

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG MỘT SỐ DÒNG BẠCH ĐÀN LAI (*Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis*) UG105, UG111, UG117 BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CẤY *in vitro*

Lê Thị Hoa, Mai Thị Phương Thúy, Đỗ Hữu Sơn, Văn Thu Huyền,
Hoàng Thị Hồng Hạnh, Ngô Thu Hảo, Nguyễn Thị Hồng
Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhân giống các dòng bạch đàn lai mới (*Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis*) UG105, UG111, UG117 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 sạch nảy chồi hữu hiệu cao nhất: UG105 đạt 56,9%; UG111 đạt 55,4% và UG117 đạt 54,9%; trong khi đó khử trùng mẫu bằng Javen 2,5% trong 12 phút thu được kết quả có tỷ lệ mẫu nảy chồi hữu hiệu cao nhất cho ba dòng bạch đàn lai tương ứng 44,0%; 45,1% và 45,3%. Hệ số nhân chồi (HSNC) cao nhất đạt được trong môi trường MS* + 1 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA + 0,1 mg/l GA3 (dòng UG105 có HSNC là 2,72 lần và chiều cao chồi đạt 2,96 cm; dòng UG111 có HSNC là 2,90 lần và chiều cao chồi đạt 2,85 cm; dòng UG117 có HSNC đạt 2,92 lần và chiều cao chồi là 2,89 cm). Môi trường ra rễ thích hợp cho các dòng bạch đàn lai UG105, UG111, UG117 là 1/2 MS* + 1,5 mg/l IBA + 0,5 mg/l ABT cho tỷ lệ chồi ra rễ, số rễ trung bình/chồi cao nhất đạt 86,67% và 3,46 rễ/chồi (UG105); 82,22% và 3,42 rễ/chồi (UG111); 83,33% và 3,39 rễ/chồi (UG117). Thời gian huấn luyện cây mầm cho hiệu quả tốt nhất trước khi cho ra vườn ươm là 15 ngày cho tỷ lệ cây sống đạt 88,89% (UG105); 88,89% (UG111); 86,67% (UG117) và chiều cao tương ứng là 5,16 cm; 5,35 cm và 5,29 cm.

Từ khóa: Bạch đàn lai, khử trùng, nhân chồi, nuôi cấy *in vitro*, ra rễ.

***In vitro* PROPAGATION OF NEW EUCALYPTUS HYBRID CLONES (*Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis*) UG105, UG111 AND UG117**

SUMMARY

Study on propagating of new eucalyptus hybrid clones (*Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis*) UG105, UG111 and UG117 by tissue culture method was investigated. The results contributed to the process of selecting and creating new Eucalyptus hybrids. The sterilization of samples with 0.05% HgCl₂ in 6 minutes provided the highest effective rate of shoots for studied eucalyptus lines. The effective budding rate of UG105, UG111 and UG117 were 56.9%; 55.4% and 54.9%, respectively; while sterilization with 2.5% Javel in 12 minutes achieved 44.0%; 45.1% and 45.3%, respectively. Effective shoots were regenerated in modified Murashige and Skoog medium (MS*) supplemented in MS* + 1 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA + 0.1 mg/l GA3. Shoot multiplication rate and average shoot length were 2.72 times and 2.96 cm for UG105; 2.90 times and 2.85 cm for UG111; and 2.92 times and 2.89 cm for UG117. The suitable rooting medium for studied clones was 1/2 MS* + 1.5 mg/l IBA + 0.5 mg/l ABT to get the rooting rate of 86.67%; 82.22%; 83.33% respectively and the number of roots/buds were 3.46; 3.42; 3.39 respectively. The acclimatization time for best results was 15 days with the survival rate of 88.89% for UG105; 88.89% for UG111; and 88.67% for UG117, the height reached 5.16 cm; 5.35 cm and 5.29 cm respectively.

Keywords: Eucalyptus hybrid, shooting, sterilization, *in vitro* propagation, rooting.

I. 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 bởi khả năng thích nghi với thổ nhưỡng đất đai, điều kiện lập địa và khí hậu ở nhiều địa phương. Vùng núi cao phía Bắc nước ta bao gồm các tỉnh Hà Giang, Cao Bằng, Bắc Kạn, Lạng Sơn, Sơn La, Điện Biên, Lai Châu, Lào Cai và vùng cao Tây Nguyên có các tỉnh Lâm Đồng, Đắk Lắk, Gia Lai và Kon Tum, là những vùng có tiềm năng sản xuất lâm nghiệp lớn, với tổng diện tích đất quy hoạch cho lâm nghiệp chiếm khoảng 3,2 triệu ha, trong đó diện tích rừng trồng chỉ chiếm 60.000 ha, bên cạnh đó còn có khoảng 300.000 ha đất trồng có thể trồng rừng (Tổng cục Lâm nghiệp, 2020). Sau khi có chủ trương về việc chuyển đổi một số diện tích rừng trồng phòng hộ sang rừng trồng kinh tế thì diện tích đất rừng cho trồng rừng kinh tế có xu hướng tăng lên nhanh chóng, nhưng tiềm năng lâm nghiệp của khu vực này chưa được khai thác tương xứng. Một số đặc điểm về đất đai và khí hậu như: địa hình bị chia cắt, độ dốc lớn, thời tiết khắc nghiệt (chênh lệch nhiệt độ giữa mùa lạnh và mùa nóng là khá lớn, lượng mưa thấp, mùa khô kéo dài, mùa đông lạnh và có sương muối). Chính điều này đã khiến cho một số giống bạch đàn đã được chọn tạo cho vùng thấp ở duyên hải và vùng trung tâm có thể không thích nghi và phát triển tốt trong điều kiện như vậy.

Bạch đàn urô (*Eucalyptus urophylla*) là loài cây nguyên sản từ Indonesia. Đây là loài có tính thích ứng cao, sinh trưởng nhanh và hiện là loài cây trồng chủ lực trên các lập địa đất đồi trọc, nghèo dinh dưỡng ở vùng Trung tâm miền Bắc, Bắc Trung Bộ và vùng Tây Nguyên. Ngoài ra Bạch đàn urô còn có khả năng lai giống với các loài bạch đàn khác như Bạch đàn caman, Bạch

đàn terê, Bạch đàn pellita và Bạch đàn grandis tạo ra những giống lai có ưu thế lai vượt trội. Trong khi đó, Bạch đàn grandis (*Eucalyptus grandis*) ưa các dạng đất sâu, ẩm thoát nước tốt và có thành phần cơ giới nhẹ đến trung bình. Bạch đàn grandis đã được gây trồng tương đối rộng rãi ở vùng á nhiệt đới ở các nước như Nam Phi, Mỹ, Brazil và ở các vùng cao của các nước nhiệt đới như Malaysia, Indonesia, Trung Quốc, Sri Lanka (Hà Huy Thịnh, et al., 2011). Vì vậy, việc chọn tạo những giống bạch đàn lai UG (*Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis*) có khả năng thích nghi trên các lập địa đất đồi trọc, nghèo dinh dưỡng, sinh trưởng tốt, năng suất cao cho vùng cao là rất cần thiết.

Trong khuôn khổ đề tài “Nghiên cứu chọn giống bạch đàn để trồng rừng gỗ lớn cho vùng cao Tây Bắc” các khảo nghiệm dòng vô tính bạch đàn lai đã được tiến hành đánh giá tại Thuận Châu, Sơn La; Mường Ảng, Điện Biên và Tam Đường, Lai Châu ở giai đoạn 2 đến 3 tuổi. Kết quả đề tài đã chọn tạo và lựa chọn được một số dòng bạch đàn lai có triển vọng bao gồm: UG105, UG111 và UG117 là những dòng hứa hẹn cho năng suất cao thích hợp cho trồng rừng nguyên liệu tại vùng cao Tây Bắc.

Để giúp đưa nhanh các giống mới được chọn tạo vào sản xuất thì phương pháp nhân giống bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* đang được ứng dụng rộng rãi trên thế giới và ở Việt Nam. Cho đến nay đã có nhiều kết quả nghiên cứu về nhân giống bạch đàn nói chung và bạch đàn lai nói riêng bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*, nhưng chưa có các nghiên cứu về nhân giống bạch đàn lai UG bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*. Vì vậy, “Nghiên cứu nhân giống một số dòng bạch đàn lai (*Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis*) UG105, UG111 và UG117 bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*” đã được tiến hành.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các chồi bánh tẻ thu từ cây mẹ 6 tháng tuổi, sinh trưởng tốt, không sâu bệnh và đã được xử lý tạo chồi của các dòng vô tính bạch đàn lai UG105, UG111 và UG117 trong vườn vật liệu trồng tại vườn ươm của Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp.

Môi trường cơ bản được sử dụng trong các thí nghiệm là MS* + 30 g/l đường + 3,5g /l Agar, pH môi trường nuôi cấy 5,8 (Kế thừa kết quả nghiên cứu của Đoàn Thị Mai *et al.*, 2000 và 2011; Cán Thị Lan *et al.*, 2014).

2.2. Điều kiện thí nghiệm

Điều kiện thí nghiệm tuân theo tiêu chuẩn và quy định kỹ thuật của phòng nuôi cấy mô:

- + Nhiệt độ phòng nuôi 25 ± 2°C.
- + Các dụng cụ sử dụng và môi trường nuôi cấy được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong thời gian 20 đến 40 phút.
- + Cường độ ánh sáng khoảng 2.000 Lux.
- + Số giờ chiếu sáng trong ngày là 10 h/ngày.
- + pH của môi trường nuôi cấy là 5,8.
- + Giai đoạn nhân nhanh chồi nuôi trong điều kiện chiếu sáng 10 h/ngày với cường độ chiếu sáng 2.000 lux trong thời gian 1/4 chu kỳ nuôi, sau đó chuyển sang điều kiện tối hoàn toàn 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 2.000 lux trong thời gian 1/4 chu kỳ nuôi còn lại.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của các chất khử trùng và thời gian khử trùng tới tỷ lệ mẫu sạch (TN1)

Thí nghiệm được đánh giá riêng cho từng dòng. Mỗi dòng được bố trí với 6 công thức thí nghiệm cho 2 loại chất khử trùng là: HgCl₂

nồng độ 0,05% ở các thời gian khử trùng là 4 phút, 6 phút và 8 phút; và Javen nồng độ 2,5% trong các khoảng thời gian khử trùng là 10 phút, 12 phút và 14 phút. Mẫu sau khi khử trùng được tráng lại bằng nước cất vô trùng và xử lý cất tạo mẫu trước khi cấy vào môi trường nuôi cấy là MS cơ bản.

Mỗi công thức thí nghiệm khử trùng được tiến hành với 3 lần lặp, 30 chồi/công thức/lần lặp.

Sau 30 ngày nuôi cấy, tiến hành theo dõi và đo đếm các chỉ tiêu như: số mẫu sống (mẫu) và số mẫu nảy chồi hữu hiệu (mẫu).

2.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân nhanh chồi (TN2)

Các mẫu bột chồi sau khi khử trùng được cấy chuyển sang môi trường nhân chồi là môi trường MS cải tiến (MS*) có bổ sung BAP (6-benzyl aminopurine) theo các thang nồng độ 0,5 mg/l; 1,0 mg/l; 1,5 mg/l và 2,0 mg/l.

Mỗi công thức thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp, mỗi lặp tiến hành cho 30 mẫu/công thức thí nghiệm.

Tiến hành theo dõi và đo đếm các chỉ tiêu gồm số chồi mới hình thành (chồi), chiều dài trung bình của chồi (cm) và chất lượng chồi sau 20 ngày nuôi cấy.

2.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng kết hợp của BAP và NAA đến khả năng tạo cụm chồi (TN3)

Sử dụng kết quả xác định nồng độ BAP thích hợp nhất ở thí nghiệm 2 làm công thức đối chứng và tiến hành các công thức bổ sung NAA (Axit Naphthaleneacetic) ở các mức nồng độ: 0,25 mg/l; 0,50 mg/l; 0,75 mg/l và 1,00 mg/l.

Mỗi công thức thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp, mỗi lặp tiến hành cho 30 mẫu/công thức thí nghiệm.

Tiến hành theo dõi và đo đếm các chỉ tiêu gồm số chồi mới hình thành (chồi), chiều dài trung bình của chồi (cm) và chất lượng chồi sau 20 ngày nuôi cấy.

2.3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng kết hợp của BAP và NAA và GA3 đến khả năng tạo cụm chồi (TN4)

Sau khi xác định được nồng độ BAP thích hợp nhất (thí nghiệm 2) và nồng độ NAA thích hợp (thí nghiệm 3), tiến hành bổ sung GA3 ở các mức nồng độ: 0,05 mg/l; 0,10 mg/l và 0,15 mg/l. Kết quả xác định nồng độ BAP + NAA thích hợp nhất ở thí nghiệm 3 sẽ được dùng làm công thức đối chứng.

Mỗi công thức thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp, mỗi lặp tiến hành cho 30 mẫu/công thức thí nghiệm.

Tiến hành theo dõi và đo đếm các chỉ tiêu gồm số chồi mới hình thành (chồi), chiều dài trung bình của chồi (cm) và chất lượng chồi sau 20 ngày nuôi cấy.

2.3.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ IBA đến khả năng ra rễ (TN5)

Các chồi có chiều cao từ 2,0 cm trở lên, có thân, lá ngọn rõ ràng và nhiều hơn 2 cặp lá sẽ được cấy chuyển sang môi trường ra rễ 1/2MS* có bổ sung riêng rẽ IBA (Indol butyric acid) ở các nồng độ: 1,0 mg/l; 1,5 mg/l ; 2,0 mg/l và 2,5 mg/l.

Mỗi công thức thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp, mỗi lặp tiến hành cho 30 mẫu/công thức thí nghiệm.

Các chỉ tiêu được xác định gồm: số chồi ra rễ (chồi), số rễ/chồi (rễ) và chiều dài trung bình của rễ (cm) sau 20 ngày nuôi cấy.

2.3.6. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ IBA và ABT đến khả năng ra rễ (TN6)

Kết quả xác định nồng độ IBA thích hợp ở thí nghiệm 5 sẽ được lấy làm kết quả của công thức đối chứng, và tiến hành các bổ sung ABT (được phối hợp bởi Indol Acetic Acid (IAA) và NAA) ở các nồng độ 0,25 mg/l; 0,5 mg/l; 0,75 mg/l và 1,0 mg/l.

Mỗi công thức thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp, mỗi lặp tiến hành cho 30 mẫu/công thức thí nghiệm.

Các chỉ tiêu theo dõi gồm: số chồi ra rễ (chồi), số rễ/chồi (cái) và chiều dài rễ (cm) sau 20 ngày nuôi cấy.

2.3.7. Nghiên cứu ảnh hưởng số ngày huấn luyện dưới ánh sáng tán xạ tới cây con (TN7)

Cây mô có rễ hoàn chỉnh trong bình được huấn luyện dưới ánh sáng tán xạ trong thời gian khác nhau 5 ngày, 10 ngày, 15 ngày 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 trâu + 10% phân chuồng hoai, đây là loại giá thể phổ biến được sử dụng để trồng các giống cây *in vitro* cho bạch đàn.

Mỗi công thức thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp, mỗi lặp tiến hành cho 30 mẫu/công thức thí nghiệm.

Chỉ tiêu theo dõi: số cây sống, chiều cao cây (cm).

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

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

2.4.1. Các chỉ tiêu tính toán

$$\text{- Khử trùng mẫu: Tỷ lệ mẫu sống (\%)} = \frac{\sum \text{Mẫu sống}}{\sum \text{Mẫu thí nghiệm}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Tỷ lệ mẫu bật chồi (\%)} = \frac{\sum \text{Mẫu nảy chồi}}{\sum \text{Mẫu sống}} \times 100 \quad (2)$$

- Chỉ tiêu về chồi: Hệ số nhân chồi (lần) = $\frac{\sum \text{Số chồi mới tạo thành}}{\sum \text{Số chồi ban đầu}}$ (3)

Chiều cao trung bình của chồi (cm) = $\frac{\sum \text{Chiều cao của chồi}}{\sum \text{Số chồi đo đếm}}$ (4)

- Hiệu quả ra rễ: Số rễ trung bình (cái) = $\frac{\sum \text{Số rễ}}{\sum \text{Chồi ra rễ}}$ (5)

Chiều dài trung bình của rễ (cm) = $\frac{\sum \text{Chiều dài của rễ}}{\sum \text{Số rễ đo đếm}}$ (6)

Tỷ lệ chồi ra rễ (%) = $\frac{\sum \text{Chồi ra rễ}}{\sum \text{Chồi nuôi cấy}} \times 100$ (7)

- Huấn luyện cây con: Tỷ lệ sống (%) = $\frac{\sum \text{Số cây sống}}{\sum \text{Số cây thí nghiệm}} \times 100$ (8)

Tăng trưởng chiều cao (cm) = Chiều cao cây khi đo đếm - chiều cao ban đầu khi cây cấy vào giá thể

2.4.2. Xử lý số liệu

So sánh giữa các công thức thí nghiệm về tỷ lệ mẫu sống, tỷ lệ nảy chồi hữu hiệu, tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi, tỷ lệ chồi ra rễ, hệ số nhân chồi, chiều dài chồi, chiều dài rễ, số lượng rễ/cây và lượng tăng trưởng chiều cao bằng tiêu chuẩn F thông qua phân tích phương sai hai nhân tố, tìm công thức tốt nhất bằng tiêu chuẩn Duncan.

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và SPSS 20.0 thông qua phân tích phương sai hai nhân tố bằng phần mềm SPSS (Nguyễn Hải Tuất và Nguyễn Trọng Bình, 2005) và phần mềm Excel.

2.5. Địa điểm nghiên cứu

Địa điểm thực hiện các thí nghiệm: Phòng thí nghiệm - Bộ môn Công nghệ tế bào thực vật - Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các chất khử trùng và thời gian khử trùng tới tỷ lệ mẫu sạch

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 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 lồi lõm trên bề mặt mô nuôi cấy. Vì vậy, cần xác định được phương thức khử trùng thích hợp (chất và nồng độ chất khử trùng, thời gian khử trùng) cho từng mẫu nghiên cứu. Giai đoạn này cần đảm bảo các yêu cầu: tỷ lệ mẫu nhiễm thấp, tỷ lệ mẫu sống cao, tránh tổn thương mẫu và có khả năng sinh trưởng tốt thể hiện ở khả năng bật chồi của các mẫu thí nghiệm. Trong nghiên cứu này, 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.

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

Dòng	Loại hóa chất	Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Tỷ lệ mẫu bất chồi hữu hiệu (%)
UG105	HgCl ₂ 0,05%	4	68,9	56,5
		6	80,0	56,9
		8	71,1	48,4
	Javen 2,5%	10	53,3	39,6
		12	55,6	44,0
		14	47,8	34,9
<i>Sig</i>			0,000	0,000
UG111	HgCl ₂ 0,05%	4	77,8	51,7
		6	82,2	55,4
		8	70,0	47,6
	Javen 2,5%	10	50,0	35,6
		12	56,7	45,1
		14	44,4	35,0
<i>Sig</i>			0,000	0,000
UG117	HgCl ₂ 0,05%	4	62,0	50,8
		6	78,9	54,9
		8	70,0	49,2
	Javen 2,5%	10	50,0	40,0
		12	58,9	45,3
		14	46,7	38,1
<i>Sig</i>			0,000	0,000
<i>Sig của các dòng</i>			0,516	0,290

Kết quả bảng 1 cho thấy, khi kiểm tra thống kê bằng tiêu chuẩn F về chỉ tiêu tỷ lệ mẫu sống, và tỷ lệ mẫu nảy chồi hữu hiệu đối với từng dòng bạch đàn lai khi khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,05% và Javen 2,5 % trong các thời gian khác nhau là khác nhau với xác suất tính được Sig < 0,05, nhưng không có sự sai khác giữa các dòng bạch đàn lai với nhau (Sig > 0,05). Điều đó chứng tỏ, ở từng dòng bạch đàn lai thì các công thức khử trùng khác nhau trong các mức

thời gian khác nhau đã có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng tạo mẫu nảy chồi của từng dòng, nhưng không có sự sai khác rõ rệt giữa các dòng với nhau.

Khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,05% trong thời gian 6 phút cho tỷ lệ mẫu sạch nảy chồi hữu hiệu cao nhất: dòng UG105 đạt 56,9%; dòng UG111 đạt 55,4% và dòng UG117 đạt 54,9%; trong khi đó khử trùng mẫu bằng Javen 2,5% trong 12 phút thu được kết quả

có tỷ lệ mẫu nảy chồi hữu hiệu cao nhất cho ba dòng bạch đàn lai tương ứng là 44,0%; 45,1% và 45,3%.

Kết quả khử trùng đối với ba dòng bạch đàn lai đã chỉ ra rằng HgCl₂ 0,05% cho hiệu quả khử trùng cao hơn Javen 2,5%. Điều này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đó của Cán Thị Lan và đồng tác giả (2014), Đoàn Thị Mai và đồng tác giả (2000, 2011), Lê Thị Xuân

Quỳnh và đồng tác giả (2021). Mặc dù hiệu quả khử trùng mẫu vật khi sử dụng HgCl₂ 0,05% cho tỷ lệ mẫu sạch và tỷ lệ mẫu nảy chồi hữu hiệu cao hơn so với khi sử dụng Javen 2,5%, tuy nhiên để sản xuất cây giống trên quy mô công nghiệp khuyến khích khử trùng mẫu bằng Javen thay cho thủy ngân nhằm giảm độc hại cho nhân viên vào mẫu cũng như chất thải độc ra môi trường.



Hình 1. Mẫu sạch nảy chồi sau 30 ngày nuôi cấy

3.2. Xác định môi trường nhân chồi cho ba dòng bạch đàn lai UG105, UG111 và UG117

Môi trường có vai trò quan trọng quyết định khả năng phân chia, phân hóa và hình thái của các mẫu cây vì nó là nguồn cung cấp dinh dưỡng duy nhất cho mẫu vật nuôi cấy. Việc xác định môi trường nuôi cấy cơ bản là tiền đề để có thể thiết kế các thí nghiệm nhằm xác định môi trường nhân chồi, xác định môi trường ra rễ cho các đối tượng nghiên cứu. Môi trường cơ bản được sử dụng trong các thí nghiệm là MS* + 30 g/l đường + 3,5g /l Agar, pH môi trường nuôi cấy 5,8 (Kế thừa kết quả nghiên cứu của Đoàn Thị Mai *et al.*, 2000 và 2011; Cán Thị Lan *et al.*, 2014).

3.2.1. Ảnh hưởng BAP đến khả năng nhân chồi

Nhanh chồi là giai đoạn có ý nghĩa hết sức quan trọng đối với việc tạo ra số lượng lớn cây con *in vitro*. Các chất điều hòa sinh trưởng thực vật như Kinetin, BAP, NAA thường được bổ sung vào môi trường nuôi cấy làm tăng hệ số nhân của chồi. Trong nghiên cứu này thí nghiệm xác định môi trường nhân chồi thích hợp được tiến hành với 4 công thức thí nghiệm của BAP ở các nồng độ khác nhau (0,5 mg/l; 1,0 mg/l; 1,5 mg/l và 2,0 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

Dòng	MS* +BAP (mg/l)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều dài trung bình của chồi (cm)	Chất lượng chồi
UG105	0,5	1,68	1,62	+
	1,0	2,13	2,04	+++
	1,5	2,09	1,95	++
	2,0	1,77	1,59	+
Sig		0,000	0,001	
UG111	0,5	1,76	1,58	+
	1,0	2,19	2,02	+++
	1,5	1,97	1,86	++
	2,0	1,78	1,69	+
Sig		0,000	0,001	
UG117	0,5	1,75	1,78	+
	1,0	2,12	2,06	+++
	1,5	2,11	1,88	++
	2,0	1,78	1,70	+
Sig		0,000	0,001	
Sig của các dòng		0,837	0,352	

Ghi chú: “+” chồi kém xanh, thân chồi rất mảnh, thân phân lóng kém; “++” chồi xanh, thân chồi mảnh, thân phân lóng rõ ràng; “+++” chồi tươi xanh, chồi mập, thân phân lóng rõ ràng.

Kết quả phân tích thống kê về chỉ tiêu hệ số nhân chồi và chiều dài trung bình của chồi giữa các công thức thí nghiệm cho từng dòng khác nhau cho thấy đều có sự sai khác rõ rệt (Sig < 0,05), nhưng giữa các dòng khác nhau thì không có sự sai khác rõ rệt (Sig > 0,05).

Khi sử dụng hàm lượng BAP là 0,5 mg/l trong giai đoạn nhân chồi cho hệ số nhân chồi thấp (1,68 lần đối với dòng UG105, 1,76 lần với dòng UG111 và 1,75 lần với dòng UG117), cây sinh trưởng kém và chiều cao cây thấp. Bổ sung 1,0 mg/l BAP vào môi trường nuôi cấy đạt hiệu quả nhân chồi và chất lượng chồi là tốt nhất với cả ba dòng bạch đàn lai nghiên cứu (dòng UG105 có hệ số nhân chồi là 2,13 lần và chiều dài chồi trung bình là 2,04 cm; dòng UG111 tương ứng là 2,19 lần và 2,02 cm; dòng UG117 tương ứng là 2,12 lần và 2,06 cm).

Khi tăng hàm lượng BAP lên 1,5 mg/l thì hệ số nhân chồi giảm hơn so với môi trường bổ sung 1,0 mg/l BAP nhưng cũng tương đối tốt (hệ số nhân chồi của UG105, UG117 đều trên 2 lần và UG111 có hệ số nhân chồi là 1,97 lần) và các chồi sinh trưởng ở mức độ trung bình. Khi tăng hàm lượng BAP lên 2,0 mg/l thì hệ số nhân chồi của các dòng bạch đàn lai giảm xuống rõ rệt (hệ số nhân chồi của dòng UG105 giảm xuống chỉ còn 1,77 lần; UG117 giảm còn 1,78 lần và UG117 giảm còn 1,78 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.

Như vậy, đối với cả ba dòng bạch đàn lai nghiên cứu bổ sung 1,0 mg/l BAP vào môi trường nhân chồi cho hệ số nhân chồi, chiều dài trung bình của chồi và chất lượng 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 trong giai đoạn nhân chồi, như dòng bạch đàn lai UE35 bổ sung 1,0 mg/l BAP cho hiệu quả nhân chồi cao nhất, hệ số nhân chồi đạt 2,16 lần (Đoàn Thị Mai *et al.*,

2011) hay các dòng bạch đàn lai UP35, UP58, UP59, UP72, UP99 sử dụng BAP ở nồng độ 1,0 đến 1,5 mg/l cho hiệu quả nhân chồi tốt nhất, hệ số nhân chồi trung bình đạt 3,13 lần (Cần Thị Lan *et al.*, 2014).



Hình 2. Hình ảnh cụm chồi của ba dòng bạch đàn lai trong môi trường MS* + 1,0 mg/l BAP sau 20 ngày nuôi cấy

3.2.2. Ảnh hưởng phối hợp của BAP + NAA đến khả năng nhân chồi

Để chuẩn bị cho quá trình ra rễ cần phải nâng cao chất lượng chồi. Mục đích của giai đoạn này là tăng số lượng chồi có đủ tiêu chuẩn cho quá trình ra rễ. Thông thường môi trường nuôi cấy sẽ được bổ sung thêm auxin ở các nồng độ khác nhau tùy thuộc vào đối tượng nghiên cứu. Môi trường MS* có bổ sung BAP nồng độ 1,0 mg/l đã được xác định cho

quá trình nhân nhanh số lượng chồi cho bạch đàn lai. Tuy nhiên, khi sử dụng môi trường này, tỷ lệ chồi hữu hiệu thu được cho quá trình ra rễ là chưa cao, do đó để nâng cao chất lượng các chồi tạo được chuẩn bị cho ra rễ môi trường này còn được bổ sung thêm NAA ở các nồng độ 0,25 mg/l, 0,50 mg/l, 0,75 mg/l và 1,0 mg/l để tiếp tục nghiên cứu ảnh hưởng của phối hợp BAP và NAA đến khả năng nhân chồi.

Bảng 3. Ảnh hưởng phối hợp của 1,0 mg/l BAP+ NAA đến khả năng nhân nhanh chồi của ba dòng bạch đàn lai sau 20 ngày nuôi cấy

Dòng	MS*+BAP 1 mg/l+NAA (mg/l)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều dài trung bình của chồi (cm)	Chất lượng chồi
UG105	0,00 (ĐC)	2,13	2,04	+
	0,25	2,29	2,25	++
	0,50	2,55	2,38	+++
	0,75	2,32	2,36	++
	1,00	2,24	2,28	++
Sig		0,000	0,000	
UG107	0,00 (ĐC)	2,19	2,02	+
	0,25	2,31	2,23	++
	0,50	2,52	2,34	+++
	0,75	2,22	2,20	++
	1,00	2,26	2,16	++
Sig		0,000	0,000	

Bảng 3. Ảnh hưởng phối hợp của 1,0 mg/l BAP+ NAA đến khả năng nhân nhanh chồi của ba dòng bạch đàn lai sau 20 ngày nuôi cấy (tiếp)

Dòng	MS*+BAP 1 mg/l+NAA (mg/l)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều dài trung bình của chồi (cm)	Chất lượng chồi
UG117	0,00 (ĐC)	2,12	2,06	+
	0,25	2,29	2,28	++
	0,50	2,56	2,39	+++
	0,75	2,29	2,24	++
	1,00	2,37	2,26	++
<i>Sig</i>		0,000	0,000	
<i>Sig của các dòng</i>		0,574	0,058	

Ghi chú “+” chồi kém xanh, thân chồi rất mảnh, thân phân lỏng kém; “++” chồi xanh, thân chồi mảnh, thân phân lỏng rõ ràng; “+++” chồi tươi xanh, chồi mập, thân phân lỏng rõ ràng.

Kết quả tổng hợp ở bảng 3 cho thấy, đối với từng dòng bạch đàn lai trong môi trường nhân nhanh chồi cố định nồng độ BAP là 1,0 mg/l và bổ sung nồng độ NAA khác nhau sẽ cho ảnh hưởng khác nhau đến hệ số nhân chồi và chiều dài trung bình chồi của (Sig < 0,05) nhưng giữa các dòng khác nhau thì không có sự sai khác rõ rệt (Sig > 0,05). Các công thức thí nghiệm đều cho hệ số nhân chồi, chiều dài trung bình của chồi cao hơn và chất lượng chồi tốt hơn so với công thức đối chứng chỉ sử dụng môi trường MS* bổ sung 1,0 mg/l BAP.

Khi sử dụng phối hợp môi trường MS* bổ sung 1,0 mg/l BAP đồng thời bổ sung 0,5 mg/l NAA cho hệ số nhân chồi, chiều dài trung bình của chồi cao nhất và chất lượng chồi tốt nhất. Hệ số

nhân chồi, chiều dài trung bình của chồi lần lượt của các dòng UG105, UG111, UG117 là 2,55 lần và 2,38 cm; 2,52 lần và 2,34 cm; 2,56 lần và 2,39 cm. Khi bổ sung NAA ở nồng độ thấp hơn hoặc cao hơn thì hiệu quả nhân chồi giảm. Như vậy, để giúp tăng hiệu quả nhân chồi, tạo cụm chồi to khỏe, thân chồi mập thì việc xác định nồng độ NAA ở mức độ thích hợp để bổ sung vào môi trường là rất quan trọng. Khi sử dụng kết hợp BAP và NAA có tác dụng làm giảm quá trình lão hóa chồi và kích thích quá trình phát sinh hình thái chồi. Trong nghiên cứu này môi trường thích hợp cho 3 dòng bạch đàn lai UG105, UG111, UG117 là môi trường MS* có bổ sung 1,0 mg/l BAP đồng thời bổ sung 0,5 mg/l NAA.

**Hình 3.** Cụm chồi của ba dòng bạch đàn lai trong môi trường MS* + 1,0 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA sau 20 ngày nuôi cấy

3.2.3. Ảnh hưởng phối hợp của BAP + NAA + GA3 đến khả năng nhân chồi

Môi trường MS* + 1mg/l BAP + 0,5mg/l NAA có bổ sung GA3 ở các nồng độ 0,05 mg/l, 0,10

mg/l và 0,15 mg/l được sử dụng để tiếp tục nghiên cứu ảnh hưởng của phối hợp BAP với NAA và GA3 đến khả năng nhân chồi. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng phối hợp của 1,0 mg/l BAP+ 0,5 mg/l NAA và GA3 đến khả năng nhân nhanh chồi của ba dòng bạch đàn lai sau 20 ngày nuôi cấy

Dòng	MS* + BAP 1,0 mg/l + NAA 0,5 mg/l + GA3 (mg/l)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều dài trung bình của chồi (cm)	Chất lượng chồi
UG105	0,00 (ĐC)	2,55	2,38	+++
	0,05	2,68	2,60	+++
	0,10	2,72	2,96	+++
	0,15	2,64	2,73	+++
Sig		0,025	0,003	
UG111	0,00 (ĐC)	2,52	2,34	+++
	0,05	2,89	2,74	+++
	0,10	2,90	2,85	+++
	0,15	2,66	2,41	+++
Sig		0,025	0,003	
UG117	0,00 (ĐC)	2,56	2,39	+++
	0,05	2,63	2,71	+++
	0,10	2,92	2,89	+++
	0,15	2,61	2,65	+++
Sig		0,025	0,003	
Sig của các dòng		0,359	0,465	

Ghi chú “+” chồi kém xanh, thân chồi rất mảnh, thân phân lỏng kém; “++”chồi xanh, thân chồi mảnh, thân phân lỏng rõ ràng; “+++”chồi tươi xanh, chồi mập, thân phân lỏng rõ ràng.

Với xác suất tính được Sig < 0,05 điều đó chứng tỏ trong môi trường nhân nhanh chồi bổ sung 1,0 mg/l BAP và 0,5 mg/l NAA và GA3 ở các nồng độ khác nhau sẽ ảnh hưởng khác nhau đến hệ số nhân chồi và chiều dài trung bình chồi của từng dòng bạch đàn lai, nhưng giữa các dòng khác nhau thì không có sự sai khác rõ rệt (Sig > 0,05). Các công thức thí nghiệm đều cho hệ số nhân chồi, chiều dài trung bình của chồi cao hơn so với công thức đối chứng chỉ sử dụng môi trường MS* có bổ sung 1,0 mg/l BAP và 0,5 mg/l NAA. Tất cả các công thức thí nghiệm đều có chất lượng chồi tốt.

Kết quả ở bảng 4 còn cho thấy khi sử dụng phối hợp môi trường MS* có bổ sung 1,0 mg/l BAP với 0,5 mg/l NAA đồng thời bổ sung

0,1 mg/l GA3 cho kết quả hệ số nhân chồi và chiều dài trung bình chồi cao nhất, kết quả lần lượt cho các dòng UG105, UG111, UG117 là: 2,72 lần và 2,96 cm; 2,90 lần và 2,85 cm; 2,92 lần và 2,89 cm. Khi bổ sung GA3 ở nồng độ thấp hơn hoặc cao hơn thì hiệu quả nhân chồi cũng như chiều cao trung bình chồi đều giảm. Như vậy, môi trường MS* có bổ sung 1,0 mg/l BAP với 0,5 mg/l NAA đồng thời bổ sung 0,1 mg/l GA3 sẽ giúp tăng hiệu quả nhân chồi, tạo cụm chồi to khỏe, thân chồi mập và tăng chiều cao của chồi của ba dòng bạch đàn lai.

3.3. Xác định môi trường ra rễ cho ba dòng bạch đàn lai UG105, UG111, UG117

Tạo cây hoàn chỉnh là giai đoạn cuối cùng của quá trình nhân giống *in vitro* trong phòng thí

nghiệm 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.

3.3.1. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ

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. IBA được sử dụng với nồng độ khác nhau tùy từng đối tượng. Nghiên cứu tiến hành xác định ảnh hưởng của nồng độ IBA khác nhau tới hiệu quả ra rễ, bao gồm các nồng độ sau: 1,0 mg/l, 1,5 mg/l, 2,0 mg/l và 2,5 mg/l được bổ sung vào môi trường 1/2 MS* + 4,3 g/l agar + 30g/l đường.

Bảng 5. Ảnh hưởng phối hợp của IBA đến khả năng ra rễ của ba dòng bạch đàn lai sau 20 ngày nuôi cấy

Dòng	1/2MS*+IBA (mg/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ trung bình/chồi (cái)	Chiều dài trung bình của rễ (cm)
UG105	1,0	61,11	2,24	0,94
	1,5	72,22	2,49	1,29
	2,0	70,00	2,26	1,17
	2,5	62,22	2,20	0,89
<i>Sig</i>		0,001	0,000	0,003
UG111	1,0	58,89	2,18	0,95
	1,5	74,44	2,47	1,29
	2,0	62,22	2,23	1,28
	2,5	55,56	2,16	1,14
<i>Sig</i>		0,001	0,000	0,003
UG117	1,0	54,44	2,16	0,86
	1,5	68,89	2,43	1,38
	2,0	57,78	2,21	1,23
	2,5	54,44	2,20	1,13
<i>Sig</i>		0,001	0,000	0,003
<i>Sig của các dòng</i>		0,016	0,041	0,275

Kết quả phân tích thống kê về ảnh hưởng của nồng độ IBA đến tỷ lệ ra rễ thông qua 3 chỉ tiêu là tỷ lệ chồi ra rễ, số rễ trung bình/chồi và chiều dài trung bình của rễ đối với từng dòng bạch đàn lai trong nghiên cứu đều cho xác suất tính được $Sig < 0,05$, chứng tỏ nồng độ IBA khác nhau ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng ra rễ đối với ba dòng bạch đàn lai UG105, UG111, UG117. Xét về ảnh hưởng của nồng độ IBA đến tỷ lệ ra rễ, số rễ/chồi và chiều dài trung

bình của rễ giữa các dòng với nhau thì chỉ tỷ lệ ra rễ và số rễ trung bình/rễ là có sự sai khác giữa các dòng ($Sig < 0,05$), không có sự sai khác giữa các dòng về chỉ tiêu chiều dài trung bình của rễ ($Sig > 0,05$).

Kết quả ở bảng 5 cho thấy, nồng độ 1,5 mg/l IBA cho hiệu quả ra rễ tốt nhất đối với cả ba dòng bạch đàn lai nghiên cứu. Kết quả đối với dòng UG105 cho tỷ lệ chồi ra rễ đạt 72,22%,

số rễ trung bình đạt 2,49 rễ/chồi và chiều dài trung bình của rễ đạt 1,29 cm; dòng UG111 có tỷ lệ chồi ra rễ đạt 74,44%, số rễ trung bình đạt 2,47 rễ/chồi và chiều dài trung bình của rễ đạt 1,29 cm; dòng UG117 có tỷ lệ chồi ra rễ là 68,89%, số rễ trung bình/chồi đạt 2,43 rễ/chồi và chiều dài trung bình của rễ đạt 1,38 cm. Rễ hình thành trong môi trường này có bộ rễ dạng chùm, hệ lông hút phát triển, tuy nhiên nhiều chồi có hiện tượng sùi và thâm đen ở gốc, không ra được rễ.

3.3.2. Ảnh hưởng phối hợp của IBA và ABT đến hiệu quả ra rễ

Kết quả đạt được ở thí nghiệm 5 cho thấy, khi chỉ sử dụng IBA bổ sung vào môi trường ra rễ thì tỷ lệ ra rễ chỉ đạt được từ 54,44 đến 74,44%. Để có thể nâng cao hiệu quả ra rễ, nghiên cứu tiếp tục thí nghiệm sử dụng môi trường 1/2MS* + 1,5 mg/l IBA được xác định ở trên sau đó bổ sung ABT ở các nồng độ 0,25 mg/l; 0,50 mg/l; 0,75 mg/l và 1,0 mg/l. Kết quả được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng phối hợp của 1,5 mg/l IBA + ABT đến quá trình ra rễ của ba dòng bạch đàn lai sau 20 ngày nuôi cấy

Dòng	1/2MS*+IBA 1,5 mg/l +ABT (mg/l)	Tỷ lệ mẫu ra rễ (%)	Số rễ/chồi (cái)	Chiều dài trung bình của rễ (cm)
UG105	0,00 (ĐC)	72,22	2,49	1,29
	0,20	80,00	3,25	1,53
	0,50	86,67	3,46	2,13
	0,75	81,11	3,22	1,81
	1,00	78,89	3,16	1,79
Sig		0,001	0,000	0,000
UG111	0,00 (ĐC)	74,44	2,47	1,29
	0,20	76,67	3,14	1,58
	0,50	82,22	3,42	1,92
	0,75	78,89	3,25	1,75
	1,00	76,67	3,17	1,76
Sig		0,001	0,000	0,000
UG117	0,00 (ĐC)	68,89	2,43	1,38
	0,20	77,78	3,24	1,68
	0,50	83,33	3,39	2,13
	0,75	82,22	3,26	1,76
	1,00	81,11	3,07	1,58
Sig		0,001	0,000	0,000
Sig của các dòng		0,388	0,597	0,645

Kết quả phân tích thống kê về sự ảnh hưởng đến tỷ lệ ra rễ, số rễ/chồi và chiều dài trung bình của rễ khi kết hợp ABT ở các nồng độ

khác nhau vào môi trường ra rễ có 1,5 mg/l IBA đều cho xác suất tính được cho từng dòng khác nhau và đều có sự sai khác rõ rệt (Sig <

0,05), nhưng giữa các dòng khác nhau thì không có sự sai khác rõ rệt (Sig > 0,05).

Khi bổ sung ABT ở nồng độ 0,5 mg/l vào môi trường ra rễ có sẵn IBA, hiệu quả ra rễ tốt nhất cho cả 3 dòng bạch đàn lai UG105, UG111 và UG117. Hiệu quả thực tế cho thấy, đối với ba dòng bạch đàn lai về tỷ lệ ra rễ, số rễ/chồi và chiều dài trung bình của rễ lần lượt là: 86,67%, 3,39 rễ/chồi và 2,13 cm đối với dòng UG105; 82,22%, 3,42 rễ/chồi và 1,92 cm đối với dòng UG111; 83,33%, 3,39 rễ/chồi và 2,13 cm đối

với dòng UG117 (bảng 6). Bộ rễ phát triển trong môi trường này đồng đều hơn, rễ trắng, tuy nhiên một số chồi vẫn còn hiện tượng sùi gốc rồi mới ra rễ.

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



Hình 4. Cây ra rễ hoàn chỉnh của ba dòng bạch đàn lai trong môi trường 1/2 MS* + 1,5 mg/l IBA + 0,5 mg/l ABT sau 20 ngày nuôi cấy

3.4. Ảnh hưởng của thời gian huấn luyện đến tỷ lệ cây sống và chiều cao cây con ở vườn ươm của ba dòng bạch đàn lai UG105, UG111, UG117

Huấn luyện cây mô được coi là một bước chuẩn 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 vào thực tiễn sản xuất. Giai đoạn này giúp cho cây con trong bình thích nghi dần với hoàn cảnh và điều kiện của môi trường tự nhiên, giúp cây khỏe mạnh và cứng cáp hơn, đạt tỷ lệ sống cao hơn khi đưa cây ra ngoài vườn ươm.

Sau khi cây đã ra rễ đầy đủ, bình ra rễ 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 ngày, 10 ngày, 15 ngày và 20 ngày. Cây con sau khi được huấn luyện sẽ được cấy vào giá thể với 70% đất đồi + 20% than trâu + 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 cây con của ba dòng bạch đàn lai ở vườn ươm sau 45 ngày cấy vào giá thể

Dòng	Thời gian huấn luyện (ngày)	Tỷ lệ sống (%)	Tăng trưởng chiều cao (cm)
UG105	5	73,33	3,94
	10	77,78	4,64
	15	88,89	5,16
	20	81,11	5,43
Sig		0,000	0,000
UG111	5	78,89	3,56
	10	85,56	4,53
	15	88,89	5,35
	20	78,89	5,83
Sig		0,000	0,000
UG117	5	76,67	3,81
	10	82,22	4,77
	15	86,67	5,29
	20	80,00	5,81
Sig		0,000	0,000
Sig của các dòng		0,503	0,586

Xét theo từng dòng bạch đàn lai thì thời gian huấn luyện cây mô khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ cây sống và lượng tăng trưởng chiều cao của từng dòng bạch đàn lai (Sig < 0,05), nhưng xét giữa các dòng khác nhau thì không có sự sai khác rõ rệt (Sig > 0,05).

Kết quả ở bảng 7 cho thấy, cây mô được huấn luyện 15 ngày cho tỷ lệ cây sống và lượng tăng trưởng chiều cao là tốt nhất đối với cả ba dòng bạch đàn lai nghiên cứu. Cây được huấn luyện trong khoảng thời gian này cho bộ rễ phát triển cân đối, rễ mập, cây cứng cáp, lá mở. Kết quả huấn luyện cây ra rễ 15 ngày trước khi cấy vào giá thể cho tỷ lệ sống và tăng trưởng chiều cao trung bình đối với UG105 lần lượt là 88,89% và 5,29 cm; đối với dòng UG 111 là 88,89% và 5,35 cm; đối với dòng UG117 là 86,67% và 5,29 cm.

Kết quả này tương tự nghiên cứu cho các dòng bạch đàn lai UP164, UP171, UP223 khi huấn luyện cây mô trước khi cấy cây vào giá thể 15 ngày cho tỷ lệ cây sống đạt từ 85,6 đến 88,9% và lượng tăng trưởng chiều cao từ 5,03 đến 5,22 cm (Lê Thị Xuân Quỳnh *et al.*, 2021). Một số kết quả nghiên cứu trước đó về thời gian huấn luyện thích hợp cho các dòng bạch đàn lai U29C3 là 8 đến 16 ngày cho tỷ lệ cây sống lên đến 93,3% (Đoàn Thị Mai *et al.*, 2000), với các dòng bạch đàn lai khác như UP35, UP58, UP59, UP72 và UP99 thời gian huấn luyện khoảng 6 đến 10 ngày cho tỷ lệ cây sống đều trên 90,0% (Cần Thị Lan *et al.*, 2014). Như vậy, các dòng bạch đàn lai khác nhau thì thời gian huấn luyện cũng khác nhau.

IV. KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu ở trên có thể rút ra một số kết luận sau:

- Khử trùng mẫu sử dụng HgCl₂ 0,05% trong thời gian 6 phút tỷ lệ mẫu sạch nảy chồi hữu hiệu cao nhất. Khử trùng bằng Javen 2,5% trong 12 phút cho tỷ lệ nảy chồi hữu hiệu đạt 44 -45,3% do đó có thể sử dụng thay thế thủy ngân để giảm mức độ độc hại cho người và môi trường.

- Môi trường nhân chồi tốt nhất cho ba dòng bạch đàn lai UG105, UG111 và UG117 là: MS* + 30 g/l đường + 3,5 g/l Agar + 1,0 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA + 0,1 mg/l GA3

- Môi trường ra rễ thích hợp cho ba dòng bạch đàn lai UG105, UG111 và UG117 là: 1/2 MS* + 30 g/l đường + 4,3 g/l Agar + 1,5 mg/l IBA + 0,5 mg/l ABT.

- Thời gian huấn luyện cây mô trước khi đưa cây ra ngoài vườn là 15 ngày cho tỷ lệ sống đạt 88,89 % với 2 dòng UG105 và UG111; 86,67% với dòng UG117.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cán Thị Lan, Triệu Thị Thu Hà, Hà Huy Thịnh, Nguyễn Đức Kiên, Phí Hồng Hải, Đồng Thị Ứng, Kiều Thị Hà, Nguyễn Thị Thu Dung, Trần Thị Thanh Hương và Văn Thu Huyền, 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.
2. Đoàn Thị Mai, Nguyễn Thị Mỹ Hương, Ngô Thị Minh Duyên và Nguyễn Việt Cường, 2000. Kết quả bước đầu về nhân giống bạch đàn lai bằng phương pháp nuôi cấy mô phân sinh. Tạp chí Lâm nghiệp, (10), trang 46-47.
3. Đoàn Thị Mai, Lê Sơn, Nguyễn Thị Mỹ Hương, Hà Huy Thịnh, Phan Thị Kim Thanh và Vũ Thị Ngọc, 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
4. Lê Thị Xuân Quỳnh, Khuất Thị Hải Ninh, Cán Thị Lan, Kiều Thị Hà, Hà Thị Lệ và Đỗ Hữu Sơn, 2021. Nghiên cứu nhân giống một số dòng bạch đàn lai mới (*Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus pellita*) UP223, UP171, UP164 bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*. Tạp chí Lâm nghiệp, (5), trang 24-37.
5. Hà Huy Thịnh, Phí Hồng Hải, Nguyễn Đức Kiên, 2011. Chọn tạo giống và nhân giống cho một số loài cây trồng rừng chủ yếu, tập 4. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội, 181 trang.
6. Hà Huy Thịnh, Nguyễn Đức Kiên, Đỗ Hữu Sơn, Cán Thị Lan, Nghiêm Quỳnh Chi, Trần Hồ Quang, Ngô Văn Chính, Mai Trung Kiên, Phạm Xuân Đình và Trần Hữu Biển, 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 lý sử dụng SPSS để xử lý số liệu nghiên cứu trong lâm nghiệp. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội, 181 trang.
8. Williams, E.R., Matheson, A.C. and Harwood, C.E., 2002. Experimental design and analysis for use in tree improvement. CSIRO publication, 174 pp. ISBN: 0 643 06259 9.

Email tác giả liên hệ: phuongthuy284@gmail.com

Ngày nhận bài: 20/11/2023

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 10/12/2023

Ngày duyệt đăng: 20/12/2023