

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG GIA ĐÌNH CÂY TRỘT THÔNG CARIBÊ (*Pinus caribaea* Morelet) TỪ HẠT BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY MÔ

Lưu Thị Quỳnh, Văn Thu Huyền, Nguyễn Anh Dũng, Hoàng Thị Hồng Hạnh, Lê Thị Hoa,
Nguyễn Thị Hiền, Đỗ Hữu Sơn, Cấn Thị Lan, Mai Thị Phương Thúy

Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp

Từ khóa: Thông caribê,
nhân giống *in vitro*, cây
trọt, nhân giống hom, cây
mầm

TÓM TẮT

Thông caribê có tiềm năng cho trồng rừng ở nước ta do khả năng sinh trưởng nhanh hơn các loài thông khác, tính chất gỗ khá tốt, thích nghi trên nhiều dạng lập địa khác nhau, có khả năng chống chịu gió bão tốt. Tuy nhiên, vấn đề nhân giống bằng hạt hay hom chưa đáp ứng được nhu cầu trồng rừng. Vì vậy, đối với Thông caribê nhân giống *in vitro* cho các lô hạt cây trọt là hình thức có hiệu quả để phát triển các giống có năng suất, chất lượng được cải thiện vào sản xuất. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhân giống *in vitro* cho Thông caribê sử dụng nguồn vật liệu ban đầu là hạt thu từ các cây trọt đã được chọn lọc. Hạt Thông caribê được tiến hành nảy mầm trên bông gòn. Đoạn thân mầm từ cây mầm 40 ngày tuổi được sử dụng làm mẫu vật cho quá trình khử trùng. Kết quả khử trùng tốt nhất là sử dụng clorua thủy ngân $HgCl_2$ 0,1% trong thời gian 12 phút. Môi trường nhân chồi tối ưu là $MS^* + 0,25mg/l$ BAP + 4,25g/l agar + 30g/l đường. Chu kỳ nhân chồi từ 40 - 45 ngày, sau thời gian trên cụm chồi có hiện tượng giảm số lượng chồi và hạn chế tăng trưởng chiều cao. Môi trường thích hợp nhất để tạo rễ *in vitro* là $1/2 MS^* + 1mg/l$ IBA + 4,5g/l agar + 30g/l đường. Chồi *in vitro* bắt đầu ra rễ sau 4 tuần và ra rễ hoàn chỉnh sau 6 tuần.

In vitro propagation of *Pinus caribaea* Morelet from seeds of plus tree family

Pinus caribaea Morelet has potential for afforestation in Vietnam because of its fast growing ability, good wood properties, adaptation to different site conditions, and good resistance to wind and storm. However, the propagation by seeds or cuttings has not met the needs of afforestation. Therefore, *in vitro* propagation of *P. caribaea* from dominant seed plots is an effective way to develop varieties with improved yield and quality into production. In this study, we carried out an *in vitro* propagation for *P. caribaea* using seeds obtained from selected plus trees. *P. caribaea* seeds were germinated on cotton wool. The stem segments taken from the 40 - day-old seedlings were used in the sterilization process. The best sterilization result was using 0.1% $HgCl_2$ for 12 minutes. The optimal shoot multiplication medium was $MS^* + 0.25mg/l$ BAP + 4.25g/l agar + 30g/l sugar. The cycle of shoot multiplication was from 40 - 45 days, after that, there was a decrease in the number of shoots and a restriction in height growth in bud clusters. The most suitable medium for *in vitro* rooting was $1/2 MS^* + 1mg/l$ IBA + 4.5g/l agar + 30g/l sugar. *In vitro* shoots began to root after 4 weeks and completed rooting after 6 weeks.

Keywords: *Pinus caribaea*
Morelet, *in vitro*
propagation, plus tree,
cuttings, seedlings

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thông caribê (*Pinus caribaea* Morelet) là một trong những loài cây đã được du nhập và trồng thành công ở Việt Nam. Đây là loài cây nguyên sản ở vùng Trung Mỹ gồm các nước Bahamas, Cuba, Belize, Honduras, Guatemala và Nicaragua. Thông caribê gồm 3 biến chủng là: *Pinus caribaea* var. *caribaea*, *Pinus caribaea* var. *honderensis* và *Pinus caribaea* var. *bahamensis*. Đây là loài cây có thể sinh trưởng tốt trên nhiều loại đất khác nhau khi được trồng ngoài phạm vi phân bố tự nhiên của chúng. Vùng phân bố rừng trồng của loài được mở rộng cả về vĩ độ và kinh độ, cả vùng có khí hậu miền núi tới khí hậu cận nhiệt đới và vùng ven biển (Barnes *et al.*, 1978). Ở Việt Nam, Thông caribê được nhập vào trồng thử nghiệm ở nước ta từ năm 1963 tại Lâm Đồng (Lê Đình Khả, 1999) và tiếp tục được khảo nghiệm khá hoàn chỉnh theo dự án Sida ở Phú Thọ trong giai đoạn 1978 - 1984 (Stahl, 1984). Từ năm 1980 đến 1990, Trung tâm Nghiên cứu Giống cây rừng nay là Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp thuộc Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam phối hợp với nhiều cơ quan trong và ngoài Viện, đã tiến hành khảo nghiệm Thông caribê trên các vùng sinh thái khác nhau của nước ta. Các kết quả nghiên cứu bước đầu cho thấy Thông caribê là loài cây có sinh trưởng nhanh, thích ứng rộng với nhiều vùng sinh thái (Lê Đình Khả, 1999). Đặc biệt, Thông caribê có sinh trưởng khá tốt trên các vùng đất trồng, đòi hỏi nghèo dinh dưỡng (Phí Quang Điện, 1989). Chính vì vậy, Thông caribê được xác định là một trong những loài cây trồng rừng có triển vọng cung cấp gỗ với nhiều công dụng như: làm gỗ xây dựng, gỗ trụ mỏ, ván dăm, ván ép, bột sợi giấy dai, gỗ đóng tàu thuyền, ván ốp tường, gỗ làm cột điện, gỗ làm cột nhà, gỗ đóng đồ nội thất,... Loài cây này cũng đã được ghi nhận là loài cây trồng rừng cho giá trị kinh tế cao đồng thời góp phần nâng cao độ

che phủ của rừng, góp phần ổn định môi trường sinh thái. Tuy nhiên, việc nhân giống Thông caribê gặp một số vấn đề khó khăn, đó là từ nhiều năm nay nhiều khu rừng trồng không ra hoa kết quả hoặc có ra quả nhưng lại không có hạt hữu thụ hoặc số lượng hạt hữu thụ rất ít chưa đáp ứng đủ nhu cầu hạt giống cho trồng rừng. Nếu đem lượng hạt này gieo, trồng vườn vật liệu và nhân giống hom thì sản lượng hom cũng không lớn và đòi hỏi thời gian nhân giống dài nên khó đáp ứng được nhu cầu trồng rừng. Nếu ghép cây trội để xây dựng vườn giống cây ghép cung cấp hạt thì thời gian để sản xuất được hạt giống cũng phải mất tối thiểu 5 - 7 năm. Trong khi đó nguồn hạt giống nhập ngoại giá thành tương đối cao. Vì thế nghiên cứu nuôi cấy mô (nuôi cấy *in vitro*) cho Thông caribê là hướng đi được đánh giá là thích hợp trong tình hình hiện tại.

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định các thông số thích hợp cho quá trình nhân giống *in vitro* Thông caribê từ các lô hạt thu từ các cây trội đã được chọn lọc để góp phần phát triển các nguồn giống có chất lượng di truyền được cải thiện vào sản xuất.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Hỗn hợp 8 g hạt Thông caribê, tương đương với 800 - 900 hạt của 10 lô hạt thu từ 10 cây trội được chọn lọc vườn giống thế hệ 1,5 tại Cẩm Quỳ, Ba Vì, Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Môi trường và điều kiện nuôi cấy

Quá trình nuôi cấy Thông caribê sử dụng môi trường MS (Murashige, Skoog, 1962) có sự thay đổi hàm lượng các chất đa lượng, vi lượng, vitamin (kí hiệu MS^{*}).

Tùy theo các thí nghiệm mà môi trường MS* được bổ sung vào các chất điều hòa sinh trưởng như: BAP (6 - Benzyl amino purine), IBA (3 - Indol Butyric Acid), các chất độn như đường và agar. Các loại môi trường nuôi cấy đều được điều chỉnh pH = 5,8.

Các thí nghiệm được duy trì trong điều kiện phòng thí nghiệm với: Số giờ chiếu sáng trong ngày là 10 h/ngày, nhiệt độ duy trì ở $26 \pm 2^\circ\text{C}$, cường độ chiếu sáng 2.000 - 3.000 lux.

Các dụng cụ và môi trường nuôi cấy được hấp khử trùng ở điều kiện nhiệt độ 121°C trong thời gian 20 - 40 phút.

Quá trình nuôi cấy được tiến hành tại phòng thí nghiệm nuôi cấy mô của Bộ môn Công nghệ Tế bào Thực vật thuộc Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp.

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

- *Ảnh hưởng của thời gian và nồng độ HgCl₂ tới khử trùng mẫu*: thí nghiệm khử trùng được tiến hành theo 2 giai đoạn:

- + Nảy mầm hạt: Hạt Thông caribê được rửa dưới vòi nước chảy, hạt được đặt trên mặt lớp bông gòn lót trong khay hoặc đĩa petri được thấm ẩm nước. Sau đó đặt đĩa hoặc khay hạt ở nơi thoáng mát, nhiều ánh sáng mặt trời, giữ ẩm cho hạt hàng ngày. Hạt bắt đầu nảy mầm sau 5 - 7 ngày và phát triển thành cây mầm hoàn chỉnh sau 35 - 40 ngày (Hình 1a và 1b).

- + Khử trùng thân mầm: Chọn cây mầm phát triển đầy đủ với 6 - 8 lá kim, chiều dài lá khoảng 2,0 cm, ngọn phát triển rõ. Cắt bỏ một phần thân và rễ, khử trùng phần ngọn theo 2 bước chính:

- * Khử trùng thô: Rửa sạch mẫu dưới vòi nước chảy, ngâm/lắc nhẹ cùng dung dịch xà phòng loãng trong 3 phút, rửa lại dưới vòi nước cho

sạch xà phòng và lắc nhẹ trong dung dịch cồn 70% trong 2 phút, sau đó tráng lại với nước cất vô trùng từ 3 - 5 lần.

- * Khử trùng tinh: Sử dụng dung dịch clorua thủy ngân HgCl₂ ở nồng độ 0,05% và 0,1%, ngâm và lắc nhẹ với các khoảng thời gian 8 phút, 10 phút, 12 phút và 15 phút. Sau đó mẫu vật được tráng sạch bằng nước cất vô trùng từ 3 - 5 lần trước khi đưa vào môi trường nuôi cấy.

Mẫu đã khử trùng được cấy vào môi trường tái sinh chồi ban đầu là MS cải tiến (MS*) + 4,25 g/l agar + 30 g/l đường sucrose, không bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng và vitamin đựng trong bình tam giác 250 ml, mỗi bình 2 - 3 mẫu.

Thí nghiệm bố trí với 3 lần lặp, 30 mẫu/lặp.

Theo dõi sự phát triển của mẫu, định kỳ loại bỏ mẫu nhiễm, tiến hành thu số liệu sau khử trùng từ 5 - 30 ngày.

Số liệu theo dõi: Số mẫu sống, số mẫu nhiễm, số mẫu bật chồi.

- *Ảnh hưởng của nồng độ BAP bổ sung trong nhân nhanh chồi*

Sau 30 ngày cụm chồi đã hình thành, tiến hành cấy chuyển sang môi trường nhân nhanh chồi. Môi trường nhân nhanh chồi được sử dụng là môi trường MS* + 30g/l sucrose + 4,25g/l agar được bổ sung BAP với 4 nồng độ: 0 mg/l; 0,25 mg/l; 0,5 mg/l và 1,0 mg/l (theo phương pháp của Akaneme và Eneobong, 2008).

Cụm chồi sau nuôi cấy 40 - 45 ngày được tách thành chồi đơn lẻ hoặc cụm chồi nhỏ cấy chuyển sang môi trường mới.

Chỉ tiêu theo dõi là số chồi/cụm và chiều cao chồi (cm).

- *Ảnh hưởng nồng độ IBA trong quá trình tạo rễ in vitro*

Chồi được chọn là chồi khỏe mạnh, chiều cao > 2,0 cm; chồi thẳng, cứng cáp, được chuyển

sang môi trường ra rễ. Môi trường tạo rễ *in vitro* là môi trường 1/2MS* + 4,5 g/l agar + 30 g/l đường sucrose được bổ sung IBA với 4 nồng độ: 0,5 mg/l; 1,0 mg/l; 1,5 mg/l và 2,0 mg/l (theo phương pháp của Akaneme và Eneobong, 2008).

Thí nghiệm bố trí với 3 lần lặp và 30 mẫu/lặp.

▪ Các chỉ tiêu tính toán:

$$1. \text{ Tỷ lệ mẫu sống (\%)} = \frac{\text{Tổng số mẫu sống}}{\text{Tổng số mẫu ban đầu}} \times 100$$

$$2. \text{ Chiều cao trung bình của chồi (cm)} = \frac{\text{Tổng chiều cao chồi}}{\text{Tổng số chồi đo đếm}}$$

$$3. \text{ Tỷ lệ ra rễ (\%)} = \frac{\text{Tổng số chồi ra rễ}}{\text{Tổng số chồi nuôi cấy}} \times 100$$

$$4. \text{ Chiều dài rễ trung bình (cm)} = \frac{\text{Tổng chiều dài rễ}}{\text{Tổng số rễ đo đếm}}$$

Chỉ tiêu theo dõi là thời gian ra rễ (tuần), số chồi ra rễ, số rễ/cây, chiều dài rễ (cm) và số rễ phụ.

2.2.3. Xử lý số liệu

Số liệu sau khi thu thập 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. Ảnh hưởng của thời gian và nồng độ HgCl₂ tới khả năng tạo mẫu sạch và nảy chồi Thông caribê

Quá trình khử trùng cho các đoạn chồi Thông caribê được tiến hành với dung dịch clorua thủy ngân HgCl₂ ở 2 nồng độ 0,05% và 0,1% trong khoảng thời gian 8 - 15 phút, kết quả khử trùng được thể hiện ở bảng 1 sau đây.

Bảng 1. Kết quả thí nghiệm khử trùng đoạn thân mầm Thông caribê sau 3 tuần nuôi cấy

CTKT	Nồng độ HgCl ₂ (%)	Thời gian (phút)	Số mẫu thí nghiệm	Số mẫu không nhiễm	Số mẫu nhiễm	Số mẫu chết	Tỷ lệ mẫu sống (%)
CT1	0,05	8	90	41	45	4	45,6
CT2		10	90	46	39	5	51,1
CT3		12	90	53	29	8	58,9
CT4		15	90	61	20	9	67,8
CT5	0,1	8	90	47	27	6	52,2
CT6		10	90	60	21	9	66,7
CT7		12	90	73	5	12	81,1
CT8		15	90	70	1	19	77,8
	<i>F_{tinh}</i>						56,21
	<i>F_{tra bảng}</i>						5,4

Kết quả thí nghiệm cho thấy tỷ lệ mẫu sống không nhiễm có xu hướng tỷ lệ thuận với nồng độ và thời gian khử trùng, tức là nồng độ và thời gian khử trùng càng thấp thì tỷ lệ mẫu sạch càng thấp. Tuy nhiên, nếu nồng độ và thời gian khử trùng cao quá thì tỷ lệ này cũng sẽ giảm đi. Kết quả khử trùng mẫu vật cho thấy khi sử dụng $HgCl_2$, tỷ lệ mẫu sống và không bị nhiễm dao động từ 45,6 - 81,1%. Đây là tỷ lệ khá cao so với một số nghiên cứu trước đây về khử trùng cho một số giống cây rừng (Hà Huy Thịnh *et al.*, 2011) cũng như cao hơn so với nghiên cứu của Chengqun và Huang

(2012). Các tác giả đã tiến hành khử trùng cho các chồi thu từ cây mẹ 5 tuổi của thông lai giữa *P. elliottii* và *P. caribaea* với tỷ lệ tạo mẫu sạch và bật chồi chỉ đạt tối đa 32,4%. Việc sử dụng cây non từ hạt mới nảy mầm để vào mẫu đã được Akaneme và Eneobong (2008) tiến hành trong nghiên cứu thiết lập hệ thống tái sinh chồi qua mô sẹo cho biến chủng PCH và cho thấy tùy môi trường nuôi cấy mà tỷ lệ tạo mô sẹo thành công sau khi vào mẫu có thể đạt tới 100%. Chúng tôi, việc sử dụng cây hạt mới nảy mầm là tương đối thích hợp cho quá trình tạo mẫu sạch ở Thông caribê.



Hình 1. Hạt Thông caribê nảy mầm (a), (b) và cụm chồi *in vitro* sau khử trùng 30 ngày (c)

Sử dụng $HgCl_2$ ở nồng độ 0,05% cho tỷ lệ mẫu sống không nhiễm dao động từ 45,6 - 67,8%, kết quả khử trùng này thấp hơn khi sử dụng $HgCl_2$ 0,1% trong cùng khung thời gian 8 - 15 phút ($F_{tính} > F_{tra\ b\ang}$), với tỷ lệ đạt từ 52,2 - 81,1%. Trong các công thức thí nghiệm, CT7 với nồng độ $HgCl_2$ 0,1% trong 12 phút cho kết quả khử trùng tốt nhất cho tỷ lệ mẫu sống không nhiễm đạt tới 81,1%. Tuy nhiên, ở CT8 (khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% trong 15 phút) dù có tỷ lệ mẫu sống tương đối cao (77,8%) và số mẫu nhiễm rất thấp, nhưng số mẫu chết lại cao hơn. Điều này có thể do thời gian khử trùng quá lâu, hóa chất khử trùng ngấm sâu vào mẫu vật nên đã ảnh hưởng đến mô tế bào và đặc biệt là phần đỉnh sinh trưởng của mẫu cấy nên mẫu không phát triển được sau khi khử trùng.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân chồi Thông caribê

Sau 5 tuần khử trùng, các cụm chồi được hình thành trong môi trường tái sinh chồi, lúc này các cụm chồi cần được cắt bớt phần gốc và cấy chuyển sang môi trường nhân chồi có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng BAP với 4 thang nồng độ khác nhau để xác định môi trường nhân chồi thích hợp. Kết quả thí nghiệm cho thấy chất điều hòa sinh trưởng BAP ở các nồng độ khác nhau ảnh hưởng có ý nghĩa đến khả năng nhân chồi của Thông caribê ($F_{tính} > F_{tra\ b\ang}$) sau 6 tuần nuôi cấy. Trong các môi trường thí nghiệm, môi trường có bổ sung 0,25 mg/l BAP cho kết quả tốt nhất cả về số chồi/cụm và chiều cao chồi, tương ứng đạt trung bình từ 4,8 đến 5,7 chồi/cụm,

chiều cao chồi từ 4,1 đến 5,2 cm (Hình 2). Các chỉ số này giảm rõ rệt khi sử dụng BAP ở các nồng độ cao hơn (Bảng 2). Kết quả thí nghiệm xác định môi trường nhân chồi cho thông lai giữa *P. elliottii* và *P. caribaea* của Chengqun và Huang (2012) cho thấy với môi trường DCR có bổ sung 2,5mg/l 6-BA là tốt nhất với hệ số nhân chồi đạt 6,2 chồi/cụm với tỷ lệ tái sinh chồi lên tới 96,7%. Sự khác nhau về kiểu gen, môi trường nuôi cấy có thể là nguyên

nhân dẫn đến việc chênh lệch về nồng độ BAP được bổ sung vào môi trường nhân chồi giữa 2 nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy sau 6 tuần cụm chồi có hiện tượng giảm số lượng chồi và hạn chế tăng trưởng chiều cao, nguyên nhân của hiện tượng này có thể do nguồn dinh dưỡng đã hết và sự cạnh tranh dinh dưỡng giữa các cụm chồi. Vì vậy, 6 tuần là khuyến cáo cho 1 chu kỳ cấy chuyển của Thông caribê.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP lên sự phát triển của cụm chồi sau 6 tuần nuôi cấy

Nồng độ BAP (mg/L)	Mẫu cấy ¹	Số chồi/cụm		Chiều cao chồi (cm)	
		TB	Sđ	TB	Sđ
0	30	4,8	1,1	4,1	0,4
0,25	30	5,7	1,4	5,2	0,5
0,5	30	3,4	1,4	3,0	0,3
0,75	30	2,4	0,9	2,5	0,3
$F_{tính}$		89,8		476,4	
$F_{tra\ bảng}$		2,7			

Ghi chú: ¹ mẫu cấy = Tổng số chồi này mầm từ tất cả các công thức khử trùng



Hình 2. Cụm chồi Thông caribê sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường bổ sung BAP 0,25 mg/l

3.3. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ Thông caribê

Ra rễ *in vitro* là giai đoạn cuối cùng của quá trình nhân giống với mục đích để tạo cây con hoàn chỉnh khỏe mạnh, có bộ rễ cứng cáp để

có thể sinh trưởng và phát triển tốt ở các giai đoạn tiếp theo.

Giai đoạn ra rễ cần hạn chế chồi phát sinh, vì thế chất dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy được điều chỉnh giảm đi một nửa (1/2 MS*) và

bổ sung IBA là phytohormon thuộc nhóm Auxin có tác dụng phân hóa tế bào chuyên biệt dẫn đến sự hình thành mầm rễ và phát triển thành bộ rễ hoàn chỉnh.

Bảng 3. Ảnh hưởng của IBA tới khả năng ra rễ của Thông caribê sau 4 - 6 tuần nuôi cấy

Nồng độ IBA (mg/l)	Thời gian xuất hiện rễ (tuần)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ (rễ/cây)	Chiều dài rễ (cm)	Rễ phụ (rễ/cây)	Ghi chú
0,5	5	37,8	1,5 ± 0,7	0,8 ± 0,3	4,3	
1,0	4	78,9	2,6 ± 1,0	1,9 ± 0,5	4,7	Gốc sùi
1,5	4	58,9	1,9 ± 0,9	1,5 ± 0,4	2,3	Gốc sùi
2,0	6	26,7	1,2 ± 0,7	1,6 ± 0,4	0	Gốc sùi
$F_{tính}$			66,7	52,5		
$F_{tra\ bảng}$			2,7			

Kết quả bổ sung IBA với các nồng độ khác nhau vào môi trường ra rễ cho thấy số rễ/cây và chiều dài rễ của Thông caribê tại các công thức thí nghiệm có sự khác biệt rõ rệt ($F_{tính} > F_{0,05\ tra\ bảng}$) (Bảng 3). Chồi được nuôi cấy trong môi trường ra rễ bổ sung IBA 1,0 mg/l cho kết quả tối ưu về cả 3 chỉ số tỷ lệ chồi ra rễ (78,9%), số rễ/cây (2,6 rễ) và chiều dài rễ (1,9 cm) so với 3 công thức nồng độ còn lại sau 4 - 6 tuần nuôi cấy (Hình 3). Ngoài ra, có thể thấy thời gian bắt đầu xuất hiện rễ cũng khác nhau giữa các nồng độ, dao động từ 4 - 6 tuần. Nồng độ càng cao sự ức

chế hình thành và phát triển rễ càng rõ thể hiện ở thời gian xuất hiện rễ, số rễ và chiều dài rễ. Chẳng hạn như ở nồng độ IBA 2,0 mg/l thời gian xuất hiện rễ kéo dài 6 tuần, số rễ và chiều dài đều giảm, đặc biệt là không có rễ phụ (Bảng 3). Kết quả thí nghiệm ra rễ của thí nghiệm này cao hơn so với nghiên cứu của Chengqun và Huang (2012) khi tiến hành thí nghiệm ra rễ cho thông lai *P. elliotii* và *P. caribaea* với môi trường 1/2DCR có bổ sung NAA nồng độ 3,0 mg/l với tỷ lệ ra rễ chỉ đạt tối đa 53,3% và số rễ/chồi trung bình đạt 9,4.



Hình 3. Tái sinh rễ *in vitro* Thông caribê trên môi trường bổ sung IBA 1,0 mg/l sau 6 tuần

IV. KẾT LUẬN

Từ các kết quả thu được cho thấy, nhân giống Thông caribê bằng phương pháp nuôi cấy mô

thông qua nguồn vật liệu là hạt Thông caribê được thu hái từ vườn giống là hoàn toàn khả thi để từ đó có thể cung cấp được cây con có nền tảng di truyền được cải thiện cho trồng

rừng, từng bước góp phần nâng cao năng suất chất lượng rừng trồng Thông caribê ở nước ta. Một số thông số cơ bản cho quá trình nhân giống *in vitro* được tóm tắt như sau:

- Sử dụng chất khử trùng là clorua thủy ngân $HgCl_2$ 0,1% trong 12 phút với vật liệu khử trùng là cây non nảy mầm từ hạt trong đĩa petri cho hiệu quả khử trùng tốt nhất với tỷ lệ mẫu sạch bột chồi lên tới 81,1%.

- Môi trường MS cải tiến (MS*) có bổ sung BAP nồng độ 0,25 mg/l cho hiệu quả nhân chồi tốt nhất với hệ số nhân chồi đạt 5,7 chồi/cụm và chiều cao trung bình chồi đạt 5,2 cm với chu kỳ cấy chuyển là 5 - 6 tuần.

- Thông caribê ra rễ tốt nhất trong môi trường 1/2MS cải tiến (MS*) bổ sung IBA nồng độ 1,0 mg/l với tỷ lệ ra rễ đạt tới 78,9%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Akaneme F. I. và Eneobong E. E., 2008. Tissue culture in *Pinus caribaea* Mor. var. *Hondurensis* barr. and golf. II: Effects of two auxins and two cytokinins on callus growth habits and subsequent organogenesis. African Journal of Biotechnology, 7 (6): 757 - 765.
2. Barnes R.D., Nikles D.G., Burley J., 1978. Progress and problems of genetic improvement of tropical forest trees. Department of Forestry commonwealth Forestry Institute university of Oxford, Brisbane, Queensland, Australia, 4 - 7 April.
3. Chengqun Lv. and Huang B., 2012. Stem Tissue Culture of *Pinus elliottii* × *Pinus caribaea*, in 2012 International Conference on Biomedical Engineering and Biotechnology, 1700 - 1703.
4. Hà Huy Thịnh, 2011. Chọn tạo giống và nhân giống cho một số loài cây trồng rừng chủ yếu. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
5. Lê Đình Khả, 1999. Chọn giống các loài thông thuộc chi *Pinus*. Thông tin chuyên đề, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Trung tâm Thông tin, số 7.
6. Murashige T. and Skoog F., 1962. A resied medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiology Plant, (15): 473 - 495.
7. Phí Quang Điện, 1989. Báo cáo về khảo nghiệm loài và xuất xứ thông. Trung tâm Nghiên cứu Giống cây rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.
8. Stahl P., 1988. Species and provenance trials on pine 1976 - 1984. Vinh Phu, Viet Nam.

Email tác giả chính: nhuquynh1509@gmail.com

Ngày nhận bài: 31/01/2023

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 06/03/2023

Ngày duyệt đăng: 10/03/2023