tỷ lệ cây sống (%)	Tăng trưởng chiều cao (cm)
UP223	5	64,4	3,57 ± 0,09 ^d
	10	75,6	4,30 ± 0,06 ^c
	15	85,6	5,03 ± 0,12 ^b
	20	78,9	5,32 ± 0,06 ^a
Sig.		0,009	0,0001
UP171	5	61,1	3,41 ± 0,15 ^c
	10	72,2	4,34 ± 0,05 ^b
	15	88,9	5,24 ± 0,02 ^a
	20	81,1	5,41 ± 0,04 ^a
Sig.		0,0001	0,0001
UP164	5	62,2	3,52 ± 0,02 ^d
	10	74,4	4,55 ± 0,04 ^c
	15	87,8	5,22 ± 0,03 ^b
	20	80,0	5,66 ± 0,04 ^a
Sig.		0,001	0,0001

Kết quả phân tích thống kê ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến tỷ lệ cây sống và lượng tăng trưởng chiều cao đều có kết quả Sig. < 0,05. Điều đó chứng tỏ thời gian huấn luyện cây mô ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ cây sống và lượng tăng trưởng chiều cao của ba dòng bạch đàn lai khi cấy ở vườn ươm.

Từ bảng kết quả 7 cho thấy, thời gian huấn luyện cây mô 15 ngày cho tỷ lệ cây sống và lượng tăng trưởng chiều cao là tốt nhất đối với cả ba dòng bạch đàn lai. Cây được huấn luyện trong khoảng thời gian này cho bộ rễ phát triển cân đối, rễ mập, cây đanh. Dòng UP223 tỷ lệ cây sống đạt 85,6% và tăng

tăng trưởng chiều cao là 5,03 cm; dòng UP171 tỷ lệ cây sống là 88,9% và tăng trưởng chiều cao là 5,24 cm; dòng UP164 có tỷ lệ cây sống là 87,8% và tăng trưởng chiều cao là 5,22 cm. Một số kết quả nghiên cứu trước đó về thời gian huấn luyện thích hợp cho các dòng bạch đàn lai U29C3 là 8 - 16 ngày cho tỷ lệ cây sống lên đến 93,3% (Đoàn Thị Mai, 2000), hay với dòng bạch đàn lai UP (UP35, UP58, UP59, UP72 và UP99) thời gian huấn luyện khoảng 6 - 10 ngày cho tỷ lệ cây sống khoảng 90% (Cần Thị Lan, 2014). Như vậy các dòng bạch đàn lai khác nhau thì thời gian huấn luyện cũng khác nhau.



Hình 6. Cây con ngoài vườn ươm sau 45 ngày cấy vào giá thể của 3 dòng bạch đàn

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở giai đoạn khử trùng mẫu sử dụng HgCl_2 0,05% trong 6 phút cho tỷ lệ mẫu nảy chồi hữu hiệu ở ba dòng bạch đàn lần lượt là 32,6%; 34,4% và 31,2 %. Khử trùng bằng javen 2,5% trong 8 phút tỷ lệ nảy chồi hữu hiệu lần lượt là 20,4%; 21,1% và 19,5%. Tuy rằng hiệu quả khử trùng của javen kém hơn so với thủy ngân song mức độ độc hại cho người và môi trường thấp hơn nên được khuyến cáo sử dụng.

Môi trường nhân chồi tốt nhất cho 3 dòng bạch đàn là: $1/2\text{MS}^* + 30 \text{ g/l đường} + 3,5 \text{ g/l Agar} + 0,5 \text{ mg/l BAP} + 0,5 \text{ mg/l Kn}$.

Môi trường ra rễ thích hợp cho dòng bạch đàn UP223 là $1/2 \text{MS}^* + 30 \text{ g/l đường} + 5,5 \text{ g/l Agar} + 1,5 \text{ mg/l IBA} + 0,75 \text{ mg/l ABT} + 100 \text{ mg/l than hoạt tính}$ cho tỷ lệ ra rễ đạt 88,9% và số rễ/ chồi là 3,88 rễ. Dòng UP171 và UP164 là $1/2 \text{MS}^* + 30 \text{ g/l đường} + 5,5 \text{ g/l Agar} + 1,5 \text{ mg/l IBA} + 0,5 \text{ mg/l ABT} + 100 \text{ mg/l than hoạt tính}$ cho tỷ lệ ra rễ là 90 % và số rễ/ cây là 3,91 rễ.

Thời gian huấn luyện cây mô trước khi đưa cây ra ngoài vườn là 15 ngày đối với ba dòng bạch đàn (với tỷ lệ cây sống đạt từ 85,6 - 88,9%, lượng tăng trưởng chiều cao từ 5,03 - 5,22 cm).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Đức Kiên, Hà Huy Thịnh, Đỗ Hữu Sơn, Mai Trung Kiên, La Ánh Dương, 2009. “Sinh trưởng của một số tổ hợp lai giữa Bạch đàn uro và Bạch đàn pellita trên một số lập địa ở miền Bắc và Bắc Trung Bộ”, Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, (7), tr 168 - 172.
2. Cán Thị Lan, 2014. Nghiên cứu nhân nhanh một số giống keo và bạch đàn mới bằng công nghệ tế bào thực vật. Báo cáo tổng kết đề tài.
3. Đoàn Thị Mai, 2000. Kết quả bước đầu về nhân giống bạch đàn lai bằng phương pháp nuôi cấy mô phân sinh. Tạp chí Lâm nghiệp, (10), tr 46 - 47.
4. Đoàn Thị Mai, Lê Sơn, 2011. 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, Báo cáo tổng kết đề tài KHCN cấp Nhà nước.
5. Trần Văn Minh, 1994. Nuôi cấy mô tế bào thực vật, Phân viện Công nghệ sinh học Thành phố Hồ Chí Minh, tr 58 - 97.
6. Hà Huy Thịnh, 2015. Báo cáo tổng kết đề tài “Nghiên cứu cải thiện giống nhằm tăng năng suất, chất lượng cho một số loài cây trồng rừng chủ lực” giai đoạn 2011 - 2015. Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.
7. Nguyễn Hải Tuất, Nguyễn Trọng Bình, 2005. Khai thác và sử dụng SPSS để xử lý số liệu trong lâm nghiệp, NXB Nông nghiệp.

Email tác giả liên hệ: quynhlee1991@gmail.com

Ngày nhận bài: 13/08/2021

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 09/09/2021

Ngày duyệt đăng: 15/09/2021