

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *in vitro* HAI DÒNG TẾCH NHẬP NỘI KO4 VÀ PKU9

Hoàng Thị Hồng Hạnh¹, Nguyễn Thị Hồng¹,
Mai Thị Phương Thúy¹, Trần Thị Mai Sen², Lê Sơn¹

¹*Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp*

²*Trường Đại học Lâm nghiệp*

TÓM TẮT

Tếch (*Tectona grandis* L.) là loài cây gỗ có giá trị kinh tế cao, được trồng rộng rãi để đáp ứng nhu cầu gỗ chất lượng cao. Trong nghiên cứu này, hai dòng Tếch KO4 và PKU9 nhập nội đã được chọn lọc để nhân giống *in vitro* với các giai đoạn như: khử trùng, nhân chồi và ra rễ nhằm tối ưu hóa quy trình nhân giống. Kết quả chỉ ra rằng việc sử dụng 0,1% HgCl₂ trong 7 phút giúp tỷ lệ mẫu sạch đạt trên 80%. Trong giai đoạn nhân chồi, môi trường MS cải tiến (MS*) bổ sung 0,5 mg/l BAP cho hệ số nhân chồi cao nhất, với chiều cao chồi trung bình đạt 3,3 cm sau 4 tuần nuôi cấy. Đối với giai đoạn ra rễ, môi trường 1/2MS* + 2 mg/l IBA và 0,2 mg/l NAA giúp tỷ lệ ra rễ đạt 90% sau 2 tuần nuôi cấy. Kết quả nghiên cứu góp phần đề xuất quy trình nhân giống hiệu quả cho hai dòng Tếch KO4 và PKU9, mở ra tiềm năng ứng dụng vào sản xuất cây giống Tếch quy mô lớn.

Từ khóa: Dòng KO4, dòng PKU9, nuôi cấy mô, nhân giống *in vitro*, nhân giống Tếch, *Tectona grandis*.

RESEARCH ON *in vitro* PROPAGATION OF TWO IMPORTED *Tectona grandis* CLONES KO4 AND PKU9

Hoang Thi Hong Hanh¹, Nguyen Thi Hong¹, Mai Thi Phuong Thuy¹, Tran Thi Mai Sen², Le Son¹

¹*Research Institute of Forest Tree Improvement and Biotechnology*

²*Vietnam University of Forestry*

ABSTRACT

Teak (*Tectona grandis* L.) is a highly valuable timber species, widely cultivated to meet the demand for high - quality wood. This study focused on the *in vitro* propagation of two promising teak clones, KO4 and PKU9, intending to optimize the tissue culture process. The factors influencing sterilization, shoot regeneration, and rooting were evaluated. The results demonstrated that a sterilization protocol using 0.1% HgCl₂ for 7 minutes achieved a clean sample rate of over 80%. For shoot regeneration, the MS* medium supplemented with 0.5 mg/l BAP resulted in the highest shoot multiplication rate, with an average shoot height of 3.3 cm after 4 weeks of culture. In the rooting phase, a medium consisting of 1/2MS* medium supplemented with 2 mg/l IBA and 0.2 mg/l NAA achieved a rooting rate of 90% after 2 weeks of culture. These findings provide an effective *in vitro* propagation protocol for the KO4 and PKU9 teak clones, offering significant potential for large - scale teak explant production.

Keywords: Clone KO4, clone PKU9, *in vitro* propagation, *Tectona grandis*, tissue culture

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tếch (*Tectona grandis* L.) là một trong những loài cây gỗ quý được trồng rộng rãi tại các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, nhờ những đặc tính nổi bật như độ bền cơ học cao, khả năng kháng sâu bệnh tự nhiên, chịu nước tốt và vân gỗ đẹp. Với màu sắc vàng nâu đặc trưng, gỗ Tếch lâu năm được ưa chuộng tại các thị trường cao cấp như châu Âu, Bắc Mỹ và Trung Đông, chủ yếu trong các lĩnh vực đóng tàu, nội thất cao cấp, xây dựng và điêu khắc mỹ nghệ (Gupta và Sharma, 2021). Ước tính hiện nay, diện tích rừng trồng Tếch trên toàn cầu vào khoảng 6 triệu ha, tập trung tại các nước như Ấn Độ, Thái Lan, Indonesia, Lào và một số quốc gia châu Phi. Trước đây, gỗ Tếch phần lớn được khai thác từ rừng tự nhiên, đặc biệt là ở Myanmar - quốc gia từng chiếm hơn 50% lượng gỗ Tếch xuất khẩu toàn cầu. Tuy nhiên, lệnh cấm xuất khẩu gỗ tròn từ năm 2014 của Myanmar đã thúc đẩy xu hướng chuyển dịch mạnh mẽ sang phát triển Tếch từ rừng trồng (Verhaegen *et al.*, 2010).

Tại Việt Nam, Tếch được du nhập từ đầu thế kỷ XX, hiện có khoảng 6.600 ha rừng trồng, chủ yếu phân bố ở các tỉnh Tây Nguyên, Đông Nam Bộ và Tây Bắc. Với khả năng thích nghi tốt, năng suất cao và giá trị gỗ lớn, Tếch được đánh giá là cây trồng rừng chủ lực, đặc biệt phù hợp với điều kiện sinh thái khắc khe tại vùng Tây Bắc - nơi còn thiếu hụt giống cây lâm nghiệp có năng suất và chất lượng cao. Trong những năm gần đây, một số dòng Tếch có nguồn gốc từ các chương trình chọn giống tại Thái Lan, Lào và Ấn Độ đã được nhập nội vào Việt Nam nhằm thử nghiệm, chọn lọc các dòng có sinh trưởng tốt, thích nghi cao với điều kiện khí hậu - thổ nhưỡng trong nước (Đoàn Thị Mai và Lê Sơn, 2010).

Tuy nhiên, vật liệu giống nhập khẩu phần lớn là cây ghép, khó nhân rộng quy mô nhanh trong sản xuất. Do đó, phát triển quy trình nhân giống vô tính bằng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào là hướng tiếp cận hiệu quả, giúp bảo tồn, nhân nhanh và đồng nhất các dòng Tếch ưu việt phục vụ công tác khảo nghiệm và sản xuất giống quy

mô lớn. Trên thế giới, nhiều nghiên cứu đã tập trung vào việc phát triển các quy trình nhân giống *in vitro* cho Tếch nhằm đáp ứng nhu cầu trồng rừng quy mô lớn. Ví dụ, Aguilar và đồng tác giả (2019) đã đề xuất một quy trình nhân giống đơn giản sử dụng hệ thống RITA® để giảm chi phí sản xuất. Tiwari và đồng tác giả (2002) cũng đã phát triển một quy trình cải tiến cho phép nhân giống nhanh chóng từ các đoạn thân và chồi non. Gần đây, Venkatachalam và đồng tác giả (2024) đã tối ưu hóa quy trình nhân giống từ phôi hợp tử và chồi cây con, đạt tỷ lệ nhân chồi cao và chất lượng cây con tốt. Tuy nhiên, tại Việt Nam, các nghiên cứu về nhân giống Tếch bằng nuôi cấy mô vẫn còn hạn chế, đặc biệt là với các dòng nhập nội mới. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* cho hai dòng Tếch nhập nội triển vọng là KO4 và PKU9, từ đó phục vụ mục tiêu chọn tạo giống, nhân giống đại trà và phát triển rừng trồng Tếch chất lượng cao tại Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Cây vật liệu gốc cho quá trình tạo mẫu Tếch *in vitro* là cây ghép các dòng KO4 và PKU9 6 năm tuổi, có xuất xứ từ Lào, được trồng và chăm sóc tại vườn ươm của Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam. Chồi được chọn để làm mẫu nuôi cấy khoảng 30 - 40 ngày tuổi, sinh trưởng tốt, có mắt ngủ ở nách lá và không bị sâu bệnh. Chồi được cắt bỏ một phần cuống lá và toàn bộ phiến lá. Mẫu cấy có chiều dài từ 3 - 6 cm mang từ 1 - 2 nách lá.

2.2. Điều kiện thí nghiệm

- Điều kiện thí nghiệm tuân theo tiêu chuẩn và quy định kỹ thuật của phòng nuôi cấy mô: Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh ở độ pH = 5,6 - 5,8; chiếu sáng 8 giờ trong ngày, với cường độ ánh sáng 2.000 - 3.000 lux, nhiệt độ phòng nuôi đạt $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Xác định loại hóa chất, nồng độ và thời gian khử trùng thích hợp cho 2 dòng Tếch nghiên cứu

Các thí nghiệm được bố trí để có thể đánh giá riêng trên từng dòng. Thiết kế 4 công thức thí nghiệm cho 2 loại chất khử trùng và trong các khoảng thời gian khác nhau: lần lượt là 5, 7 và 9 phút đối với HgCl_2 (nồng độ 0,05% và 0,1%) và 10, 15 và 20 phút đối với Javen (NaClO) (nồng độ 10% và 15%). Mẫu sau khi khử trùng được tráng lại bằng nước hấp vô trùng 5 lần trước khi cấy vào môi trường tái sinh chồi (môi trường MS cơ bản). Mỗi công thức thí nghiệm khử trùng được tiến hành với 3 lần lặp, 30 mẫu/công thức khử trùng. Sau 15 ngày nuôi cấy, tiến hành theo dõi và đo đếm các chỉ tiêu như: số mẫu nhiễm, số mẫu chết, số mẫu nảy chồi.

2.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân chồi dòng Tếch KO4 và PKU9

Sau khi mẫu bật chồi cao khoảng 2 - 3 cm, ổn định, chồi sạch không nhiễm sẽ được cấy chuyển sang môi trường nhân chồi là môi trường MS cải tiến (ký hiệu MS*) có bổ sung BAP (6 - Benzyl Amino Purine) theo thang nồng độ 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l và 2,0 mg/l. Mỗi công thức thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp, mỗi lặp tiến hành cho 30 mẫu/công thức thí nghiệm. Sau 20 - 25 ngày nuôi cấy, tiến hành thu thập số liệu các chỉ tiêu theo dõi bao gồm: số chồi hình thành, chiều dài chồi, số đốt lá, hình thái chồi.

2.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP và Kinetin (Kn) đến khả năng nhân nhanh chồi

Thí nghiệm nâng cao chất lượng chồi cho 2 dòng Tếch nghiên cứu được thực hiện giữa BAP 0,5 mg/l kết hợp bổ sung với Kn ở các nồng độ 0,1 mg/l; 0,15 mg/l; 0,2 mg/l và 0,25 mg/l. Để đánh giá được ảnh hưởng của nồng độ BAP và Kn đến khả năng nhân chồi của mẫu, thí nghiệm đã được thực hiện với 3 lần lặp/công thức thí nghiệm, mỗi lần lặp tiến hành cho 30 mẫu. Sau 20 - 25

ngày cấy chuyển, tiến hành thu thập các số liệu về: số chồi thu được, chiều dài chồi, số nách lá, số lượng chồi có chiều cao từ 2,5 cm trở lên, hình thái chồi.

2.3.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của NAA và IBA đến khả năng ra rễ

Tiến hành bổ sung NAA và IBA vào môi trường nuôi cấy (là môi trường 1/2 MS*) với các khoảng nồng độ khác nhau. Để đánh giá ảnh hưởng của chất và nồng độ chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng ra rễ của các dòng Tếch nghiên cứu, đối với IBA sử dụng dải nồng độ 0,5 mg/l; 1 mg/l; 1,5 mg/l và 2,0 mg/l. Sau khi xác định được nồng độ IBA tối ưu sẽ tiến hành thí nghiệm kết hợp giữa IBA và NAA với các nồng độ 0,1 mg/l; 0,15 mg/l; 0,2 mg/l và 0,25 mg/l.

Sau 15 - 20 ngày thu thập các số liệu về: số chồi ra rễ, số rễ/chồi và chiều dài rễ.

2.3.5. Phương pháp xử lý số liệu

So sánh giữa các công thức thí nghiệm về tỷ lệ mẫu sạch, tỷ lệ chồi ra rễ bằng tiêu chuẩn bình phương. So sánh giữa các công thức thí nghiệm về hệ số nhân, chiều dài chồi, chiều dài rễ và số lượng rễ/cây qua phân tích phương sai một nhân tố bằng phần mềm SPSS 20.0 (IBM Corp) và phần mềm Excel (Nguyễn Hải Tuấn và Ngô Kim Khôi, 1996).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của loại, nồng độ chất khử trùng và thời gian khử trùng đến khả năng tái sinh chồi của các dòng Tếch KO4 và PKU9

Việc lựa chọn hóa chất khử trùng, cùng với nồng độ và thời gian xử lý phù hợp cho từng đối tượng nuôi cấy, đóng vai trò then chốt trong quy trình nhân giống *in vitro*. Nghiên cứu tiến hành với hai dòng Tếch triển vọng là KO4 và PKU9 được xử lý với hai loại hóa chất khử trùng phổ biến trong vi nhân giống cây lâm nghiệp hiện nay là Thủy ngân clorua (HgCl_2) và Javen (NaClO). Kết quả được trình bày tại bảng 1 sau đây.

Bảng 1. Ảnh hưởng của loại, nồng độ chất khử trùng và thời gian khử trùng đến khả năng tái sinh chồi của các dòng Tếch nghiên cứu

Hóa chất	Nồng độ (%)	Thời gian khử trùng (phút)	Dòng KO4		Dòng PKU9	
			Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu sạch bột chồi (%)	Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu sạch bột chồi (%)
HgCl ₂	0,05	5	40,23 ^c	15,60 ^b	76,22 ^{ab}	12,93 ^{ab}
		7	83,22 ^a	33,17 ^{ab}	70,00 ^{ab}	19,27 ^{ab}
		9	33,21 ^c	10,13 ^c	50,00 ^{bc}	9,90 ^{ab}
	0,1	5	43,26 ^c	13,23 ^c	63,11 ^b	14,50 ^{ab}
		7	82,55 ^a	43,50 ^a	80,70 ^a	40,65 ^a
		9	66,74 ^b	13,29 ^c	40,00 ^b	10,00 ^{ab}
LSD _{0,05}			15,22	9,56	16,47	11,29
P - value			<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Javen (NaClO)	5	5	36,59 ^c	14,3 ^b	50,00 ^{bc}	10,07 ^b
		10	53,64 ^{ab}	16,90 ^b	50,08 ^{bc}	16,42 ^{ab}
		15	65,50 ^a	27,20 ^a	61,89 ^a	23,11 ^a
	10	5	46,37 ^{bc}	12,04 ^b	53,74 ^{ab}	9,82 ^{ab}
		10	56,56 ^{ab}	15,07 ^b	60,73 ^{ab}	13,14 ^b
		15	45,40 ^{bc}	13,21 ^b	43,84 ^c	13,38 ^b
LSD _{0,05}			15,23	7,69	11,26	7,94
P - value			<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

**Hình 1.** Chồi Tếch KO4 (trái) và PKU9 (phải) bật chồi sau giai đoạn khử trùng

Kết quả cho thấy, công thức sử dụng HgCl₂ ở nồng độ 0,1% trong 7 phút đạt hiệu quả khử trùng vượt trội, với tỷ lệ mẫu sạch cao nhất ở cả hai dòng: 82,55% (KO4) và 80,70% (PKU9). Đồng thời, đây cũng là công thức mang lại tỷ lệ mẫu sạch bật chồi cao nhất, đặc biệt ở dòng KO4 đạt tới 63,50%. Trong khi đó, đối với Javen, công thức hiệu quả nhất là nồng độ 5% trong 15 phút, với tỷ lệ mẫu sạch đạt 65,5% (KO4) và

61,89% (PKU9), thấp hơn so với HgCl₂ nhưng vẫn ở mức khá cao. Nhìn chung, dòng KO4 phản ứng tốt hơn PKU9 trong hầu hết các công thức thử nghiệm, cả về khả năng khử trùng lẫn khả năng phát sinh chồi sau xử lý. Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với các nghiên cứu trước đây đã chứng minh hiệu quả của HgCl₂ và Javen trong khử trùng mẫu vật. Nghiên cứu của Senthilkumar (2015) đã sử

dùng $HgCl_2$ nồng độ 0,2% trong 5 - 7 phút để khử trùng mẫu vật Téch, cho tỷ lệ mẫu sạch cao và tỷ lệ sống sót của mẫu vật sau khi cấy cao. Tuy nhiên, nghiên cứu này cũng lưu ý rằng thời gian xử lý quá dài có thể ảnh hưởng đến sự phát triển của mẫu vật. Mặc dù $HgCl_2$ cho hiệu quả khử trùng cao hơn, nhưng do đặc tính độc hại và ảnh hưởng không nhỏ đến môi trường cũng như sức khỏe người lao động, nên việc thay thế bằng Javen - tuy hiệu quả thấp hơn đôi chút so với $HgCl_2$ nhưng là một lựa

chọn đáng cân nhắc trong sản xuất thực tiễn. Những kết quả này phù hợp với xu hướng và khuyến nghị từ các nghiên cứu trước đây (Đoàn Thị Mai và Lê Sơn, 2010; Nguyễn Anh Dũng *et al.*, 2022; Lê Sơn *et al.*, 2023). Đồng thời góp phần cung cấp cơ sở khoa học cho việc tối ưu hóa quy trình khử trùng trong nhân giống Téch bằng *in vitro*.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng nhân chồi các dòng Téch nghiên cứu

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng nhân chồi các dòng Téch nghiên cứu

Dòng	BAP (mg/l)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi (lá)	Chất lượng chồi
KO4	0,0	1,50 ^b	2,49 ^b	4,20 ^b	+
	0,5	2,75 ^a	3,90 ^a	6,80 ^a	+++
	1,0	2,60 ^a	3,71 ^a	6,70 ^a	++
	1,5	2,70 ^a	3,60 ^a	6,03 ^a	++
	2,0	2,81 ^a	3,40 ^a	5,90 ^a	++
	<i>LSD</i> _{0,05}	0,34	0,52	1,16	
	<i>P - value</i>	<0,01	<0,01	<0,01	
PKU9	0,0	1,51 ^a	2,24 ^b	3,23 ^c	+
	0,5	2,80 ^a	3,86 ^a	6,51 ^a	+++
	1,0	2,61 ^a	3,58 ^a	5,56 ^{ab}	++
	1,5	2,52 ^a	3,51 ^a	5,10 ^{bc}	++
	2,0	2,80 ^a	3,80 ^a	4,13 ^c	++
	<i>LSD</i> _{0,05}	1,42	1,15	1,21	
	<i>P - value</i>	0,45	<0,01	<0,01	

Ghi chú + : Chất lượng chồi ở mức xấu, chồi nhỏ, sức sống kém
 ++ : Chất lượng chồi ở mức trung bình, chồi nhỏ, sức sống tốt
 +++ : Chất lượng chồi ở mức tốt, chồi mập, sức sống tốt



Hình 2. Chồi *in vitro* Téch KO4 nuôi cấy trên môi trường bổ sung BAP sau 3 tuần nuôi cấy

Kết quả thí nghiệm cho thấy, việc bổ sung BAP vào môi trường nuôi cấy đã có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng nhân chồi của hai dòng Tếch nghiên cứu. Cả hai dòng Tếch KO4 và PKU9 đều phản ứng tích cực với sự bổ sung BAP, đặc biệt là ở nồng độ 0,5 mg/l, cho thấy, sự cải thiện rõ rệt về hệ số nhân chồi, chiều cao chồi, số lá và chất lượng chồi so với công thức đối chứng (không bổ sung BAP). Cụ thể, đối với dòng KO4, nồng độ 2,0 mg/l BAP cho hệ số nhân chồi cao nhất (2,81

lần), tuy nhiên, chiều cao chồi và số lá lại thấp hơn so với công thức bổ sung 0,5 mg/l. Công thức với 0,5 mg/l BAP không chỉ cho hệ số nhân chồi cao (2,75 lần) mà còn đạt được chiều cao chồi (3,90 cm), số lá (6,80 lá/chồi) và chất lượng chồi tốt nhất (+++). Đây là một kết quả đáng chú ý, bởi mặc dù nồng độ BAP 2,0 mg/l cho hệ số nhân chồi cao hơn, nhưng lại không đạt được sự cân bằng về các đặc điểm sinh trưởng và chất lượng chồi như ở nồng độ 0,5 mg/l.



Hình 3. Chồi *in vitro* Tếch PKU9 nuôi cấy trên môi trường bổ sung BAP sau 3 tuần nuôi cấy

Tương tự, ở dòng PKU9, nồng độ BAP 0,5 mg/l cũng cho hệ số nhân chồi cao nhất (2,80 lần) và các chỉ tiêu sinh trưởng vượt trội so với các nồng độ khác. Điều này cho thấy, nồng độ 0,5 mg/l BAP là nồng độ tối ưu đối với cả hai dòng Tếch, mang lại hiệu quả nhân chồi tốt nhất và cải thiện các đặc điểm hình thái quan trọng trong giai đoạn đầu của quá trình nhân giống. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Lê Sơn và đồng tác giả (2023), khi dòng KO5 và PKU13 cũng cho hệ số nhân chồi tốt nhất trên môi trường MS cải tiến với bổ sung 0,5 mg/l BAP. Điều này khẳng định rằng, BAP ở nồng độ 0,5 mg/l có thể đóng vai trò quan trọng trong việc kích thích quá trình nhân chồi, đặc biệt là trong nuôi cấy mô cây Tếch. So với các nghiên cứu trước đây ở trong và ngoài nước, kết quả này cũng phù hợp với xu hướng chung về việc sử dụng BAP để kích thích nhân chồi. Nghiên cứu của Nguyễn Anh Dũng và đồng tác giả (2022) đã

chỉ ra rằng, BAP là một chất kích thích sinh trưởng hiệu quả trong nuôi cấy mô các loài cây lâm nghiệp, trong đó nồng độ 0,5 mg/l là tối ưu cho sự phát triển và nhân chồi của cây giống. Tương tự, nghiên cứu của Gupta và đồng tác giả (2019) trên cây Tếch ở Ấn Độ cũng khẳng định rằng nồng độ BAP 0,5 mg/l là nồng độ phù hợp để đạt được sự phát triển tối ưu của chồi trong điều kiện nuôi cấy mô.

3.3. Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng nhóm Auxin đến khả năng ra rễ

3.3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ

Kết quả thí nghiệm cho thấy, việc bổ sung IBA vào môi trường nuôi cấy có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng ra rễ của các dòng Tếch KO4 và PKU9, đặc biệt là ở nồng độ IBA cao. Số liệu nghiên cứu cho thấy, khi không bổ sung IBA, tỷ lệ ra rễ của cả hai dòng Tếch đều thấp, với dòng

KO4 chỉ đạt 24,90% và dòng PKU9 là 25,31%. Chất lượng rễ cũng rất kém với chỉ số trung bình số rễ/chồi là 0,72 đối với KO4 và 0,55 đối với

PKU9. Tuy nhiên, khi bổ sung IBA với nồng độ tăng dần, các chỉ tiêu này đều được cải thiện đáng kể (bảng 4).

Bảng 3. Nghiên cứu ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ của dòng Téch KO4 và PKU9

Dòng	IBA (mg/l)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Chiều dài của rễ (cm)	Số rễ TB/chồi (rễ)	Chất lượng rễ
KO4	0,0	24,90 ^c	1,04 ^c	0,72 ^c	+
	0,5	55,71 ^b	1,06 ^c	1,31 ^b	++
	1,0	70,98 ^{ab}	1,31 ^{bc}	1,62 ^{ab}	++
	1,5	74,62 ^{ab}	1,82 ^{ab}	2,01 ^a	++
	2,0	80,56 ^a	2,02 ^a	2,15 ^a	+++
	<i>LSD</i> _{0,05}	17,14	0,58	0,64	
	<i>P - value</i>	<0,01	<0,01	<0,01	
PKU9	0,0	25,31 ^c	1,05 ^d	0,55 ^c	+
	0,5	48,92 ^b	1,03 ^d	1,66 ^b	++
	1,0	71,41 ^{ab}	1,45 ^c	2,02 ^{ab}	++
	1,5	75,12 ^{ab}	1,72 ^{ab}	2,05 ^{ab}	++
	2,0	82,01 ^a	1,96 ^a	2,22 ^a	+++
	<i>LSD</i> _{0,05}	26,16	0,35	0,52	
	<i>P - value</i>	<0,01	<0,01	<0,01	

Đặc biệt, ở nồng độ 2 mg/l IBA, dòng KO4 cho tỷ lệ ra rễ cao nhất (80,56%), số rễ/chồi đạt 2,15 rễ, và chiều dài rễ trung bình đạt 2,02 cm. Kết quả này cho thấy, IBA ở nồng độ 2 mg/l là nồng độ tối ưu để kích thích ra rễ cho dòng KO4, giúp cải thiện cả số lượng và chất lượng rễ. Tương tự,

đối với dòng PKU9, nồng độ 2 mg/l IBA cũng cho tỷ lệ ra rễ cao nhất là 82,01%, số rễ/chồi đạt 2,22 rễ và chiều dài rễ trung bình đạt 1,96 cm. Công thức này thể hiện sự cải thiện rõ rệt so với các nồng độ thấp hơn và là lựa chọn tối ưu cho việc kích thích ra rễ đối với dòng PKU9.



Hình 4. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ trên dòng Téch KO4



Hình 5. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng ra rễ trên dòng Téch PKU9

Những kết quả này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Anh Dũng và đồng tác giả (2022), trong đó IBA cũng cho thấy, hiệu quả tốt nhất đối với các dòng Téch ALTS2 và PN4 ở nồng độ 2 mg/l, khi tỷ lệ ra rễ và chất lượng rễ đều vượt trội so với đối chứng. Tương tự, nghiên cứu của Lê Sơn và đồng tác giả (2023) cũng chỉ ra rằng IBA 2 mg/l là nồng độ tối ưu cho việc ra rễ đối với cây Téch, điều này đã được xác nhận trong các thí nghiệm trên nhiều dòng giống khác nhau. Kết quả thí

nghiệm này càng củng cố những nhận định trước đây về vai trò quan trọng của IBA trong việc kích thích ra rễ và hoàn thiện quá trình nhân giống *in vitro* cây Téch. Nồng độ 2 mg/l IBA được xác định là công thức tối ưu không chỉ giúp cải thiện tỷ lệ ra rễ mà còn nâng cao chất lượng bộ rễ, tạo nền tảng vững chắc cho sự phát triển của cây con trong giai đoạn tiếp theo.

3.3.2. Ảnh hưởng của kết hợp IBA 2 mg/l và NAA đến khả năng ra rễ

Bảng 5. Nghiên cứu ảnh hưởng của IBA 2 mg/l và NAA đến khả năng ra rễ của dòng Téch KO4 và PKU9

Dòng	NAA (mg/l)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Chiều dài của rễ (cm)	Số rễ TB/chồi (rễ)	Chất lượng rễ
KO4	0,00	80,56 ^c	2,02 ^b	2,15 ^b	++
	0,10	80,78 ^c	2,01 ^b	2,17 ^b	++
	0,15	85,11 ^{bc}	2,06 ^b	2,21 ^b	++
	0,20	90,02 ^a	2,31 ^a	2,53 ^a	+++
	0,25	87,02 ^{ab}	2,02 ^b	2,26 ^b	++
	<i>LSD</i> _{0,05}	4,73	0,21	0,15	
	<i>P - value</i>	<0,01	<0,01	<0,01	
PKU9	0,00	82,01 ^c	1,96 ^c	2,22 ^c	++
	0,10	82,91 ^c	1,98 ^c	2,21 ^c	++
	0,15	82,23 ^c	2,23 ^b	2,46 ^b	++
	0,20	92,16 ^a	2,42 ^a	2,61 ^a	+++
	0,25	88,45 ^b	2,21 ^b	2,26 ^c	+++
	<i>LSD</i> _{0,05}	3,47	0,12	0,11	
	<i>P - value</i>	<0,01	<0,01	<0,01	

Ghi chú: + Rễ ngắn, ít rễ, chồi cao, mảnh, nhiều lá, lá to và xanh đậm, chồi có sức sống tốt.

++ Rễ ngắn, mập, sáng màu, chồi cao, mảnh, nhiều lá, lá nhỏ và xanh nhạt, chồi có sức sống tốt.

+++ Rễ dài, mập, sáng màu, chồi cao, mảnh, nhiều lá, lá to và xanh nhạt, chồi có sức sống tốt.

Kết quả thí nghiệm xác định ảnh hưởng của IBA và sự kết hợp giữa IBA và NAA đến hiệu quả ra rễ của các dòng Tách cho thấy, khi sử dụng IBA riêng rẽ, nồng độ tối ưu để đạt tỷ lệ ra rễ trên 80% cho cả hai dòng Tách KO4 và PKU9 là 2 mg/l. Tuy nhiên, để nâng cao hiệu quả ra rễ cũng như chất lượng của cây mầm, thí nghiệm tiếp theo đã kết hợp IBA 2 mg/l với NAA với các nồng độ khác nhau (0,1, 0,2, 0,25 mg/l) trong môi trường ra rễ (1/2MS*). Kết quả thí nghiệm cho thấy, việc bổ sung NAA vào môi trường nuôi cấy có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng ra rễ của các dòng Tách.

Cụ thể, ở dòng KO4, khi môi trường không bổ sung NAA, số rễ trung bình chỉ đạt 2,15 rễ/chồi sau 15 ngày nuôi cấy. Tuy nhiên, khi bổ sung 1,5 mg/l IBA và 0,2 mg/l NAA, số rễ trung bình tăng lên đáng kể, đạt 2,53 rễ/chồi và chiều dài rễ trung bình đạt 2,31 cm. Kết quả này cho thấy, sự kết hợp giữa IBA và NAA có thể tạo ra một môi trường tối ưu hơn để kích thích quá trình ra rễ, đồng thời cải thiện chất lượng bộ rễ. Đối với dòng PKU9, môi trường không bổ sung NAA mà chỉ có 2 mg/l IBA cho số rễ đạt 2,22 rễ/chồi, không đạt mức tối ưu. Tuy nhiên, khi bổ sung NAA với nồng độ từ 0,1 - 0,25 mg/l, số lượng rễ trung bình đã tăng lên, với công thức có bổ sung 0,2 mg/l NAA đạt 2,61 rễ/chồi. Bên cạnh đó, chiều dài rễ cũng có sự cải thiện rõ rệt, dao động

từ 1,98 cm đến 2,42 cm, cao hơn so với công thức đối chứng (1,96 cm) khi chỉ bổ sung 2 mg/l IBA. Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu trước đây trong nước và quốc tế về việc kết hợp IBA và NAA để tối ưu hóa quá trình ra rễ trong nuôi cấy mô. Nghiên cứu của Nguyễn Đức Thành và đồng tác giả (2000) cho thấy, IBA là chất kích thích ra rễ hiệu quả, và khi kết hợp với NAA, hiệu quả này được nâng cao đáng kể. Tương tự, nghiên cứu của Gupta và Sharma (2019) cũng chỉ ra rằng việc bổ sung NAA vào môi trường nuôi cấy giúp cải thiện không chỉ số lượng rễ mà còn cả chất lượng bộ rễ của cây Tách, góp phần tạo ra cây mầm khỏe mạnh với khả năng sinh trưởng tốt.

IV. KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu, quy trình nhân giống *in vitro* cho hai dòng Tách nhập nội KO4 và PKU9 đã được xác định với các thông số kỹ thuật rõ ràng. Cụ thể, xử lý mẫu bằng HgCl₂ 0,1% trong 7 phút đạt hiệu quả khử trùng cao; môi trường MS* bổ sung BAP 0,5 mg/l tối ưu cho quá trình nhân chồi; môi trường 1/2MS* chứa IBA 2 mg/l và NAA 0,2 mg/l cho tỷ lệ ra rễ >90%. Kết quả này khẳng định tính khả thi của kỹ thuật nuôi cấy mô và cung cấp cơ sở khoa học cho sản xuất giống Tách quy mô lớn, phục vụ phát triển trồng rừng kinh tế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aguilar, M. E., Garita, K., Kim, Y. W., Kim, J. A., & Moon, H. K., 2019. Simple protocol for the micropropagation of teak (*Tectona grandis* Linn.) in semi - solid and liquid media in RITA® bioreactors and *ex vitro* rooting. American Journal of Plant Sciences, 10(7), 1121 - 1141. <https://doi.org/10.4236/ajps.2019.107081>.
2. Đoàn Thị Mai và Lê Sơn, 2010. “Bước đầu chọn giống cho Xoan ta (*Melia azedarach*) và Tách (*Tectona grandis*) có năng suất và chất lượng cao nhằm đáp ứng yêu cầu trồng rừng gỗ lớn”. Báo cáo tổng kết đề tài, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.
3. Gupta, R., Sharma, P., & Yadav, S. 2019. *In vitro* propagation of Teak (*Tectona grandis* L.) through shoot culture and effect of BAP on shoot multiplication. International Journal of Forest Science, 22(4), 256 - 261.
4. Gupta R, Sharma L, 2021. Modelling the growth response to climate change and management of *Tectona grandis* L. f. using the 3 - PGmix model. Annals of Forest Science 78, doi.org/10.1007/s13595 - 021 - 01102 - y.
5. Lê Sơn, Mai Thị Phương Thúy, Đỗ Huyền Anh, Nông Thị Huệ, Nguyễn Anh Dũng, Văn Thu Huyền, Nguyễn Thị Bích Ngọc, 2023. Nghiên cứu nhân giống *in vitro* các dòng Tách nhập nội KO5 và PKU13. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp, số 5 - 2023, trang 14 - 24.

6. Nguyễn Anh Dũng, Văn Thu Huyền, Đồng Thị Ứng, Lưu Thị Quỳnh, Lê Thị Hoa, Hoàng Thị Hồng Hạnh, Nguyễn Thị Hiên, Mai Thị Phương Thúy, 2022. Nghiên cứu nhân giống Tách (*Tectona grandis*) các dòng ALTS2 Và PN4 bằng phương pháp nuôi cấy mô. Tạp chí Khoa học Lâm nghiệp, số 4 - 2022, trang 21 - 29.
7. Nguyễn Đức Thành, 2000. Nuôi cấy mô tế bào thực vật - Nghiên cứu và ứng dụng. NXB Nông nghiệp.
8. Nguyễn Thị Thùy Dương, 2007. Nghiên cứu nhân giống một số dòng Tách bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro*. Luận văn Thạc sỹ Khoa học Lâm nghiệp, ĐH Lâm nghiệp.
9. Nguyễn Hải Tuất, Ngô Kim Khôi, 1996. Xử lý thống kê kết quả nghiên cứu thực nghiệm trong nông nghiệp trên máy vi tính. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, 126.
10. Senthilkumar, M, 2015. An improved micropropagation protocol for teak. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology, 6(3), 13 - 18.
11. Tiwari, S. K., Tiwari, K. P., & Siril, E. A. 2002. An improved micropropagation protocol for Teak. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 71(1), 1 - 6. <https://doi.org/10.1023/A:1016551624083>.
12. Venkatachalam, V., Nakasha, J. J., & Sinniah, U. R., 2024. Enhanced micropropagation protocol for Teak (*Tectona grandis*) through zygotic embryo and *in vitro* seedling - derived explants. *In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 60, 851 - 865. <https://doi.org/10.1007/s11627-024-10467-4>.
13. Verhaegen D, Inza JF, Logossa AZ, Ofori D, 2010. What is the genetic origin of Teak (*Tectona grandis* L.) introduced in Africa and in Indonesia? *Tree Genetics and Genomes*, 6, pp.717 - 733.

Email tác giả liên hệ: senttm@vnuf.edu.vn

Ngày nhận bài: 15/05/2025

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 20/05/2025; 21/05/2025

Ngày duyệt đăng: 23/05/2025