

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG TRÀM LÁ DÀI (*Melaleuca leucadendra* L.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CÂY MÔ TẾ BÀO

Phạm Thị Mận, Vũ Đình Hương, Nguyễn Xuân Hải, Kiều Mạnh Hà,
Trương Thị Thùy Trang, Nguyễn Thị Linh, Vũ Thị Thu Thanh, Ninh Văn Tuấn

Trung tâm Ứng dụng Khoa học Kỹ thuật Lâm nghiệp Nam Bộ

TÓM TẮT

Tràm lá dài đã được nhập nội từ Australia vào nước ta năm 1993 và đã được gây trồng phổ biến ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Tuy nhiên, những năm gần đây, năng suất rừng trồng bị giảm sút do nguồn giống bị thoái hóa. Vi nhân giống là một phương pháp hữu hiệu để tạo một lượng lớn cây con đồng đều về số lượng và chất lượng phục vụ cho việc chọn giống, trồng rừng và bảo tồn nguồn gen. Bài báo này giới thiệu kết quả nghiên cứu nhân giống vô tính bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào cho loài Tràm lá dài. Kết quả nghiên cứu cho thấy: Khử trùng mẫu trong 10 phút bằng dung dịch Javel nồng độ 1,5% cho hiệu quả tốt nhất với tỷ lệ mẫu sạch đạt 64,8%, tỷ lệ mẫu bật chồi cao nhất (46,7%). Số lượng chồi hữu hiệu cao nhất trong môi trường MS + 1,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA với trung bình 20,4 chồi/cụm. Môi trường 1/2 MS + 2,0 mg/l IBA cho tỷ lệ ra rễ 100%. Kết quả này là cơ sở khoa học trong lưu giữ, nhân giống và bảo tồn nguồn gen cây Tràm lá dài.

Từ khóa: Tràm lá dài,
in vitro, nhân chồi

In vitro micropropagation for *Melaleuca leucadendra* L.

Melaleuca leucadendra L. species was imported from Australia since 1993 and widely planted in the Mekong delta. However, recent years, productivity of *M. leucadendra* L. plantations decreased due to breed degeneration. *In vitro* micropropagation is an effective method to produce large number of planting material with high quality for tree breeding, afforestation and plant gen conservation. This paper presents the research results of micropropagation for *M. leucadendra* L. species. The results showed that samples were disinfected for 10 minutes with a 1.5% Javel solution can give 64.8% cleaned samples and the percentage of budding samples was the highest (46.7%). The highest number of effective buds in treatment (MS + 1.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA solution) had 20.4 buds per cluster. Treatment (1/2 MS + 2.0 mg/l IBA) created 100% rooting rate. This result is scientific fundament for storing, propagating and gene conserving of the *Melaleuca leucadendra* L. species.

Keywords: *Melaleuca leucadendra*, *in vitro*, mutli-shoot

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tràm lá dài (*Melaleuca leucadendra* L.) phân bố tự nhiên ở phía Tây và phía Bắc - Australia, Papua New Guinea và Irian Jaya - Indonesia (Brophy *et al.*, 2013). Loài này đã được nhập nội từ những năm 1993 và gây trồng phổ biến ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long và tập trung chủ yếu ở Long An, Đồng Tháp, Kiên Giang, An Giang, Sóc Trăng và Cà Mau. Tuy nhiên, năng suất rừng Tràm lá dài đã và đang bị giảm sút, nguyên nhân chủ yếu là do kỹ thuật canh tác và nguồn giống bị thoái hóa (Vũ Đình Hường *et al.*, 2017).

Chọn giống và nhân giống cây rừng là một trong những khâu quan trọng quyết định cả về số lượng lẫn về chất lượng của rừng trồng. Nghiên cứu về chọn giống và nhân giống cây tràm từ hạt hay từ hom đã được triển khai từ nhiều thập kỷ trước đây (Venning, 1988; Doran, 1990 & 1997; Wrigley và Fagg, 1993 & 2007).

Phương pháp nuôi cấy mô tế bào Tràm trà (*M. alternifolia*) cho hệ số nhân nhanh được xác định có thể đạt 5⁶/năm (Nguyễn Văn Nghi, 2000). Tuy nhiên, phương pháp này mới chỉ tập trung vào một số giống tràm có hàm lượng tinh dầu cao, được sử dụng phổ biến để sản xuất tinh dầu. Trong khi đó, nghiên cứu nhân giống bằng nuôi cấy mô đối với Tràm lá dài chưa được quan tâm nhiều. Vì vậy, nghiên cứu nhân giống *in vitro* Tràm lá dài là cần thiết để

tạo ra nguồn vật liệu phục vụ công tác khảo nghiệm để chọn giống, xây dựng vườn giống lưu giữ, nhân giống và bảo tồn nguồn gen.

Bài viết này trình bày kết quả nghiên cứu ban đầu về quá trình xử lý mẫu, môi trường nhân chồi và môi trường ra rễ cho loài Tràm lá dài.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Sử dụng chồi bên (có chiều dài 1,5 - 2 cm, chứa ít nhất 1 mắt ngủ) của cây mẹ Tràm lá dài 01 năm tuổi, được lấy tại vườn cây đầu dòng của Trung tâm Ứng dụng Khoa học Kỹ thuật Lâm nghiệp Nam Bộ (hình 1). Các thí nghiệm được tiến hành tại phòng thí nghiệm thuộc Trung tâm Ứng dụng Khoa học Kỹ thuật Lâm nghiệp Nam Bộ, thành phố Thủ Dầu Một, tỉnh Bình Dương.

Điều kiện nuôi cấy trong phòng thí nghiệm với cường độ ánh sáng 2.000 - 3.000 lux, thời gian chiếu sáng 10 h/ngày, nhiệt độ 25 ± 2°C và chu kỳ cấy chuyển là 30 ngày. Môi trường được điều chỉnh pH 5,7 - 5,8, hấp khử trùng ở điều kiện áp suất 1,2 atm, nhiệt độ 121°C trong thời gian 20 phút. Môi trường nhân nhanh sử dụng Murashige-Skoog (MS) bổ sung Sucrose 30 g/l, agar 7,5 g/l. Môi trường ra rễ sử dụng 1/2 MS bổ sung Sucrose 15 g/l, agar 7,5 g/l, than hoạt tính 0,1 g/l.



Hình 1. Vườn cây đầu dòng (a) và chồi bên (b) Tràm lá dài

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Xử lý mẫu

Thí nghiệm 2 nhân tố, được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ, nhân tố 1 là thời gian xử lý và nhân tố 2 là nồng độ hóa chất (Javel), gồm 6 công thức với 9 lần lặp lại. Mỗi công thức thí nghiệm gồm 30 chồi/lặp. Tổng số chồi sử dụng trong thí nghiệm là 1.620 chồi (6 công thức × 9 lặp × 30 chồi/lặp).

Chi tiết 6 công thức thí nghiệm như sau:

Nhân tố 2 \ Nhân tố 1	Nhân tố 1		
	5 phút	10 phút	15 phút
Javel 1%	TJ1	TJ2	TJ3
Javel 1,5%	TJ4	TJ5	TJ6

Các chỉ tiêu đo đếm bao gồm: Thời gian bật chồi, số lượng mẫu bật chồi, số lượng mẫu sạch, số lượng mẫu nhiễm.

Thời gian đo đếm: Theo dõi thời gian bật chồi hàng ngày. Thu thập số liệu sau 30 ngày.

Thí nghiệm 2: Sử dụng Cytokinin (BAP) trong môi trường nhân nhanh

Thí nghiệm 1 nhân tố, được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ gồm 5 công thức với 3 lần lặp. Mỗi công thức gồm 30 cụm chồi/lặp. Tổng số cụm chồi sử dụng trong thí nghiệm là 450 (5 công thức × 3 lặp × 30 cụm chồi/lặp).

Chi tiết các công thức như sau:

Nồng độ BAP (mg/l)	Công thức
0	C0
0,5	C1
1,0	C2
1,5	C3
2,0	C4

Các chỉ tiêu đo đếm bao gồm: Số lượng chồi/cụm và chiều cao chồi.

Thời gian đo đếm: Sau 30 ngày cấy chuyên.

Thí nghiệm 3: Sử dụng Cytokinin (BAP) và Auxin (NAA) trong môi trường nhân nhanh

Thí nghiệm 2 nhân tố, được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ gồm 16 công thức, với 3 lần lặp. Nhân tố 1 là nồng độ Cytokinin (BAP) và nhân tố 2 là nồng độ Auxin (NAA). Tổng số cụm chồi sử dụng trong thí nghiệm là 1.440 (16 công thức × 3 lặp × 30 cụm chồi/lặp). Chi tiết các công thức thí nghiệm như sau:

BAP (mg/l) \ NAA (mg/l)	NAA (mg/l)			
	0,1	0,3	0,5	0,7
0,5	C1A1	C1A2	C1A3	C1A4
1,0	C2A1	C2A2	C2A3	C2A4
1,5	C3A1	C3A2	C3A3	C3A4
2,0	C4A1	C4A2	C4A3	C4A4

Các chỉ tiêu đo đếm bao gồm: Số lượng chồi hữu hiệu/cụm và chiều cao chồi.

Thời gian đo đếm: Sau 30 ngày cấy chuyên.

Thí nghiệm 4: Sử dụng IBA trong môi trường tạo rễ

Thí nghiệm 1 nhân tố, được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ gồm 5 công thức với 3 lần lặp. Mỗi công thức 30 chồi/lặp. Tổng số chồi sử dụng trong thí nghiệm là 450 (5 công thức × 3 lặp × 30 chồi/lặp). Chi tiết các công thức như sau:

Nồng độ IBA (mg/l)	Công thức
0	I0
0,5	I1
1,0	I2
1,5	I3
2,0	I4

Các chỉ tiêu đo đếm bao gồm: Số lượng chồi ra rễ, số lượng rễ và chiều dài rễ.

Thời gian đo đếm: Sau 30 ngày cấy.

Thí nghiệm 5: Sử dụng NAA trong môi trường tạo rễ

Thí nghiệm 1 nhân tố, được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ gồm 5 công thức với 3 lần lặp. Mỗi công thức 30 chồi/lặp. Tổng số chồi sử dụng trong thí nghiệm là 450 (5 công thức \times 3 lặp \times 30 chồi/lặp). Chi tiết các công thức như sau:

Nồng độ IBA (mg/l)	Công thức
0	N0
0,25	N1
0,50	N2
0,75	N3
1,00	N4

Các chỉ tiêu đo đếm bao gồm: Số lượng chồi ra rễ, số lượng rễ và chiều dài rễ.

Thời gian đo đếm: Sau 30 ngày cấy.

2.2.2. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Phương pháp đánh giá chất lượng chồi. Đánh giá chất lượng chồi dựa vào chiều cao và hình thái lá. Chồi sinh trưởng tốt (+++) là những

chồi có chiều cao > 2 cm, thân phân lóng rõ ràng, có từ 3 cặp lá trở lên, lá mở rộng màu xanh đậm. Chồi sinh trưởng trung bình (++) là những chồi có chiều cao từ 1,6 - 2 cm, thân phân lóng rõ ràng, có từ 2 cặp lá trở lên, lá xanh. Chồi sinh trưởng kém (+) là những chồi có chiều cao $\leq 1,5$ cm, thân có lóng không rõ ràng, lá nhỏ, phiến lá không mở, lá có màu xanh nhạt.

Phương pháp so sánh các công thức: Dùng trắc nghiệm tổng quát phân tích các kết quả dựa vào bảng phân tích phương sai ANOVA. Khi xác suất $P < 0,05$ được coi là các công thức có sai khác theo các chỉ tiêu nghiên cứu, khi $P > 0,05$ thì sai khác giữa các công thức chưa đủ lớn. Sử dụng phân hạng Duncan để kiểm định các công thức thí nghiệm khi $P < 0,05$.

Công cụ xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm Genstat 12th Edition và Excel 2019.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của thời gian và nồng độ hóa chất xử lý mẫu

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian và nồng độ hóa chất xử lý mẫu

Công thức	Thời gian bật chồi (ngày)	Tỷ lệ bật chồi (%)	Tỷ lệ mẫu sạch (%)
Nhân tố 1 (thời gian xử lý, phút)			
05	6,2 ^c	28,9 ^b	40,2 ^c
10	7,2 ^b	36,1 ^a	49,8 ^b
15	7,9 ^a	28,2 ^b	60,6 ^a
$P_{nt1} (\alpha = 0,05)$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$
Nhân tố 2 (nồng độ Javel, %)			
1,0	6,8 ^b	23,7 ^b	36,4 ^b
1,5	7,4 ^a	38,4 ^a	64,0 ^a
$P_{nt2} (\alpha = 0,05)$	0,003	$< 0,001$	$< 0,001$
Nhân tố 1*Nhân tố 2			
TJ1 (5 phút \times Javel 1%)	5,9 ^d	20,7 ^e	27,8 ^f
TJ2 (10 phút \times Javel 1%)	6,9 ^{bc}	25,6 ^d	34,8 ^e
TJ3 (15 phút \times Javel 1%)	7,6 ^{ab}	24,8 ^d	46,7 ^d
TJ4 (5 phút \times Javel 1,5%)	6,4 ^{cd}	37,0 ^b	52,6 ^c
TJ5 (10 phút \times Javel 1,5%)	7,6 ^{ab}	46,7 ^a	64,8 ^b
TJ6 (15 phút \times Javel 1,5%)	8,2 ^a	31,5 ^c	74,4 ^a
$P_{nt1*nt2} (\alpha = 0,05)$	0,9	$< 0,001$	0,06

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau thể hiện cho sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các công thức khi sử dụng kiểm định Duncan.

Kết quả phân tích tại bảng 1 cho thấy, thời gian xử lý mẫu và nồng độ Javel trong dung dịch xử lý mẫu có ảnh hưởng rõ rệt tới thời gian bật chồi, tỷ lệ bật chồi và tỷ lệ chồi sạch ($P < 0,05$).

Thời gian xử lý mẫu ảnh hưởng rõ rệt ($P < 0,05$) tới thời gian bật chồi, tỷ lệ bật chồi và tỷ lệ mẫu sạch. Thời gian xử lý mẫu tỷ lệ thuận với thời gian bật chồi và tỷ lệ mẫu sạch. Thời gian xử lý mẫu càng dài thì thời gian để mẫu bắt đầu bật chồi càng lâu và cho tỷ lệ mẫu sạch càng cao. Do thời gian xử lý lâu, hóa chất ngấm vào mẫu nhiều gây tổn thương dẫn đến sức bật chồi của mẫu giảm. Xử lý mẫu trong 5 phút mẫu bắt đầu bật chồi sớm nhất (6,2 ngày) và cho tỷ lệ mẫu sạch thấp nhất (40,2%). Xử lý mẫu trong 15 phút mẫu bắt đầu bật chồi muộn nhất (7,9 ngày) nhưng cho tỷ lệ mẫu sạch cao nhất (60,6%). Xử lý mẫu trong 10 phút cho tỷ lệ bật chồi cao nhất (36,1%) vượt 26% so với xử lý mẫu trong 5 phút và 15 phút. Không có sự khác biệt về tỷ lệ bật chồi khi xử lý mẫu trong 5 phút và 15 phút.

Nồng độ Javel trong dung dịch xử lý mẫu ảnh hưởng ($P < 0,05$) tới thời gian bật chồi, tỷ lệ bật chồi và tỷ lệ mẫu sạch. Khi tăng nồng độ Javel lên thì thời gian bật chồi, tỷ lệ mẫu bật chồi và tỷ lệ chồi sạch cũng tăng. Do đó, nồng độ Javel cao thì khả năng ăn mòn và gây tổn thương lớn, làm giảm sức bật chồi của mẫu. Tuy nhiên, khi xử lý mẫu ở nồng độ Javel cao sẽ khử trùng mẫu tốt hơn làm tăng tỷ lệ chồi sạch và tỷ lệ mẫu bật chồi. Xử lý mẫu trong dung dịch Javel 1% cho thời gian bật chồi

trung bình là 6,8 ngày, tỷ lệ mẫu bật chồi là 23,7% và tỷ lệ mẫu sạch đạt 36,4%. Xử lý mẫu trong dung dịch Javel 1,5% cho thời gian bật chồi trung bình là 7,4 ngày, tỷ lệ mẫu bật chồi là 38,4% và tỷ lệ mẫu sạch đạt 64%.

Không có sự tương tác ($P > 0,05$) giữa thời gian và nồng độ Javel trong dung dịch xử lý mẫu tới thời gian bật chồi và tỷ lệ mẫu sạch. Công thức T16 có thời gian bật chồi lâu nhất (8,2 ngày) và cho tỷ lệ mẫu sạch cao nhất (74,4%). Tuy nhiên, có sự tương tác giữa thời gian và nồng độ Javel trong dung dịch xử lý mẫu tới tỷ lệ bật chồi ($P < 0,05$). Công thức xử lý mẫu trong 10 phút với nồng độ Javel 1,5% cho tỷ lệ bật chồi cao nhất (46,7%).

Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng gốc Cytokinin và Auxin đến khả năng phát sinh chồi và nâng cao chất lượng chồi

3.1.1. Ảnh hưởng của Cytokinin (BAP) đến khả năng phát sinh chồi

Kết quả phân tích thống kê tại bảng 2 cho thấy nồng độ BAP có ảnh hưởng rõ rệt tới khả năng phát sinh chồi Tràm lá dài ($P < 0,05$). Số lượng chồi và chiều cao chồi tăng dần khi tăng nồng độ BAP từ 0 mg/l tới 1,5 mg/l và bắt đầu giảm khi nồng độ BAP > 1,5 mg/l. Nguyên nhân, do hàm lượng BAP cao dẫn đến ức chế hình thành chồi. Công thức C3 cho số lượng chồi nhiều nhất (7,5 chồi), với chiều cao cao nhất (1,7 cm), lần lượt vượt so với công thức đối chứng (C0) là 63% và 21%. Ngoài ra, C3 cũng là công thức có chất lượng chồi tốt nhất so với các công thức còn lại.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng phát sinh của chồi Tràm lá dài

Công thức	BAP (mg/l)	Số lượng chồi (chồi/cụm)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
C0	0	4,6 ^d	1,4	+
C1	0,5	5,3 ^c	1,5	+
C2	1,0	6,5 ^b	1,5	+
C3	1,5	7,5 ^a	1,7	++
C4	2,0	6,8 ^b	1,4	+
$P (\alpha = 0,05)$		< 0,001	0,236	

Ghi chú: (+) chồi sinh trưởng kém, (++) chồi sinh trưởng trung bình, (+++) chồi sinh trưởng tốt.

Nguyễn Văn Nghi và đồng tác giả (2000) khi nghiên cứu ảnh hưởng của Cytokinin đến khả năng phát sinh chồi Tràm úc (*Melaleuca alternifolia*) đã cho thấy BAP có tác dụng vượt trội hơn so với Kinetin. Tuy nhiên, đối với *M. alternifolia* sử dụng BAP có nồng độ 0,5 mg/l cho số lượng chồi cao nhất sau 4 tuần ($4,85 \pm 0,55$ chồi). Kết quả nghiên cứu nhân nhanh tạo cụm chồi từ chồi phát sinh từ mô sẹo Tràm ta (*Melaleuca cajuputi*) đã chỉ ra rằng, sử dụng BAP nồng độ 0,5 mg/l cho số lượng chồi cao nhất ($49,8 \pm 3,0$ chồi) với chiều cao 0,4 cm (Nguyễn Đăng Thùy, 2014). Tóm lại, BAP là chất điều hòa sinh trưởng phù hợp nhất trong quá trình nhân nhanh đối với cây tràm. Tuy nhiên, mỗi loài tràm thì ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng phát sinh chồi hữu hiệu là khác nhau.

3.1.2. Ảnh hưởng của sự phối hợp Cytokinin và Auxin đến nâng cao chất lượng chồi

Kết quả nghiên cứu cho thấy sự thay đổi về nồng độ BAP và NAA đều có ảnh hưởng rõ rệt tới số lượng chồi phát sinh và chiều cao chồi Tràm lá dài ($P < 0,05$) (bảng 3). Từ số liệu ở bảng 3 cho thấy, sử dụng BAP nồng độ 1 mg/l sẽ cho số lượng chồi nhiều nhất (12,8 chồi/cụm) và chồi có chiều cao tốt nhất (1,9 cm), khi tăng nồng độ BAP lên > 1 mg/l thì số lượng và chất lượng chồi bắt đầu giảm dần. NAA là một chất có tác dụng kích thích ra rễ. Tuy nhiên, khi sử dụng NAA có nồng độ phù hợp để kết hợp với BAP sẽ có tác dụng kích thích các chồi phát

triển đồng đều về số lượng và chất lượng chồi. Từ số liệu ở bảng 3 cho thấy, sử dụng NAA nồng độ 0,1 mg/l cho số lượng và chất lượng chồi tốt nhất (14,4 chồi/cụm và chiều cao trung bình của chồi là 2,2 cm), khi tăng nồng độ của NAA $> 0,1$ mg/l thì số lượng và chất lượng chồi bắt đầu giảm dần.

Có sự tác động qua lại giữa BAP và NAA với nhau và sự phối hợp giữa 2 nhân tố BAP và NAA ở các nồng độ khác nhau cũng ảnh hưởng rõ rệt ($P < 0,05$) tới số lượng chồi và chiều cao chồi Tràm lá dài (bảng 3). Số liệu ở bảng 3 cho thấy, công thức kết hợp giữa BAP 1 mg/l và NAA 0,1 mg/l đã cho số lượng chồi hữu hiệu cao nhất (20,4 chồi/cụm) với chiều cao trung bình của chồi là 2,3 cm, chất lượng chồi tốt. Kết quả này cao gấp ~ 3 lần so với việc chỉ sử dụng BAP (7,5 chồi/cụm) (bảng 2). Trong nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* cây Tràm ta của tác giả Nguyễn Đăng Thùy (2014), cũng cho thấy sự kết hợp giữa Cytokinin (BAP) và Auxin (NAA) trong môi trường nhân nhanh là thích hợp cho khả năng tạo sẹo, với hiệu quả cao nhất đạt $80,0 \pm 5,2\%$. Điều này đã chứng minh rằng môi trường nhân nhanh đối với Tràm lá dài có bổ sung BAP kết hợp với NAA ở nồng độ thích hợp cho hiệu quả nhân chồi vượt trội cả về số lượng và chất lượng so với việc chỉ sử dụng BAP. Tuy nhiên, kết quả này cũng cho thấy cần phải có các nghiên cứu tiếp theo sử dụng nồng độ NAA ở mức thấp hơn 0,1 mg/l kết hợp với BAP 1 mg/l nhằm xác định được công thức tối ưu.

Bảng 3. Ảnh hưởng của BAP và NAA đến khả năng nhân chồi của Tràm lá dài

Công thức	Số lượng chồi hữu hiệu (chồi/cụm)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
Nhân tố 1 (BAP, mg/l)			
0,5	10,2 ^b	1,9 ^a	
1,0	12,8 ^a	1,9 ^a	
1,5	10,1 ^b	1,8 ^a	
2,0	8,4 ^c	1,7 ^b	
$P_{nt1} (\alpha = 0,05)$	$< 0,001$	$< 0,001$	

Công thức	Số lượng chồi hữu hiệu (chồi/cụm)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
Nhân tố 2 (NAA, mg/l)			
0,1	14,4 ^a	2,2 ^a	
0,3	12,9 ^b	2,0 ^b	
0,5	9,2 ^c	1,6 ^c	
0,7	5,0 ^d	1,5 ^d	
$P_{nt2} (\alpha = 0,05)$	< 0,001	< 0,001	
Nhân tố 1 × Nhân tố 2 (BAP × NAA)			
C1A1 (BAP0,5 × NAA0,1)	11,7 ^d	2,6 ^a	+++
C1A2 (BAP0,5 × NAA0,3)	13,4 ^c	1,9 ^{cde}	++
C1A3 (BAP0,5 × NAA0,5)	9,7 ^f	1,6 ^g	++
C1A4 (BAP0,5 × NAA0,7)	5,9 ⁱ	1,5 ^g	+
C2A1 (BAP1,0 × NAA0,1)	20,4 ^a	2,3 ^b	+++
C2A2 (BAP1,0 × NAA0,3)	15,0 ^b	2,0 ^{cd}	++
C2A3 (BAP1,0 × NAA0,5)	10,6 ^e	1,8 ^{de}	++
C2A4 (BAP1,0 × NAA0,7)	5,1 ^j	1,5 ^g	+
C3A1 (BAP1,5 × NAA0,1)	14,6 ^b	2,1 ^{bc}	+++
C3A2 (BAP1,5 × NAA0,3)	12,5 ^d	2,0 ^{cd}	++
C3A3 (BAP1,5 × NAA0,5)	8,8 ^g	1,7 ^{ef}	++
C3A4 (BAP1,5 × NAA0,7)	4,6 ^j	1,5 ^g	+
C4A1 (BAP2,0 × NAA0,1)	10,8 ^e	1,9 ^{cd}	++
C4A2 (BAP2,0 × NAA0,3)	10,8 ^e	1,9 ^{cd}	++
C4A3 (BAP2,0 × NAA0,5)	7,6 ^h	1,5 ^g	+
C4A4 (BAP2,0 × NAA0,7)	4,4 ^j	1,4 ^g	+
$P_{nt1*nt2} (\alpha = 0,05)$	< 0,001	< 0,001	

Ghi chú: (+) chồi sinh trưởng kém, (++) chồi sinh trưởng trung bình, (+++) chồi sinh trưởng tốt.

3.2. Ảnh hưởng của Auxin tới khả năng ra rễ

3.2.1. Ảnh hưởng của IBA tới khả năng ra rễ

Kết quả phân tích tại bảng 4 cho thấy có sự khác biệt về thống kê ($P < 0,05$) giữa các công thức về tỷ lệ ra rễ, số lượng rễ và chiều dài rễ. Tỷ lệ ra rễ và chất lượng rễ tăng dần khi tăng nồng độ IBA từ 0 mg/l đến 2,0 mg/l. Công thức I0 cho tỷ lệ ra rễ thấp nhất, chỉ đạt 60%, với số lượng rễ trung bình 1,5 rễ/chồi, chiều dài rễ 2,3 cm. Khi tăng nồng độ IBA từ 1,0 đến 1,5 mg/l thì tỷ lệ ra rễ bắt đầu tăng từ 70%

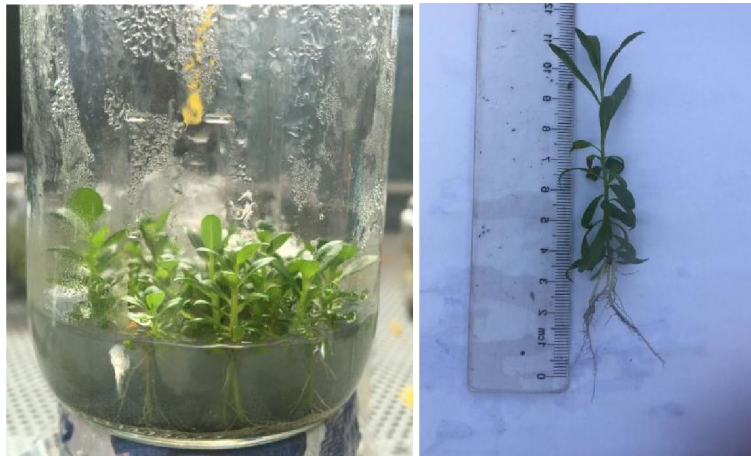
đến 86,7%, số lượng rễ cũng tăng 2,3 rễ/chồi, chiều dài rễ trung bình đạt 2,4 - 2,5 cm. Tỷ lệ ra rễ cao nhất đạt 100% với chất lượng rễ tốt nhất (3,6 rễ/chồi, chiều dài rễ đạt 3,4 cm) ở công thức I3 khi sử dụng IBA nồng độ 2 mg/l (hình 2). Khi tăng nồng độ IBA cao hơn 2 mg/l cho thấy hiệu quả ra rễ và chất lượng rễ bắt đầu giảm, cụ thể ở công thức I4 khi tăng nồng độ IBA lên 2,5 mg/l tỷ lệ ra rễ giảm xuống còn 86,7%, số lượng rễ cũng giảm xuống còn 1,8 rễ/chồi và chiều dài của rễ giảm còn 2,5 cm.

Bảng 4. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ

Công thức	IBA (mg/l)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số lượng rễ (cái)	Chiều dài rễ (cm)
I0	0	60,0 ^d	1,5 ^c	2,3 ^b
I1	1,0	70,0 ^c	1,5 ^c	2,4 ^b
I2	1,5	86,7 ^b	2,3 ^b	2,5 ^b
I3	2,0	100 ^a	3,4 ^a	3,4 ^a
I4	2,5	86,7 ^b	1,8 ^{bc}	2,5 ^b
<i>P</i> ($\alpha = 0,05$)		< 0,001	< 0,001	< 0,001

Ở một nghiên cứu khác trên đối tượng Tràm *M. alternifolia* của tác giả Lê Đình Khả và đồng tác giả (2017) đã chỉ ra rằng môi trường tạo cây con hoàn chỉnh trong ống nghiệm phù hợp nhất là MS* + 0,3 mg/l IBA (tỷ lệ ra rễ

100%, rễ trắng, mập nhiều lông hút). Điều này cho thấy, IBA có tác động lớn đến sự ra rễ của chồi các loài tràm nói chung và Tràm lá dài nói riêng.

**Hình 2.** Cây mô mầm Tràm lá dài trong môi trường 1/2 MS + IBA (2 mg/l)

3.2.2. Ảnh hưởng của NAA tới khả năng ra rễ

Từ kết quả phân tích tại bảng 5 cho thấy có sự khác biệt về thống kê ($P < 0,05$) giữa các công thức về tỷ lệ ra rễ và số lượng rễ, không có sự khác biệt về chiều dài rễ giữa các công thức thí nghiệm ($P > 0,05$). Tỷ lệ ra rễ và chất lượng rễ tăng dần khi tăng nồng độ NAA từ 0 mg/l đến 0,75 mg/l. Công thức N0 cho tỷ lệ ra rễ thấp nhất (65,6%), với số lượng rễ trung bình 1,5 rễ/chồi, chiều dài rễ 2,4 cm. Khi tăng nồng độ NAA từ 0,25 đến 0,5 mg/l thì tỷ lệ ra

rễ bắt đầu tăng từ 75,6% đến 83,3%, số lượng rễ cũng tăng 2,1 rễ/chồi, chiều dài rễ trung bình đạt 2,4 - 2,5 cm. Tỷ lệ ra rễ cao nhất (85,6%) với chất lượng rễ tốt nhất (2,3 rễ/chồi, chiều dài rễ đạt 2,6 cm) ở công thức N3 khi sử dụng NAA nồng độ 0,75 mg/l. Khi tăng nồng độ NAA cao hơn 0,75 mg/l cho thấy hiệu quả ra rễ và chất lượng rễ bắt đầu có xu hướng giảm, cụ thể ở công thức N4 khi tăng nồng độ NAA lên 1,0 mg/l tỷ lệ ra rễ giảm xuống còn 78,9%, số lượng rễ 1,8 rễ/chồi và chiều dài của rễ 2,4 cm.

Bảng 5. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng ra rễ của chồi Tràm lá dài

Nghiệm thức	NAA (mg/l)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số lượng rễ (cái)	Chiều dài rễ (cm)
N0	0	65,6 ^d	1,5 ^c	2,4
N1	0,25	75,6 ^c	1,8 ^{bc}	2,4
N2	0,5	83,3 ^{ab}	2,1 ^{ab}	2,5
N3	0,75	85,6 ^a	2,3 ^a	2,6
N4	1,0	78,9 ^{bc}	1,8 ^{bc}	2,4
<i>P</i> ($\alpha = 0,05$)		< 0,001	< 0,001	0,414

Phùng Thị Hằng và Nguyễn Bảo Toàn (2011) khi nghiên cứu hiệu quả của NAA lên sự hình thành rễ Trà ta (*M. cajuputi*) cho thấy NAA ở nồng độ 2,0 mg/l cho hiệu quả ra rễ tốt nhất sau 75 ngày cấy (5,6 rễ). Lê Đình Khả và đồng tác giả (2017) cũng cho thấy NAA với nồng độ 0,3 - 0,5 mg/l là phù hợp nhất cho ra rễ đối với *M. quenquenervia*, tỷ lệ ra rễ đạt > 90%, rễ có chất lượng tốt. Đối với Tràm lá dài (*M. leucadendra*) tại nghiên cứu này cho thấy, sử dụng NAA ở nồng độ 0,75 mg/l cho hiệu quả ra rễ tốt nhất (85,6%). Điều này đã chứng minh đối với mỗi loài tràm khác nhau thì nồng độ NAA phù hợp cho sự ra rễ của chúng cũng khác nhau.

IV. KẾT LUẬN

Xử lý mẫu Tràm lá dài trong 10 phút với dung dịch Javel nồng độ 1,5% cho tỷ lệ bật chồi cao nhất (46,7%) với tỷ lệ chồi sạch là 64,8%.

Môi trường nhân nhanh MS có bổ sung BAP với nồng độ 1 mg/l và NAA 0,1 mg/l cho số lượng chồi cao nhất (20,4 chồi/cụm) với chất lượng chồi tốt.

Sử dụng Auxin (IBA, NAA) làm tăng hiệu quả ra rễ. Trong đó, IBA có khả năng tạo rễ tốt hơn so với NAA. Sử dụng IBA nồng độ 2 mg/l cho tỷ lệ ra rễ cao nhất đạt 100% với chất lượng rễ tốt nhất.

Lời cảm ơn:

Bài báo này là một phần kết quả của đề tài mã số ĐTDL.CN-20/21: “Nghiên cứu chọn giống và kỹ thuật trồng rừng thâm canh Tràm lá dài (Melaleuca leucadendra) trên đất ngập phèn vùng Đồng bằng sông Cửu Long”. Xin chân thành cảm ơn Bộ Khoa học và Công nghệ đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Văn Bản, 2002. Tài liệu hội thảo tổng kết Dự án phát triển kỹ thuật trồng rừng trên đất phèn ở Đồng bằng sông Cửu Long. Phân Viện Khoa học Lâm nghiệp Nam Bộ, TP. Hồ Chí Minh.
2. Brophy J.J., L.A. Caren, J.C. Doran, 2013. Melaleucas their batany, essential oils and uses. ACIAR, Rural Industries, Canberra, 415 page.
3. Doran J.C., 1997. Seed, nursery practice and establishment. Pp. 59 - 87 in “Australian trees and shrubs: species for land rehabilitation and farm planting in the tropics”, ed. By J.C. Doran and J. W. Turnbull. ACIAR Monograph No. 24. Australian Centre for Interantional Agricultural Resaerch: Canberra.
4. Phùng Thị Hằng, Nguyễn Văn Bảo, 2011. Nhân giống cây Tràm (*Melaleuca cajuputi* Powell) bằng phương pháp nuôi cấy mô. Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ, trang 89 - 96.

5. Vũ Đình Hương, Phùng Văn Khang, Ngô Văn Ngọc, Nguyễn Xuân Hải, Trần Thanh Cao, Phạm Văn Bốn, Kiều Tuấn Đạt, Lương Văn Minh, 2017. Thực trạng nghiên cứu và phát triển trồng rừng trầm và keo trên đất phèn vùng Đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp chuyên san năm 2017, tr. 95 - 110.
6. Lê Đình Khả, Nguyễn Thị Thanh Hương, Nguyễn Văn Dư, Hoàng Thanh Lộc, Lê Hà Anh, Khuất Thị Hải Ninh, Vũ Thị Huệ, Hồ Hải Ninh, Đinh Thị Thu Thủy, Nguyễn Văn Minh, Phùng Văn Khang, Nguyễn Văn Lưu, 2017. Nghiên cứu chọn giống, nhân giống và kỹ thuật gây trồng trầm có năng suất và chất lượng tinh dầu cao (Giai đoạn 2). Báo cáo tổng kết đề tài cấp Bộ, 109 trang.
7. Nguyễn Văn Nghi, 2000. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh trưởng, tích lũy tinh dầu và khả năng nhân giống vô tính cây Tràm lá hẹp (*M. alternifolia*) ở Việt Nam. Tóm tắt luận văn tiến sỹ sinh học. Trường Đại học Khoa học tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội.
8. Wrigley J.M., Fagg M., 2007. Australian Native Plants: Cultivation, Use in Landscaping and Propagation. Reed New Holland, 352 pages.
9. Nguyễn Đăng Thùy, 2014. Nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* cây Tràm ta (*Melaleuca cajuputi* Powell.). Luận văn thạc sỹ chuyên ngành sinh học thực nghiệm, Trường ĐH Sư phạm TP. Hồ Chí Minh.

Email tác giả chính: ptm.cnsh40@gmail.com

Ngày nhận bài: 07/12/2022

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 12/12/2022

Ngày duyệt đăng: 16/12/2022