

NGHIÊN CỨU HOÀN THIỆN KỸ THUẬT NHÂN GIỐNG IN VITRO CÂY TRÀM GIÓ (*Melaleuca cajuputi* Powell) Ở TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Hoàng Huy Tuấn¹, Phạm Cường¹, Lê Thị Thúy Nga²,
Tống Phước Bình², Nguyễn Cao Danh², Tôn Thất Ái Tín^{2,*}

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm hoàn thiện kỹ thuật tạo cây con Tràm gió (*Melaleuca cajuputi* Powell) bằng phương nhân giống *in vitro* được thực hiện tại Công ty Trách nhiệm hữu hạn Nhà nước Một thành viên Lâm nghiệp Tiền Phong. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khử trùng đoạn thân mang mầm chồi 2 lần bằng Javel 25% trong 5 phút và 10 phút cho tỷ lệ mẫu sống tạo chồi đạt 89,6%. Môi trường MS + 1 mg/l BA + 30 g/l đường + 6 g/l agar + 1 mg/l kinetin + 1 mg/l BAP cho 6,5 chồi/cụm và chiều cao chồi đạt 3,7 cm. Môi trường 1/2 MS + 15 g/l đường + 1,0 mg/l NAA + 1 mg/l IBA cho tỷ lệ ra rễ trên 96,3% với 3,7 rễ/cây và chiều dài rễ 2,0 cm. Kết quả nghiên cứu giai đoạn vườn ươm cho thấy, thành phần ruột bầu 80% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 10% phân chuồng hoai, che sáng 75% trong 30 ngày đầu, tưới phun sương tự động 6 phút phun 1 lần và thời gian phun trong 10 giây cho cho tỷ lệ cây sống cao đạt trên 89,3% sau 6 tháng ươm trồng. Cây Tràm gió nuôi cấy mô ở vườn ươm có chiều cao trên 40 cm, đường kính cổ rễ tối thiểu 1,5 mm và có trên 12 lá; cây phẩm chất tốt, xanh tươi, không sâu, bệnh đạt tiêu chuẩn xuất vườn.

Từ khóa: Khí hậu, nhân giống *in vitro*, thích nghi, Thừa Thiên Huế, Tràm gió.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tràm gió (*Melaleuca cajuputi* Powell) phân bố ở miền Trung và Nam bộ nhưng tập trung chủ yếu ở tỉnh Thừa Thiên Huế và Quảng Trị. Tràm gió là cây bản địa đa tác dụng, có giá trị kinh tế cao, đặc biệt là tinh dầu tràm có tác dụng dược lý đặc trưng như: Chống cảm lạnh, tránh ho, kháng khuẩn, chống và trị muỗi, chống đầy hơi, không tiêu [1] nên nhu cầu sử dụng cao dẫn đến bị khai thác và trở nên khan hiếm ngoài tự nhiên trong những năm trở lại đây [2], [3]. Cây Tràm gió phân bố tự nhiên ở tỉnh Thừa Thiên Huế được đánh giá có chất lượng tinh dầu và tỷ lệ 1,8-Cineol cao nhất nên có giá trị cao về kinh tế và bảo tồn [4], [5], [6]. Từ những giá trị mang lại, cây Tràm gió là một trong những loài cây được liệu bản địa được ưu tiên gây trồng phát triển tạo vùng nguyên liệu tập trung

[7], [8] và nhu cầu cây giống để trồng ngày càng tăng [3].

Cây Tràm gió hiện nay được nhân giống chủ yếu bằng gieo ươm từ hạt và giâm hom với nguồn vật liệu giống chưa được tuyển chọn từ cây mẹ có phẩm chất tốt và hàm lượng tinh dầu cao. Để tạo giống chất lượng tốt và tăng hệ số nhân giống nhanh, đã có một số công trình nghiên cứu về kỹ thuật nhân giống *in vitro* cây Tràm gió [9], [10], [11], [12]. Tuy nhiên, những nghiên cứu đều thực hiện thăm dò bước đầu ở giai đoạn nuôi cấy mô và chưa có những nghiên cứu sâu hoàn chỉnh từ nuôi cấy *in vitro* đến giai đoạn đưa cây mầm mô ra cấy và chăm sóc ở vườn ươm để tạo cây con Tràm gió *in vitro* đủ tiêu chuẩn xuất vườn. Thực hiện nghiên cứu hoàn thiện quy trình kỹ thuật nhân giống cây Tràm gió ở tỉnh Thừa Thiên Huế bằng phương pháp *in vitro* nhằm cung cấp đầy đủ nội dung quy trình kỹ thuật nuôi cấy mô cây Tràm gió cho hiệu quả cao, phục vụ sản xuất đại trà.

¹ Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

² Công ty Trách nhiệm hữu hạn Nhà nước Một thành viên Lâm nghiệp Tiền Phong

* Email: tintnbth@gmail.com

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**2.1. Vật liệu, thời gian và địa điểm nghiên cứu**

Sử dụng cành bánh tẻ (hóa gỗ 1/3) dài 3 - 4 cm có mang mắt ngủ được thu hái ở vườn cây Tràm gió mẹ dẫn dòng có chọn lọc từ những cây Tràm gió tự nhiên được trồng tại Công ty Trách nhiệm Hữu hạn Nhà nước Một thành viên (TNHHNNMTV) Lâm nghiệp Tiền Phong. Thí nghiệm nhân giống *in vitro* cây Tràm gió được thực hiện từ tháng 1 đến tháng 6/2022 và thí nghiệm huấn luyện cây con *in vitro* từ tháng 7 đến tháng 12/2022 tại vườn ươm của Trung tâm Khoa học Kỹ thuật và Sản xuất Lâm nông nghiệp Thiên An thuộc Công ty TNHHNNMTV Lâm nghiệp Tiền Phong.

2.2. Phương pháp nghiên cứu**2.2.1. Nghiên cứu hoàn thiện kỹ thuật nhân nhanh *in vitro* nguồn gen Tràm gió**

- *Điều kiện phòng nuôi cấy*: Mẫu được nuôi cấy trong điều kiện vô trùng ở nhiệt độ 27 - 29°C, cường độ ánh sáng 2.000 - 3.000 Lux và chu kỳ chiếu sáng 12 giờ/ngày.

- *Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của thời gian khử trùng chồi non Tràm gió bằng nước Javel*

Mẫu cấy là đoạn ngọn non (3 - 4 cm, có chứa một đốt thân) sau khi được rửa sạch bụi bẩn, khử trùng bằng Javel 25% (Javel thương mại Mỹ Hảo có hoạt chất Sodium hypochloride 5% được pha loãng với nước cất vô trùng theo tỷ lệ 1: 3) 2 lần. Lần 1: mẫu được khử trùng trong 5 phút, sau đó tráng lại 7 lần bằng nước cất vô trùng và khử trùng lần 2 gồm 3 công thức (CT) với thời gian xử lý Javel lần 2: CT1: 5 phút; CT2: 10 phút và CT3: 15 phút. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp, mỗi công thức 270 mẫu. Mẫu xử lý xong được cắt bỏ phần mô hỏng do tiếp xúc với Javel và cấy vào môi trường cơ bản MS có bổ sung BA. Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ mẫu chết (%), tỷ lệ mẫu sống sạch (%) sau 30 ngày nuôi cấy.

- *Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của nồng độ BA đến khả năng nhân nhanh chồi Tràm gió.*

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp, mỗi công thức 270 mẫu, gồm 4 công thức: CT1: 0,5 mg/l BA; CT2: 1,0 mg/l BA; CT3:

1,5 mg/l BA; CT4: 2,0 mg/l BA trên nền môi trường MS + 1 mg/l kinetin + 30 g/l đường thương mại + 6 g/l agar. Mẫu cấy là các chồi tái sinh *in vitro* (cao 0,5 - 1,0 cm). Chỉ tiêu theo dõi: Số chồi/mẫu (chồi), chiều cao chồi (cm) sau 40 ngày nuôi cấy.

- *Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng nồng độ IBA đến khả năng tạo cây Tràm gió *in vitro* hoàn chỉnh.*

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp, mỗi công thức gồm 270 mẫu, gồm 4 công thức: CT1: 0,5 mg/l IBA; CT2: 1,0 mg/l IBA; CT3: 1,5 mg/l IBA; CT4: 2,0 mg/l IBA trên nền môi trường 1/2 MS + 1 mg/l NAA + 15 g/l đường + 6 g/l agar. Mẫu cấy là chồi đơn *in vitro* (cao từ 1 - 2 cm). Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ tạo rễ (%), số rễ/cây (rễ) và chiều dài rễ (cm) sau 30 ngày nuôi cấy.

2.2.2. Nghiên cứu đưa cây Tràm gió *in vitro* (cây mầm mô) ra cấy và chăm sóc ở vườn ươm

- *Điều kiện tự nhiên*: Khu thí nghiệm ở Trung tâm Khoa học kỹ thuật và sản xuất lâm nông nghiệp Thiên An tại phường Thủy Xuân, thành phố Huế, tỉnh Thừa Thiên Huế chịu ảnh hưởng chung của thời tiết khí hậu nhiệt đới gió mùa, độ ẩm trung bình 85%, nhiệt độ trung bình 25°C. Khí hậu được chia hai mùa rõ rệt: Mùa nắng từ tháng 3 đến tháng 8, thời gian khô hạn kéo dài, gây khó khăn cho sản xuất và sinh trưởng cây trồng. Tổng số giờ nắng trong năm đạt 1.900 giờ. Độ ẩm trung bình năm khoảng 87%, tập trung vào các tháng mùa mưa từ tháng 10 đến tháng 2 năm sau và độ ẩm giảm trong giai đoạn từ tháng 3 đến tháng 9 [13].

- *Điều kiện vườn ươm*: Có hệ thống tưới phun bằng nước sạch và hệ thống hện giờ phun và thời gian phun.

- *Tiêu chuẩn cây *in vitro* đem cấy*: Cây có từ 3 - 5 rễ, cao từ 4 - 6 cm, chiều dài rễ 1,0 - 2,5 cm, 4 - 8 lá, cây sinh trưởng tốt, lá xanh đậm, bộ rễ trắng và không bị nhiễm nấm, khuẩn, bệnh, được huấn luyện ở nhà lưới trong điều kiện tự nhiên (nhiệt độ nhà lưới có khi đạt từ 45 - 50°C).

- *Kỹ thuật huấn luyện thích nghi*: Bình cây đạt tiêu chuẩn được đặt ở nhà lưới trong điều kiện tự nhiên (nhiệt độ nhà lưới có khi đạt từ 45 - 50°C) trong 30 - 45 ngày, sau đó cây được lấy ra

khởi bình nuôi cấy và được loại bỏ sạch môi trường thạch ở rễ.

- *Kỹ thuật chăm sóc cây ở vườn ươm*: Tưới phun sương 10 giây, khoảng cách giữa 2 lần phun 6 phút, che sáng bằng lưới đen với độ che sáng 75% trong 30 ngày đầu, sau đó dỡ bỏ hoàn toàn (trừ thí nghiệm chế độ tưới nước và che sáng); thành phần ruột bầu 85% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 5% phân vi sinh Sông Hương (trừ thí nghiệm thành phần ruột bầu).

- *Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng thành phần ruột bầu đến sinh trưởng cây Tràm gió in vitro ở vườn ươm*

Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ với 3 lần lặp, 270 cây/công thức, gồm 6 công thức:

CT1: 85% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 5% phân chuồng hoai;

CT2: 80% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 10% phân chuồng hoai;

CT3: 89% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 1% phân vi sinh Sông Hương;

CT4: 87% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 3% phân vi sinh Sông Hương;

CT5: 85% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay + 5% phân vi sinh Sông Hương;

CT6: 90% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phộng xay (Đối chứng, không phân bón).

- *Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của chế độ tưới nước và thời gian che sáng đến sinh trưởng cây Tràm gió in vitro ở vườn ươm*

Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ với 3 lần lặp, 270 cây/công thức, gồm 6 công thức:

CT1: Che sáng 7 ngày + tưới ($T_n = 2$ phút, $T_p = 10$ giây);

CT2: Che sáng 7 ngày + tưới ($T_n = 4$ phút, $T_p = 10$ giây);

CT3: Che sáng 7 ngày + tưới ($T_n = 6$ phút, $T_p = 10$ giây);

CT4: Che sáng 30 ngày + tưới ($T_n = 2$ phút, $T_p = 10$ giây);

CT5: Che sáng 30 ngày + tưới ($T_n = 4$ phút, $T_p = 10$ giây);

CT6: Che sáng 30 ngày + tưới ($T_n = 6$ phút, $T_p = 10$ giây).

- *Chỉ tiêu theo dõi*: Số liệu về tỷ lệ sống (%), H_{vn} (cm): Chiều cao vút ngọn, D_{00} (mm): Đường kính cổ rễ, số lá (lá); tỷ lệ cây đạt tiêu chuẩn xuất vườn (%) sau 6 tháng ươm trồng là những cây có tiêu chuẩn từ trung bình trở lên. Phẩm chất cây được chia thành 3 loại [14]:

+ Loại A: $H_{vn} \geq 35$ cm, $D_{00} \geq 2,0$ mm, có trên 14 lá. Cây xanh tươi, cứng cáp, cân đối.

+ Loại B: $30 \text{ cm} \leq H_{vn} < 35$ cm, $1,5 \text{ mm} \leq D_{00} < 2,0$ mm, có 12 - 14 lá. Cây cứng cáp, không bị sâu, bệnh.

+ Loại C: $H_{vn} < (30)$ cm, $D_{00} < 1,5$ mm, có dưới 12 lá. Cây còi cọc, vàng úa, cụt ngọn, bị sâu, bệnh.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Sử dụng phương pháp phân tích phương sai một nhân tố (One-Way ANOVA) để kiểm tra sự khác biệt và phân tích hậu kiểm theo DUNCAN (post-hoc) với mức ý nghĩa $p < 0,05$ bằng phần mềm SPSS 25 để tìm công thức thí nghiệm tốt nhất. Số liệu được trình bày trong bảng kết quả là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại $\pm$ sai số chuẩn (Standard Error - SE), các chữ cái a, b, c... là kết quả phân tích hậu kiểm theo Duncan's Test [15].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng một số nhân tố trong nhân giống in vitro cây Tràm gió

3.1.1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng mẫu cấy bằng Javel 25%

Khử trùng mẫu cấy là một trong những bước quan trọng nhằm đảm bảo tỷ lệ mẫu sống tạo chồi cao nhất. Kết quả khử trùng mẫu Tràm gió sau 30 ngày nuôi cấy được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1 cho thấy, khử trùng mẫu bằng Javel 25% trong 2 lần cho hiệu quả hơn khử trùng 1 lần. Công thức khử trùng 1 lần (CT1) có tỷ lệ mẫu sống sạch thấp nhất và tỷ lệ mẫu nhiễm lại cao nhất trong thí nghiệm. Kết quả phân tích cho thấy, tỷ lệ mẫu chết cao nhất xảy ra ở công thức CT4 (thời gian xử lý Javel 25% lần 2 trong 15 phút).

Tổng thời gian xử lý trong 2 lần lên đến 20 phút đã gây độc cho mẫu Tràm gió *in vitro*. Tỷ lệ mẫu sống tạo chồi cao nhất thuộc về CT3 (89,6%), trong khi tỷ lệ mẫu nhiễm thấp nhất được ghi nhận ở cả 2 công thức CT3 (6,7%) và CT4 (3,0%), các giá trị này

đều khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với các công thức còn lại (Sig. < 0,05). Như vậy, khử trùng 2 lần bằng Javel 25% (5 phút lần 1 và 10 phút lần 2) cho hiệu quả tốt nhất.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian xử lý Javel 25% đến hiệu quả khử trùng mẫu

Công thức	Thời gian khử trùng (phút)		Tỷ lệ (%)		
	Lần 1	Lần 2	Mẫu sống tạo chồi	Mẫu chết	Mẫu nhiễm
CT1	5	-			
CT2	5	5	38,9 ^a	4,8 ^a	56,3 ^b
CT3	5	10	89,6 ^b	3,7 ^a	6,7 ^a
CT4	5	15	51,1 ^a	45,9 ^b	3,0 ^a
Sig.			0,00	0,00	0,00

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% ($p < 0,05$)

3.1.2. Ảnh hưởng của BA đến nhân nhanh chồi Tràm gió *in vitro*

Trong nghiên cứu nhân giống *in vitro*, BA thường được sử dụng ở nồng độ cao và tổ hợp chất kích thích thích sinh trưởng nồng độ thấp. Kết quả

thí nghiệm ảnh hưởng của BA đơn chất với thang nồng độ từ 0,5 - 2,0 mg/l đến khả năng nhân nhanh từ mẫu cấy chồi Tràm gió *in vitro* sau 40 ngày nuôi cấy được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng BA đến khả năng nhân nhanh chồi Tràm gió sau 40 ngày nuôi cấy

Công thức	BA (mg/l)	Số chồi (chồi)	Chiều cao chồi (cm)
CT1	-	2,31 ^a ± 0,039	2,25 ^b ± 0,024
CT2	0,5	3,26 ^a ± 0,066	2,57 ^b ± 0,018
CT3	1,0	6,47 ^b ± 0,096	3,68 ^c ± 0,015
CT4	1,5	6,11 ^b ± 0,088	3,32 ^c ± 0,008
CT5	2,0	4,23 ^a ± 0,073	1,12 ^a ± 0,005
P tính		0,00	0,00

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% ($p < 0,05$)

Bảng 2 cho thấy, bổ sung 1 mg/l kinetin và từ 1 - 1,5 mg/l BA cho hiệu tốt hơn so với công thức nồng độ 0,5 mg/l BA và 2,0 mg/l BA. Bổ sung nhiều hơn hoặc ít hơn BA cho hiệu quả tạo chồi thấp, chất lượng chồi giảm. So sánh với các loài cây khác, nhu cầu bổ sung BA của Tràm gió ở mức thấp đến trung bình.

Nghiên cứu Tràm *cajuputi* và Tràm trà của Phùng Thị Hằng, Nguyễn Bảo Toàn (2011) [9], Nguyễn Đăng Thùy (2014) [11] cho thấy, bổ sung

BA nồng độ trên 1 mg/l vào môi trường nuôi cấy trong giai đoạn nhân chồi tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi cao, hệ số nhân chồi lớn, song chồi màu xanh nhạt, lá bị biến dạng, sinh trưởng chậm. Nhân chồi Tràm gió sử dụng BAP ở nồng độ lớn hơn 1 mg/l tuy làm tăng hệ số nhân chồi, song kim hãm chồi sinh trưởng chiều cao. Tuy nhiên, khác với các nghiên cứu trước, nghiên cứu này đã kết hợp giữa Kinetin và BA đồng thời nuôi cấy mô trong điều kiện chiếu sáng của hệ thống đèn LED chuyên

dùng cộng với ánh sáng tự nhiên và kỹ thuật cấy chuyển mẫu tách nhỏ mẫu đã tối ưu hóa khả năng nhân nhanh, thúc đẩy phát triển chiều cao chồi và không làm biến dạng lá. Kết quả phân tích cho thấy, nồng độ BA khác nhau có ảnh hưởng khác nhau đến khả năng nhân nhanh chồi *in vitro* cây Tràm gió và có sai khác về ý nghĩa thống kê ở tất cả các chỉ tiêu ($p < 0,05$). Như vậy, sử dụng môi trường MS + 30 g/l đường + 6 g/l agar + 1 mg/l kinetin + 1 mg/l BA trong giai đoạn nhân nhanh chồi cho hiệu quả cao nhất (6,47 chồi/cum, chiều cao chồi đạt 3,68 cm).

3.1.3. Ảnh hưởng nồng độ IBA đến khả năng tạo rễ cây Tràm gió *in vitro*

Các chồi *in vitro* đạt tiêu chuẩn cao từ 1,5 - 2,5 cm được chuyển sang môi trường 1/2MS có bổ sung IBA (với các thang nồng độ 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l IBA) kết hợp với 1,0 mg/l NAA, 15 g/l đường và 6 g/l agar để nghiên cứu khả năng tạo rễ. Kết quả đánh giá ảnh hưởng nồng độ chất kích thích ra rễ IBA đến khả năng tạo rễ cây Tràm gió được tổng hợp ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng nồng độ chất kích thích ra rễ IBA đến khả năng tạo rễ cây Tràm gió

Công thức	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ (rễ)	Chiều dài rễ (cm)
CT1	92,2 ^c	3,18 ^b ± 0,076	2,09 ^b ± 0,017
CT2	96,3 ^c	3,56 ^c ± 0,064	2,31 ^c ± 0,017
CT3	76,3 ^b	2,61 ^b ± 0,078	1,95 ^a ± 0,012
CT4	54,4 ^a	1,14 ^a ± 0,032	1,85 ^a ± 0,060
P tính	0,00	0,00	0,00

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% ($p < 0,05$)

Bảng 3 cho thấy, có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê về số rễ, chiều dài rễ và tỷ lệ ra rễ giữa các công thức thí nghiệm ($p < 0,05$). Số rễ, chiều dài rễ và tỷ lệ ra rễ tăng dần khi tăng nồng độ IBA và đạt giá trị cao nhất ở thang nồng độ 1,0 mg/l IBA rồi sau đó giảm dần. Ở mức nồng độ 1,0 mg/l IBA cho giá trị cao nhất ở cả 3 chỉ tiêu tỷ lệ mẫu ra rễ (96,3%), số rễ (3,56 rễ) và chiều dài rễ (2,31 cm). Như vậy, đối với việc tạo rễ cây *in*

vitro Tràm gió, chất kích thích ra rễ chỉ bổ sung ở mức độ từ thấp đến trung bình (0,5 – 1,5 mg/l IBA), càng tăng nồng độ IBA tỷ lệ ra rễ càng giảm, chiều dài rễ càng ngắn lại. Kết quả nghiên cứu của Phùng Thị Hằng, Nguyễn Bảo Toàn (2011) cho thấy, giai đoạn ra rễ trầm *cajuputi* bổ sung 2 mg/l NAA trong khi nghiên cứu trầm năm gân, chỉ cần bổ sung 0,3 mg/l NAA [9] hoặc 0,5 mg/l NAA phù hợp nhất để cây mô ra rễ [10]. Với nghiên cứu này, kết hợp IBA và NAA trong giai đoạn tạo rễ đã nâng cao chất lượng cây mô thông qua đánh giá hình thái bên ngoài (thân, rễ). Bên cạnh đó, việc giảm nồng độ các chất dinh dưỡng trong môi trường và đường ảnh hưởng đến quá trình ra rễ của Tràm gió. Trong quá trình ra rễ của cây, nhu cầu sử dụng dinh dưỡng rất thấp. Kết quả nghiên cứu cho kết quả vượt trội so với các công trình nghiên cứu trước đây về sử dụng chất điều hòa sinh trưởng và nồng độ trong giai đoạn tạo rễ nuôi cấy mô Tràm gió [8], [11]. Như vậy, môi trường tạo rễ Tràm gió (CT2): ½ MS + 1 mg/l IBA + 1 mg/l NAA + 15 g/l đường + 6 g/l agar cho hiệu quả tạo rễ tốt nhất.

3.2. Ảnh hưởng một số nhân tố đến sinh trưởng cây Tràm gió *in vitro* ở vườn ươm

3.2.1. Ảnh hưởng của thành phần ruột bầu đến sinh trưởng và tỷ lệ cây con xuất vườn

Quá trình cấy chuyển và chăm sóc cây *in vitro* ở giai đoạn vườn ươm là bước cuối cùng và rất quan trọng trong nhân giống tạo cây con phương pháp nuôi cấy mô. Do thay đổi lớn về môi trường sống *in vitro* và *ex vitro* nên đòi hỏi có những nghiên cứu kỹ thuật huấn luyện để đảm bảo hiệu quả cao. Sống ngoài môi trường tự dưỡng, nhiều mầm bệnh và yếu tố môi trường hoàn toàn khác trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* đã ảnh hưởng rất lớn đến sức sống và khả năng sinh trưởng phát triển của cây. Nghiên cứu khả năng sống sót, sinh trưởng và phát triển cây con Tràm gió *in vitro* hoàn chỉnh (có từ 3 - 5 rễ, cao từ 4 - 6 cm, chiều dài rễ 1,0 - 2,5 cm, 4 - 8 lá) trên 6 công thức thành phần hỗn hợp ruột bầu. Kết quả theo dõi ảnh hưởng các công thức giá thể đến khả năng sống sót và sinh trưởng của cây mầm mô Tràm gió được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4 cho thấy, các công thức thành phần ruột bầu có ảnh hưởng khác nhau đến sinh trưởng và phát triển cây Tràm gió *in vitro* sau 6 tháng tuổi ở vườn ươm. Kết quả phân tích chứng minh công thức CT2 có sự khác biệt một cách ý nghĩa về mặt thống kê đối với cả 3 chỉ tiêu sinh trưởng chiều cao vút ngọn, đường kính cổ rễ và số lá cây Tràm gió *in vitro* so với các công thức còn lại ($p < 0,05$). Sử dụng thành phần ruột bầu thành phần hữu cơ (trộn vỏ trấu, vỏ đậu phộng xay và phân chuồng

hoai) tạo độ tơi xốp và phân chuồng hoai cung cấp dinh dưỡng dễ hấp thụ giúp cây con *in vitro* sinh trưởng tốt. Sử dụng liều lượng lớn phân vi sinh trong thành phần ruột bầu có ảnh hưởng tiêu cực đến khả năng sinh trưởng cây Tràm gió. Nghiên cứu cũng chỉ ra rằng sử dụng thành phần ruột bầu 100% đất mùn vẫn cho cây sinh trưởng vượt trội hơn khi sử dụng liều lượng phân vi sinh Sông Hương 5% trong thành phần ruột bầu.

Bảng 4. Chiều cao, đường kính cổ rễ và số lá cây Tràm gió *in vitro* 6 tháng tuổi ở các công thức thành phần ruột bầu

Công thức	Các chỉ tiêu sinh trưởng trung bình		
	H _{vn} (cm)	D ₀₀ (mm)	Số lá (lá)
CT1	51,90 ^{cd} ± 1,22	2,18 ^c ± 0,06	16,78 ^{bc} ± 0,71
CT2	58,06 ^e ± 1,28	2,37 ^d ± 0,08	19,10 ^d ± 0,81
CT3	52,62 ^c ± 1,46	2,17 ^c ± 0,06	14,95 ^{bc} ± 0,72
CT4	49,06 ^b ± 1,42	1,71 ^a ± 0,04	13,59 ^a ± 0,84
CT5	45,76 ^{ab} ± 1,49	1,92 ^b ± 0,06	14,79 ^{ac} ± 0,92
CT6	49,85 ^{bc} ± 1,16	1,94 ^b ± 0,05	14,71 ^{ab} ± 0,76
<i>P</i> tính	0,00	0,00	0,00

Ghi chú: CT 1: 85% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phụng xay + 5% phân chuồng hoai; CT 2: 80% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phụng xay + 10% phân chuồng hoai; CT 3: 89% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phụng xay + 1% phân vi sinh Sông Hương; CT 4: 87% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phụng xay + 3% phân vi sinh Sông Hương; CT 5: 85% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phụng xay + 5% phân vi sinh Sông Hương; CT6: 100% đất mùn (Đối chứng). Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% ($p < 0,05$)

Từ kết quả phân tích khả năng sinh trưởng cây con Tràm gió *in vitro* sau 6 tháng tuổi ở vườn ươm cho thấy, công thức ruột bầu gồm 80% đất, 5% vỏ trấu, 5% vỏ đậu phụng xay và 10% phân chuồng hoai trong vườn cây Tràm gió *in vitro* là công thức thí nghiệm tốt nhất, cho sinh trưởng tốt nhất về

chiều cao vút ngọn (H_{vn} = 58,06 cm), đường kính gốc (D₀₀ = 2,37 mm) và số lá (19,10 lá/cây).

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của thành phần ruột bầu đến tỷ lệ cây sống, phẩm chất cây con và tỷ lệ cây con xuất vườn được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Tỷ lệ sống và phẩm chất cây Tràm gió *in vitro* 6 tháng tuổi theo các công thức thành phần ruột bầu

Công thức	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ phân loại phẩm chất cây (%)			Tỷ lệ cây xuất vườn (%)
		Loại A	Loại B	Loại C	
CT1	81,9 ^b	23,5	50,7	25,8	74,2
CT2	90,0 ^c	25,1	56,8	18,1	81,9
CT3	80,4 ^b	22,6	56,7	20,7	79,3

CT4	79,3 ^b	20,1	52,3	27,6	72,4
CT5	71,9 ^a	23,2	54,1	22,7	77,3
CT6	74,4 ^a	20,9	53,2	25,9	74,1

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% ($p < 0,05$)

Bảng 5 cho thấy, tỷ lệ cây sống sót ở các công thức thành phần ruột bầu là khá cao và dao động từ 71,9% (CT5) đến 90,0% (CT2); tỷ lệ cây con xuất vườn từ 72,4% (CT4) đến 81,9% (CT2). Nhìn chung, công thức ruột bầu CT2 cho giá trị cao nhất về cả 2 chỉ tiêu tỷ lệ cây sống sót và tỷ lệ cây con xuất vườn. Kết quả phân tích thống kê cho thấy, có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các công thức ruột bầu về chỉ tiêu tỷ lệ sống với độ tin cậy 95% (P tính = 0,00 và nhỏ hơn 0,05). Nghiên cứu xác định công thức thành phần ruột bầu CT2 có tỷ lệ sống và tỷ lệ cây đủ tiêu chuẩn xuất vườn tốt nhất.

Qua kết quả đánh giá, phân tích tổng hợp chỉ tiêu tỷ lệ cây sống sót và tỷ lệ cây con xuất vườn

kết hợp các chỉ tiêu sinh trưởng được trình bày ở bảng 4 cho thấy, công thức ruột bầu 80% đất, 5% vỏ trấu, 5% vỏ đậu phộng xay và 10% phân chuồng hoai cho kết quả tốt nhất.

3.2.2. Ảnh hưởng của chế độ tưới nước và che sáng

Nước và ánh sáng là hai nhân tố sinh thái rất cần đối với cây con, đặc biệt ở giai đoạn đầu khi cây mầm mô mới cấy chuyển ra nuôi dưỡng ở môi trường *ex vitro*. Nghiên cứu xác định lượng nước tưới và che sáng phù hợp là cần thiết đối với cây Tràm gió *in vitro* ở giai đoạn vườn ươm. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của chế độ tưới nước và che sáng đến sinh trưởng cây Tràm gió *in vitro* huấn luyện ở vườn ươm được tổng hợp ở bảng 6.

Bảng 6. Chiều cao và đường kính gốc cây Tràm gió *in vitro* 6 tháng tuổi ở các công thức chế độ tưới nước và che sáng

Công thức	Các chỉ tiêu sinh trưởng bình quân		
	H _{vn} (cm)	D ₀₀ (cm)	Số lá (lá)
CT1	23,50 ^a ± 0,41	1,41 ^a ± 0,33	12,13 ^a ± 0,57
CT2	35,33 ^b ± 0,60	1,68 ^b ± 0,33	12,92 ^{ab} ± 0,43
CT3	41,60 ^d ± 0,90	1,89 ^c ± 0,33	14,15 ^d ± 0,36
CT4	35,76 ^{bc} ± 1,67	1,75 ^b ± 0,04	12,96 ^{abc} ± 0,54
CT5	38,56 ^c ± 0,68	1,87 ^c ± 0,04	13,75 ^{bcd} ± 0,27
CT6	48,64 ^e ± 1,28	2,13 ^d ± 0,08	16,40 ^e ± 0,29
<i>P-value</i>	0,00	0,00	0,00

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% ($p < 0,05$). CT 1: Che sáng 7 ngày + tưới ($T_n = 2$ phút, $T_p = 10$ giây); CT 2: Che sáng 7 ngày + tưới ($T_n = 4$ phút, $T_p = 10$ giây); CT 3: Che sáng 7 ngày + tưới ($T_n = 6$ phút, $T_p = 10$ giây); CT 4: Che sáng 30 ngày + tưới ($T_n = 2$ phút, $T_p = 10$ giây); CT 5: Che sáng 30 ngày + tưới ($T_n = 4$ phút, $T_p = 10$ giây); CT 6: Che sáng 30 ngày + tưới ($T_n = 6$ phút, $T_p = 10$ giây)

Bảng 6 cho thấy, cây Tràm gió *in vitro* ở công thức thí nghiệm CT6 cho sinh trưởng vượt trội so với các công thức còn lại về cả 3 chỉ tiêu sinh trưởng chiều cao vút ngọn (H_{vn} = 48,64 cm), đường kính cổ rễ (D₀₀ = 2,13 mm) và số lá (16,40 lá/cây).

Kết quả phân tích thống kê cho thấy, có sự khác biệt về mặt thống kê với độ tin cậy 95% giữa các công thức chế độ tưới nước và che sáng đến sinh trưởng cây Tràm gió *in vitro* ($p < 0,05$). Nghiên cứu cho thấy, cây con Tràm gió trong giai đoạn 1 tháng

đầu cần được che sáng và duy trì liều lượng nước tưới cao nhằm giúp cây ổn định nhanh sau giai đoạn mới cấy chuyển ra vườn ươm. Sau đó cây ổn định tiến hành dỡ bỏ lưới che để giúp cây con đón nhận ánh sáng trực xạ hoàn toàn. Kết quả này hoàn toàn phù hợp đối với cây Tràm gió là loài cây chịu hạn [2], [4], nhu cầu ánh sáng hoàn toàn ở giai đoạn vườn ươm.

Trên cơ sở kết quả phân tích thống kê các chỉ tiêu sinh trưởng cây Tràm gió ở các công thức thí nghiệm, nghiên cứu đã xác định công thức CT6 (Che sáng trong 30 ngày đầu và tưới nước phun sương trong 10 giây và thời gian giữa hai lần phun

liên tiếp 6 phút) cho cây Tràm gió *in vitro* sinh trưởng tốt nhất.

Bên cạnh đánh giá ảnh hưởng chế độ tưới nước và che sáng đến các chỉ tiêu sinh trưởng, nghiên cứu theo dõi đánh giá tỷ lệ cây sống sót và tỷ lệ cây đủ tiêu chuẩn xuất vườn nhằm tìm công thức thí nghiệm hiệu quả nhất để hoàn thiện và tối giản hóa quy trình tạo cây con Tràm gió bằng phương pháp nuôi cấy mô. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của chế độ tưới nước và thời gian che sáng đến tỷ lệ sống và phẩm chất cây Tràm gió *in vitro* 6 tháng tuổi nuôi dưỡng ở vườn ươm được trình bày ở bảng 7.

Bảng 7. Tỷ lệ sống và phẩm chất cây Tràm gió *in vitro* 6 tháng tuổi ở các công thức chế độ tưới nước và che sáng

Công thức	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ phân loại phẩm chất cây (%)			Tỷ lệ cây xuất vườn (%)
		Loại A	Loại B	Loại C	
CT1	80,4 ^{bd}	20,3	55,3	24,4	75,6
CT2	81,1 ^{bc}	21,5	56,6	21,9	78,1
CT3	77,0 ^{ab}	23,1	52,9	24,0	76,0
CT4	75,2 ^a	22,2	53,7	24,1	75,0
CT5	83,0 ^{cd}	23,2	53,1	23,7	76,3
CT6	89,3 ^e	26,1	58,1	15,8	84,2

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị có chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% ($p < 0,05$). CT 1: Che sáng 7 ngày + tưới ($T_n = 2$ phút, $T_p = 10$ giây); CT 2: Che sáng 7 ngày + tưới ($T_n = 4$ phút, $T_p = 10$ giây); CT 3: Che sáng 7 ngày + tưới ($T_n = 6$ phút, $T_p = 10$ giây); CT 4: Che sáng 30 ngày + tưới ($T_n = 2$ phút, $T_p = 10$ giây); CT 5: Che sáng 30 ngày + tưới ($T_n = 4$ phút, $T_p = 10$ giây); CT 6: Che sáng 30 ngày + tưới ($T_n = 6$ phút, $T_p = 10$ giây)

Bảng 7 cho thấy, tỷ lệ sống giữa các công thức thí nghiệm đều rất cao và dao động từ 75,2% (CT5) đến 89,3% (CT6). Nhìn chung, tỷ lệ sống có xu hướng tăng dần cùng với liều lượng tưới nước cũng như chế độ che sáng. Trong đó, công thức thí nghiệm CT6 và CT5 có tỷ lệ sống cao, lần lượt có giá trị là 89,3% và 83,0%. Tỷ lệ cây con đạt tiêu chuẩn xuất vườn khá cao và đạt giá trị cao nhất ở CT6 (84,2%). Như vậy, cây Tràm gió *in vitro* giai đoạn 1 tháng đầu cần có che sáng và lượng nước tưới đủ lớn để giúp cây sớm thích nghi tốt sau khi cấy chuyển ra môi trường *ex vitro*. Kết quả phân

tích thống kê có P tính = 0,00 và nhỏ hơn 0,05, như vậy có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95% đối với tỷ lệ cây sống giữa các công thức chế độ tưới nước và độ che sáng. Trong đó công thức CT6 có tỷ lệ cây sống cao nhất và có sự khác biệt rõ rệt so với các công thức còn lại.

Tổng hợp kết quả phân tích, đánh giá các chỉ tiêu sinh trưởng, tỷ lệ sống và tỷ lệ cây con xuất vườn, nghiên cứu xác định công thức chế độ tưới nước và che sáng trong chăm sóc cây Tràm gió ở giai đoạn vườn ươm là che sáng trong 30 ngày đầu sau khi cấy cây mầm mô ra môi trường *ex vitro* và

tươi nước phun sương trong 10 giây trên mỗi lần tưới và khoảng cách thời gian giữa hai lần phun là 6 phút.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã hoàn thiện được kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* cây Tràm gió và đưa cây con ra huấn luyện, nuôi dưỡng ở vườn ươm cho hiệu quả cao hơn so với những nghiên cứu đã công bố. Khử trùng mẫu cành bánh tẻ Tràm gió bằng nước Javel 25% trong 2 lần với lần 1 trong 5 phút và lần 2 trong 10 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất. Môi trường nhân nhanh cho hiệu quả nhất là MS + 30 g/l đường + 6 g/l agar + 1 mg/l kinetin + 1 mg/l BAP đạt 6,5 chồi/cụm và chiều cao chồi 3,7 cm. Môi trường 1/2MS + 15 g/l đường + 6 g/l agar + 1 mg/l NAA + 1 mg/l IBA là thích hợp để tạo rễ cây Tràm gió *in vitro* hoàn chỉnh, cho tỷ lệ ra rễ trên 96,3% với 3,7 rễ/cây và chiều dài rễ 2,0 cm. Giá thể 80% đất + 5% vỏ trấu + 5% vỏ đậu phụng xay + 10% phân chuồng hoai, che sáng 75% trong 30 ngày đầu, tưới phun sương tự động 6 phút phun 1 lần và thời gian phun trong 10 giây là thích hợp nhất khi đưa cây Tràm gió *in vitro* ra điều kiện *ex vitro*, cho tỷ lệ cây sống sót cao (đạt 89,3%). Cây Tràm gió *in vitro* ở vườn ươm có chiều cao trên 40 cm, đường kính cổ rễ tối thiểu 1,5 mm và có trên 12 lá; cây phẩm chất tốt, xanh tươi, không sâu, bệnh, cụt ngọn đạt tiêu chuẩn xuất vườn sau 6 tháng đưa ra *ex vitro*.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Dự án khoa học và công nghệ cấp tỉnh “Xây dựng mô hình trồng và chăm sóc cây Ba kích tím, Tràm gió *in vitro* phục vụ phát triển vùng nguyên liệu dược liệu tỉnh Thừa Thiên Huế” từ ngân sách nhà nước tỉnh Thừa Thiên Huế đầu tư.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi (2004). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nxb Y học, tr. 740.
2. Nguyễn Việt Cường, Nguyễn Xuân Quát, Hoàng Chương, Nguyễn Minh Chí (2004). Một số ý kiến về cây tràm (*Melaleuca cajuputi* Powell) ở Việt Nam. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 11, 1600 - 1602.
3. Lê Thị Phương Thảo, Châu Thị Thanh, Nguyễn Duy Phong, Ngô Thị Phương Anh, Phạm Thị Phương Thảo (2018). Thực trạng canh tác cây Tràm gió trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, số 18, tr. 102 - 108.
4. Đào Trọng Hưng, Nguyễn Quyết Chiến, Nguyễn Xuân Dũng (2006). Một số đặc điểm sinh học và tinh dầu của cây Tràm (*Melaleuca cajuputi* Powell) trong các điều kiện sinh thái khác nhau ở Bình Trị Thiên. Báo cáo khoa học Hội nghị Sinh học Quốc gia năm 2000: Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong sinh học, tr. 238 - 242.
5. Châu Thị Thanh, Hoàng Phước Thôi, Nguyễn Trọng Hồng, Lê Thị Phương Thảo, Phạm Thị Phương Thảo (2018). Nghiên cứu sản lượng nguyên liệu, năng suất và một số chỉ tiêu chất lượng tinh dầu Tràm gió (*Melaleuca cajuputi* Powell) được chưng cất thủ công ở huyện Quảng Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, số 16, tr. 99 - 106.
6. Lã Đình Mối (2001). Cây Tràm (*Melaleuca cajuputi* Powell, 1809). Tài nguyên thực vật có tinh dầu ở Việt Nam. Tập 1, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội, tr. 274 - 285.
7. Thủ tướng Chính phủ (2013). *Quyết định số 1976/QĐ-TTg ngày 30 tháng 10 năm 2013 về việc phê duyệt quy hoạch tổng thể phát triển dược liệu đến năm 2020 và định hướng đến năm 2030*.
8. Ủy ban Nhân dân tỉnh Thừa Thiên Huế (2020). *Quyết định số 1622/QĐ-UBND ngày 06 tháng 7 năm 2020 về việc phê duyệt đề án phát triển vùng nguyên liệu và các sản phẩm dược liệu gắn với chương trình mỗi xã một sản phẩm ở tỉnh Thừa Thiên Huế đến năm 2030*.
9. Phùng Thị Hằng, Nguyễn Bảo Toàn (2011). Nhân giống Tràm trà (*Melaleuca cajuputi* Powell) bằng phương pháp nuôi cấy mô. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, số 20b, tr. 89 - 96.
10. Khuất Thị Hải Ninh (2016). Nghiên cứu chọn giống và nhân giống Tràm có hàm lượng tinh dầu và tỷ lệ 1,8-Cineol cao. Luận án Tiến sĩ lâm nghiệp, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.
11. Nguyễn Đăng Thùy (2014). Nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* cây Tràm ta (*Melaleuca*

cajuputi Powell). Luận văn Thạc sĩ sinh học. Trường Đại học Sư phạm thành phố Hồ Chí Minh.

12. Công ty TNHHNNMTV Lâm nghiệp Tiền Phong (2020). *Quyết định số 70/QĐ-CTLNTP ngày 30/12/2020 của Công ty TNHHNNMTV Lâm nghiệp Tiền Phong về việc công nhận các quy trình kỹ thuật: Quy trình kỹ thuật nhân giống cây Tràm gió bằng phương pháp nuôi cấy mô và Quy trình kỹ thuật huấn luyện, chăm sóc cây Tràm gió nuôi cấy mô ở vườn ươm.*

13. Hồ Thắng (2021). Xây dựng và quản lý chỉ dẫn địa lý cho sản phẩm dầu tràm Huế của tỉnh Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Nghiên cứu và Phát triển*, 4 (167), 66 - 81.

14. Tiêu chuẩn ngành 04 TCN 145 - 2006: Quy trình kỹ thuật trồng rừng tràm lá dài (*Melaleuca leucadendra* L.).

15. Nguyễn Hải Tuất (Chủ biên), Vũ Tiến Hình và Ngô Kim Khôi (2006). *Phân tích thống kê trong Lâm nghiệp*. Nxb Nông nghiệp, Hà Nội, 324 trang.

STUDY ON IMPROVING *IN VITRO* PROPAGATION TECHNIQUES OF (*Melaleuca cajuputi* Powell) IN THUA THIEN HUE PROVINCE

Hoang Huy Tuan¹, Pham Cuong¹, Le Thi Thuy Nga²,

Tong Phuoc Binh², Nguyen Cao Danh², Tôn Thất Ái Tín²

¹*University of Agriculture and Forestry, Hue University (HUAF)*

²*Tien Phong Forestry Company*

Summary

This study purpose to improve the efficiency of techniques of *Melaleuca cajuputi in vitro* propagation implemented at Tien Phong Forestry Company. Research results showed that disinfected twice with Javel 25% for 5 minutes and 10 minutes obtained the rate of living explants inducing shoots to reach 89.6%. Full MS + 1 mg/l BA + 30 g/l sugar + 6 g/l agar gave 6.5 shoots per cluster and 3.7 cm in height. 1/2 MS medium + 15 g/l sugar + 1.0 mg/l NAA + 1 mg/l IBA appropriated for rooting with 3.7 roots per a plant, 2.0 cm in root length and a rooting rate of over 96.3%. Evaluation after 6 months of *ex vitro* acclimatization found that the composition of potting medium mixing 89% soil + 5% husk + 5% minced peanut shell + 10% decomposed animal manure - fertilizer; misting watering mode every 6 minutes and spray in 10 seconds and shading 75% in the first 30 days for a high survival rate (89.3%) after six months tending in the nursery. The plantlets with over 40 cm in tower height, a minimum of 1.5 mm in root collar diameter, and at least 10 leaves, no pests, and diseases reach the quality of *Melaleuca cajuputi in vitro* seedlings for planting.

Keywords: *Acclimatization, in vitro propagation, Thua Thien Hue province, Melaleuca cajuputi.*

Người phản biện: GS.TS. Võ Đại Hải

Ngày nhận bài: 25/10/2023

Ngày thông qua phản biện: 22/11/2023

Ngày duyệt đăng: 29/11/2023