

NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH DÒNG BẠCH ĐÀN H1 BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY MÔ TẾ BÀO

Dương Tiên Viện¹, Phạm Ngọc Quỳnh¹, Phan Thị Thu Hiền^{1*}

¹Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

TÓM TẮT

Kỹ thuật nhân nhanh dòng Bạch đàn H1 đã được nghiên cứu thành công. Công thức khử trùng vào mẫu đối với dòng Bạch đàn H1 tốt nhất với dung dịch Javen 10% trong 15 phút và HgCl₂ 0,1% trong 10 phút cho tỷ lệ mẫu sống sót, không nhiễm nấm khuẩn là 46,4%. Khi hoàn thiện kỹ thuật cấy mẫu dòng Bạch đàn H1, sử dụng mẫu ở đợt 2 có tỷ lệ tạo mẫu sống cao nhất, đạt 45,73%. Môi trường MS có bổ sung 20 ml/l nước dừa (MS*) thích hợp nhất với việc nhân nhanh chồi dòng Bạch đàn H1, hệ số nhân chồi đạt cao nhất 1,51. Nhân nhanh dòng Bạch đàn H1 *in vitro* trên môi trường MS* có bổ sung BAP 1,5 mg/l và kinetin 1,0 mg/l hệ số nhân chồi là 3,2 - cao nhất so với tất cả các công thức. Môi trường tốt nhất để ra rễ trong điều kiện *in vitro* của dòng Bạch đàn H1 là MS* bổ sung NAA 1 mg/l, trên môi trường này, tỷ lệ ra rễ đạt cao nhất là 87,63%, rễ dài và khỏe, đủ điều kiện cho ra bầu đất. Quy trình nhân nhanh này có thể được cải biến và sử dụng cho các nghiên cứu nhân nhanh dòng Bạch đàn khác, phục vụ sản xuất cây trồng lâm nghiệp.

Từ khóa: Bạch đàn, dòng H1, nhân *in vitro*, nuôi cấy mô tế bào, quy trình.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bạch đàn (*Eucalyptus Urophylla*) là cây gỗ cứng quan trọng, có nguồn gốc từ Úc. Bạch đàn được sử dụng là cây trồng rừng chủ lực và phổ biến nhất có diện tích ước tính khoảng 17,8 triệu ha trên thế giới, đặc biệt trồng nhiều ở Trung Quốc, Ấn Độ, Nam Mỹ, Úc và Đông Nam Á. Các chi Bạch đàn gồm 700 loài và 3000 giống lai, nhiều loài có giá trị kinh tế cao như *E. camaldulensis*, *E. grandis*, *E. globulu*, *E. urophylla* (Lê Đình Khả và cộng sự, 1998).

Cây Bạch đàn được thế giới ưa chuộng bởi đặc tính chịu hạn, tăng trưởng nhanh, năng suất cao, kháng sâu bệnh và khả năng thích ứng tuyệt vời với chất đất và khí hậu. Khi sản xuất được mở rộng, nhu cầu về giống cũng tăng theo và phương pháp nhân giống cũng không ngừng cải tiến. Hiện nay cây Bạch đàn chủ yếu bằng phương pháp giâm hom, trồng bằng hạt. Phương pháp tuy đơn giản, tiết kiệm nhưng có một số hạn chế như hệ số nhân thấp, chất lượng cây giống kém, năng suất không cao, cây lên không đồng đều. Ngoài ra, cây giống Bạch đàn được thu không đảm bảo độ thuần về mặt sinh học do hiện tượng thụ phấn chéo xảy ra thường xuyên. Như vậy, việc trồng cây Bạch đàn bằng giống từ hạt có nhiều nhược điểm. Các nghiên cứu trước đã khẳng định năng suất

Bạch đàn thu được khi trồng bằng giâm hom hoặc hạt thấp hơn so với trồng bằng giống nuôi cấy mô. Nhiều công trình nghiên cứu đã chứng minh rằng, cây Bạch đàn nuôi cấy mô cho sinh khối cao hơn và đồng đều hơn so với cây Bạch đàn được trồng theo phương pháp giâm hom, trồng bằng hạt (Lê Đình Khả và cộng sự, 1998).

Tái sinh *in vitro* cây Bạch đàn đã được nghiên cứu từ những năm 1980 xuất phát từ nhu cầu thực tế là cần nhiều cây giống cho sản xuất. Nguồn nguyên liệu cho nhân giống *in vitro* chủ yếu được lấy từ chồi ngọn. Hàng triệu cây mô đã được tạo ra theo cách này. Năm 1987, đã có trên 20 loài Bạch đàn được nhân giống thành công bằng nuôi cấy mô. Trên thế giới, đã có nhiều công trình nghiên cứu nhân nhanh Bạch đàn, công trình này đã tiến hành từ rất lâu (Das *et al.*, 1990; Gomes *et al.*, 2009; Hajari, *et al.*, 2006; Shama *et al.*, 2000). Diện tích rừng trồng Bạch đàn bằng cây mô cũng đã tăng lên nhanh chóng ở nhiều nước như Ấn Độ, Ôxtraylia, Trung Quốc, Việt Nam... (Đặng Ngọc Hùng và cộng sự, 2013). Thông qua nuôi cấy mô *in vitro* nhân giống vô tính có thể tăng cường số lượng cây con lên gấp nhiều lần. Sự hình thành các chồi khỏe mạnh với hệ số nhân nhanh cao là một trong những điều kiện tiên quyết để tăng hiệu quả kinh tế. Ngày nay, chúng ta có thể tạo được một số lượng lớn cây Bạch

*Corresponding author: phanthithuhien@hpu2.edu.vn

đàn *in vitro* từ một mẫu cây thông qua nuôi cấy mô trong ống nghiệm.

Hàng năm các địa phương trong cả nước sản xuất khoảng 650 triệu cây giống trồng rừng, trong đó 150 triệu cây mô-hom, chiếm 23% như: Keo lai, Bạch đàn lai, Bạch đàn U rô, còn lại chủ yếu là cây gieo ươm từ hạt chiếm 77% như Bạch đàn, Keo tai tượng, Thông mã vĩ... Ở Việt Nam đã có một số nghiên cứu về nuôi cấy mô Bạch đàn (Đoàn Thị Thanh Nga và cộng sự, 2007; Triệu Thị Thu Hà, 2015; Đặng Ngọc Hùng, 2015; Nguyễn Thị Hương, 2017; Nguyễn Hoàng Bảo Ngân, 2013; Bùi Văn Thắng, 2014; Trần Thị Lệ, 2012; Đoàn Thị Mai, 2017). Dựa trên cơ sở khoa học và nhu cầu thực tiễn về cây giống Bạch đàn, chúng tôi thực hiện nhân giống dòng Bạch đàn H1 bằng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào để phục vụ sản xuất.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là đỉnh sinh trưởng và chồi nách của dòng Bạch đàn lai cao sản *Eucalyptus Urophylla* H1 5 - 7 tháng tuổi, được chọn lọc cá thể theo phương pháp cây trội trong rừng Bạch đàn *Eucalyptus Urophylla*. Dòng Bạch đàn được cung cấp bởi Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu tạo mẫu sạch *in vitro* dòng Bạch đàn H1

Mẫu vào là chồi đỉnh, chồi nách của dòng Bạch đàn H1 được cắt thành các đoạn có chiều dài 3 - 4 cm. Mẫu được xử lý với nước xà phòng loãng, dung dịch cồn 70°, sau đó dùng các chất khử trùng HgCl₂ 0,1%; dung dịch Javen ở các nồng độ khác nhau và thời gian xử lý khác nhau theo công thức của Nguyễn Hữu Phúc và cộng sự (2005) có cải biến (bảng 1). Môi trường nuôi cấy khởi đầu là MS (Murashige and Skoog, 1962).

Bảng 1. Các công thức khử trùng sử dụng trong nghiên cứu

Công thức khử trùng	Các chất, nồng độ chất khử trùng	Thời gian khử trùng (phút)
KT1	Javen 10%	15
	HgCl ₂ 0,1%	5
KT2	Javen 20%	15
	HgCl ₂ 0,1%	10
KT3	Javen 10%	15
	HgCl ₂ 0,1%	10
KT4	Javen 20%	15
	HgCl ₂ 0,1%	5

- Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu sống sạch (%) sau 30 ngày nuôi cấy.

2.2.2. Ảnh hưởng của vị trí chồi đến hiệu quả vào mẫu dòng Bạch đàn H1

- Ảnh hưởng của vị trí chồi vào mẫu có vị trí khác nhau (chồi ở đỉnh ngọn, đốt 1, đốt 2, đốt 3) để khử trùng và cấy mẫu. Cách bố trí thí nghiệm theo công thức của Nguyễn Hữu Phúc và cộng sự (2005) có cải biến.

Chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ mẫu sống sạch (%) sau 30 ngày nuôi cấy; đặc điểm sinh trưởng chồi.

2.2.3. Nghiên cứu nhân nhanh chồi dòng Bạch đàn H1 *in vitro*

Xác định môi trường nuôi cấy thích hợp: Chồi được khoảng 2 - 3 lá, cao 2 - 3 cm được tách từ mẫu *in vitro* sau đó được cấy trên 03 môi trường khác nhau là MS, ½MS, MS* là môi trường MS + 20 ml nước dừa/L). Cách bố trí thí nghiệm theo công thức của Nguyễn Hữu Phúc và cộng sự (2005) có cải biến. Chỉ tiêu theo dõi: hệ số nhân chồi sau 30 ngày nuôi cấy.

Nghiên cứu ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng BAP (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2 mg/L) và môi trường phối hợp BAP và Kinetin (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2 mg/L) đến khả năng ra chồi trong nuôi cấy *in vitro*. Chỉ tiêu theo dõi: Hệ số nhân chồi, đặc điểm hình thái chồi.

2.2.4. Nghiên cứu kích thích ra rễ dòng Bạch đàn H1 in vitro

Xác định môi trường ra rễ thích hợp: Các chồi có chiều cao 4 - 5 cm, 03 lá trở lên khỏe mạnh được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung NAA (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2 mg/L) để xác định môi trường ra rễ tối ưu. Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ chồi ra rễ (%), đặc điểm hình thái rễ. Cách bố trí thí nghiệm theo công thức của Nguyễn Hữu Phúc và cộng sự (2005) có cải biến.

2.2.5. Bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại. Xử lý số liệu bằng phần mềm IRRISTAT version 5.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo mẫu sạch in vitro dòng Bạch đàn H1

Mẫu được xử lý với nước xà phòng loãng, dung dịch cồn 70°, sau đó sử dụng các chất khử trùng HgCl₂ 0,1%; dung dịch Javen ở các nồng độ khác nhau và thời gian xử lý khác nhau. Kết quả thu được như bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ các chất khử trùng và thời gian khử trùng đến khả năng sống sót của mẫu dòng Bạch đàn H1

Công thức khử trùng	Các chất, nồng độ chất khử trùng	Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu không nhiễm, sống sót (%)
KT1	Javen 10%	15	26,0 ^d ± 1,16
	HgCl ₂ 0,1%	5	
KT2	Javen 20%	15	34,7 ^b ± 1,19
	HgCl ₂ 0,1%	10	
KT3	Javen 10%	15	46,4^a ± 0,82
	HgCl ₂ 0,1%	10	
KT4	Javen 20%	15	29,35 ^c ± 0,56
	HgCl ₂ 0,1%	5	
CV%			2,9
LSD _{0,05}			1,85

Ghi chú: Các kí hiệu a, b, c... trong cùng một cột, các chữ khác là khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Kết quả bảng 2 cho thấy, đối với công thức KT1, khử trùng với dung dịch Javen nồng độ 10% trong 15 phút và HgCl₂ 0,1% trong 5 phút, có tỷ lệ mẫu sống, không nhiễm là 26%. Khi tăng nồng độ Javen lên 20% và thời gian khử trùng của HgCl₂ 0,1% lên 10 phút, tỷ lệ mẫu sống sót, không nhiễm đạt 34,7%. Ở công thức

KT3 cho tỷ lệ mẫu sống sót, không nhiễm nấm khuẩn là 46,4%. Khi tăng nồng độ dung dịch Javen lên 20%, thời gian khử trùng 15 phút và khử trùng với dung dịch HgCl₂ 0,1% 15 phút, tỷ lệ sống sót của mẫu giảm, còn 29,4% (Bảng 2, Hình 1).



Hình 1. Mẫu Bạch đàn H1 in vitro sử dụng công thức khử trùng KT3

Như vậy, công thức khử trùng KT3 là tốt nhất, khi sử dụng dung dịch Javen 10% trong 15 phút và HgCl₂ 0,1% trong 10 phút cho tỷ lệ mẫu sống sót, không nhiễm nấm khuẩn là 46,4%.

3.2. Xác định một số yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả vào mẫu

Để đánh giá ảnh hưởng của vị trí mẫu cây đến hiệu quả vào mẫu, chúng tôi tiến hành cấy mẫu trên môi trường MS. Sau 04 tuần theo dõi, kết quả được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của vị trí mẫu cây đến hiệu quả vào mẫu

Vị trí mẫu cây	Tỷ lệ mẫu sống (%)	Đặc điểm sinh trưởng chồi
Đỉnh ngọn	28,8 ^d ± 0,67	Chồi sinh trưởng yếu
Đốt 1	31,3 ^c ± 0,10	Chồi sinh trưởng trung bình
Đốt 2	45,7 ^a ± 0,98	Chồi sinh trưởng khỏe
Đốt 3	34,3 ^b ± 0,1	Chồi sinh trưởng trung bình
CV%	2,6	
LSD _{0,05}	1,74	

Ghi chú: Các kí hiệu a, b, c... trong cùng một cột, các chữ khác là khác nhau có ý nghĩa ở mức α = 0,05.

Kết quả ở bảng 3 cho thấy vị trí của mẫu cây ở đỉnh ngọn thì tỷ lệ sống sót của mẫu đạt thấp, chỉ 28,8%, chồi rất yếu. Ở các vị trí mẫu cây khác nhau cho tỷ lệ mẫu sống khác nhau. Sử dụng đốt 1, đốt 2, đốt 3 sau vị trí chồi đỉnh, tỷ lệ mẫu sống đạt lần lượt là 31,3%, 45,7%, 34,3%. Vị trí của mẫu cây là đốt thứ 2 sau đỉnh sinh trưởng cho tỷ lệ mẫu sống cao nhất, đạt 45,7%.

3.3. Nghiên cứu nhân nhanh chồi dòng Bạch đàn H1 in vitro

3.3.1. Môi trường nhân chồi

Môi trường nhân chồi là yếu tố quan trọng nhất, quyết định hiệu quả nhân nhanh chồi, cây Bạch đàn. Có rất nhiều loại môi trường cơ bản, tuy nhiên dựa vào điều kiện hóa chất thực tế có ở phòng thí nghiệm, chúng tôi sử dụng 03 môi trường khác nhau là MS, ½MS, MS* (là môi trường MS cơ bản có bổ sung 20 ml nước dừa/1 lít môi trường nuôi cấy).

Bảng 4. Ảnh hưởng của loại môi trường đến khả năng nhân chồi dòng Bạch đàn H1

Môi trường Nuôi cấy	Hệ số nhân chồi	Chất lượng chồi
½ MS	1,30 ^c ± 0,02	++
MS	1,44 ^b ± 0,04	++
MS*	1,51 ^a ± 0,03	+++
CV%	2,4	
LSD _{0,05}	0,06	

Ghi chú: Các kí hiệu a, b, c... trong cùng một cột, các chữ khác là khác nhau có ý nghĩa ở mức α = 0,05. Chất lượng chồi: ++: chồi trung bình, +++: chồi khỏe, phát triển tốt.

Kết quả thu được cho thấy, trên môi trường ½ MS, hệ số nhân chồi sau 30 ngày nuôi cấy đạt 1,30. Khi chuyển chồi cây lên môi trường MS, hệ số nhân chồi đạt 1,44. Trên môi trường MS*, hệ số nhân chồi đạt cao nhất là 1,51 (Bảng 4). Nguyên nhân hiện tượng này do nước dừa là nguồn bổ sung cytokinin tự nhiên rất tốt cho việc hình thành chồi mới ở thực vật nói chung và dòng Bạch đàn H1 nói riêng (Đỗ Năng Vịnh,

2006).

3.3.2. Ảnh hưởng của các chất kích thích sinh trưởng đến khả năng nhân chồi

BAP và Kinetin và hai chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin có tác dụng tăng hiệu quả trong việc nhân nhanh chồi đối với thực vật nuôi cấy mô. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát tác động của các chất này lên khả năng nhân chồi của dòng Bạch đàn H1.

Bảng 5. Ảnh hưởng của BAP lên khả năng nhân chồi dòng Bạch đàn H1

Nồng độ BAP (mg/l)	Hệ số nhân chồi	Khả năng sinh trưởng của chồi
0,0	1,65 ^c	Chồi sinh trưởng trung bình
0,5	1,88 ^b	Chồi sinh trưởng trung bình
1,0	1,96 ^b	Chồi sinh trưởng khỏe
1,5	2,18 ^a	Chồi sinh trưởng khỏe
2,0	1,63 ^c	Chồi sinh trưởng yếu
CV%	2,5	
LSD _{0,05}	0,08	

Ghi chú: Các kí hiệu a, b, c... trong cùng một cột, các chữ khác là khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Kết quả thu được ở bảng 5 cho thấy, trên môi trường MS* không bổ sung BAP, hệ số nhân chồi đạt 1,65. Khi tăng nồng độ BAP lên 0,5 mg/l, hệ số nhân chồi tăng đạt 1,88. Hệ số nhân chồi đạt 1,96 trên môi trường MS* bổ sung 1 mg/l BAP. Hệ số nhân chồi đạt cao nhất 2,18. Trên môi trường bổ sung 1,5 mg/l BAP, chồi khỏe, phát triển tốt. Khi nồng độ BAP tăng lên

2 mg/l, hệ số nhân chồi chỉ đạt 1,63, chồi sinh trưởng yếu.

Như vậy môi trường trường MS* bổ sung 1,5 mg/l BAP, chồi khỏe, phát triển tốt, hệ số nhân chồi đạt cao nhất 2,18. Chúng tôi sử dụng môi trường này bổ sung kinetin ở nồng độ khác nhau để tìm công thức tổ hợp tốt nhất. Kết quả thu được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP 1,5 mg/l và kinetin lên khả năng nhân chồi dòng Bạch đàn H1

Nồng độ Kinetin	Hệ số nhân chồi	Khả năng sinh trưởng của chồi
0,0	2,16 ^b ± 0,07	Chồi sinh trưởng khỏe
0,5	2,04 ^c ± 0,09	Chồi sinh trưởng khỏe
1,0	3,20^a ± 0,05	Chồi sinh trưởng khỏe
1,5	2,15 ^{bc} ± 0,05	Chồi sinh trưởng trung bình
2,0	2,04 ^c ± 0,03	Chồi sinh trưởng trung bình
CV%	2,6	
LSD _{0,05}	0,11	

Ghi chú: Các kí hiệu a, b, c... trong cùng một cột, các chữ khác là khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.



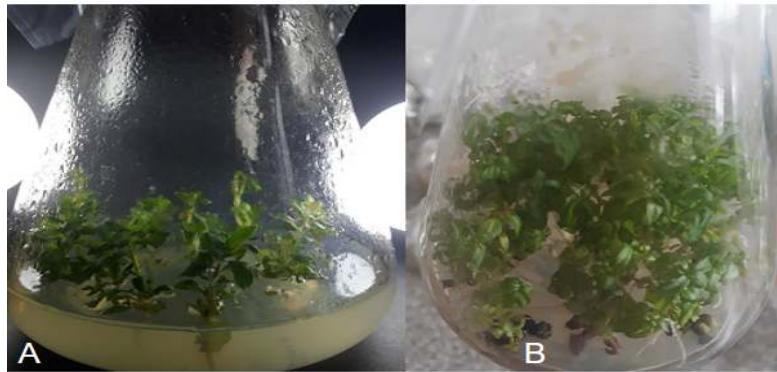
Hình 2. Cụm chồi sau khi nuôi cấy trên môi trường MS* bổ sung BAP 1,5 mg/l và kinetin 1,0 mg/l

Môi trường nhân chồi tốt nhất đạt hệ số nhân chồi 3,2 trên môi trường bổ sung tổ hợp BAP 1,5 mg/l và kinetin 1 mg/l. Khi tăng nồng

độ kinetin lên 1,5 g/l và 2 mg/l, hệ số nhân chồi đạt lần lượt là 2,15 và 2,04 (Bảng 6, Hình 2, Hình 3). Hệ số nhân của chúng tôi cao hơn

so với hệ số nhân đạt được của một số công trình khác (Đặng Ngọc Hùng và cộng sự,

2013; Đoàn Thị Thanh Nga và cộng sự, 2007).



Hình 3. Nhân nhanh chồi Bạch đàn H1 trên môi trường MS* bổ sung BAP 1,5 mg/l và kinetin 1,0 mg/l

(A: Mẫu ban đầu; B: Mẫu sau 30 ngày)

Như vậy, khi nhân nhanh dòng Bạch đàn H1 *in vitro* trên môi trường bổ sung tổ hợp MS* bổ sung BAP 1,5 mg/l và kinetin 1,0 mg/l hệ số nhân chồi là 3,2 đạt cao nhất so với tất cả các công thức nhân nhanh sử dụng trong nghiên cứu này.

3.4. Nghiên cứu kích thích ra rễ dòng Bạch đàn H1 *in vitro*

NAA là một trong những chất kích thích sinh trưởng *in vitro* của các thực vật thuộc nhóm Auxin có tác dụng kích thích ra rễ (Lê Trần Bình và cộng sự, 1997). Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng NAA với nồng độ khác nhau được

bổ sung trên môi trường MS để khảo sát khả năng ra rễ của dòng Bạch đàn H1. Kết quả thu được thể hiện ở bảng 7. Trên môi trường không bổ sung NAA, cho thấy dòng Bạch đàn vẫn ra rễ với tỷ lệ 30,99%. Khi sử dụng môi trường bổ sung 0,5 mg/l NAA, tỷ lệ ra rễ tăng gần xấp xỉ 2 lần so với môi trường đối chứng, đạt 62,88%. Điều đó chứng tỏ NAA là nhóm chất thuộc nhóm Auxin, có khả năng kích thích ra rễ rõ rệt so với môi trường đối chứng. Trên môi trường MS* có bổ sung 1 mg/l NAA, tỷ lệ tạo rễ đạt 87,63%, số rễ/chồi đạt trung bình 8,1 rễ, chiều dài 19,2 mm (Hình 4).



Hình 4. Bạch đàn H1 ra rễ *in vitro*

Khi tăng nồng độ NAA lên 1,5 và 2 mg/l, tỷ lệ ra rễ đạt lần lượt 69,03% và 48,92%; chiều

dài rễ dao động từ 19,9 – 20,6 mm (bảng 7). Có hiện tượng này do nồng độ NAA quá cao, sẽ ức

chế quá trình tạo rễ ở thực vật nói chung và Bạch đàn nói riêng. Kết quả này thu được cao hơn kết quả của Đoàn Thị Mai và cộng sự (2017), khi nuôi cấy Bạch đàn H7 trên môi trường MS bổ

sung 1,5 mg/l IBA và 0,1 mg/l ABT cho tỷ lệ ra rễ đạt xấp xỉ 82,2%. Có sự khác biệt này do 2 yếu tố: giống và môi trường nuôi cấy tạo rễ của hai nghiên cứu sử dụng khác nhau.

Bảng 7. Ảnh hưởng của nồng độ NAA lên khả năng ra rễ của dòng Bạch đàn H1

Nồng độ NAA (mg/L)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ/chồi	Chiều dài rễ (mm)	Khả năng sinh trưởng của rễ
0 (ĐC)	30,99 ^e ± 0,60	6,1 ^b ± 0,5	15,3 ^b ± 1,4	Rễ sinh trưởng yếu
0,5	62,88 ^c ± 0,66	6,3 ^b ± 0,6	16,5 ^b ± 1,3	Rễ sinh trưởng trung bình
1,0	87,63^a ± 0,22	8,1^a ± 0,7	19,2^a ± 1,2	Rễ sinh trưởng khỏe
1,5	69,03 ^b ± 1,44	8,8 ^a ± 0,6	19,9 ^a ± 1,6	Rễ sinh trưởng khỏe
2,0	48,92 ^d ± 0,93	8,7 ^a ± 0,7	20,6 ^a ± 1,0	Rễ sinh trưởng trung bình
CV%	1,5	8,0	7,1	
LSD _{0,05}	1,59	1,1	2,4	

Ghi chú: Các kí hiệu a, b, c... trong cùng một cột, các chữ khác là khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Như vậy, môi trường tốt nhất để ra rễ trong điều kiện *in vitro* của dòng Bạch đàn H1 là MS bổ sung 1 mg/l NAA, trên môi trường này, tỷ lệ ra rễ đạt cao nhất là 87,63%, rễ dài và khỏe, đủ điều kiện cho ra bầu đất (Hình 4).

4. KẾT LUẬN

- Công thức khử trùng vào mẫu đối với dòng Bạch đàn H1 tốt nhất khi sử dụng dung dịch Javen 10% trong 15 phút và HgCl₂ 0,1% trong 10 phút cho tỷ lệ mẫu sống sót, không nhiễm nấm khuẩn là 46,4%.

- Kỹ thuật cấy mẫu dòng Bạch đàn H1, sử dụng mẫu ở đốt 2 cho tỷ lệ tạo mẫu sống cao nhất, đạt 45,73%.

- Môi trường MS* (môi trường MS có bổ sung 20 ml nước dừa/L) thích hợp nhất với việc nhân nhanh chồi dòng Bạch đàn H1, hệ số nhân chồi đạt cao nhất là 1,51.

- Khi nhân nhanh dòng Bạch đàn H1 *in vitro* trên môi trường tổ hợp MS* bổ sung BAP 1,5 mg/L và kinetin 1,0 mg/L có hệ số nhân chồi đạt cao nhất đạt 3,2.

- Môi trường ra rễ trong điều kiện *in vitro* của dòng Bạch đàn H1 là MS bổ sung 1,0 mg NAA/L, tỷ lệ ra rễ đạt 87,63%, rễ dài và khỏe, đủ điều kiện cho ra bầu đất.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ từ nguồn kinh phí Khoa học Công nghệ của Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2 cho Đề tài mã số C.2020.SP2.13.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lê Trần Bình, Hồ Hữu Nhị, Lê Thị Muội, 1997. Công nghệ sinh học thực vật trong cải tiến cây trồng. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.
- Das T and Mitra GC, 1990. Micropropagation of *Eucalyptus tereticornis* Smith. *Plant Cell Tis Organ Culture* 22: 95–103.
- Ngô Thị Minh Duyên, Đỗ Thị Thu, Trần Hồ Quang, 2014. Nghiên cứu hệ thống tái sinh cây Bạch đàn lai Urô (*Eucalyptus urophylla*) thông qua phôi soma từ cây trội được tuyển chọn phục vụ chuyển gen. *Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp*, 4: 3516-3523.
- Esteban Roberto González, Alexander de Andrade, Ana Leticia Bertolo, Gisele Coelho Lacerda, Raphael Tozelli Carneiro, Valéria A. Prado Defávare, Mônica T. Veneziano Labate and Carlos, 2002. Production of transgenic *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* using the sonication-assisted Agrobacterium transformation (SAAT) system. *Functional plant biology journal*, 29(1): 97-102.
- Nguyễn Thị Hồng Gấm, Bùi Văn Thắng, Hà Văn Huân, Chu Hoàng Hà, 2013. Tái sinh cây Bạch đàn Uro (*Eucalyptus urophylla*) hiệu suất cao thông qua tạo đa chồi từ mô sẹo. *Kỷ yếu Hội nghị Khoa học công nghệ sinh học toàn quốc 2013*: 768-770.
- Gomes F, Canhoto JM, 2009. Micropropagation of *Eucalyptus nitens* maiden (*Shining gum*). *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 39: 316–321.
- Triệu Thị Thu Hà, Cán Thị Lan, 2015. Nghiên cứu nhân giống Bạch đàn lai UP (*Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus pellita*) bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 6:124-130.
- Hajari E, Watt MP, Mycock DJ, McAlister B, 2006. Plant regeneration from induced callus of improved *Eucalyptus* clones. *South Afri Jour of Bota* 72: 195 - 201.
- Đặng Ngọc Hùng, Lê Đình Khả, 2013. Nhân giống dòng Bạch đàn lai UE35 và UE56 bằng phương pháp nuôi

cây mô tế bào. Tạp chí Khoa học và Công nghệ 108(08):47-55.

10. Nguyễn Thị Hương, Nguyễn Văn Việt, 2017. Xây dựng hệ thống tái sinh Bạch đàn Uro (*Eucalyptus urophylla* S.T. Blake) từ mô sẹo phục vụ chọn dòng tế bào. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp 10: 26-33.

11. Trần Thị Lệ, Hoàng Thị Thu Giang, 2012. Nghiên cứu nhân giống Bạch đàn U6 (*Eucalyptus urophylla*) bằng phương pháp nuôi cấy mô. Tạp chí Nông nghiệp & PTNT: 132- 139.

12. Đoàn Thị Mai, Lê Sơn, 2017. Nhân giống cho một số giống cây rừng mới chọn tạo bằng nuôi cấy mô tế bào. Báo cáo khoa học Trung tâm Nghiên cứu giống cây rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam: 49-58.

13. Murashige T and Skoog F, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497.

14. Đoàn Thị Thanh Nga, Huỳnh Đức Nhân, 2007. Hoàn thiện công nghệ nhân giống Bạch đàn cao sản bằng công nghệ nuôi cấy mô thực vật. Tạp chí Nông nghiệp & PTNT (2): 55-59.

15. Nguyễn Hoàng Bảo Ngân, Trần Văn Minh, 2013. Nhân giống Bạch đàn (*Eucalyptus urophylla*) chọn dòng có năng suất cao trên quy mô pilot ở tỉnh Gia Lai. Kỷ yếu Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc: 940-944.

16. Nguyễn Hữu Phúc, 2005, Hoàn thiện và triển khai công nghệ vi nhân giống Bạch đàn năng suất cao cho trồng rừng ở vùng nam trung bộ. Báo cáo tổng kết khoa học và kỹ thuật dự án thuộc Bộ Khoa học - Công nghệ.

17. Bùi Văn Thắng, Nguyễn Thị Hồng Gấm, Ngô Văn Thanh, Chu Hoàng Hà, 2014. Nghiên cứu hệ thống tái sinh cây Bạch đàn Urô (*Eucalyptus urophylla*) thông qua phối soma phục vụ chuyên gen. Tạp chí Nông nghiệp & PTNT 5: 29-36.

18. Lê Đình Khả, Nguyễn Việt Cường, 1998. *Ưu thế lai về sinh trưởng và tính chống chịu của 1 số tổ hợp lai khác loài ở Bạch đàn*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

19. Sharma SK, Ramamurthy V, 2000. Micropropagation of 4-year-old elite *Eucalyptus tereticornis* trees. *Plant Cell Reports* 19: 511-518.

20. Đỗ Năng Vịnh, 2006. Công nghệ tế bào thực vật ứng dụng. NXB. Nông nghiệp, Hà Nội.

STUDY ON MULTIPLY EUCALYPTUS H1 LINE BY TISSUE CULTURING TECHNIQUE

Duong Tien Vien¹, Pham Ngoc Quynh¹, Phan Thi Thu Hien^{1*}

¹Hanoi Pedagogical University 2

SUMMARY

The technique of rapid multiplication of Eucalyptus lines has been successfully studied. The formula to disinfect samples for Eucalyptus H1 lines is the best with 10% Javen solutions for 15 minutes and 0.1% HgCl₂ for 10 minutes for a survival rate of 46.4 samples %. When completing the technique of inoculating Eucalyptus H1 line, using the sample at the second node, the highest survival rate is 45.73%. MS medium was supplemented with 20 ml of coconut water per lit, which was the most suitable medium (MS*) for the rapid multiplication of shoots of *Eucalyptus* H1 line for the highest shoot multiplication coefficient of 1.51. When rapidly multiplying *Eucalyptus* H1 line, the *in vitro* on MS medium supplemented with BAP 1.5 mg/l and kinetin 1.0 mg/l, the shoot multiplication coefficient was 3.2 times, reaching the highest compared to all the formulas. The best medium for *in vitro* rooting of *Eucalyptus* H1 strain was MS supplemented with NAA 1 mg/l which demonstrated the highest rooting rate was 87.63%, and the roots were long and strong, are eligible for potting soil. This protocol could be modified and used in the other line of other eucalyptus rapid multiplication studies for forestry crop production.

Keywords: *Eucalyptus*, H1 line, *in vitro* multiplication, protocol, tissue culture.

Ngày nhận bài : 25/5/2021

Ngày phản biện : 13/9/2021

Ngày quyết định đăng : 27/9/2021