

CƠ SỞ KHOA HỌC CHO LAI GIỐNG TRÀM (*Melaleuca sp.*) BẰNG THỤ PHẤN CÓ KIỂM SOÁT

Hoàng Vũ Thor¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu cơ sở khoa học cho lai giống tràm bằng thụ phấn có kiểm soát cho thấy, tốc độ hoa tràm nở khá nhanh, sau 4 giờ tăng thêm 4-5 bông hoa nở, sau 9 giờ số bông hoa nở đã tăng lên gấp gần 4 lần, sau khoảng 20 giờ, tất cả các bông hoa trên một hoa tự của *M. cajuputi* đã nở gần như hoàn toàn. Hoa tràm bầu có 3 ô, bên trong chứa nhiều noãn; Nụm nhụy ở trạng thái tiếp nhận hạt phấn thường sưng phồng, ướt và dính. Hạt phấn tràm có cấu trúc hình tam giác, 3 rãnh nổi rõ, bề rộng khoảng 16-25µm. Trên môi trường M1 (30% đường mía+150ppm axic boric), hạt phấn của *M. leucadendra* có tỷ lệ nảy mầm đạt 81,59%, chiều dài ống phấn 500,24µm và chỉ số nảy mầm 35641,7 phản ánh đúng nhất sức sống hạt phấn hay chất lượng hạt phấn tràm. Thụ phấn tự do có tỷ lệ đậu quả cao (80,23%), khử được không thụ phấn và không khử được để tự thụ phấn trong bao cách ly đều không có hiện tượng đậu quả (0%), và tự thụ phấn (cường bức) phát hiện đậu quả với tỷ lệ thấp (4,17%). Hạt phấn LLA3 cất trữ 3 năm ở nhiệt độ -30°C có tỷ lệ đậu quả đạt 18,47%; Hạt phấn LNB1 cất trữ 1 năm ở nhiệt độ 4°C có tỷ lệ đậu quả đạt 40,29%; Hạt phấn tươi, mới LNB01 và LNB02, có tỷ lệ đậu quả đạt tương ứng là 42,75 và 47,04%. Thời điểm thích hợp thụ phấn cho tỷ lệ đậu quả cao đối với một số loài tràm là ngày thứ 3 sau khử được, tương ứng nụm nhụy ở trạng thái tiếp nhận hạt phấn.

Từ khóa: *Lai giống tràm, Nảy mầm của hạt phấn, Thụ phấn có kiểm soát, Tỷ lệ đậu quả.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cho đến nay, hầu hết các giống cây trồng mới đem lại hiệu quả kinh tế cao trong sản xuất nông lâm nghiệp đều là các giống lai. Vì vậy, lai giống và sử dụng giống lai đang là sự quan tâm lớn của các nhà khoa học, các nhà quản lý trong nước và quốc tế, đặc biệt đối với những loài cây có giá trị, nhưng cần được cải thiện về năng suất, chất lượng.

Tràm cajuputi (*Melaleuca cajuputi*) là loài cây bản địa, có khả năng thích ứng rộng và có giá trị nhiều mặt. Tuy nhiên, *M. cajuputi* sinh trưởng chậm, năng suất rừng tràm tự nhiên và rừng trồng rất thấp, chu kỳ kinh doanh dài, hiệu quả kinh tế không cao [2]. Do đó, sử dụng *M. cajuputi* làm vật liệu để tạo các giống lai có khả năng thích ứng cao rất có ý nghĩa thực tiễn trong sản xuất lâm nghiệp ở nước ta. Trong những năm 1990 qua khảo nghiệm xuất xứ các loài tràm đã chọn được một số xuất xứ Tràm lá dài (*M. leucadendra*), Tràm năm gân (*M. quinquenervia*) và Tràm lá rộng (*M. viridiflora*) cho sinh trưởng nhanh, thân cây thẳng, cho năng suất gỗ cao nhất trong các loài tràm hiện có ở Việt Nam [2],[4]. Đây là nguồn vật liệu quan trọng để tạo ra các giống tràm lai có năng suất gỗ cao ở nước ta.

Tuy nhiên để lai giống cây rừng thành công, nghiên cứu thời kỳ nở hoa, cấu trúc và phát triển hoa, ảnh hưởng của hạt phấn, phương thức và thời điểm thụ phấn đến tỷ lệ đậu quả là đặc biệt quan trọng, có tính quyết định [1],[4]. Do đó, nghiên cứu cơ sở khoa học cho lai giống tràm bằng thụ phấn có kiểm soát là hết sức cần thiết, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn, một bước đi quan trọng trong chương trình cải thiện giống tràm nhằm tăng năng suất gỗ, góp phần cung cấp giống cây rừng mới có năng suất cao, chất lượng tốt cho trồng rừng, nhất là trồng rừng sản xuất và trồng rừng phòng hộ ở nước ta.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Vật liệu dùng trong nghiên cứu này là các mẫu hạt phấn được thu thập từ các nòi địa phương của Tràm lá dài tại Long An (LLA3) đã cất trữ 3 năm ở nhiệt độ -30°C; tại Ninh Bình đã cất trữ 1 năm ở nhiệt độ 4°C (LNB1), thu thập trước thụ phấn 3 ngày (LNB01; LNB02); và hạt phấn của Tràm cajuputi thu thập tại Hà Nội ngay trước khi thụ phấn (CaDL11, CaDL12) [3],[4].

2. Phương pháp nghiên cứu

Xác định thời kỳ nở hoa của một số loài tràm bằng quan sát trực tiếp 30 cây, ở hai dạng

¹TS. Trường Đại học Lâm nghiệp

lập địa đồi núi Ba Vì (Hà Nội), và bán ngập Thanh Hóa (Long An) và Gia Viễn (Ninh Bình) ở 3 mùa hoa liên tiếp nhau [4];

Đo kích thước nụ và bầu hoa, chiều dài chỉ nhị và vòi nhụy bằng thước kẹp panme. Xác định các giai đoạn phát triển của hoa bằng ảnh chụp định kỳ thời gian, từ lúc xuất hiện nụ, bắt đầu hoa nở cho đến khi hoa tự nở hoàn toàn [4];

Môi trường xác định nảy mầm hạt phấn thực hiện theo phương pháp của Shivanna, K.R.and Rangaswamy, N.S.(1992) và Baskorowati, L.(2006) [5], [10] trên môi trường nhân tạo, gồm: ĐC (30% đường mía); M1 (30% đường mía+150ppm axic boric); M2 (30% đường mía+300ppm nitrat canxi); và M3 (30% đường mía+150ppm axit boric+300ppm nitrat canxi), trong điều kiện nhiệt độ phòng (20-30⁰C), thời gian nuôi cấy: 12- 48 giờ [3];

Thụ phấn được tiến hành theo phương pháp của Baskorowati, L.(2006) [5], các phép lai giữa các loài trầm được tiến hành theo từng công thức riêng biệt. Sau thụ phấn vẫn tiến hành chụp bao cách ly, tháo bỏ bao khi núp nhụy không còn khả năng tiếp nhận hạt phấn. Thu quả lai ở trầm thích hợp sau thụ phấn khoảng 12-14 tháng [4];

Các số liệu thu thập được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học thường dùng trong lâm nghiệp trên phần mềm ứng dụng Excel.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

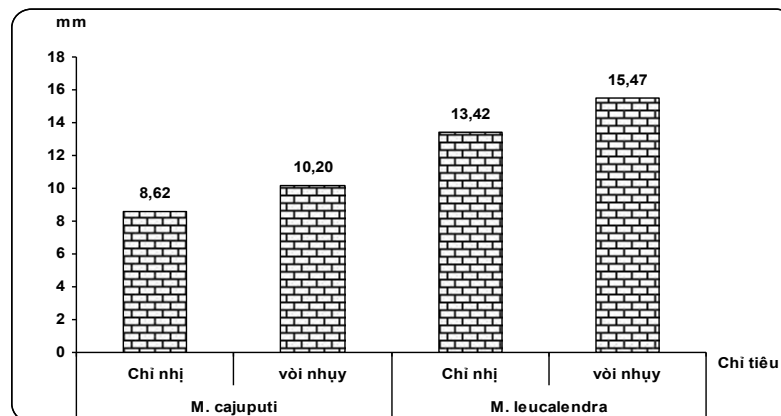
1. Đặc điểm về hoa ở các loài trầm nghiên cứu

Kết quả theo dõi 3 mùa hoa liên tiếp cho thấy, *M. viridiflora* có thời kỳ nở hoa tập trung

vào tháng 1-2 và tháng 5-6. Trong khi *M.cajuputi*, *M.leucadendra* và *M. quinquenervia* có thời kỳ nở hoa xuất hiện rải rác trong năm, song thường tập trung làm 2 đợt: đợt 1 từ tháng 3-4; đợt 2 từ tháng 8-9 [2],[4],[7],[8],[9],[11]. Thời kỳ nở hoa của trầm kéo dài khoảng 2-3 tuần, ở phía Nam hoa thường nở sớm hơn ở phía Bắc. Ở khu vực đồng bằng sông Cửu Long, *M. leucadendra* ra hoa gần như quanh năm. Trong khi, trên đất đồi ở Ba Vì (Hà Nội), cây trầm lại chỉ ra một lần vào tháng 11-12 [2],[4]. Chứng tỏ, sống trong điều kiện đất đai ẩm ướt, cây trầm có số lần ra hoa nhiều hơn nơi khô hạn.

Kết quả quan sát trực tiếp hoa trên cây mẹ cho thấy, nếu lấy thời điểm hoa tự có 1 bông nở làm mốc, thì sau 4 giờ phát hiện thêm 4-5 bông hoa nở, sau 9 giờ số bông hoa nở đã tăng lên gấp gần 4 lần, và sau khoảng 20 giờ, thì tất cả các bông hoa trên một hoa tự của *M. cajuputi* đã nở gần như hoàn toàn. Chứng tỏ, tốc độ hoa trầm nở là khá nhanh, yêu cầu xác định đúng thời điểm để thực hiện các thao tác từ chụp bao cách ly, khử đực cho đến thụ phấn là hết sức quan trọng, giúp tăng cơ hội cho lai giống trầm thành công.

Đối với nhiều loài trầm, hoa dạng hoa tự, gồm 1-3 trục mang hoa dài khoảng 10-15cm, nhị hợp 5 bó, lá đài 5, cánh tràng 5 [2],[8],[9],[11]. Khi hoa nở, những chỉ nhị duỗi thẳng ra có hình dáng như chiếc bàn chải đánh răng, màu trắng đến màu kem. Trong nghiên cứu này, chiều dài chỉ nhị và vòi nhụy của một số loài trầm được đo đếm và được ghi nhận tại hình 1.



Hình 1. Chiều dài chỉ nhị và vòi nhụy của *M. cajuputi* và *M. leucadendra*

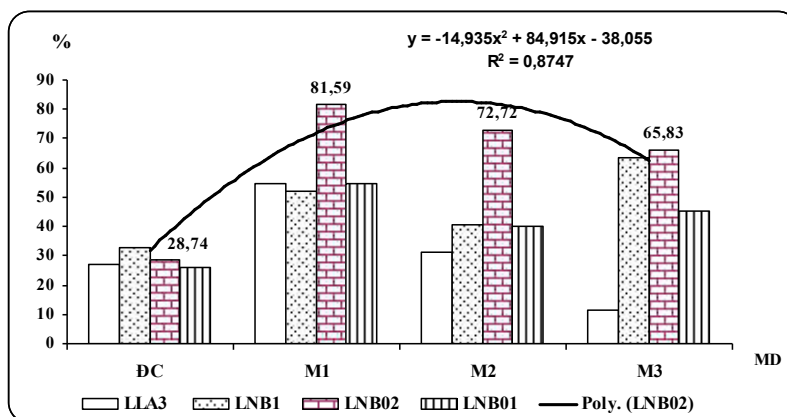
Cột trị số trên biểu đồ hình 1 cho thấy, chiều dài chỉ nhị và vòi nhụy của *M. cajuputi* đều ngắn và nhỏ hơn so với *M. leucadendra*. Tuy nhiên, chiều dài vòi nhụy của cả hai loài này đều dài hơn chiều dài chỉ nhị, hay cấu trúc hoa với núm nhụy nằm ở phía trên và bao phấn ở dưới. Như vậy, phần của một bông hoa sẽ rất khó rơi vào núm nhụy để thụ phấn cho chính bông hoa đó, vì thế tránh được thụ phấn cùng hoa, nhưng lại thuận lợi cho thụ phấn chéo. Kết quả quan sát trên hiển vi trường cho thấy, vòi nhụy là thể xóp, gồm nhiều ống dẫn - nơi mà các ống phấn có thể trượt trên đó tới lỗ noãn đúng lúc để thụ tinh. Núm nhụy ở trạng thái tiếp nhận hạt phấn sưng phồng, ướt và dính, đặc biệt bề mặt có rất nhiều tế bào như những chiếc móc nhỏ nhô lên. Kiểu hình thái này, có thể giúp cho núm nhụy bắt giữ hạt phấn tương hợp được tốt hơn, nhưng đồng thời cũng là rào cản ngăn chặn những hạt phấn bất hợp do các tác nhân truyền phấn đưa tới.

Ngoài ra, quan sát dưới hiển vi trường thấy hoa tràm bầu có 3 ô bên trong chứa rất nhiều noãn xếp sát nhau, bao phấn và bầu hoa của *M. cajuputi* có nhiều tuyến mật màu vàng. Điều này giúp cho thụ phấn khác hoa ở tràm có thể đạt hiệu quả cao hơn nhờ hấp dẫn côn trùng, đặc biệt là ong mật. Như vậy có thể cho phép nghĩ rằng, hoa tràm với hình thái, cấu trúc, núm nhụy sắp xếp nằm ở trên và bao phấn ở dưới, cùng với những tuyến mật có hương thơm, vị ngọt thu hút côn trùng, đều không ngoài mục đích tăng cường thụ phấn chéo.

2. Môi trường xác định sức sống hạt phấn

Thu thập và bảo quản hạt phấn là những khâu không thể thiếu trong lai giống, trong đó xác định sức sống hạt phấn trước khi thụ phấn là một yêu cầu bắt buộc [1],[2],[5],[10]. Sức sống hạt phấn có thể xác định trên những môi trường nuôi cấy khác nhau, đối với nhiều hệ thống hạt phấn, thành phần của môi trường nuôi cấy gồm: Đường mía, Boric acid và Calcium nitrate [10].

Nảy mầm của hạt phấn và sinh trưởng của ống phấn là dấu hiệu phản ánh sức sống hạt phấn và chất lượng hạt phấn. Khả năng nảy mầm của hạt phấn trên môi trường nhân tạo phụ thuộc vào loại hạt phấn, điều kiện môi trường và thành phần dinh dưỡng, trong đó ngoài Đường mía, thì Ca và Bo là yếu tố đóng vai trò rất quan trọng. Khi Bo đầy đủ, giúp cải thiện việc cung cấp chất hữu cơ cho các khí quan của thực vật, làm tăng tỷ lệ đậu quả và chắc hạt, vì Bo xúc tiến hạt phấn nảy mầm nhanh, ống phấn nhanh chóng vươn dài tiến vào bầu (noãn), có lợi cho thụ tinh và hình thành hạt. Khi thiếu Bo, túi phấn và cuống chỉ nhị có thể bị teo lại, hạt phấn nảy mầm nhưng sinh trưởng của ống phấn thì rất khó khăn, nên tác dụng thụ tinh trở nên kém hiệu quả [1],[3],[4],[5],[10]. Trong nghiên cứu này, nảy mầm của hạt phấn tràm trên môi trường nuôi cấy khác nhau (sau 12 giờ) được tổng hợp tại hình 2.



Hình 2. Nảy mầm của hạt phấn tràm trên các môi trường khác nhau

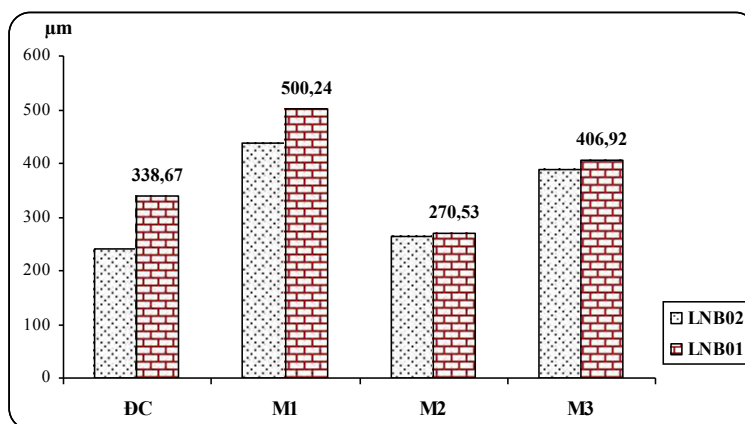
Kết quả nuôi cấy hạt phấn trên các môi trường M1, M2 và M3 (có bổ sung Boric acid và Calcium nitrate), có sự khác nhau rõ rệt về tỷ lệ nảy mầm. Cụ thể, hạt phấn LLA3 cất trữ 3 năm ở nhiệt độ -30°C , nuôi cấy trên môi trường ĐC, tỷ lệ nảy mầm là 26,89%, bổ sung thêm Bo (M1), tỷ lệ nảy mầm đạt trị số 54,71%, cao gấp 2,03 lần so với môi trường ĐC. Tương tự, hạt phấn LNB1 cất trữ 1 năm ở nhiệt độ 4°C , nuôi cấy trên môi trường ĐC, tỷ lệ nảy mầm là 32,62%, bổ sung thêm Bo (M1), tỷ lệ nảy mầm là 52,10%, cao hơn ĐC là 1,59 lần. Đối với hạt phấn tươi, mới LNB02, nuôi cấy trên môi trường M1, tỷ lệ nảy mầm là 81,59%, cao gấp 2,83 lần so với ĐC. Chứng tỏ Bo đã xúc tiến hạt phấn nảy mầm và làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hầu hết các mẫu hạt phấn trầm trong cùng thí nghiệm.

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, Ca tuy có ảnh hưởng yếu hơn Bo đôi chút, nhưng cũng thể hiện khá rõ khả năng xúc tiến hạt phấn nảy mầm. Số liệu biểu đồ hình 2 cho thấy, với hạt phấn LNB02 trên môi trường M2 bổ sung Ca, tỷ lệ nảy mầm 72,72%, cao hơn ĐC là 2,53 lần. Chứng tỏ Ca có khả năng xúc tiến và làm tăng tỷ lệ nảy mầm đối với hạt phấn trầm. Điều chú ý với hạt phấn LNB1 (cất trữ 1 năm ở nhiệt độ 4°C) trên môi trường M3 có bổ sung Bo và Ca có tỷ lệ nảy mầm là 63,24%, cao hơn các môi trường ĐC; M1 và M2 tương ứng là 1,94; 1,21 và 1,56 lần. Chứng tỏ sự phối hợp của Bo và Ca đã xúc tiến hạt phấn nảy mầm và làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt phấn, hay nói cách khác môi trường M3 tỏ ra thích hợp hơn cho nảy mầm đối với hạt phấn đã qua cất trữ. Kết quả kiểm tra thống kê ảnh hưởng của Ca và Bo đến tỷ lệ nảy mầm của hạt

phấn trầm cho thấy $\chi_n^2 = 144,17 > \chi_{0,05}^2 = 7,81$. Như vậy, có sự khác biệt rõ rệt về tỷ lệ nảy mầm khi sử dụng các môi trường nuôi cấy khác nhau trong quá trình xác định sức sống hạt phấn trầm.

Từ kết quả trên có thể cho phép nhận xét sơ bộ rằng, môi trường ĐC chỉ có Đường mía, tỷ lệ nảy mầm của hạt phấn trầm không cao, môi trường bổ sung thêm Bo (M1) đã giúp cho hạt phấn nảy mầm tốt hơn, có thể coi là môi trường thích hợp nhất cho nảy mầm đối với hạt phấn tươi, mới. Hạt phấn cất trữ 1 năm ở nhiệt độ 4°C (LNB1) lại tỏ ra thích hợp hơn với môi trường M3. Môi trường có thể thích hợp cho nảy mầm tối ưu những hạt phấn tươi mới, nhưng lại không phù hợp cho hạt phấn đã qua cất trữ. Việc áp dụng nhiều môi trường khác nhau cho một loại hạt phấn để tìm môi trường phản ánh đúng sức sống hạt phấn là hết sức cần thiết và có ý nghĩa.

Xác định sức sống hạt phấn là khâu thiết yếu trước khi tiến hành thụ phấn, vì nảy mầm của hạt phấn và sinh trưởng của ống phấn là điều kiện tiên quyết cho thụ tinh và phát triển của hạt lai trong lai giống. Nảy mầm của hạt phấn chỉ có hiệu quả khi ống phấn mọc nhanh trong vòi nhụy, và tới đầu lỗ noãn của túi phôi đúng lúc để thụ tinh, giúp đậu quả và kết hạt, gọi là nảy mầm hữu hiệu và ngược lại. Thông thường hạt phấn được coi là nảy mầm khi chiều dài của ống phấn lớn hơn bề rộng (đường kính) của nó. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hạt phấn trầm có cấu trúc hình tam giác, với 3 rãnh nổi khá rõ, có một lỗ mở ở đầu hạt phấn, bề rộng khoảng 16- 25 μm . Như vậy, hạt phấn trầm chỉ được coi là nảy mầm khi chiều dài tối thiểu của ống phấn phải lớn hơn 25 μm .



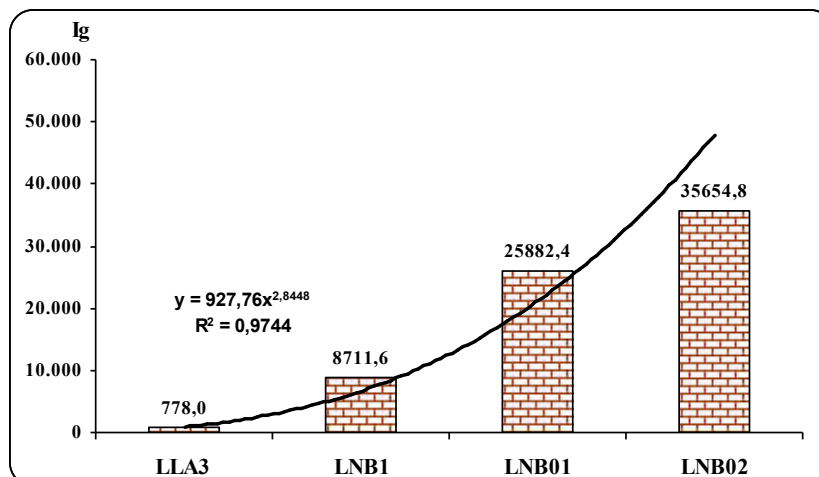
Hình 3. Chiều dài của ống phấn *M. leucadendra* trên các môi trường khác nhau

Số liệu trên biểu đồ hình 3 cho thấy, chiều dài của ống phần LNB02 và LNB01 (sau 12 giờ) trên các môi trường khác nhau là khác nhau. Ví dụ, với môi trường M1 chiều dài trung bình của ống phần LNB01 là 500,24 μ m vượt ĐC; M2 và M3 tương ứng là 1,47; 1,85 và 1,23 lần. Tương tự, chiều dài trung bình của ống phần LNB02 trên môi trường M1 (tuy có kém LNB01 đôi chút) cũng vượt ĐC; M2 và M3 tương ứng là 1,76; 2,22 và 1,09 lần. Như vậy, M1 là môi trường thích hợp nhất cho sinh trưởng của ống phần trầm, hay nói cách khác ống phần sẽ mọc nhanh hơn trên môi trường có bổ sung thêm Bo. Chứng tỏ việc bổ sung Bo vào môi trường xác định sức sống hạt phần của *M. leucadendra* là cần thiết và có ý nghĩa. Một lần nữa cho thấy, Bo có vai trò hết sức quan trọng không những xúc tiến hạt phần nảy mầm mà còn giúp ống phần vươn dài nhanh chóng, chắc chắn sẽ thuận lợi cho thụ tinh và đậu quả.

Kết quả kiểm tra ảnh hưởng của Ca và Bo đến sinh trưởng chiều dài của ống phần cho thấy $F_A = 8,13 > F_{05} = 6,59$, có nghĩa là hai chất Ca và Bo có ảnh hưởng rõ rệt đến sinh trưởng chiều dài của ống phần trầm, trong đó M1 là môi trường có ảnh hưởng rõ rệt nhất.

Kiểm tra thống kê giữa hai môi trường có chiều dài trung bình của ống phần lớn nhất (M1) và (M3) cho thấy $|t| = 2,11 > 1,98$ có nghĩa là cùng hạt phần LNB01 nhưng ở hai môi trường khác nhau, thì ảnh hưởng đến sinh trưởng chiều dài của ống phần là khác nhau, trong đó môi trường M1 có ảnh hưởng rõ rệt hơn, hay nói cách khác tác dụng làm tăng chiều dài ống phần của Bo lớn hơn của Ca. Như vậy có thể cho phép nhận xét một cách đáng tin cậy rằng, trong nghiên cứu này, môi trường M1 thích hợp nhất cho nảy mầm của hạt phần và sinh trưởng của ống phần, hay nói cách khác là môi trường phản ánh đúng nhất sức sống hạt phần tươi, mới của *M. leucadendra*.

Chất lượng hạt phần là hết sức quan trọng, có tính quyết định đến tỷ lệ đậu quả và kết hạt khi lai giống bằng thụ phấn có kiểm soát. Trong nghiên cứu này, chất lượng hạt phần được phản ánh qua tiêu chí tổng hợp là: chỉ số nảy mầm của hạt phần (tích số giữa tỷ lệ nảy mầm trung bình của hạt phần và chiều dài trung bình của ống phần), nghĩa là hạt phần có chỉ số nảy mầm cao cũng phản ánh chất lượng hạt phần cao và ngược lại.



Hình 4. Chỉ số nảy mầm của hạt phần *M. leucadendra* trên môi trường M1

Số liệu trên biểu đồ hình 4 cho thấy, cùng thời gian là 12 giờ trên môi trường M1, hạt phần LLA3 cất trữ 3 năm mặc dù tỷ lệ nảy mầm khá (54,71%), nhưng chiều dài của ống phần có trị số thấp (14,22 μ m), nên có chỉ số

nảy mầm thấp (778,0), hay nói cách khác hạt phần đã giảm sức sống khi cất trữ lâu ngày; Hạt phần LNB1 cất trữ 1 năm có chỉ số nảy mầm 8711,6, vượt chỉ số nảy mầm của hạt phần LLA3 là 11,19 lần; Hạt phần tươi, mới

LNB02 có chỉ số nảy mầm cao nhất, vượt chỉ số nảy mầm của hạt phấn LNB1 và LLA3 tương ứng là 4,09 và 45,82 lần.

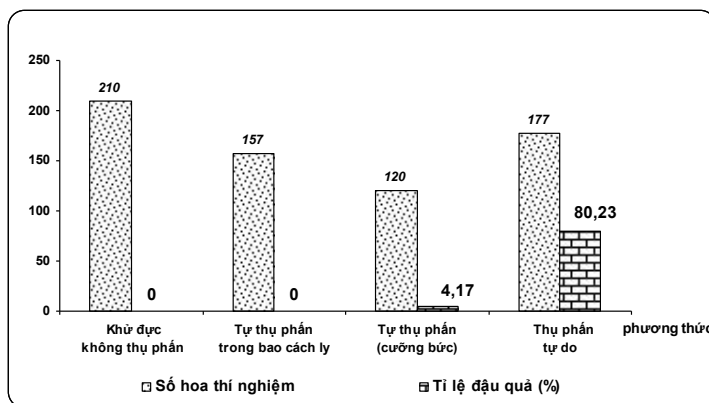
Ngoài ra, đường mô phỏng thể hiện quan hệ giữa chỉ số nảy mầm với các nguồn hạt phấn đã làm rõ hơn cho những gì đã phân tích ở trên. Chứng tỏ hạt phấn khác nhau, chỉ số nảy mầm cũng rất khác nhau, và giảm dần theo thời gian từ hạt phấn tươi, mới đến hạt phấn cất trữ lâu ngày. Đây là lý do mà trên thực tế lai giống, mặc dù trước khi thụ phấn, hạt phấn đã được kiểm tra với tỷ lệ nảy mầm cao, nhưng tỷ lệ đậu quả lại không cao, nhất là với hạt phấn cất trữ dài ngày, do chưa quan tâm tới chỉ số nảy mầm của hạt phấn. Mặt khác, môi trường khác nhau có chỉ số nảy mầm của hạt phấn cũng rất khác nhau. Cụ thể, trên môi trường M1, hạt phấn LNB02 có chỉ số nảy mầm cao nhất (35654,8), vượt chỉ số nảy mầm trên môi trường ĐC, M2 và M3 tương ứng là 5,1; 1,9 và 1,4 lần. Thí nghiệm với hạt phấn LNB01 cũng cho kết quả tương tự. Chứng tỏ môi trường có Bo, chỉ số nảy mầm của hạt phấn cao hơn so với môi trường chỉ có Canxi, hay phối hợp cả Bo và Ca. Như vậy có thể nhận xét rằng, môi trường M1 phản ánh đúng nhất sức sống hay

chất lượng hạt phấn *M. leucadendra* so với các môi trường khác trong cùng thí nghiệm

Mặc dù, chỉ số nảy mầm của hạt phấn LNB02 và LNB01 trên môi trường M2 không cao bằng M1, nhưng vẫn vượt công thức đối chứng tương ứng là 2,7 và 1,6 lần. Điều này chứng tỏ, Ca có ảnh hưởng đáng kể tới nảy mầm của hạt phấn và sinh trưởng của ống phấn trâm, song với mức độ kém hơn so với Bo. Tuy nhiên, khi phối hợp cả Ca và Bo (M3), chỉ số nảy mầm được cải thiện và vượt M2 tương ứng là 1,3 và 1,6 lần. Như vậy, nếu chỉ có Canxi, sinh trưởng chiều dài của ống phấn chưa thể hiện rõ, nhưng phối hợp cả Bo thì chiều dài của ống phấn được tăng lên, do đó chỉ số nảy mầm của hạt phấn cao hơn.

3. Ảnh hưởng của một số nhân tố đến tỷ lệ đậu quả

Nhiều nghiên cứu đã cho thấy, tỷ lệ đậu quả trong lai giống thường phụ thuộc vào phương thức thụ phấn, sức sống hạt phấn, thời điểm thụ phấn, cây mẹ, điều kiện môi trường và thao tác kỹ thuật thụ phấn [1],[3],[4],[5],[8],[12]. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của phương thức thụ phấn khác nhau đến tỷ lệ đậu quả được tổng hợp tại hình 5.



Hình 5. Ảnh hưởng của phương thức thụ phấn đến tỷ lệ đậu quả ở *M. cajuputi*

Số liệu trên biểu đồ hình 5 cho thấy, phương thức thụ phấn khác nhau cho tỷ lệ đậu quả khác nhau. Cụ thể, thụ phấn tự do có tỷ lệ đậu quả là 80,23%, khử đực không thụ phấn và tự thụ phấn trong bao cách ly đều không đậu quả (0%). Như vậy, không có hiện tượng đậu quả ở phương thức khử đực không thụ phấn đã chứng tỏ rằng, việc khử đực là triệt để. Sử

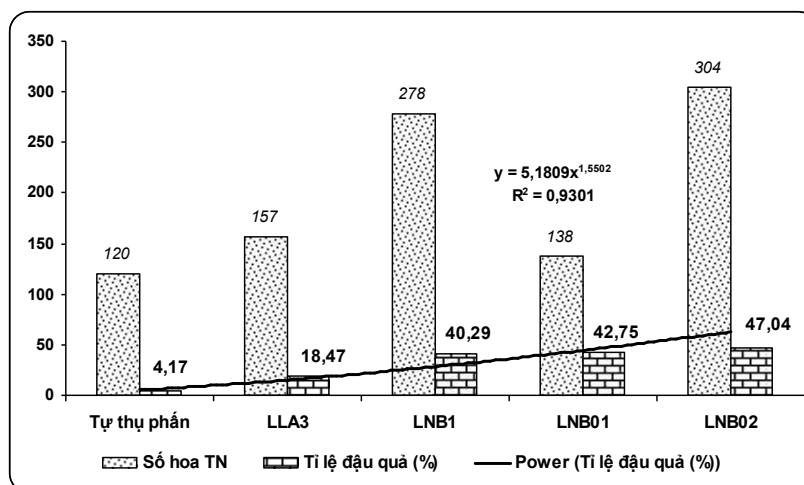
dụng bao cách ly trước và sau thụ phấn có kiểm soát là hoàn toàn có tác dụng ngăn ngừa nhiễm phấn lạ do côn trùng, nhất là ong mật.

Mặt khác, vì thiếu tác nhân truyền hạt phấn nên khử đực không thụ phấn trong bao cách ly không có hiện tượng đậu quả. Tuy nhiên, tự thụ phấn trong bao cách ly không đậu quả đã chứng tỏ rằng, nhị và nhụy của hoa chín không

trùng nhau, hay thời điểm tung hạt phấn không trùng với thời điểm núp nhụy chín. Nói cách khác, nhị và nhụy luôn phát triển lệch xa nhau với mục đích tránh thụ phấn cùng hoa.

Trong nghiên cứu này đã sử dụng hạt phấn tươi, mới của *Tràm cajuputi* thu thập ngay trước khi thụ phấn của 2 cây mẹ (CaĐL11 và CaĐL12), đem đặt (bôi) lên núp nhụy đã chín cho những bông hoa khác (đã được chụp bao cách ly) của chính 2 cây mẹ tương ứng, kết quả phát hiện tỷ lệ đậu quả trung bình là 4,17% (Hình 5). Chứng tỏ, do cấu trúc, sự phát triển lệch nhau giữa nhị và nhụy hoa, và một cơ chế thụ phấn, thụ tinh riêng biệt, mà tự thụ phấn mặc dù có xảy ra ở *M. cajuputi*, nhưng đã được giảm thiểu. Từ kết quả nghiên cứu trên có thể cho phép nghĩ rằng, cả tự thụ phấn và thụ phấn chéo đều có thể cùng đồng thời xảy ra trong thực tế đối với *M. cajuputi*. Nói cách khác, trà là cây tự thụ phấn (4,17%), nhưng hệ thống hoa của chúng cũng xúc tiến thụ phấn chéo với một tỷ lệ cao (trên 95%). Như vậy, gia tăng thụ phấn chéo để tạo ra các thể dị hợp tử đã giúp cho cây trà có khả năng thích ứng rộng và sinh trưởng tốt.

Kết quả nghiên cứu ở phần trên đã cho thấy, sức sống của hạt phấn giảm từ hạt phấn tươi, mới đến hạt phấn cất trữ lâu ngày. Theo đó, sử dụng hạt phấn tươi, mới để lai giống có thể thu được hiệu quả cao, dùng hạt phấn cất trữ lâu năm, hiệu quả có thể sẽ rất thấp. Tuy nhiên, tỷ lệ đậu quả trên thực tế khi lai giống từ chính nguồn hạt phấn nêu trên mới là kết quả phản ánh chính xác nhất. Trong nghiên cứu này, xác định ảnh hưởng của các nguồn hạt phấn đến tỷ lệ đậu quả trong quá trình lai giống trà được tổng hợp tại hình 6. Kết quả cho thấy cùng cây mẹ (CaĐL12) nhưng nguồn hạt phấn khác nhau có tỷ lệ đậu quả khác nhau. Cụ thể, hạt phấn cất trữ 3 năm ở nhiệt độ -30°C (LLA3), có tỷ lệ đậu quả 18,47%; Hạt phấn cất trữ 1 năm ở nhiệt độ 4°C (LNB1), có trị số đậu quả 40,29%, vượt 2,18 lần so với hạt phấn LLA3; Hạt phấn tươi, mới LNB01 và LNB02, đậu quả có trị số lần lượt là 42,75 và 47,04%, vượt so với sử dụng hạt phấn đã cất trữ 1 năm và 3 năm tương ứng là 1,16 và 2,54 lần. Chứng tỏ tỷ lệ đậu quả phụ thuộc chặt chẽ vào sức sống hạt phấn, giảm dần từ hạt phấn tươi, mới đến hạt phấn cất trữ lâu ngày.



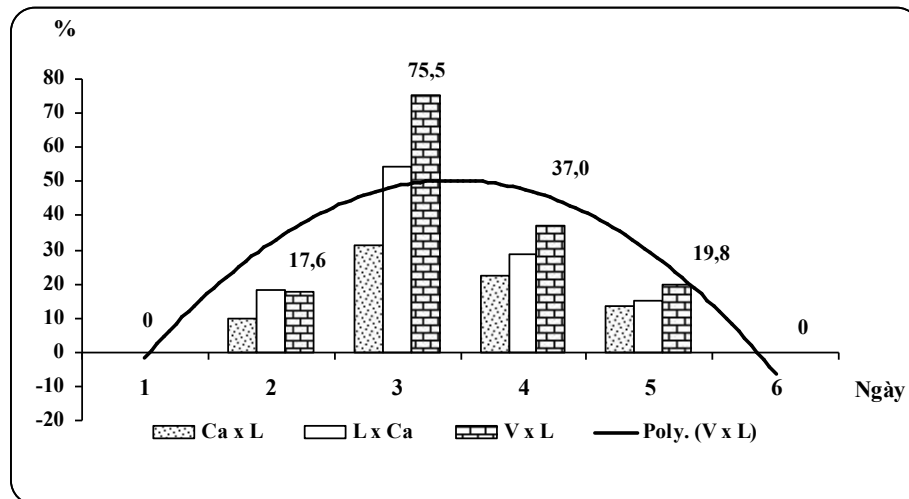
Hình 6. Tỷ lệ đậu quả ở *M.cajuputi* với các nguồn hạt phấn khác nhau

Kết quả kiểm tra thống kê ảnh hưởng của nguồn hạt phấn đến tỷ lệ đậu quả khi lai giống trà cho thấy $\chi_n^2 = 95,55 > \chi_{05}^2 = 9,49$. Như vậy, có sự khác biệt rõ rệt về tỷ lệ đậu quả khi sử dụng các nguồn hạt phấn khác nhau trong

quá trình lai giống trà. Chứng tỏ, sử dụng hạt phấn tươi, mới có chỉ số nảy mầm cao, thì cũng có tỷ lệ đậu quả cao. Ngược lại, sử dụng hạt phấn cất trữ lâu ngày, có chỉ số nảy mầm thấp, thì cũng thu được trị số đậu quả thấp.

Nhiều nghiên cứu lai giống cây rừng cho thấy, khi núp nhụy đã chín thì tính lựa chọn thụ tinh là mạnh nhất, còn khi núp nhụy đã già hoặc non thì ngược lại [1],[4],[5],[7],[12]. Nói cách khác, núp nhụy ở trạng thái tiếp nhận hạt phấn hay đã chín, thụ phấn thường cho tỷ lệ đậu quả cao hơn. Kết quả quan sát dưới kính lúp tại hiện trường lai giống cho thấy, thời

điểm sau khử được 1 ngày núp nhụy còn nhỏ, màu xanh. Thời điểm sau khử được 3 ngày, núp nhụy sưng phồng và ướt. Thời điểm sau khử được 6 ngày, núp nhụy teo lại, màu nâu sẫm và khô héo, chắc chắn không thể tiếp nhận hạt phấn được. Kết quả ảnh hưởng của thời điểm thụ phấn đến tỷ lệ đậu quả khi lai giống trầm được tổng hợp tại hình 7.



Hình 7. Tỷ lệ đậu quả theo số ngày thụ phấn sau khử được

Số liệu trên biểu đồ hình 7 cho thấy, cùng một phép lai nhưng tại các thời điểm thụ phấn khác nhau có tỷ lệ đậu quả cũng rất khác nhau. Cụ thể, phép lai giữa *M. viridiflora* với *M. leucadendra* tại thời điểm 1 ngày sau khử được không có tỷ lệ đậu quả (0%), tỷ lệ đậu quả tăng dần từ ngày thứ 2 (17,6%) và đạt đỉnh ở ngày thứ 3 (75,5%), vượt trước và sau đó 1 ngày tương ứng 4,28 và 2,04 lần. Ở các phép lai khác trong cùng thí nghiệm cũng cho kết quả tương tự. Chứng tỏ, ngày thứ 3 sau khử được, núp nhụy ở giai đoạn thành thực, hay ở trạng thái tiếp nhận hạt phấn, thời điểm tốt nhất cho thụ phấn đạt tỷ lệ đậu quả cao.

Ngoài ra, cùng nguồn hạt phấn nhưng cây mẹ khác nhau, tỷ lệ đậu quả cũng khác nhau. Cụ thể, cùng nguồn hạt phấn thu từ cây bố của *M. leucadendra*, thụ phấn cho cây mẹ của *M. cajuputi* có tỷ lệ đậu quả chỉ đạt thấp (31,4%), trong lúc đem thụ phấn cho cây mẹ của *M. viridiflora* thu được tỷ lệ đậu quả cao (75,5%), vượt 2,4 lần so với thụ phấn cho cây mẹ của *M. cajuputi* trong cùng thí nghiệm. Chứng tỏ, ngoài hạt phấn, phương thức và

thời điểm thụ phấn, cây mẹ cũng có ảnh hưởng rất lớn đến tỷ lệ đậu quả. Nói cách khác, khả năng lai giống phụ thuộc vào từng cặp bố mẹ và thời điểm cụ thể.

IV. KẾT LUẬN

1. Tốc độ hoa trâm nở khá nhanh, sau 4 giờ tăng thêm 4-5 bông hoa nở, sau 9 giờ số bông hoa nở đã tăng lên gấp gần 4 lần, và sau khoảng 20 giờ, tất cả các bông hoa trên một hoa tự của *M. cajuputi* đã nở gần như hoàn toàn. Hoa trâm bầu có 3 ô, bên trong chứa nhiều noãn; Núp nhụy ở trạng thái tiếp nhận hạt phấn thường sưng phồng, ướt và dính.

2. Hạt phấn trâm có cấu trúc hình tam giác, 3 rãnh nổi rõ, bề rộng khoảng 16-25 μ m. Trên môi trường M1 (30% đường mía+150ppm axic boric), hạt phấn của *M. leucadendra* có tỷ lệ nảy mầm đạt 81,59%, chiều dài ống phấn 500,24 μ m và chỉ số nảy mầm 35641,7 phần ánh đúng nhất sức sống hạt phấn hay chất lượng hạt phấn trâm.

3/ Thụ phấn tự do có tỷ lệ đậu quả cao (80,23%), khử đực không thụ phấn và không khử đực để thụ phấn trong bao cách ly đều không đậu quả (0%), và thụ phấn (cường bức) phát hiện đậu quả với trị số thấp (4,17%).

Hạt phấn LLA3 cất trữ 3 năm ở nhiệt độ -30°C có tỷ lệ đậu quả 18,47%; Hạt phấn LNB1 cất trữ 1 năm ở nhiệt độ 4°C có tỷ lệ đậu quả đạt 40,29%; Hạt phấn tươi, mới LNB01 và LNB02, có tỷ lệ đậu quả đạt tương ứng là 42,75 và 47,04%.

Thời điểm thích hợp thụ phấn cho tỷ lệ đậu quả cao đối với một số loài trà là ngày thứ 3 sau khử đực, tương ứng núp nhụy ở trạng thái tiếp nhận hạt phấn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Đình Khả (2006), *Lai giống cây rừng (Hybridization of Forest Tree)*, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
2. Hoàng Vũ Thợ (2008), *Tổng quan về cây trà*, Báo cáo chuyên đề tiến sĩ, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, Hà Nội.
3. Hoàng Vũ Thợ, Trần Bình Đà, Phạm Đức Tuấn (2009), “Nghiên cứu môi trường nảy mầm hạt phấn trà lá dài”, *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn*, (3), tr.95 - 100.
4. Hoàng Vũ Thợ, Nguyễn Việt Cường (2009), “Ảnh hưởng của một số nhân tố đến tỷ lệ đậu quả khi lai giống

trà”, *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn* (11), tr.91 - 96.

5. Baskorowati, L.(2006), *Controlled Pollination Methods for Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betch) Cheel, Canberra, *ACIAR Technical Reports No.63*, www.aciar.gov.au

6. Chahal,G.S.and Gosal,S.S.(2002), *Principle and Procedures of Plant Breeding Biotechnology and Conventional Approches*, Narasa Publishing House, New Delhi Chennai Mumbai Kolkata.

7. Doran, J.C., Baker, G.R., Williams, E.R. and Southwell, I.A. (2002), *Improvement Australia Tea Tree through Selection and Breeding (1996-2001)*, Project DAN 151A, Publication No. 02/017 RIRDC.

8. Munger, Gregory T. (2005), *Melaleuca quinquenervia*. In: Fire Effects Information System, U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Fire Sciences Laboratory.

9. Serbesoft-king Kristina (2003), “*Melaleuca* in Florida: A Literature Review on the Taxonomy, Distribution, Biology, Ecology, Economic Importance and Control Measures”, *J. Aquat. Plant Manage* (41), pp. 98 -112, South Florida Water Management District.

10. Shivanna, K.R. and Rangaswamy, N.S. (1992), *Pollen biology A Laboratory Manual*, Springer-Verlag Berlin Heideberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona Budapest.

11. Turnbull, J.W. (1986), *Multipurpose Australian Tree and Shrubs Lesser-known Species for Fuelwood and Agroforestry*, Australian Centre for International Agricultural Research Canberra.

12. Zobel, B. and J. Talbert (1984), *Applied Forest Tree Improvement*, John Wiley and Sons, New York.

SCIENTIFIC BASES FOR CROSSING THE *Melaleuca* sp; BY CONTROLLED POLLINATION

Hoang Vu Tho

SUMMARY

Research scientific bases for crossing the *Melaleuca* sp; by controlled pollination show that, the blossoming rate of *Melaleuca* is pretty fast, during some 4 hours increased 4-5 blossomed out, during 9 hour the flowers doubled 4 times, and during some 20 hours, all the flowers of a blossom cluster of *M. cajuputi* have completely blossomed out. The flower of *Melaleuca* is 3 ovarium, its containing many ovulate, the stigma at accepting state or has matured is swelling, wet and sticky. The pollen grain has triangular structure, 16 to 25µm wide. The best one among the culture medium for pollen germination of *M.leucadendra* is M1 (30% sucrose +150 ppm boric acid). In this medium after 12 hours, the pollen could get a germination rate of 81.59% with pollen tube length 500.24µm and its index of 35641.7. Different patterns of pollination obtained different rates of setting fruit, natural pollination obtained these high figures (80.23%). The flowers emasculated without pollination as well as self-pollination in isolated bag even without emasculating failed utterly setting fruit (0%). Compulsory self-pollination obtained the figures by 4.17%. Setting fruit rate depends closely on pollen vitality; e.g. the pollen grains LLA3 after 3 year-storage at low temperature -30°C remained the rate of setting fruit by 18.47%; the pollen grains LNB1 after 1 year-storage at temperature 4°C remained by 40,29%; while for the fresh pollen grains LNB01 and LNB02 that of by 42.75% and 47.04% respectively. The time fit for pollination of high setting fruit for those species involved in the hybridization is at 3 days after emasculated, corresponding to the time at which stigmas have matured or being well at accepting state.

Keywords: *Crossing the Melaleuca, Controlled Pollination, Fruit Setting Rate, Pollen Germination.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Hữu Vĩnh, ThS. Hồ Văn Giảng