

NGHIÊN CỨU TẠO CÂY BẠCH ĐÀN LAI UP (*Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus pellita*) TỨ BỘI BẰNG PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ COLCHICINE *in vitro*

Mai Thị Phương Thúy¹, Lưu Thị Quỳnh¹, Ngô Thu Hảo¹,
Nguyễn Thị Việt Hà¹, Lê Sơn¹, Jane Harbard²

¹ Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp

² Trường Đại học Tasmania

TÓM TẮT

Nghiên cứu này sử dụng colchicine để tạo dòng bạch đàn lai đa bội phục vụ cho chương trình cải thiện giống để trồng rừng gỗ lớn ở Việt Nam. Thí nghiệm được tiến hành trên 2 dòng bạch đàn lai UP54 và UP99 do Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp chọn tạo. Vật liệu thí nghiệm là đoạn thân mang mắt ngủ của chồi *in vitro* và được xử lý tạo đột biến bằng dung dịch colchicine ở các nồng độ 0% (đối chứng); 0,25; 0,5 và 0,75% trong thời gian 1, 2, 3, 4 và 5 ngày. Kết quả cho thấy: đối với dòng bạch đàn lai UP54, xử lý colchicine ở nồng độ 0,5% trong 3 ngày là thích hợp nhất để tạo cây bạch đàn tứ bội với tỷ lệ 33,33%; đối với dòng bạch đàn lai UP99, nồng độ và thời gian xử lý colchicine thích hợp để tạo cây bạch đàn tứ bội là 0,25% trong 4 ngày với tỷ lệ tạo đột biến là 24%. Bước đầu so sánh hình thái giữa cây tứ bội và cây nhị bội cho thấy lá của cây tứ bội có kích thước lớn hơn, dày hơn và màu xanh đậm hơn so với cây nhị bội.

Từ khóa: Bạch đàn lai, colchicine, tứ bội

INDUCTION OF TETRAPLOIDS FROM CULTURED SHOOTS OF EUCALYPTUS HYBRID (*Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus pellita*) BY TREATMENT WITH COLCHICINE

Mai Thi Phuong Thuy¹, Luu Thi Quynh¹, Ngo Thu Hao¹, Nguyen Thi Viet Ha¹, Le Son¹, Jane Harbard²

¹ Institute of Forest Tree Improvement and Biotechnology

² University of Tasmania

ABSTRACT

Polyploids from cultured shoots of Eucalyptus hybrid (clones UP54 and UP99) were produced by treatment of colchicine. Results showed that the combination of 0.5% for 3 days was the most appropriate condition for UP54 polyploidy induction with the induction rate of 33.33%. For UP99, the combination of 0.25% for 4 days is the most effective with the induction rate of 24%. By comparing the tetraploid plants with diploid cytotype in morphology, leaves of polyploid plants were thicker, larger, and darker green.

Keywords: Colchicine, Eucalyptus hybrid, tetraploid

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, bạch đàn (*Eucalyptus* sp.) đã được trồng rộng rãi ở nhiều tỉnh miền núi và ven biển. Rừng trồng bạch đàn đã góp phần đáp ứng nhu cầu gỗ nguyên liệu cho công nghiệp giấy, ván dăm, gỗ trụ mỏ, gỗ xây dựng và đồ gỗ nội thất, qua đó cải thiện mức thu nhập và mức sống của người dân nông thôn ở các vùng trồng rừng. Từ năm 1990 đến nay, công tác nghiên cứu chọn tạo giống các loài bạch đàn đã được quan tâm, đầu tư liên tục và bài bản thông qua các đề tài nghiên cứu, các dự án phát triển giống và các chương trình dự án khác như khuyến lâm, sản xuất thử nghiệm... và đã có những bước phát triển vượt bậc. Đến nay, đã có hơn 40 giống bạch đàn được chọn tạo và công nhận, được áp dụng rộng rãi vào sản xuất. Trong đó, các giống lai khác loài giữa các loài bạch đàn cho thấy có sự sinh trưởng nhanh hơn các loài bố mẹ, đặc biệt là nhanh hơn hẳn so với hậu thế thụ phấn tự do của các cây bố mẹ tham gia lai giống, thể hiện ưu thế lai về sinh trưởng rất rõ rệt (Lê Đình Khả *et al.*, 2005).

Bên cạnh chọn tạo giống truyền thống, việc áp dụng những tiến bộ của công nghệ sinh học bao gồm công nghệ gen và công nghệ tế bào trong nghiên cứu cải thiện giống cây rừng nhằm rút ngắn thời gian chọn tạo đã được quan tâm và tiến hành cho một số loài cây trồng rừng chủ lực. Đa bội thể, một hiện tượng tự nhiên xuất hiện khá phổ biến ở các loài thực vật (khoảng 70% loài thực vật có hoa), là sự tăng bội bộ nhiễm sắc thể đơn bội ($n = x$) trong một tế bào hoặc cùng loài (thể tự đa bội - autopolyploid) hoặc khác loài (thể dị đa bội - allopolyploid) (Ranney, 2006). Trong chọn tạo giống, cây đa bội được quan tâm bởi việc tăng sinh khối của các bộ phận sinh dưỡng so với cây nhị bội (ví dụ lá dày và rộng hơn, hoa lớn hơn, lóng thân dài hơn, kích thước hạt phấn,

khí khổng và trọng lượng hạt tăng), khả năng chống chịu cao hơn với những biến đổi của môi trường sống và kháng một số bệnh (Barringer, 2007; Levin, 1983; Ramsey và Schemske, 1998; Udall và Wendel, 2006). Hơn nữa, thể đa bội, đặc biệt là các thể đa bội lẻ (3x, 5x...), thường dẫn đến suy giảm khả năng sinh sản do dễ mắc lỗi trong quá trình phân bào giảm nhiễm, tạo nên các giống bất thụ một phần hoặc toàn phần, là một đặc tính sinh học quan trọng bởi tiềm năng tăng sinh khối và các chỉ tiêu đáng quan tâm khác khi năng lượng không bị tiêu hao cho quá trình sinh sản.

Nghiên cứu chọn tạo giống đa bội thể vẫn còn khá mới đối với cây lâm nghiệp ở Việt Nam, cho đến nay mới chỉ thực hiện đối với các loài keo nhiệt đới. Với việc áp dụng kỹ thuật tạo đa bội đã có kết hợp sử dụng nguồn vật liệu là các giống có năng suất cao, chất lượng tốt, việc chọn tạo giống đa bội theo hướng cải thiện sinh trưởng và tính chất gỗ nhằm phát triển tập đoàn giống phục vụ sản xuất là cần thiết. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định nồng độ colchicine và thời gian xử lý thích hợp để tạo cây bạch đàn lai tứ bội làm nguồn gen cây bố mẹ cho công tác lai tạo cây bạch đàn lai tam bội trong tương lai.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Chồi nuôi cấy mô của 2 dòng bạch đàn lai UP54 và UP99, là các giống đã được công nhận giống tiên bộ kỹ thuật theo quyết định số 65/QĐ-BNN-TCLN ngày 11 tháng 1 năm 2013 và là giống quốc gia theo quyết định số 761/QĐ-BNN-TCLN ngày 6 tháng 3 năm 2019 với năng suất đạt 25 - 32,5 m³/ha/năm.

- Môi trường được dùng để nuôi cấy mẫu sau khi xử lý là môi trường MS (Murashige, Skoog, 1962) được bổ sung đường sucrose (30 mg/l) và

agar (4,2 mg/l). Chất điều hòa sinh trưởng được thêm vào tùy theo thí nghiệm. Môi trường được chuẩn pH 5,8; hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong thời gian 20 phút.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Các chồi nuôi cấy mô được cắt bỏ lá, cắt thành từng đoạn khoảng 1 cm, mỗi đoạn có chứa ít nhất 1 mắt ngủ. Mẫu chồi được cho vào bình thủy tinh 250 ml có chứa 50 ml môi trường MS lỏng được bổ sung colchicine ở các nồng độ khác nhau. Colchicine được pha với nước cất và lọc vô trùng bằng màng lọc Millipor (0,22 μ m). Các thao tác được thực hiện trong điều kiện vô trùng.

Thí nghiệm tạo đa bội được bố trí với 3 nồng độ colchicine (0,25; 0,5 và 0,75%) và đối chứng không xử lý colchicine (0%) trong 5 khung thời gian xử lý (1, 2, 3, 4 và 5 ngày), mỗi công thức tiến hành với 3 lần lặp, mỗi lần lặp gồm 30 chồi/CTTN. Sau khi được xử lý trong môi trường lỏng có bổ sung colchicine, các chồi được lấy ra và rửa sạch bằng nước cất vô trùng từ 2 - 3 lần để loại bỏ colchicine dư thừa.

- Chồi sau khi rửa sạch được nuôi cấy trong môi trường nhân chồi cho bạch đàn lai (MS* + BAP 0,5 mg/l + NAA 0,5 mg/l + đường 30 g/l + agar 4,1 g/l) kế thừa từ nghiên cứu của Đoàn Thị Mai và Lê Sơn (2011), theo dõi khả năng nhân chồi của từng mẫu riêng lẻ sau khi xử lý tạo đa bội qua các lần cấy chuyển.

- Các chỉ tiêu theo dõi: Số lượng mẫu chết, số lượng mẫu sống, số lượng mẫu sống bật chồi. Số lượng mẫu sống được thu sau khi xử lý colchicine 15 ngày, số lượng mẫu sống bật chồi được thu sau khi xử lý colchicine 30 ngày.

- Các mẫu sau khi bật chồi được tiến hành nhân nhanh *in vitro*, sử dụng môi trường và kỹ thuật nhân chồi cho bạch đàn lai. Sau 3 lần cấy chuyển thì tiến hành ra rễ *in vitro* để tạo cây con

bằng môi trường 1/2MS* (môi trường MS được giảm một nửa các thành phần muối khoáng và vitamin) + IBA 2 mg/l + ABT 0,5 mg/l + đường 15 g/l + agar 4,3 g/l.

- Cây con 2 tháng tuổi ở vườn ươm được sàng lọc bằng hình thái và tiến hành kiểm tra độ bội thể bằng máy đo dòng chảy tế bào Cyflow Ploidy Analyser. Mẫu lá ngô (*Zea mays*) được sử dụng làm mẫu tham chiếu trong phương pháp đo dòng chảy tế bào. Mức độ đa bội thể được xác định dựa trên tỷ lệ hàm lượng DNA giữa mẫu tham chiếu (ngô) và mẫu thí nghiệm (bạch đàn):

$$R = \frac{\text{Chỉ số DNA của mẫu (sam)}}{\text{Chỉ số DNA của Ngô (maize)}}$$

Theo đó:

+ Cây được xác định là cây nhị bội (2n) nếu có tỷ lệ $R = 0,34$.

+ Cây được xác định là cây tứ bội (4n) nếu có tỷ lệ: $R = 0,66$.

- Xử lý số liệu: Các số liệu thu thập được xử lý trên máy tính bằng các chương trình Excel, theo đó:

$$\text{Tỷ lệ mẫu sống (\%)} = \frac{\text{Số mẫu sống}}{\text{Tổng số mẫu xử lý}} \times 100$$

$$\text{Tỷ lệ mẫu sống bật chồi (\%)} = \frac{\text{Số mẫu bật chồi}}{\text{Số mẫu sống}} \times 100$$

So sánh giữa các công thức thí nghiệm tạo đa bội thông phân tích phương sai một nhân tố bằng phần mềm SPSS (Nguyễn Hải Tuất và Nguyễn Trọng Bình, 2005).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của colchicine đến tỷ lệ sống của mẫu chồi bạch đàn lai

Kết quả về tác động của xử lý colchicine ở các nồng độ và thời gian khác nhau đến khả năng sống và bật chồi của 2 dòng bạch đàn lai UP54 và UP99 được thể hiện ở bảng 1 và bảng 2.

Bảng 1. Kết quả tác động của xử lý colchicine ở các nồng độ và thời gian khác nhau đến khả năng sống và bật chồi của bạch đàn lai dòng UP54

| Nồng độ (%) | Thời gian (ngày) | Số mẫu xử lý | Số mẫu sống | Tỷ lệ mẫu sống (%) | Số mẫu sống bật chồi | Tỷ lệ mẫu sống bật chồi (%) |
|-------------|------------------|--------------|-------------|--------------------|----------------------|-----------------------------|
| 0 (ĐC) | 1 | 30 | 29,67 | 98,90 | 28,00 | 94,37 |
| | 2 | 30 | 24,00 | 80,00 | 22,00 | 91,67 |
| | 3 | 30 | 14,67 | 48,90 | 12,67 | 86,37 |
| | 4 | 30 | 8,67 | 28,90 | 6,33 | 73,01 |
| | 5 | 30 | 7,00 | 23,33 | 4,67 | 66,71 |
| 0,25 | 1 | 30 | 29,00 | 96,67 | 27,67 | 95,41 |
| | 2 | 30 | 24,67 | 82,23 | 22,33 | 90,51 |
| | 3 | 30 | 13,00 | 43,33 | 11,00 | 84,62 |
| | 4 | 30 | 7,67 | 25,57 | 6,33 | 82,53 |
| | 5 | 30 | 6,67 | 22,23 | 4,67 | 70,01 |
| 0,5 | 1 | 30 | 27,33 | 91,10 | 24,00 | 87,82 |
| | 2 | 30 | 15,67 | 52,23 | 11,33 | 72,30 |
| | 3 | 30 | 13,67 | 45,57 | 9,67 | 70,74 |
| | 4 | 30 | 12,33 | 41,10 | 7,33 | 59,45 |
| | 5 | 30 | 9,00 | 30,00 | 5,00 | 55,56 |
| 0,75 | 1 | 30 | 22,33 | 74,43 | 21,00 | 94,04 |
| | 2 | 30 | 16,33 | 54,43 | 8,67 | 53,09 |
| | 3 | 30 | 12,00 | 40,00 | 7,00 | 58,33 |
| | 4 | 30 | 8,67 | 28,90 | 5,67 | 65,40 |
| | 5 | 30 | 7,33 | 24,43 | 4,33 | 59,07 |
| $F_{tính}$ | | | | 34,97 | | 3,51 |
| F_{crit} | | | | 3,49 | | 3,49 |

Bảng 2. Kết quả tác động của xử lý colchicine ở các nồng độ và thời gian khác nhau đến khả năng sống và bật chồi của bạch đàn lai dòng UP99

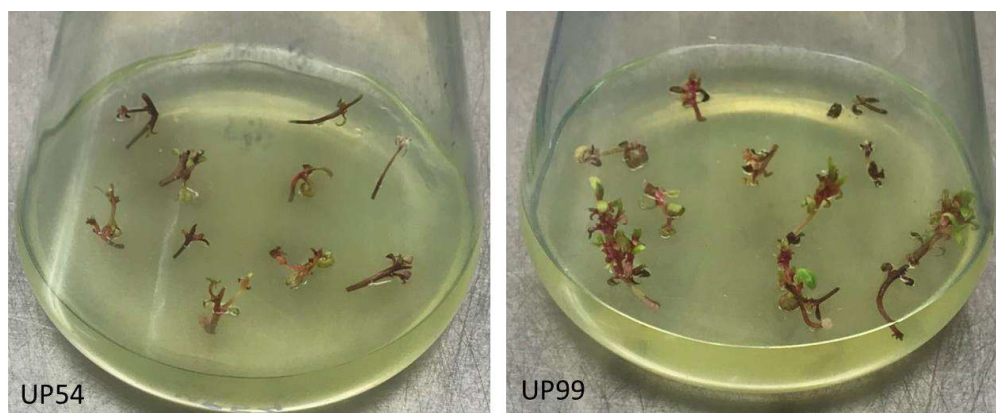
| Nồng độ (%) | Thời gian (ngày) | Số mẫu xử lý | Số mẫu sống | Tỷ lệ mẫu sống (%) | Số mẫu sống bật chồi | Tỷ lệ mẫu sống bật chồi (%) |
|-------------|------------------|--------------|-------------|--------------------|----------------------|-----------------------------|
| 0 (ĐC) | 1 | 30 | 30,00 | 100,00 | 30,00 | 100,00 |
| | 2 | 30 | 29,33 | 97,77 | 26,33 | 89,77 |
| | 3 | 30 | 26,33 | 87,77 | 24,33 | 92,40 |
| | 4 | 30 | 21,00 | 70,00 | 17,33 | 82,52 |
| | 5 | 30 | 17,67 | 58,90 | 13,33 | 75,44 |
| 0,25 | 1 | 30 | 28,67 | 95,57 | 27,00 | 94,18 |
| | 2 | 30 | 25,33 | 84,43 | 22,67 | 89,50 |
| | 3 | 30 | 17,33 | 57,77 | 14,67 | 84,65 |
| | 4 | 30 | 11,67 | 38,90 | 8,67 | 74,29 |
| | 5 | 30 | 10,67 | 35,57 | 7,33 | 68,70 |
| 0,5 | 1 | 30 | 27,33 | 91,10 | 25,00 | 91,47 |
| | 2 | 30 | 15,67 | 52,23 | 12,33 | 78,69 |
| | 3 | 30 | 14,00 | 46,67 | 10,00 | 71,43 |
| | 4 | 30 | 13,33 | 44,43 | 9,00 | 67,52 |
| | 5 | 30 | 8,33 | 27,77 | 5,67 | 68,07 |
| 0,75 | 1 | 30 | 23,00 | 76,67 | 19,67 | 85,52 |
| | 2 | 30 | 15,33 | 51,10 | 11,33 | 73,91 |
| | 3 | 30 | 11,67 | 38,90 | 7,33 | 62,81 |
| | 4 | 30 | 9,67 | 32,23 | 6,00 | 62,05 |
| | 5 | 30 | 8,33 | 27,77 | 4,67 | 56,06 |
| $F_{tính}$ | | | | 27,76 | | 4,11 |
| F_{crit} | | | | 3,49 | | 3,49 |

Kết quả cho thấy, thời gian và nồng độ xử lý colchicine có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ mẫu sống và tỷ lệ mẫu sống bật chồi của cả 2 dòng bạch đàn ($F_{tinh} > F_{crit}$). Đối với cả 2 dòng bạch đàn lai UP54 và UP99, khi xử lý cùng một nồng độ colchicine, tỷ lệ sống và tỷ lệ bật chồi của các mẫu sống có xu hướng giảm khi tăng thời gian xử lý. Tỷ lệ mẫu sống dao động trong khoảng từ 22,23 - 96,67% đối với dòng bạch đàn lai UP54 và từ 27,77 - 95,57% đối với dòng bạch đàn lai UP99. Khi xử lý bằng colchicine ở nồng độ 0,75% trong thời gian 5 ngày, tỷ lệ sống của chồi thấp nhất, chỉ đạt

27,8% đối với UP54 và 25,6% đối với UP99. Tuy nhiên, không phải tất cả các mẫu sống sau khi xử lý colchicine đều có thể tạo chồi, việc xử lý colchicine đã gây độc cho các tế bào mẫu là nguyên nhân của hiện tượng này. Tỷ lệ mẫu sống bật chồi của dòng bạch đàn lai UP54 đạt từ 53,09 - 95,41% và dòng bạch đàn lai UP99 là 56,06 - 94,18%. Một số nghiên cứu về xử lý colchicine trên một số loài bạch đàn khác như *Eucalyptus polybractea* (Fernando *et al.*, 2019), hoặc *Eucalyptus grandis* cũng cho kết quả tương tự (Han *et al.*, 2011).



Hình 1. Chồi bạch đàn được xử lý trong dung dịch colchicine



Hình 2. Mẫu bạch đàn sau khi xử lý bằng dung dịch colchicine 2 tuần

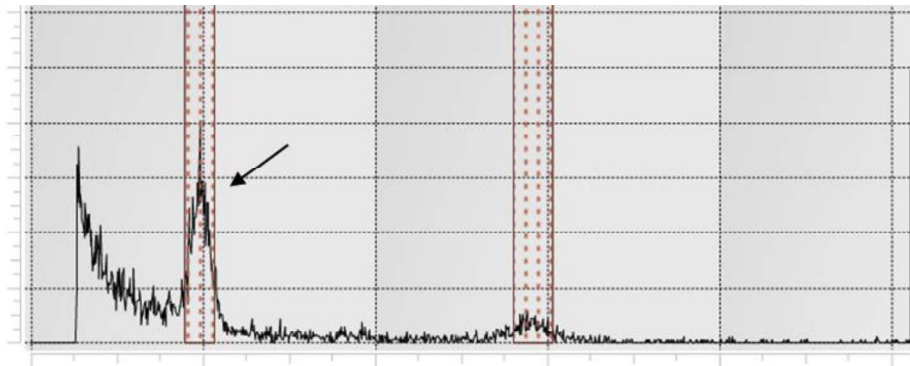
3.2. Kết quả kiểm tra mức độ đa bội thể

Colchicine là hóa chất làm phá hủy thoi vô sắc ở giai đoạn phân chia nhiễm sắc thể trong tế bào đang phân chia. Khi xử lý, colchicine làm cho

nhiễm sắc thể sau khi phân tách không được đi về hai cực của tế bào và ngăn cản quá trình phân chia tế bào (Hindmarsh, 1953), kết quả là tế bào có số nhiễm sắc thể gấp đôi ($2n = 4x$) so với bình thường ($2n = 2x$).

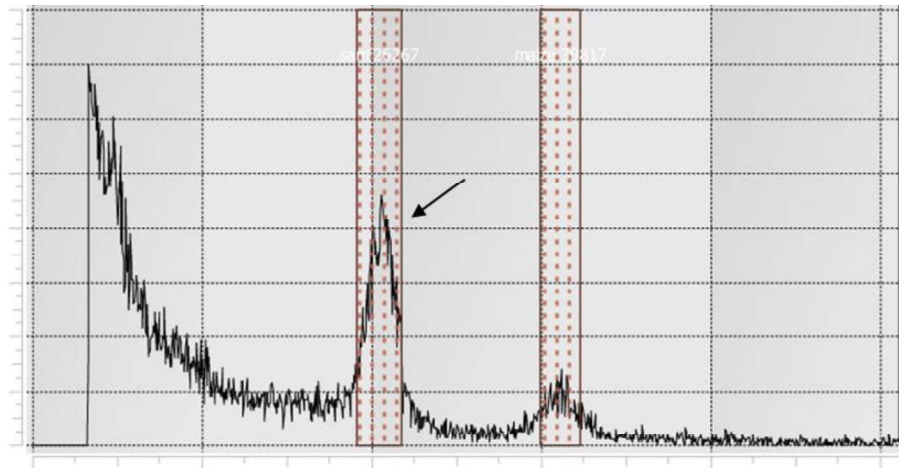
Cây con 2 tháng tuổi ở vườn ươm được tiến hành kiểm tra độ bội thể bằng máy đo dòng chảy tế bào Cyflow Ploidy Analyser. Kết quả kiểm tra bằng máy đo được thể hiện ở hình 3 và 4. Các cây tứ bội xuất hiện đỉnh có tỷ lệ hàm

lượng DNA so với mẫu tham chiếu là 0,66, gấp đôi hàm lượng so với cây nhị bội (0,34). Kết quả kiểm tra bước đầu đã xác định được 28 cây bạch đàn UP54 tứ bội và 34 cây bạch đàn UP99 tứ bội.



| Name | Part | Mean | CV | Median |
|-------|------|------|------|--------|
| maize | 288 | 1.00 | 2.04 | 37200 |
| sam | 1443 | 0.34 | 4.37 | 12542 |

Hình 3. Biểu đồ chỉ số DNA của cây nhị bội (2n)



| Name | Part | Mean | CV | Median |
|-------|------|------|------|--------|
| maize | 742 | 1.00 | 2.00 | 39817 |
| sam | 3136 | 0.66 | 3.23 | 26267 |

Hình 4. Biểu đồ chỉ số DNA của cây tứ bội (4n)

Kết quả về tác động của xử lý colchicine ở các nồng độ và thời gian khác nhau đến khả năng tạo đột biến tứ bội của 2 dòng bạch đàn UP54 và UP99 được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả về tác động của xử lý colchicine ở các nồng độ và thời gian khác nhau đến khả năng tạo đột biến tứ bội trên bạch đàn lai dòng UP54

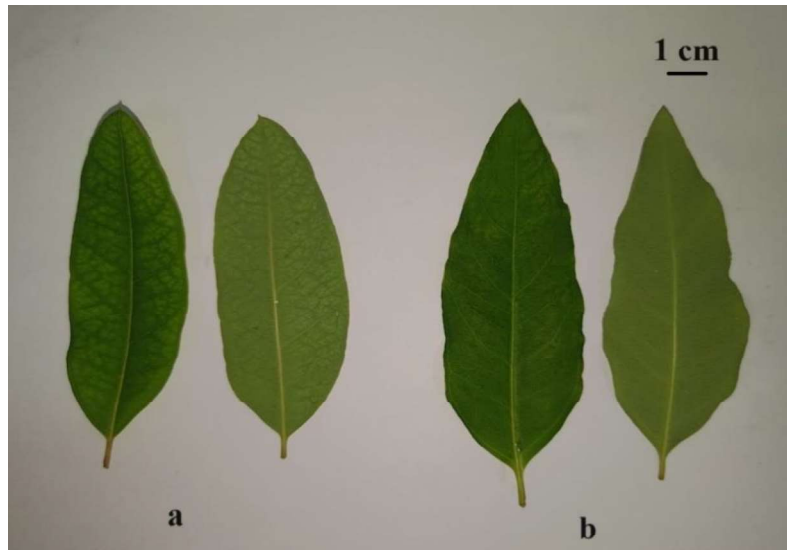
| Nồng độ colchicine (%) | Thời gian xử lý (ngày) | Tỷ lệ tạo cây tứ bội dòng UP54 (%) | Tỷ lệ tạo cây tứ bội dòng UP99 (%) |
|------------------------|------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 0,25 | 1 | 7,06 | 9,41 |
| | 2 | 8,70 | 10,29 |
| | 3 | 14,29 | 15,56 |
| | 4 | 20,00 | 24,00 |
| | 5 | 13,33 | 14,29 |
| 0,5 | 1 | 10,67 | 9,33 |
| | 2 | 23,53 | 13,51 |
| | 3 | 33,33 | 16,13 |
| | 4 | 11,43 | 7,14 |
| | 5 | 4,17 | 5,56 |
| 0,75 | 1 | 10,77 | 8,47 |
| | 2 | 17,65 | 14,71 |
| | 3 | 8,33 | 18,18 |
| | 4 | 5,00 | 5,56 |
| | 5 | 0,00 | 0,00 |
| $F_{tính}$ | | 24,89 | 39,11 |
| F_{crit} | | 3,22 | 3,22 |

Kết quả cho thấy, đối với dòng bạch đàn lai UP54, tỷ lệ tạo đột biến đa bội dao động trong khoảng từ 0,00 - 33,33%, xử lý colchicine ở nồng độ 0,5% trong 3 ngày là thích hợp nhất để tạo cây bạch đàn đột biến tứ bội với tỷ lệ 33,33%. Đối với dòng bạch đàn lai UP99, nồng độ và thời gian xử lý colchicine thích hợp để tạo cây bạch đàn đột biến tứ bội là 0,25% trong 4 ngày với tỷ lệ tạo đột biến là 24%. Ở nồng độ xử lý 0,75% trong 5 ngày, không tạo ra cây đa bội lý do là vì không còn cây sống sót.

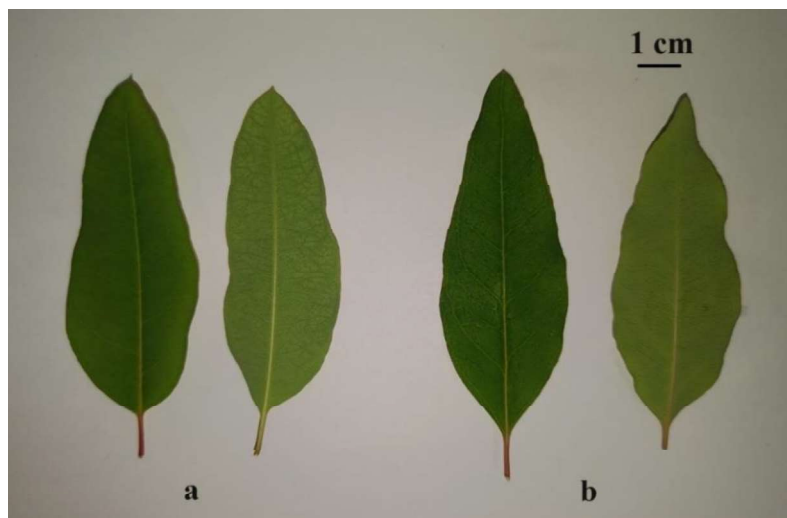
So sánh hình thái lá giữa cây nhị bội và tứ bội của 2 dòng UP54 và UP99 sau 6 tháng ở giai đoạn vườn ươm cho thấy lá của cây tứ bội có kích thước lớn hơn, dày hơn so với cây nhị bội (bảng 4). Thêm vào đó, lá của cây tứ bội có màu xanh đậm hơn, chóp nhọn hơn và mép lá quăn so với chóp lá tù và mép lá phẳng ở cây nhị bội (hình 5 và 6). Có thể thấy sự thay đổi về số lượng NST trên cây tứ bội đã dẫn đến sự khác biệt về hình thái lá của cây tứ bội so với cây nhị bội.

Bảng 4. Một số chỉ tiêu về hình thái của cây tứ bội (sau trồng 6 tháng)

| Dòng | Chiều dài lá trung bình (mm) | Chiều rộng lá trung bình (mm) | Chiều dày lá trung bình (mm) |
|------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 54 2x (ĐC) | 84,72 ± 2,07 | 35,35 ± 0,74 | 0,22 ± 0,01 |
| 54 4x | 99,73 ± 3,87 | 41,91 ± 3,63 | 0,26 ± 0,02 |
| 99 2x (ĐC) | 85,67 ± 1,93 | 35,58 ± 0,98 | 0,21 ± 0,02 |
| 99 4x | 89,78 ± 1,44 | 36,59 ± 0,99 | 0,25 ± 0,03 |



Hình 5. Hình thái lá cây UP54 nhị bội (a) và UP54 tứ bội (b)



Hình 6. Hình thái lá cây UP99 nhị bội (a) và UP99 tứ bội (b)

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã bước đầu tạo ra được các dòng bạch đàn lai tứ bội bằng cách xử lý chồi *in vitro* trong dung dịch colchicine ở các nồng độ và thời gian khác nhau. Xử lý colchicine ở nồng độ 0,5% trong 3 ngày là thích hợp nhất để tạo cây bạch đàn đột biến tứ bội đối với dòng bạch đàn lai UP54 với tỷ lệ tạo đột biến là 33,33%. Đối với dòng bạch đàn lai UP99, nồng độ và thời gian xử lý colchicine thích hợp để tạo cây tứ bội là 0,25% trong 4 ngày với tỷ lệ tạo đột

biến là 24%. Quan sát hình thái lá cho thấy, lá của cây tứ bội có kích thước lớn hơn, dày hơn và màu xanh đậm hơn so với cây nhị bội. Ngoài ra, lá của cây tứ bội có chóp nhọn hơn và mép lá quăn so với chóp lá tù và mép lá phẳng ở cây nhị bội. Tổng số 28 cây tứ bội dòng UP54 và 34 cây tứ bội dòng UP99 đã được tạo ra. Tuy nhiên, đây chỉ là kết quả sàng lọc bước đầu, cần tiếp tục theo dõi và đánh giá sự ổn định về độ bội thể của các dòng này để phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Barringer BC, 2007. Polyploidy and self-fertilization in flowering plants. *American Journal of Botany* 94, 1527-1533.
2. Đoàn Thị Mai, Lê Sơn, 2011. Nhân nhanh giống keo lai tự nhiên, keo lai nhân tạo, Bạch đàn uro, bạch đàn lai nhân tạo và Lát hoa mới chọn tạo bằng công nghệ tế bào. *Báo cáo tổng kết đề tài KHCN*, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.
3. Fernando SC, Goodger JQ, Chew BL, Cohen TJ, and Woodrow IE, 2019. Induction and characterisation of tetraploidy in *Eucalyptus polybractea* RT Baker. *Industrial Crops and Products*, 140, 111633.
4. Han C, Xu JM, Du ZH, Li GY, Zeng BS, Wu SJ, and Wang W, 2011. Polyploidy induction of clone of *Eucalyptus grandis* with colchicine. *African Journal of Biotechnology*, 10(66), 14711.
5. Hindmarsh MM, 1953. *The effects of colchicine on spindle of root-tip cells*. In Proceedings of the Linnean Society of New South Wales, 77, 300-306.
6. Levin DA, 1983. Polyploidy and novelty in flowering plants. *The American Naturalist* 122, 1-25.
7. Lê Đình Khả, Hà Huy Thịnh, Nguyễn Việt Cường, 2005. Cải thiện giống bạch đàn cho các chương trình trồng rừng ở Việt Nam. *KHCN NN&PTNT 20 năm đổi mới* - Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn - Tập 5, trang 169 - 178.
8. Murashige T and Skoog F, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology Plant* 15: 473-478.
9. Nguyễn Hải Tuất, Ngô Kim Khôi, 1996. *Xử lý thống kê kết quả nghiên cứu thực nghiệm trong nông lâm nghiệp trên máy vi tính*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, 126.
10. Ramsey J and Schemske DW, 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29, 467-501.
11. Ranney TG, 2006. Polyploidy: From Evolution to New Plant Development. *Combined Proceedings International Plant Propagators' Society* 56, 137-146.
12. Udall and Wendel, 2006. Polyploidy and Crop Improvement. *Crop Science*, 46 (S1), 3-14.

Email tác giả liên hệ: maiphuongthuy@vafs.gov.vn

Ngày nhận bài: 31/07/2024

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 12/08/2024; 13/08/2024

Ngày duyệt đăng: 10/09/2024