

NHÂN NHANH CHỒI VÀ TẠO CÂY HOÀN CHỈNH DÒNG KEO LAI (*ACACIA HYBRID*) BV32 BẰNG KỸ THUẬT NUÔI CÂY *IN VITRO*

Mai Hải Châu, Nguyễn Thị Mai

Phân hiệu Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Ở Việt Nam việc nhân giống Keo lai BV32 chủ yếu được thực hiện bằng phương pháp giâm cành, tuy nhiên phương pháp này có những nhược điểm. Để khắc phục và tiến tới cung cấp với số lượng lớn cùng các đặc tính ưu việt, đồng nhất cho sản xuất. Nghiên cứu này trình bày kết quả nhân giống Keo lai BV32 hoàn chỉnh trong điều kiện *in vitro*. Đối với cảm ứng tạo cụm chồi, cây Keo lai BV32 sau khi nuôi cấy 2 tuần trên môi trường MS, đoạn thân cây được cắt thành các mảnh nhỏ có kích thước 1,0 - 1,5 cm cấy lên các công thức môi trường cảm ứng tạo đa chồi (sử dụng môi trường cơ bản MS có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng BAP với các nồng độ khác nhau: 0,5 - 3,0 mg/l). Môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP cho tỉ lệ mẫu tái sinh chồi cao nhất (95,3%), số chồi trung bình/mẫu cũng cao nhất 8,4 chồi và chiều dài trung bình của chồi đạt 4,5 cm. Đối với cảm ứng tạo rễ và tái sinh cây hoàn chỉnh, các chồi Keo lai BV32 *in vitro* có lá đạt tiêu chuẩn kích thước (đạt từ 3 - 5 cm) được cắt và cấy chuyển sang môi trường cảm ứng tạo rễ (1/2MS + 8 g/l agar + 30 g/l sucrose) bổ sung IBA, NAA và IAA với các nồng độ khác nhau. Kết quả cho thấy môi trường dinh dưỡng cảm ứng tạo rễ bổ sung 2 mg/l IAA cho tỷ lệ chồi ra rễ 100%, số rễ/chồi đạt cao nhất 2,4 rễ và chiều dài rễ đạt 4,2 cm.

Từ khóa: Cảm ứng tạo chồi, cảm ứng tạo rễ, Keo lai BV32, tái sinh cây.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Keo lai (*Acacia hybrid*) được tạo ra bởi phép lai giữa giống Keo tai tượng (*Acacia mangium*) và Keo lá tràm (*Acacia auriculiformis*) (Lê Đình Khả, 2003). Đây là loài có nhiều đặc điểm hình thái trung gian giữa bố và mẹ, đồng thời có ưu thế lai rõ rệt về mặt sinh trưởng, có hiệu suất bột giấy, độ bền cơ học và độ trắng của bột giấy cao hơn hẳn so với các loài bố mẹ. Có thời gian sinh trưởng nhanh, thân thẳng, ít cành nhánh, khả năng chống chịu sâu bệnh tốt, khép tán nhanh, phủ nhanh đất trồng đồi núi trọc trong thời gian ngắn. Ngoài ra, do có khả năng cố định đạm nên cải thiện đất khá tốt, năng suất cao đạt 20 - 40 m³/ha/năm. Chất lượng gỗ của giống BV32 được đánh giá là rất phù hợp cho sản xuất giấy, ván dăm, ván sợi, ván MDF và làm gỗ xẻ sản xuất đồ mộc gia dụng phục vụ tiêu dùng trong nước cũng như xuất khẩu.

Với ưu điểm sinh trưởng nhanh, mang lại hiệu quả kinh tế cao, giống BV32 được các đơn vị sản xuất lâm nghiệp, các hộ dân, các công ty... trồng với diện tích lớn. Qua đó, tạo công ăn việc làm cho người lao động, tăng thu nhập, đồng thời mang lại hiệu quả về mặt môi

trường từ diện tích rừng trồng giống keo lai BV32 để phủ xanh đất trồng, đồi núi trọc, đặc biệt là ở những vùng khó khăn.

Hiện nay, giống Keo lai BV32 được sản xuất chủ yếu bằng phương pháp giâm hom. Tuy nhiên, phương pháp này vẫn còn một số hạn chế như: chất lượng cây giống không cao, cây giống không đồng đều, khả năng nhiễm và lây nhiễm bệnh cao, tỷ lệ nhân giống thấp... chưa thực sự đáp ứng được yêu cầu của sản xuất. Để giải quyết được bài toán này, kỹ thuật nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào là một lựa chọn nhằm khắc phục những hạn chế của kỹ thuật nhân giống phương pháp giâm hom, đáp ứng tốt hơn đòi hỏi của sản xuất.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu nghiên cứu

Cành chồi Keo lai BV32 bánh tẻ (kích thước 10 - 15 cm chứa mắt ngủ) được lấy từ Vườn Vật liệu thuộc Phân hiệu Trường Đại học Lâm nghiệp, tỉnh Đồng Nai.

2. Phương pháp nghiên cứu

Chồi được cắt bỏ phần lá, rửa sạch sơ bộ bằng dung dịch nước xà phòng loãng để loại bỏ chất bẩn bám trên bề mặt (dùng chổi rửa nhẹ nhàng). Sau đó rửa sạch mẫu dưới vòi

nước chảy cho hết xà phòng, tráng lại mẫu bằng nước cất (tráng 3 lần). Chồi được rửa bằng nước cất, lắc mạnh trong 3 phút để tiếp tục loại bỏ các chất bẩn còn bám trên bề mặt (lấp lại 3 lần). Sau đó tiến hành sát khuẩn bề mặt quả bằng dung dịch cồn 70% bổ sung Tween 20 (4 giọt/100 ml dung dịch) trong 1 phút (lắc nhẹ) rồi rửa sạch bằng nước cất (3 lần). Tiếp theo, khử trùng chồi bằng dung dịch Mercury(II) chloride ($HgCl_2$) với nồng độ 0,1% trong các khoảng thời gian 8 phút, sau đó rửa lại 5 lần bằng nước cất. Chồi sau khi khử trùng được đặt lên đĩa inox vô trùng, dùng giấy thấm vô trùng để thấm khô nước trên bề mặt chồi, sau đó dùng mũi dao cắt chồi thành các đoạn chồi có chiều dài (2 - 2,5 cm) chứa ít nhất một mắt ngủ. Các đoạn chồi sau đó được cấy lên môi trường nuôi cấy khởi động: MS + 8 g/l agar + 30 g/l sucrose + 0,5 mg/l BAP. Bình mẫu được nuôi dưới ánh sáng gián đoạn huỳnh quang trắng: cường độ chiếu sáng $35 \mu E/m^2/s$, thời gian chiếu sáng 14 giờ/ngày. Sau 2 tuần nuôi, mẫu cấy tái sinh chồi, được sử dụng làm vật liệu nuôi cấy tạo cụm chồi (nhân nhanh chồi).

- Cảm ứng tạo chồi: Các chồi Keo lai BV32 *in vitro* nuôi cấy 2 tuần trên môi trường MS được cắt thành các đoạn có kích thước (1,0 - 1,5 cm) và cấy chuyển sang môi trường tái sinh tạo cụm chồi (MS + 30 g/l sucrose + 7 g/l agar) bổ sung chất điều hòa sinh trưởng BAP với các hàm lượng khác nhau: 0,5 mg/l; 1,0 mg/l; 1,5 mg/l; 2,0 mg/l; 2,5 mg/l; và 3,0 mg/l. Sau khi tìm được nồng độ BAP tốt nhất, tiếp tục thí nghiệm bổ sung BAP mới tìm ra với TDZ: 0,2 - 1,0 mg/l và NAA: 0,2 - 1,0 mg/l để tìm công thức tối ưu. Theo dõi tỷ lệ mẫu tái sinh chồi, số chồi/mẫu và chiều cao chồi.

- Cảm ứng tạo rễ và tái sinh cây hoàn chỉnh: Các chồi Keo lai BV32 *in vitro* có lá đạt tiêu chuẩn kích thước (đạt từ 3 - 5 cm) được cắt và cấy chuyển sang môi trường cảm ứng tạo rễ (1/2MS + 8 g/l agar + 30 g/l sucrose) bổ sung IBA, NAA và IAA với các nồng độ khác nhau

(dao động từ 0,5 mg/l đến 2,0 mg/l). Theo dõi tỷ lệ chồi ra rễ, số rễ/chồi, chiều dài rễ, chất lượng cây.

Tất cả môi trường nuôi cấy đều được chuẩn độ đến pH = 5,8 và khử trùng ở nhiệt độ $121^\circ C$, áp suất 1,5 atm trong thời gian 15 phút. Nuôi cấy ở nhiệt độ $25 \pm 2^\circ C$, cường độ ánh sáng $35 \mu E/m^2/s$ với thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày.

Bố trí thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), 3 lần lặp lại, mỗi ô cơ sở 30 mẫu cấy. Số liệu thí nghiệm được thu thập và xử lý thống kê bằng phần mềm SAS 9.4.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hàm lượng BAP đến khả năng tạo cụm chồi

BAP là chất điều hòa sinh trưởng tổng hợp nhân tạo thuộc nhóm cytokinin, có tác dụng tích cực trong việc kích thích phân chia tế bào, kéo dài thời gian hoạt động của mô phân sinh và làm hạn chế sự hoá già của tế bào. Trong nuôi cấy mô tế bào thực vật, BAP có vai trò rất quan trọng trong việc kích thích mạnh mẽ sự hình thành các chồi non, quyết định hệ số nhân và chất lượng chồi. Theo báo cáo của Joarder và cộng sự (1993), BAP thuộc nhóm cytokinin rất tốt cho việc phát sinh chồi cây Neem. BAP tốt hơn các cytokinin khác trong việc cảm ứng phát sinh chồi ở cây gỗ (Zamam và cộng sự, 1991; Thakur và cộng sự, 1997). Sử dụng BAP trong việc cảm ứng tạo chồi các giống *in vitro* cũng đã được nhiều tác giả báo cáo (Sharma, 1994; Gamborg và cộng sự, 1995; Đoàn Thị Mai và cộng sự, 2011; Nguyễn Văn Việt và Nguyễn Đức Thành, 2018). Tuy nhiên, các kết quả nghiên cứu của các tác giả cho thấy, sử dụng cùng một nồng độ chất điều hòa sinh trưởng BAP nhưng giống keo khác nhau cho tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi và số chồi tái sinh khác nhau. Trong nghiên cứu này, khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chất điều hòa sinh trưởng BAP giao động từ (0,5 - 3,0 mg/l) đến khả năng tái sinh chồi cho giống Keo lai BV32.

Bảng 1. Ảnh hưởng của hàm lượng BAP đến khả năng tạo cụm chồi

Công thức	BAP (mg/l)	Tỉ lệ % mẫu tái sinh chồi	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)
MS0	0,0	65,0	1,2	2,5
MS1	0,5	74,3	2,3	2,7
MS2	1,0	90,3	5,8	4,2
MS3	1,5	95,3	8,4	4,5
MS4	2,0	90,0	4,5	2,1
MS5	2,5	70,3	3,3	2,2
MS6	3,0	72,7	2,5	1,7
CV%		2,78	5,21	4,37
P		<0,01	<0,01	<0,01

Các chồi Keo lai BV32 tái sinh sau 2 tuần nuôi cấy trên môi trường khởi động. Đoạn thân cây được cắt thành các mảnh nhỏ có kích thước 1,0 - 1,5 cm cấy lên các công thức môi trường cảm ứng tạo cụm chồi. Trong thí nghiệm này, sử dụng môi trường cơ bản MS có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng BAP với các nồng độ khác nhau: 0,5 mg/l; 1,0 mg/l; 1,5 mg/l; 2,0 mg/l; 2,5 mg/l và 3,0 mg/l. Kết quả thí nghiệm được thu thập sau 4 tuần nuôi cấy của các công thức có sự khác biệt thống kê ($p < 0,01$)

và trình bày ở bảng 1.

Từ số liệu ở bảng 1 cho thấy, môi trường không bổ sung BAP mẫu cấy vẫn tái sinh chồi với tỉ lệ 65% và số chồi trung bình/mẫu là 1,2 chồi. Trong khi đó, môi trường bổ sung BAP nồng độ 0,5 - 3,0 mg/l cho tỷ lệ mẫu tái sinh chồi $\geq 70,3\%$ và số chồi trung bình/mẫu $\geq 2,3$ chồi, cao hơn so với môi trường không bổ sung BAP. Chất điều hòa sinh trưởng BAP có ảnh hưởng rõ rệt đến tỉ lệ mẫu chồi nảy tái sinh chồi khi nuôi cấy *in vitro*.



Hình 1. Chồi keo lai BV32 trên môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP

Công thức môi trường dinh dưỡng MS bổ sung BAP nồng độ từ 1,0 - 2,0 mg/l cho tỉ lệ mẫu tái sinh chồi cao $> 90\%$, số chồi trung bình/mẫu dao động từ 4,5 - 8,4 chồi. Sử dụng

BAP nồng độ thấp 0,5 mg/l hoặc nồng độ cao 2,5 - 3,0 mg/l cho tỉ lệ mẫu tái sinh chồi chỉ đạt dao động từ 70,3 - 74,3%, số chồi trung bình/mẫu thấp dao động từ 2,3 - 3,3 chồi và

chiều cao chồi cũng thấp. Trong bảy công thức thí nghiệm, công thức môi trường bổ sung 1,5 mg/l BAP cho tỉ lệ mẫu tái sinh chồi cao nhất (95,3%), số chồi trung bình/mẫu cũng cao nhất 8,4 chồi và chiều dài trung bình của chồi đạt 4,5 cm. Kết quả nghiên cứu thu được cũng tương tự như các tác giả đã công bố. Đoàn Thị Mai và cộng sự (2011) nghiên cứu nhân giống keo lai BV71, BV73 và BV75 *in vitro*, sử dụng nồng độ 1,5 mg/l BA cho số chồi trung bình/mẫu dao động từ 7,5 - 8,2 chồi, chiều dài chồi dao động từ 4,4 - 4,6 cm, cao hơn khi sử dụng BA ở các nồng độ khác. Qua kết quả này cho thấy sử dụng BAP hoặc BA ở nồng độ từ 1,0 - 2,0 mg/l cho giai đoạn tái sinh chồi keo lai là phù hợp. Kết quả nghiên cứu của các tác giả cũng cho thấy, các giống keo lai khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến tỉ lệ mẫu tái sinh và số chồi/mẫu.

Vì nhân giống Keo lai BV32 giai đoạn tái sinh chồi (tạo cụm chồi), mẫu nuôi cấy trên môi trường dinh dưỡng MS + 30g/l sucrose + 7g/l agar bổ sung 1,5 mg/l BAP là công thức môi trường tốt nhất trong số các công thức môi trường thí nghiệm.

2. Ảnh hưởng của tổ hợp BAP, TDZ, NAA đến khả năng tạo cụm chồi

Nhằm xác định tổ hợp chất điều hoà sinh trưởng (ĐHST) với nồng độ thích hợp cho giai đoạn nuôi cấy tái sinh cụm chồi keo lai BV32, trong môi trường nuôi cấy ngoài bổ sung chất ĐHST là BAP 1,5 mg/l. Trong thí nghiệm này, bổ sung thêm TDZ và NAA ở các nồng độ khác nhau (TDZ: 0,2 mg/l; 0,5 mg/l; 1,0 mg/l; và NAA: 0,2 mg/l; 0,5 mg/l; 1,0 mg/l) như bảng 2.

Kết quả thu được trình bày ở bảng 2 cho thấy khi sử dụng chất ĐHST BAP hàm lượng 1,5 mg/l kết hợp với các chất ĐHST TDZ và NAA hàm lượng từ (0,2 - 1,0 mg/l) cho tỉ lệ mẫu tái sinh chồi dao động từ 60,5 - 85,7% và số chồi/mẫu dao động từ 2,1 - 6,2 chồi, thấp hơn so với công thức môi trường nuôi cấy tái sinh chồi chỉ bổ sung BAP đơn lẻ 1,5 mg/l (tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi 95,5%, số chồi/mẫu là 8,4 chồi). Các báo cáo của nhiều tác giả cũng cho thấy khi nhân giống keo lai *in vitro* ở giai đoạn tái sinh tạo cụm chồi sử dụng BAP đơn lẻ là tốt nhất, còn khi kết hợp với các chất khác (TDZ, NAA, IBA), tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi và số chồi hữu hiệu/mẫu thấp (Nguyễn Ngọc Tân và cộng sự, 1996; Đoàn Thị Mai và cộng sự, 2011; Nguyễn Văn Việt và Nguyễn Đức Thành, 2018).

Bảng 2. Ảnh hưởng tổ hợp của BAP, TDZ và NAA đến khả năng tạo cụm chồi

CTMT	BAP (mg/l)	TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)	Tỉ lệ % mẫu tái sinh chồi	Số chồi /mẫu	Chiều cao chồi (cm)
MS7	1,5	0,2	0,0	85,7	6,2	3,8
MS8		0,5	0,0	72,5	5,3	4,0
MS9		1,0	0,0	60,5	5,0	2,7
MS10		0,0	0,2	75,0	3,4	2,5
MS11		0,0	0,5	68,8	2,2	2,0
MS12		0,0	1,0	63,0	2,1	1,5
CV%					3,73	1,47
P				< 0,01	< 0,01	< 0,01

Trong các công thức nghiên cứu tổ hợp các chất điều hòa sinh trưởng (MS7 - MS12) cho thấy rằng công thức môi trường (MS7) bổ sung BAP 1,5 mg/l và TDZ 0,2 mg/l là cho tỉ lệ mẫu tái sinh chồi 85,7% và số chồi/mẫu là 6,2 chồi

cao nhất trong các công thức thí nghiệm. Công thức môi trường bổ sung BAP 1,5 mg/l và NAA 1,0 mg/l cho tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi, số chồi/mẫu và chiều cao chồi thấp nhất.

3. Ảnh hưởng của IBA, NAA và IAA đến khả năng ra rễ của chồi Keo lai BV32 *in vitro*

Ở hầu hết các loài cây khi nhân giống *in vitro*, giai đoạn nhân nhanh chồi thường bổ sung chất điều hòa sinh trưởng nhóm cytokinin, phối hợp hoặc không phối hợp với các chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm auxin hàm lượng nhỏ. Ngược lại, trong môi trường cảm ứng chồi ra rễ tạo cây hoàn chỉnh cho hầu hết các loài cây chỉ bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng nhóm auxin. Hàm lượng auxin thích hợp quyết định đến khả năng ra rễ của chồi, thời gian ra rễ và chất lượng rễ.



Hình 3. Cây Keo lai BV32 ra rễ hoàn chỉnh *in vitro*

Các chồi Keo lai BV32 *in vitro* có lá đạt tiêu chuẩn kích thước (đạt từ 3 - 5 cm) được cắt và cấy chuyển sang môi trường cảm ứng tạo rễ. Sử dụng công thức môi trường dinh dưỡng ra rễ 1/2MS + 8 g/l agar + 30 g/l sucrose bổ sung IBA, NAA và IAA với các nồng độ khác nhau để nghiên cứu ảnh hưởng của các loại chất điều hòa sinh trưởng này đến khả năng ra rễ của chồi. Sau 4 tuần nuôi dưới điều kiện chiếu sáng, kết quả nghiên cứu thu được thể hiện trong bảng 3.

Kết quả thu được ở bảng 3 cho thấy, sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường dinh dưỡng cơ

bản không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng (ĐC), 100% số chồi nuôi cấy không ra rễ. Ở các công thức môi trường bổ sung chất điều hòa sinh trưởng IBA, NAA, IAA với hàm lượng khác nhau thì xuất hiện chồi keo lai BV32 ra rễ nhưng với tỉ lệ rất khác nhau (dao động từ 8,9 - 100%), số rễ trung bình/chồi (dao động từ 0,15 - 2,44 rễ) và chiều dài rễ (dao động từ 1,20 - 4,27 cm). Công thức môi trường CR5 bổ sung chất điều hòa sinh trưởng IBA ở hàm lượng 1,5 mg/l và CR12 bổ sung NAA ở hàm lượng 1,5 mg/l cho hiệu quả ra rễ tốt đạt (80,0%; 77,77%), số rễ trung bình (1,95; 1,67) rễ/chồi và chiều dài của rễ (4,03; 3,77 cm) tương ứng. Các công thức môi trường bổ sung IAA, công thức CR21 (bổ sung 2 mg/l IAA) cho kết quả tốt nhất, tỷ lệ chồi ra rễ đạt 100%, số rễ/chồi đạt 2,44, chiều dài rễ đạt 4,27 cm. Số liệu Bảng 3 cho thấy, đối với dòng Keo lai BV32, IAA có tác động mạnh đến quá trình ra rễ. Tỷ lệ chồi ra rễ, số rễ/chồi và chiều dài rễ đều cao hơn so với khi sử dụng IBA, NAA ở tất cả các nồng độ trong thí nghiệm.

Từ kết quả nghiên cứu nhận thấy rằng, công thức môi trường 1/2 MS + 8 g/l agar + 30 g/l sucrose bổ sung 2 mg/l IAA cho tỉ lệ 100% chồi Keo lai BV32 nuôi cấy *in vitro* ra rễ, cây giống hoàn chỉnh đảm bảo đủ tiêu chuẩn ra ngôi.

4. KẾT LUẬN

- Công thức môi trường dinh dưỡng thích hợp nhất để tái sinh tạo cụm chồi keo lai BV32 *in vitro* là môi trường: MS + 30 g/l sucrose + 7 g/l agar + 1,5 mg/l BAP cho tỉ lệ mẫu tái sinh chồi đạt 95,5%, số chồi trung bình/mẫu đạt 8,4 chồi và chiều dài trung bình chồi là 4,2 cm, chất lượng chồi tốt.

- Công thức môi trường ra rễ tốt nhất là môi trường: 1/2 MS + 8 g/l agar + 30 g/l sucrose + 2 mg/l IAA cho tỷ lệ chồi ra rễ đạt 100%, số rễ trung bình đạt 2,4 rễ/chồi, chiều dài trung bình rễ đạt 4,2 cm, chất lượng cây sinh trưởng tốt.

Bảng 3. Ảnh hưởng của IBA, NAA và IAA đến khả năng ra rễ của chồi

CTTN	Hóa chất	Nồng độ các chất (mg/l)	Tổng số mẫu cây (mẫu)	Tỉ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ/chồi (rễ)	Chiều dài rễ (cm)
ĐC		0	30	0	0	0
CR1	IBA	0,50	30	23,33	0,44	1,80
CR2		0,75	30	35,57	0,68	2,10
CR3		1,00	30	46,67	0,87	2,47
CR4		1,25	30	57,77	1,40	3,40
CR5		1,50	30	80,00	1,95	4,03
CR6		1,75	30	61,10	1,42	3,30
CR7		2,00	30	48,87	0,92	2,80
			CV%	9,35	5,18	5,02
			P	<0,05	<0,05	<0,05
CR8	NAA	0,50	30	34,43	0,53	1,73
CR9		0,75	30	43,33	0,67	2,27
CR10		1,00	30	56,67	0,79	2,73
CR11		1,25	30	66,67	1,20	3,20
CR12		1,50	30	77,77	1,67	3,77
CR13		1,75	30	66,67	1,47	3,17
CR14		2,00	30	56,67	1,26	2,57
			CV%	5,98	4,94	6,44
			P	<0,05	<0,05	<0,05
CR15	IAA	0,50	30	8,90	0,15	1,20
CR16		0,75	30	40,00	0,99	2,00
CR17		1,00	30	60,00	1,81	2,77
CR18		1,25	30	73,30	2,01	3,20
CR19		1,50	30	83,30	2,23	3,53
CR20		1,75	30	92,20	2,33	3,97
CR21		2,00	30	100,00	2,44	4,27
			CV%	6,54	6,58	5,62
			P	<0,05	<0,05	<0,05

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Thị Kim Đào (2001). Nghiên cứu thử nghiệm nhân một số giống cây rừng bằng phương pháp nuôi cấy mô (Bạch đàn, cây Hồng, Giỏ xanh, Trầm hương). *Tạp chí Sinh học*, 23, 3, tr.46-50.

2. Đoàn Thị Mai (2009). Nghiên cứu 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 tóm tắt đề tài 2007-2010*, www.Agrobiotech.gov.vn.

3. Lê Đình Khả (2003). *Chọn tạo giống và nhân giống cho một số loài cây trồng rừng chủ yếu ở Việt Nam*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

4. Joarder (1993). Somatic embryogenesis in woody

plants. *Forestry Sciences*. Volume 2 – Angiosperms.

5. Thakur R.P. and Rao V.P. (1997). Variation in virulence and aggressiveness among pathotypes of *Sclerospora graminicola* on pearl millet. *Indian Phytopathology* 50: 41-47.

6. Thidarat R., Srisulak D., Jiraporn P. and Lalida S. (2011). Shoot Multiplication and Plant Regeneration from *In Vitro* Cultures of Drumstick Tree (*Moringa oleifera* Lam.). *The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology* 6, 99-104.

7. Zaman S.H., Shingai R., Harvey R.S., Darlison M.G. and Barnard E.A. (1992). Effects of subunit types of the recombinant GABA_A receptor on the response to a neurosteroid. *Eur. J. Pharmacol* 225, 321-330.

SHOOT MULTIPLICATION AND PLANT REGENERATION FROM IN VITRO CULTURES OF ACACIA HYBRID (*Acacia hybrids*)

Mai Hai Chau, Nguyen Thi Mai

Vietnam National University of Forestry - Southern Campus

SUMMARY

To obtain plantlets of Acacia hybrid with identical genetic makeup for propagation or field production, *in vitro* cultures of Acacia hybrid were produced. For multiple shoot induction, the stem explants of Acacia hybrid plantlet were cultured on Murashige and Skoog (MS) agar medium supplemented with different concentrations of 6-benzyl adenine purine (BAP) and maintained at $25 \pm 2^\circ\text{C}$ for 4 weeks. Multiple shoot induction was present in the stem explants that were cultured on the MS medium supplemented with BAP at the concentration range of 0.5 - 3.0 mg/l or the combination of BAP at 1.5 mg/l, TZD at the range of 0.2 - 1.0 mg/l and NAA at the range of 0.2 - 1.0 mg/l. The MS medium containing BAP at 1.5 mg/l was found to produce 95.3% shoot formation with the highest average number of 8.4 shoots per explant. For plant regeneration, the shoot explants were cultured on $\frac{1}{2}$ MS + 8 g/l agar + 30 g/l sucrose supplemented with IBA, NAA and IAA at difference concentration root induction. The results showed that $\frac{1}{2}$ MS + 8 g/l agar + 30 g/l sucrose supplemented with IAA at 2.0 mg/l produce 100% root formation with the highest average number of 2.4 roots per explant and 4.2 cm in length. Tissue culture protocol reported in this study is an alternative mean of micropropagation of Acacia hybrid plantlets with uniform genotypes for breeding selection and field production.

Keywords: Acacia hybrid, plant regeneration, shoot multiplication.

Ngày nhận bài : 20/3/2019

Ngày phản biện : 29/4/2019

Ngày quyết định đăng : 06/5/2019