

NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH KHỬ TRÙNG VÀ NHÂN NHANH TRONG NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY KEO LÁ TRÀM (*Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth) DÒNG CLT43

Lê Thị Như Nguyệt^{1*}, Nguyễn Thị Thanh Nga¹, Phan Thị Phương Nhi²

¹ Trung tâm Khoa học Lâm nghiệp Bắc Trung Bộ

² Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định chất khử trùng, thời gian khử trùng và môi trường nhân nhanh thích hợp góp phần hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* cây keo lá tràm dòng Clt43. Các thí nghiệm sử dụng môi trường cơ bản MS (Murashige and Skoog) cải tiến có bổ sung các chất kích thích sinh trưởng. Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) với 3 lần lặp lại cho mỗi công thức. Kết quả nghiên cứu cho thấy HgCl₂ có hiệu quả khử trùng tốt hơn nano bạc, thời gian khử trùng đoạn thân thích hợp là HgCl₂ 0,1% trong 7 phút. Môi trường nhân nhanh chồi có bổ sung tổ hợp 1,5mg/L BAP và 0,4 mg/L α -NAA cho hệ số nhân chồi cao nhất 2,25 lần, chồi phân lóng rõ ràng, sinh trưởng khỏe. Môi trường có bổ sung GA₃ 0,2 mg/L thích hợp nhất để tăng trưởng chồi cây keo lá tràm dòng Clt43 nhằm nâng cao chất lượng chồi trước khi bước vào giai đoạn ra rễ trong quá trình nuôi cấy.

Từ khóa: *In vitro*, keo lá tràm, khử trùng, nhân chồi.

MỞ ĐẦU

Cây keo là một chi thực vật họ phụ Trinh nữ (*Mimosoideae*) thuộc họ Đậu (*Leguminosae*) bao gồm khoảng 1.200 loài có phân bố rộng ở châu Á và châu Đại Dương. Keo lá tràm được đưa vào trồng ở nước ta từ những năm 1960, là loài cây thích ứng khá rộng với các vùng sinh thái khác nhau của nước ta, từ điều kiện khí hậu, đất đai của vùng cát ven biển tương đối khô hạn miền Trung đến vùng núi thấp dưới 400 m ở Tây nguyên và hiện nay đã được gây trồng rộng rãi ở hầu hết các địa phương (Lê Đình Khả, 2001). Đây là những dòng keo có khả năng sinh trưởng nhanh, đã được tuyển chọn và được công nhận là giống tiến bộ kỹ thuật theo quyết định số 2763/QĐ-BNN-LN ngày 1 tháng 10 năm 2009 (Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2009), trong đó dòng Clt43 là dòng có khả năng sinh trưởng nhanh, chống chịu sâu bệnh và chịu hạn tốt.

Tuy nhiên, hiện nay việc nhân giống Keo lá tràm tại địa phương chủ yếu là nhân giống từ hạt, việc sản xuất cây giống bằng phương pháp giâm hom và nuôi cấy mô tế bào còn rất hạn chế. So với phương pháp nhân giống từ hạt và giâm hom, cây giống được nhân theo phương pháp nuôi cấy mô tế bào có độ trẻ hoá cao, cây sinh trưởng tương đối đồng đều, thân dẻo, bộ rễ phát triển gần giống như cây trồng từ hạt và việc sản xuất cây giống có thể thực hiện được quanh năm. Khử trùng và nhân nhanh là các bước không thể thiếu trong quá trình nuôi cấy mô. Vô trùng mô cấy là một thao tác khó, ít khi thành công ngay lần đầu tiên. Dung dịch HgCl₂ được đánh giá là có hiệu quả diệt khuẩn khá và thường được sử dụng ở nồng độ 0,1 % (Nguyễn Hoàng Lộc, 2011). Trong những năm gần đây, dung dịch nano bạc với các hạt nano có diện tích bề mặt lớn làm tăng khả năng tiếp xúc và sự bám dính trên bề mặt tế bào dẫn đến hiệu quả tác động cao và đã được sử dụng nhiều trong nuôi cấy mô (Mahna *et al.*, 2013; Dương Tấn Nhựt *et al.*, 2017; Đồng Huy Giới, Bùi Thị Thu Hương, 2019). Hiệu quả nhân giống *in vitro* đạt cao hay thấp thể hiện ở quá trình nhân nhanh. Vì vậy, nghiên cứu quá trình khử trùng và nhân nhanh góp phần hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* cho từng đối tượng cụ thể của keo lá tràm là rất cần thiết và có ý nghĩa thực tiễn, nhằm bổ sung nguồn cây giống có chất lượng cao đáp ứng nhu cầu gỗ xẻ hiện nay.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Vật liệu nghiên cứu là chồi Keo lá tràm dòng Clt43, lấy từ cây vật liệu gốc 6 tháng đến 1 năm tuổi đã được xử lý tạo chồi ở vườn vật liệu Trung tâm Khoa học Lâm nghiệp Bắc Trung Bộ.

Phương pháp nghiên cứu

Khử trùng mẫu ban đầu: Các chồi dài 10 - 15 cm được lấy từ cây mẹ 6 tháng đến 1 năm tuổi, cắt bỏ lá và rửa dưới vòi nước chảy, sau đó rửa với xà phòng loãng và rửa lại thật sạch bằng nước cất, cắt thành đoạn ngắn có ít nhất một mắt chồi ngủ. Ngâm mẫu trong dung dịch Vico Javel 10 - 20% trong 7 - 10 phút, rửa sạch bằng nước cất vô trùng và cồn 70° trong 30 giây. Lắc mẫu trong dung dịch khử trùng clorua thủy ngân (HgCl₂) 0,1% từ

5 - 10 phút hoặc dung dịch nano bạc 40ppm (kích thước hạt 2 - 3 nm được phòng thí nghiệm của Bộ môn Vật lý chất rắn, trường Đại học Khoa học, Đại học Huế cung cấp) từ 30 - 75 phút để xác định hóa chất và thời gian khử trùng thích hợp. Sau đó, mẫu được tráng lại bằng nước cất vô trùng 3 - 5 lần và được cấy vào 1/2 môi trường Murashige và Skoog cải tiến (MS*) (Murashige, Skoog, 1962), bổ sung 6 g/L agar, 20 g/L đường, 0,1 g/L casein, 0,1g/L inositol. Kết quả được đánh giá sau 4 tuần nuôi cấy.

Mẫu sau khi khử trùng không nhiễm nấm bệnh, đã có hiện tượng bật chồi được cấy trên môi trường dinh dưỡng MS* có bổ sung 6g/L agar, 30 g/L saccharose, 0,1 g/L casein, 0,1 mg/L B₂ và bổ sung 0,07 mg/L Thidiazuron (TDZ) để tái sinh chồi (Nguyễn Thị Như Nguyệt *et al.*, 2019).

Nhân nhanh chồi *in vitro*: Chồi sau khi tái sinh, cụm chồi *in vitro* (7 - 8 chồi) được cấy trên môi trường MS* có 6g/L agar, 30 g/L saccharose, 0,1 g/L casein, 0,1 mg/L B₂, bổ sung phối hợp các chất kích thích sinh trưởng với các nồng độ khác nhau là BAP (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L) và Naphthlene acetic acid (α -NAA) (0,0; 0,2; 0,4; 0,6 mg/L) để thăm dò khả năng nhân chồi. Kết quả được đánh giá sau 4 tuần nuôi cấy.

Tăng trưởng chồi *in vitro*: Chọn cụm chồi *in vitro* (7-8 chồi) cấy lên môi trường MS có 30 g/L saccharose; 6g/L agar; 0,1 g/L casein; 0,1 mg/L B₂ và bổ sung nồng độ BAP, α -NAA tốt nhất ở thí nghiệm nhân nhanh kết hợp thăm dò các nồng độ GA₃ (0,1; 0,2; 0,3 mg/L) nhằm nâng cao chất lượng chồi trước khi bước vào giai đoạn ra rễ. Kết quả được đánh giá sau 4 tuần nuôi cấy.

Bố trí thí nghiệm: Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) với 3 lần lặp lại, 30 mẫu/lặp.

Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH = 5,8 và hấp khử trùng ở điều kiện áp suất 1,2 atm, nhiệt độ 121°C trong 20 phút. Chế độ nuôi mẫu được thực hiện với cường độ chiếu sáng 2.000 - 3.000 lux, thời gian chiếu sáng 10 giờ, nhiệt độ 25 $\pm$ 2°C và chu kỳ cấy chuyển là 25 - 30 ngày.

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ mẫu chết (%), tỷ lệ mẫu đạt (%), số chồi trung bình/mẫu, chiều cao trung bình/chồi, hệ số nhân chồi, chất lượng chồi.

Xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm SPSS 20.0 để phân tích phương sai một nhân tố và hai nhân tố cho các số liệu thu thập trong các thí nghiệm. Kết quả thí nghiệm được kiểm định so sánh bằng Duncan's với mức xác suất có ý nghĩa $p < 0,05$.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Xác định thời gian khử trùng của HgCl₂ và nano bạc đến hiệu quả khử trùng

Hiệu quả của thời gian khử trùng được đánh giá thông qua tỷ lệ mẫu nhiễm, tỷ lệ mẫu chết và tỷ lệ mẫu đạt sau 4 tuần theo dõi. Kết quả ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng dung dịch HgCl₂ 0,1% và nano bạc đến khả năng vô trùng mẫu được trình bày ở bảng 1 và bảng 2.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy sử dụng HgCl₂ 0,1 % ở các khoảng thời gian khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt tới tỷ lệ mẫu nhiễm và tỷ lệ mẫu sống. Với thời gian khử trùng 7 phút, tuy tỷ lệ mẫu nhiễm còn cao (33,69%) nhưng tỷ lệ mẫu đạt cao nhất (33,69%).

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian xử lý mẫu bằng dung dịch HgCl₂ đến kết quả khử trùng

Thời gian (phút)	Số mẫu ban đầu	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ mẫu sống (%)
5	97	54,64 ^a	21,67 ^f	23,75 ^c
6	96	44,74 ^b	27,01 ^e	28,09 ^b
7	92	33,69 ^c	32,61 ^d	33,69 ^a
8	95	30,54 ^d	45,26 ^c	24,23 ^c
9	109	22,93 ^e	58,74 ^b	18,33 ^d
10	93	18,28 ^f	66,67 ^a	15,05 ^e

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ ra sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ (Duncan's test) và được sử dụng cho các bảng tiếp theo.

Khi sử dụng nano bạc với thời gian khử trùng 30 - 45 phút là chưa đủ diệt khuẩn, tỷ lệ mẫu nhiễm cao nhất (87,10 - 100%). Tuy nhiên, khi tăng thời gian khử trùng đến 75 phút thì tỷ lệ mẫu chết lại cao (68,43%), do thời gian khử trùng mẫu quá dài, quá trình lắc và rửa mẫu dài làm cho mẫu bị tổn thương và chết. Với thời gian khử trùng 60 phút, mặc dù tỷ lệ mẫu nhiễm còn cao (57,08%), tỷ lệ mẫu chết cao (30,74%), nhưng tỷ lệ mẫu đạt cao nhất (10,76%) trong thí nghiệm sử dụng nano bạc 40 ppm để khử trùng.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian xử lý mẫu bằng dung dịch nano bạc đến kết quả khử trùng

Thời gian (phút)	Số mẫu ban đầu	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ mẫu đạt (%)
30	90	100,0	0,0	0,0
45	98	87,10 ^b	9,86 ^c	3,03 ^b
60	103	57,08 ^c	30,74 ^b	10,76 ^a
75	101	31,57 ^d	68,43 ^a	0,0
Sig.	-	0,000	0,000	0,000

Như vậy, mặc dù mong muốn đưa thí nghiệm khử trùng bằng nano bạc để góp phần giảm thiểu ô nhiễm môi trường, tuy nhiên qua phân tích số liệu thấy rằng khử trùng bằng dung dịch HgCl₂ 0,1% cho tỷ lệ mẫu đạt cao hơn so với nano bạc 40 ppm, cụ thể ở thời gian khử trùng 5 phút đạt 23,75%, 6 phút đạt 28,09%, 7 phút đạt 33,69%. Trong khi đó, khử trùng bằng nano bạc, tỷ lệ mẫu đạt từ 0 - 10,76%. Theo nghiên cứu của Đoàn Thị Mai và đồng tác giả (2003) thì mẫu được xử lý bằng HgCl₂ 0,1% trong khoảng thời gian từ 8 đến 10 là thích hợp nhất để khử trùng mẫu keo lá trà với tỷ lệ mẫu nhiễm dưới 60% và tỷ lệ mẫu đạt trên 14% thấp hơn so với kết quả của nghiên cứu này là 19%. Ở một nghiên cứu khác, Triệu Thị Thu Hà và đồng tác giả (2014) cũng sử dụng HgCl₂ 0,1 % để khử trùng các dòng keo lá trà Clt7, Clt18, Clt26, Clt57, song kết quả khử trùng mẫu thu được trong 5 phút đem lại hiệu quả khử trùng cao nhất với tỷ lệ mẫu nhiễm 40,1%, mẫu đạt là 31,9% cũng gần tương tự kết quả của chúng tôi.

Ảnh hưởng của tổ hợp BAP và α-NAA đến khả năng nhân nhanh chồi

Nhiều nghiên cứu về nhân giống *in vitro* cho Keo lai, Keo lá trà, Keo lười liềm ở Việt Nam cho thấy, tổ hợp BAP và α-NAA có ảnh hưởng tích cực đến tăng trưởng chiều cao chồi, đặc biệt là ở môi trường MS* bổ sung 1,5 mg/L BAP và 0,5 mg/L α-NAA (Triệu Thị Thu Hà *et al.*, 2014; Phí Hồng Hải, Văn Thu Huyền, 2016; Đoàn Thị Mai *et al.*, 2009). Vì vậy, chúng tôi đã thử nghiệm các nồng độ của BAP kết hợp với α-NAA để tìm ra môi trường thích hợp cho khả năng nhân nhanh chồi giống keo lá trà Clt43. Kết quả thăm dò ảnh hưởng của tổ hợp BAP (0,0 - 2,0 mg/L) kết hợp α-NAA (0,2 - 0,6 mg/L) lên khả năng nhân chồi sau 4 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của các nồng độ BAP và α-NAA đến khả năng nhân nhanh chồi cây keo lá trà dòng Clt43

BAP (mg/L)	NAA (mg/L)	Số chồi TB/mẫu	Chiều cao chồi TB (cm)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chất lượng chồi
0	0	9,02 ^h	1,57 ^b	1,29 ^h	+
0,5	0,2	11,22 ^g	1,61 ^{ab}	1,60 ^g	+
	0,4	12,03 ^e	1,67 ^{ab}	1,72 ^e	++
	0,6	11,79 ^{ef}	1,68 ^{ab}	1,68 ^{ef}	++
1,0	0,2	13,39 ^d	1,69 ^a	1,91 ^d	++
	0,4	14,31 ^c	1,71 ^a	2,04 ^c	+++
	0,6	15,02 ^b	1,70 ^a	2,15 ^b	+++
1,5	0,2	15,14 ^{ab}	1,68 ^{ab}	2,16 ^{ab}	++
	0,4	15,77 ^a	1,70 ^a	2,25 ^a	+++
	0,6	14,78 ^{bc}	1,72 ^a	2,11 ^{bc}	+++
2	0,2	12,46 ^e	1,64 ^{ab}	1,78 ^e	++
	0,4	12,17 ^e	1,65 ^{ab}	1,74 ^e	+
	0,6	11,09 ^g	1,64 ^{ab}	1,58 ^g	+
Sig.	-	0,000	0,944	0,000	-

Chú thích: +: Màu sắc chồi xanh, thân chồi rất mảnh, thân phân lỏng kém; ++: Màu sắc chồi xanh, thân chồi mảnh, thân phân lỏng rõ ràng; +++: Màu sắc chồi xanh, chồi mập, thân phân lỏng rõ ràng.

Tổ hợp BAP kết hợp với α-NAA, khi tăng nồng độ BAP từ 0,5-1,5 mg/L, số chồi thu được tăng dần, chất lượng chồi tốt nhất ở nồng độ 1,5 mg/L. Cụ thể: Nồng độ 1,5 mg/L BAP kết hợp với α-NAA (0,2 - 0,4) mg/L α-NAA làm hệ số nhân chồi và số chồi trung bình/mẫu tăng, hệ số nhân chồi lần lượt đạt 2,11-2,25 lần và số chồi TB/mẫu lần lượt đạt 14,78 - 15,77. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ α-NAA 0,6 mg/L thì hệ số nhân chồi và số chồi trung

bình/mẫu giảm, hệ số nhân chồi đạt 2,11 lần và số chồi TB/mẫu đạt 14,78. Chất lượng chồi tốt ở nồng độ 1,5 mg/L BAP kết hợp với (0,4 và 0,6) mg/L α -NAA, hình thái chồi xanh, chồi mập, thân phân lóng rõ ràng. So với kết quả nghiên cứu của tác giả Triệu Thị Thu Hà và đồng tác giả (2014) khi nghiên cứu nhân giống *in vitro* keo lá tràm (Clt7, Clt18, Clt26, Clt57) hệ nhân chồi cao nhất đạt được trong môi trường bổ sung BAP 1,0 mg/L và α -NAA 0,5 mg/L là 2,1 lần, thì ở kết quả này (dòng Clt43) môi trường tốt nhất cho nhân nhanh là 1,5 mg/L BAP kết hợp với α -NAA 0,4 mg/L cho hệ số nhân chồi cao hơn (2,25).

Ảnh hưởng của các nồng độ GA₃ đến sinh trưởng chồi *in vitro*

Trong đời sống thực vật, gibberelin đóng vai trò quan trọng đối với nhiều quá trình sinh lý như sinh lý phát triển của hoa, làm tăng sinh trưởng chiều dài của thực vật. Trong đó GA₃ được sử dụng thông dụng nhất trong nuôi cấy mô (Nguyễn Hoàng Lộc, 2011).

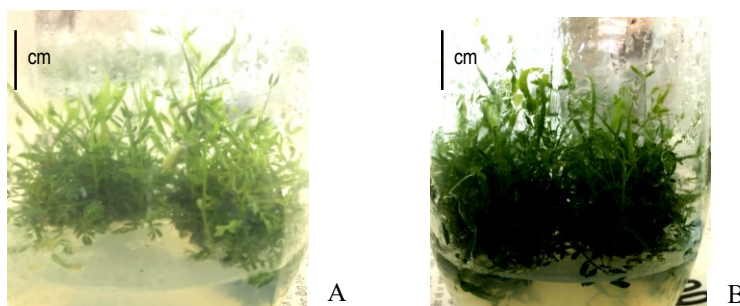
Sau kết quả thăm dò ảnh hưởng của tổ hợp BAP và α -NAA cho thấy, tổ hợp này ảnh hưởng tốt đến khả năng nhân chồi cây keo lá tràm nhưng chiều cao chồi chưa đạt. Vì vậy, chúng tôi tiếp tục tiến hành thăm dò ảnh hưởng của GA₃ (0,1 - 0,3 mg/L) đến khả năng nhân nhanh và kéo dài chồi trên nền môi trường tốt nhất ở giai đoạn nhân nhanh (BAP 1,5 mg/L kết hợp α -NAA 0,4 mg/L).

Kết quả ở ở bảng 4 cho thấy môi trường bổ sung GA₃ không cảm ứng kích thích phát sinh chồi, sinh trưởng của Keo lá tràm Clt43 (sig > 0,05). Số chồi trung bình của các dòng ở môi trường đối chứng so với môi trường bổ sung GA₃ không có sự khác biệt. Tuy nhiên, GA₃ lại có tác động đến kéo dài tế bào thân chồi (sig. = 0,015 < 0,05). Ở môi trường không bổ sung GA₃, mặc dù số chồi đạt cao nhất (15,77 chồi/cụm) nhưng chiều cao chồi thấp nhất (1,7 cm) và hình thái chồi mảnh, phân lóng kém. Khi tăng GA₃ 0,2 mg/L, số chồi đạt 15,57 chồi/cụm, hệ số nhân chồi là 2,22 lần. Màu sắc chồi xanh, chồi mập, thân phân lóng rõ ràng, chiều cao chồi đạt cao nhất (1,87 cm) và khá đồng đều, đáp ứng được yêu cầu chồi chuẩn bị cho ra rễ (Hình 1C). Tuy nhiên khi tăng GA₃ 0,3 mg/L, số chồi thu được giảm, chiều cao chồi giảm và chất lượng chồi kém, cụ thể số chồi đạt 15,3 chồi/cụm, chiều cao chồi đạt 1,73cm, hệ số nhân chồi là 2,18 lần.

Bảng 4. Ảnh hưởng GA₃ đến sinh trưởng chồi *in vitro* cây keo lá tràm

GA ₃ (mg/L)	Số chồi TB/mẫu	Chiều cao chồi TB (cm)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chất lượng chồi
0	15,77 ^a	1,70 ^b	2,25 ^a	+
0,1	15,41 ^a	1,75 ^b	2,20 ^a	+++
0,2	15,57 ^a	1,87 ^a	2,22 ^a	+++
0,3	15,3 ^a	1,73 ^b	2,18 ^a	++
Sig	0,716	0,015	0,716	-

Ghi chú: +: Màu sắc chồi xanh, thân chồi rất mảnh, thân phân lóng kém; ++: Màu sắc chồi xanh, thân chồi mảnh, thân phân lóng rõ ràng; +++: Màu sắc chồi xanh, chồi mập, thân phân lóng rõ ràng



Hình 1. Ảnh hưởng của GA₃ đến sinh trưởng chồi trên môi trường nuôi cấy sau 4 tuần

A. Môi trường đối chứng

B. Môi trường bổ sung 1,0 mg/L casein; 0,1 mg/L B₂; 1,5 mg/L BAP kết hợp 0,4 mg/L α -NAA và 0,2 mg/L GA₃.

KẾT LUẬN

Thời gian khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,1% trong 7 phút là thích hợp nhất cho cây keo lá tràm dòng Clt43, tỷ lệ mẫu sống là 33,69%. Môi trường thích hợp cho nhân nhanh chồi là MS* có bổ sung 1,5 mg/L BAP và 0,4 mg/L α -NAA, hệ số nhân chồi là 2,25 lần, số chồi đạt 15,77 chồi/cụm, chồi sinh trưởng khỏe. Môi trường nâng cao chất lượng chồi tốt nhất là MS* có bổ sung BAP 1,5 mg/L, α -NAA 0,4 mg/L kết hợp với GA₃ 0,2 mg/L thích hợp nhất

để kéo dài chồi cây keo lá trầm, hệ số nhân chồi là 2,22 lần, số chồi đạt 15,57 chồi/cụm, chiều cao chồi khá đồng đều đạt 1,87 cm, màu sắc chồi xanh, chồi mập, thân phân lông rõ ràng. Kết quả này góp phần hoàn thiện qui trình nhân giống *in vitro* cây keo lá trầm dòng Clt43.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (2009). Quyết định công nhận giống cây trồng lâm nghiệp mới, số 2763/QĐ-BNN-LN.
- Dương Tấn Nhựt, Hoàng Thanh Tùng, Lương Thiện Nghĩa, Nguyễn Duy Anh, Nguyễn Phúc Huy, Nguyễn Bá Nam, Vũ Quốc Luận, Vũ Thị Hiền (2017). Nano bạc trong khử trùng môi trường nuôi cấy *in vitro* cây hoa cúc (*Chrysanthemum Morifolium* Ramat Cv. Jimba). *Tạp chí Công nghệ sinh học* 15(3): 505-513.
- Đoàn Thị Mai, Lương Thị Hoan, Lê Sơn, Nguyễn Thanh Hương (2003). Bước đầu nhân giống keo lá trầm bằng phương pháp nuôi cấy mô, *Thông tin Khoa học lâm nghiệp*, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, số 4.
- Đoàn Thị Mai, Nguyễn Thị Mỹ Hương, Vũ Thị Ngọc, Trần Thanh Hương, Văn Thu Huyền (2009). Nuôi cấy mô một số giống keo lai mới chọn tạo, *Tạp chí khoa học lâm nghiệp*, số 2, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, Hà Nội: 905-910.
- Đồng Huy Giới, Bùi Thị Thu Hương (2019). Nghiên cứu sử dụng nano bạc trong nhân giống *in vitro* lan hồ điệp vàng (*Phalaenopsis* sp.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ lâm nghiệp* 1: 19-24.
- Lê Đình Khả (2001). Chọn giống và nhân giống cho một số loài cây trồng rừng chủ yếu giai đoạn 1996 – 2000. *Báo cáo khoa học*, Viện khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.
- Mahna N, Vahed SZ, Khani S (2013). Plant *in vitro* culture goes nano: Nanosilver-Mediated decontamination of ex vitro Explants. *J Nanomed Nanotechol* 2 (4): 1-4.
- Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth & bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497.
- Nguyễn Thị Như Nguyệt, Nguyễn Thị Thanh Nga, Phan Thị Phương Nhi (2019). Quy trình nhân giống *in vitro* cây keo lá trầm (*Acacia Auriculiformis* A.Cunn. Ex. Benth) dòng Clt43. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển nông thôn* 3D (128): 33-41.
- Nguyễn Hoàng Lộc (2011). *Nuôi cấy mô và tế bào thực vật – Các khái niệm và ứng dụng*, NXB Đại học Huế.
- Phí Hồng Hải, Văn Thu Huyền (2016). Nhân giống *in vitro* các gia đình ưu việt Keo lá liềm (*Acacia crassicaarpa* A. Cunn. ex Benth.) phục vụ trồng rừng, *Tạp chí Khoa học lâm nghiệp*, số 3, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, Hà Nội: 4431-4440.
- Triệu Thị Thu Hà, Cấn Thị Lan, Đồng Thị Ưng (2014). Nghiên cứu nhân giống Keo lá trầm (*Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth) bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào. *Tạp chí Khoa học lâm nghiệp*, số 4, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, Hà Nội: 3508-3515.

RESEARCH ON THE STERILIZATION AND PROPAGATION PROCESS OF *IN VITRO* CULTURE OF *Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth CLT43 LINE

Le Thi Nhu Nguyet^{1*}, Nguyen Thi Thanh Nga¹, Phan Thi Phuong Nhi²

¹ Center of Forest Sciences North Central, Vietnamese Academy of Forest Sciences

² University of Agriculture and Forestry, Hue University

SUMMARY

This study was carried out to determine the disinfection, sterilization time and appropriate propagation medium, contributing to the completion of the *in vitro* propagation protocol of *Acacia auriculiformis* Clt43 line. The experiments used the basic MS (Murashige and Skoog) modified medium supplemented with different plant growth regulators. The experiments were designed completely randomized (CRD) with three replications for each. The results showed that the HgCl₂ was better disinfection effect than nano Ag, sterilized time with 0.1% HgCl₂ in 7 minutes. The propagation medium was supplemented with 1.5mg/L BAP and 0.4 mg/L α-NAA gave the highest shoot multiplication, 2.25 times, the shoots were clearly internote and well grown. The suitable medium for shoot growth was 1/2 MS modified supplemented with GA₃ 0.2 mg/L, to improve shoot quality before moving the rooting stage in culture process.

Keywords: *In vitro*, *Acacia auriculiformis*, sterilization, shoot propagation.

* Author for correspondence: Tel: +84-945798086; Email: nhunguyet84@gmail.com