

NGHIÊN CỨU TÁI SINH CÂY XOAN TA (*Melia azedarach* L.) TỪ MÔ NỘI NHŨ TRONG ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY *in vitro*

Khuất Thị Hải Ninh¹, Nguyễn Thị Thơ^{*1}, Nguyễn Danh Minh¹,
Nguyễn Văn Việt¹, Bùi Văn Thắng¹, Hoàng Đan².

¹Trường Đại học Lâm nghiệp

²Công ty Cổ phần Bình Điền - Ninh Bình

TÓM TẮT

Xoan ta (*Melia azedarach* L.) là loài cây lâm nghiệp đa mục đích có giá trị kinh tế và sinh thái cao, tuy nhiên các giống hiện có còn hạn chế về năng suất, chất lượng gỗ và khả năng chống chịu. Nghiên cứu này nhằm xây dựng hệ thống tái sinh cây Xoan ta từ mô nội nhũ trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* làm cơ sở cho tạo giống đa bội. Kết quả cho thấy môi trường Murashige and Skoog (MS) bổ sung 1,0 mg/l BAP và 2,0 mg/l IAA là thích hợp nhất cho cảm ứng mô sẹo, với tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo đạt 42,22%. Tái sinh chồi đạt hiệu quả cao nhất trên môi trường MS + 1,0 mg/l BAP + 0,2 mg/l NAA, với tỷ lệ tái sinh 88,9% và trung bình 18,22 chồi/mẫu. Nhân nhanh chồi trên môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l BAP + 0,2 mg/l kinetin + 0,1 mg/l NAA, cho tỷ lệ tạo cụm chồi 95,56%, hệ số nhân 3,82 lần, số chồi hữu hiệu 5,67 chồi/mẫu và chiều cao chồi trung bình 3,47 cm. Môi trường ra rễ thích hợp là MS + 1,5 mg/l IBA, với tỷ lệ ra rễ đạt 91,11%, trung bình 4,5 rễ/chồi và chiều dài rễ 3,44 cm. Giá thể ra ngôi tối ưu gồm 50% đất tầng B + 25% trấu hun + 25% xơ dừa xay, cho tỷ lệ cây sống đạt 91,11% và sinh trưởng tốt. Kết quả nghiên cứu góp phần hoàn thiện quy trình tái sinh cây Xoan ta từ mô nội nhũ, tạo nguồn vật liệu phục vụ các nghiên cứu tiếp theo về đa bội hóa và chọn giống cây lâm nghiệp.

Từ khóa: Cây tam bội, nhân nhanh chồi, nuôi cấy nội nhũ, Xoan ta.

STABLISHMENT OF AN *in vitro* REGENERATION SYSTEM FOR *Melia azedarach* L. FROM ENDOSPERM EXPLANTS

Khuat Thi Hai Ninh¹, Nguyen Thi Tho^{*1}, Nguyen Danh Minh¹,
Nguyen Van Viet¹, Bui Van Thang¹, Hoang Dan².

¹Vietnam National University of Forestry

²Binh Dien - Ninh Binh Joint Stock Company

*Corresponding author: thont@vnuf.edu.vn

Melia azedarach L. is a multipurpose forest tree species of considerable economic and ecological importance. However, the currently available planting materials remain limited in terms of productivity, wood quality, and stress tolerance. This study aimed to establish an *in vitro* regeneration system for *M. azedarach* from endosperm explants as a foundation for triploid breeding. The results showed that Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 1.0 mg/l 6 - benzylaminopurine (BAP) and 2.0 mg/l indole-3 - acetic acid (IAA) was the most suitable for callus induction, resulting in a callus induction rate of 42.22%. The highest shoot regeneration efficiency was achieved on MS medium containing 1.0 mg/l BAP and 0.2 mg/l α -naphthaleneacetic acid (NAA), with a regeneration rate of 88.9% and an average of 18.22 shoots per explant. Shoot multiplication was most effective on MS medium supplemented with 1.0 mg/l BAP, 0.2 mg/l kinetin, and 0.1 mg/l NAA, producing a shoot cluster formation rate of 95.56%, a multiplication coefficient of 3.82, an average of 5.67 usable shoots per explant, and a mean shoot height of 3.47 cm. Rooting was optimal on MS medium supplemented with 1.5 mg/l indole-3 - butyric acid (IBA), yielding a rooting rate of 91.11%, an average of 4.5 roots per shoot, and a mean root length of 3.44 cm. The most suitable acclimatization substrate consisted of 50% subsoil (B-horizon soil), 25% carbonized rice husk, and 25% ground coconut coir, resulting in a survival rate of 91.11% and vigorous plant growth. These findings contribute to the establishment of an efficient regeneration protocol for *M. azedarach* from endosperm explants, providing a valuable source of plant materials for subsequent studies on polyploid induction and forest tree breeding.

Keywords: Endosperm culture, *Melia azedarach* L., shoot proliferation, triploid plants.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xoan ta (*Melia azedarach* L.) là loài cây gỗ bản địa phân bố rộng ở khu vực châu Á, trong đó có Việt Nam. Đây là loài cây sinh trưởng tương đối nhanh, gỗ Xoan ta thuộc gỗ nhóm V, có lõi màu hồng hay nâu nhạt, dác xám trắng; gỗ nhẹ, mềm, dễ gia công. Gỗ Xoan ta sau khi ngâm khá bền, khó bị mối mọt nên thường được dùng trong xây dựng, trang trí nội thất và điêu khắc... Than và củi Xoan ta cung cấp một lượng nhiệt lớn. Cây Xoan trồng sau khoảng 5 - 6 năm là có thể thu hoạch, nếu trồng lấy gỗ lớn thì kéo dài từ 8 - 10 năm. Đặc biệt, cây Xoan có khả năng tái sinh (mọc lại từ gốc cũ đã thu hoạch cây) từ 3 - 4 lần. Với đặc điểm sinh học như vậy, cũng như giá trị sử dụng về nhiều mặt nên Xoan ta là loài cây trồng lâm nghiệp có tiềm năng phát triển rộng rãi (Trịnh Hiền Mai, 2018). Tuy nhiên, công tác chọn giống và nhân giống Xoan ta hiện nay còn hạn chế; nguồn giống chủ yếu được tạo từ hạt nên tồn tại sự biến dị lớn giữa các cá thể về sinh trưởng, hình thái và một số đặc tính kinh tế. Việc tạo ra các nguồn vật liệu di truyền mới, đồng nhất và có tiềm năng cải thiện các tính trạng mong muốn là yêu cầu cần thiết nhằm nâng cao hiệu quả sử dụng loài cây này trong sản xuất lâm nghiệp.

Ứng dụng công nghệ sinh học để tạo ra giống cây tam bội (3n) là một trong những hướng đi triển vọng, bởi thể tam bội thường có đặc tính hình thái trội, sinh trưởng nhanh, năng suất sinh khối cao. Việc sử dụng nội nhũ làm vật liệu khởi đầu cho quy trình nuôi cấy mô tế bào thực vật mở ra hướng tiếp cận trực tiếp và hiệu quả để tạo ra cây tam bội. Trên thế giới, tạo giống cây tam bội bằng nuôi cấy nội nhũ đã thành công trên một số loài cây trồng (Bhojwani, S.S., Razdan, M.K., 1983; Chaturvedi *et al.*, 2002; Elsevier B.V, 2017; Gui Y. *et al.*, 1993; Nakano A. *et al.*, 2025; Razdan Tikun, A. *et al.*, 2014; Sun *et al.*, 2011; Tang *et al.*, 2024; Thomas T.D *et al.*, 2000; Tian L.T *et al.*, 2012). Tại Việt Nam, đã có nghiên cứu bước đầu về tái sinh cây Xoan ta từ nội nhũ (Bui Van Thang *et al.*, 2018), tuy nhiên

nguồn vật liệu chưa được chọn lọc nên còn hạn chế trong định hướng tạo giống chất lượng cao. Do vậy, sử dụng nguồn vật liệu đã qua chọn lọc đặt ra yêu cầu xây dựng một hệ thống tái sinh ổn định và hiệu quả. “Nghiên cứu tái sinh cây Xoan ta (*Melia azedarach* L.) từ mô nội nhũ trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*” được thực hiện như bước đi đầu tiên và có ý nghĩa nền tảng, nhằm hoàn thiện quy trình tái sinh cây từ nội nhũ, tạo nguồn vật liệu phục vụ các nghiên cứu tiếp theo về tạo giống cây Xoan ta tam bội chất lượng cao.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu và địa điểm nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: loài cây Xoan ta (*Melia azedarach* L.).
- Vật liệu nghiên cứu: Hạt giống cây Xoan ta (*Melia azedarach* L.) thu hái từ cây trội (ký hiệu là HB3) được chọn từ xã Hòa Sơn - huyện Lương Sơn - tỉnh Hòa Bình (nay thuộc xã Lương Sơn - tỉnh Phú Thọ) do nhóm tác giả thực hiện.
- Địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu được tiến hành tại phòng thí nghiệm Viện Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp - Trường Đại học Lâm nghiệp.

2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Các công thức thí nghiệm được bố trí 3 lần lặp, 30 mẫu/lặp.

Các giai đoạn nuôi cấy trong điều kiện:

- Số giờ chiếu sáng trong ngày: 10 h/ngày.
- Cường độ ánh sáng 2.000 - 3.000 lux.
- Nhiệt độ phòng nuôi 25 ± 2°C.

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng cảm ứng tạo mô sẹo từ nội nhũ (thí nghiệm 1)

- Vật liệu nghiên cứu: Là quả Xoan ta được thu thập trên cây trội. Quả được đưa về phòng thí nghiệm được sử dụng làm vật liệu tách mô nội nhũ nuôi cấy ngay hoặc được bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh (4 - 8°C) trong vòng 2 tuần sau thu hái.

- Phương pháp thí nghiệm:

+ Khử trùng mẫu theo các bước sau: bước 1 - rửa sạch quả Xoan ta bằng nước xà phòng loãng, sau đó rửa sạch dưới vòi nước sạch; bước 2 - thao tác trong box cấy vô trùng, khử trùng quả bằng HgCl_2 trong 10 phút, cuối cùng tráng sạch mẫu bằng nước cất vô trùng (3 - 4 lần). Quả Xoan ta non đã khử trùng được sử dụng để tách hạt lấy mô nội nhũ.

+ Dùng lưỡi dao mổ vô trùng bóc vỏ quả Xoan ta, tách lấy hạt non, cắt bỏ 1/2 hạt phần đầu phôi để loại bỏ hoàn toàn phôi (màu xanh) và phần còn lại của hạt (nội nhũ) cấy lên môi trường tạo mô sẹo Murashige and Skoog (MS) + 20 g/l sucrose + 7 g/l agar kết hợp các chất điều hòa sinh trưởng khác nhau 1 và 1,5 mg/l 6 - Benzylaminopurine (BAP) kết hợp với 1; 2; 3 và 4 mg/l Indole-3 - acetic acid (IAA) pH môi trường 5,8, với công thức đối chứng là MS bổ sung 1 mg/l BAP + 2 mg/l α -Naphthalene acetic acid (NAA) là công thức tốt nhất tạo mô sẹo từ nội nhũ cho cây Xoan đã được nghiên cứu bởi Bui Van Thang và đồng tác giả (2018).

- Thu thập số liệu: Sau 10 tuần nuôi cấy, số mẫu cảm ứng tạo mô sẹo, chất lượng mô sẹo (Tốt: Màu xanh nhạt, mềm, xốp, TB: Màu Trắng, hơi cứng, xấu: Màu nâu hoặc đen, cứng).

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo (thí nghiệm 2)

- Vật liệu thí nghiệm: Các khối mô sẹo được tạo ra từ mô nội nhũ ở thí nghiệm 1. Tiếp tục nhân mô sẹo trên môi trường tốt nhất ở thí nghiệm 1 qua 2 - 3 chu kỳ sau đó cấy chuyển sang môi trường tái sinh chồi.

- Bố trí thí nghiệm: Các mô sẹo để nguyên hoặc cắt nhỏ ra thành 2 - 3 phần (nếu kích thước khối mô sẹo lớn hơn 1 cm) cấy trên môi trường tái sinh chồi MS + 30 g/l sucrose + 7 g/l agar, bổ sung thêm các chất điều hòa sinh trưởng BAP (0,3; 0,5; 1,0; 1,5 mg/l) kết hợp với NAA (0,2 mg/l) hoặc Thidiazuron (TDZ) (0,2 mg/l).

- Thu thập số liệu: Thu thập số liệu sau 10 tuần nuôi cấy, tỷ lệ mô sẹo cảm ứng tạo chồi, Số

chồi tái sinh/mẫu tái sinh, chất lượng chồi (Chồi tốt có màu xanh tươi, không bị úa hay vàng, chồi mập không bị thủy tinh hóa hay biến dạng; chồi có chất lượng trung bình có màu xanh nhạt đến xanh vàng, chồi mảnh, hơi cong, một số chồi có hiện tượng thủy tinh hóa nhẹ ở phần gốc. Chồi xấu có màu vàng nhạt hoặc nâu, phần gốc hay đầu lá bị úa; chồi mềm yếu, dễ gãy, thủy tinh hóa).

2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh chồi (thí nghiệm 3)

- Vật liệu thí nghiệm: Các cụm chồi được hình thành từ thí nghiệm 2.

- Bố trí thí nghiệm: Các cụm chồi hình thành (4 chồi/cụm) được cấy chuyển sang môi trường nhân nhanh MS + 30 g/l sucrose + 7 g/l agar, bổ sung thêm các chất điều hòa sinh trưởng BAP (0,3; 0,5; 1; 1,5 mg/l) kết hợp với Kinetin (0,2 mg/l) hoặc NAA (0,1 mg/l).

- Thu thập số liệu: Thu thập số liệu sau 3 tuần nuôi cấy về số mẫu tạo cụm chồi (những mẫu phát sinh thêm chồi mới), số chồi mới phát sinh (để xác định hệ số nhân chồi), số chồi hữu hiệu (chồi có chiều cao từ 2 cm), chiều cao chồi và chất lượng chồi.

2.2.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng ra rễ của chồi in vitro (thí nghiệm 4)

- Vật liệu thí nghiệm: Các chồi hữu hiệu có chiều cao từ 2,5 - 3,5 cm được hình thành từ thí nghiệm 3.

- Bố trí thí nghiệm: Các chồi hữu hiệu có chiều cao từ 2,5 - 3,5 cm được cấy chuyển sang môi trường tạo rễ MS + 30 g/l sucrose + 7 g/l agar + 0,5 g/l than hoạt tính, bổ sung thêm các chất điều hòa sinh trưởng ở một số nồng độ khác nhau 0,5; 1; 1,5; 2 mg/l Indole-3 - butyric acid (IBA) hoặc 0,5; 1; 1,5; 2 mg/l NAA.

- Thu thập số liệu: Thu thập số liệu sau 3 tuần nuôi cấy, số chồi ra rễ, số rễ/chồi, chiều dài rễ, chất lượng rễ (Rễ có chất lượng tốt có màu trắng ngà đến trắng sáng, phân nhánh đều, rễ mập. Rễ trung bình thường có màu trắng hơi ngà hoặc

vàng nhạt, rễ mảnh. Rễ xấu có màu vàng nâu hoặc nâu sẫm, ngắn, mảnh).

2.2.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của loại giá thể đến khả năng sống, sinh trưởng của cây mô giai đoạn vườn ươm (thí nghiệm 5)

- Vật liệu thí nghiệm: Các cây mô được tạo ra ở thí nghiệm 4.

- Bố trí thí nghiệm: Các bình cây mô được huấn luyện 2 tuần trong điều kiện có ánh sáng tán xạ để cây dần thích nghi với điều kiện tự nhiên trước khi lấy cây ra khỏi bình.

Sau thời gian huấn luyện, cây được rửa dưới vòi nước sạch để loại bỏ agar và cấy vào bầu đã chuẩn bị sẵn các loại giá thể (GT) khác nhau:

GT1: 100% là đất tầng B sàng kỹ.

GT2: 75% đất tầng B sàng kỹ và 25% trấu hun.

GT3: 75% đất tầng B + 25% xơ dừa xay.

GT4: 50% đất tầng B + 25% trấu hun + 25% xơ dừa xay.

- Thu thập số liệu: Số liệu thu thập sau 1 tháng trồng cây mô ngoài vườn ươm về số cây sống, tăng trưởng chiều cao cây và chất lượng cây (cây tốt có màu xanh tươi, lá phát triển đầy đủ, không bị vàng; thân cứng cáp. Cây trung bình có màu xanh nhạt đến xanh vàng, lá hơi nhỏ hoặc có vài lá già bị úa; thân mảnh hoặc hơi cong. Cây xấu thường có màu vàng úa hoặc nâu, lá héo; thân còi cọc, mềm yếu).

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

- So sánh giữa các công thức thí nghiệm về tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo, tỷ lệ mẫu tái sinh chồi, tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi, tỷ lệ chồi ra rễ bằng tiêu chuẩn khi bình phương (χ^2).

- So sánh giữa các công thức thí nghiệm về chiều cao chồi, số chồi, chiều dài rễ và số lượng rễ/cây bằng phân tích phương sai một nhân tố.

- So sánh sự sai khác giữa các công thức thí nghiệm bằng phương pháp LSD (Least Significant Difference) ở mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

- Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS và phần mềm Excel (Nguyễn Hải Tuất, Nguyễn Trọng Bình, 2005).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng cảm ứng tạo mô sẹo từ nội nhũ

Kết quả cảm ứng tạo mô sẹo từ nội nhũ được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng cảm ứng mô sẹo từ nội nhũ (sau 10 tuần nuôi cấy)

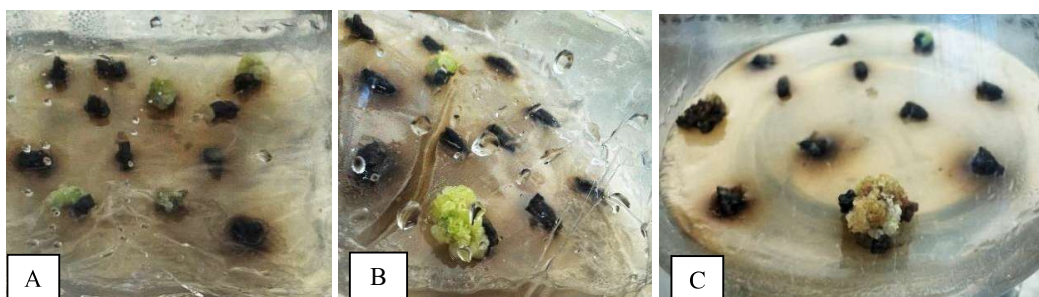
Ký hiệu CTTN	BAP (mg/l)	IAA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (%)	Chất lượng mô sẹo
ĐC	1 mg/l BAP + 2 mg/l NAA		36,67	Tốt
S1	1,0	1,0	18,89	TB
S2	1,0	2,0	42,22	Tốt
S3	1,0	3,0	22,22	TB
S4	1,0	4,0	15,56	TB
S5	1,5	1,0	13,33	Xấu
S6	1,5	2,0	16,67	Xấu
S7	1,5	3,0	14,44	TB
S8	1,5	4,0	7,78	Xấu
Trung bình			13,06	
Sig			<0,05	

Kết quả thí nghiệm ở bảng 1 cho thấy sự kết hợp nồng độ BAP và IAA có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng cảm ứng mô sẹo, với mức ý nghĩa thống kê $\text{sig} < 0,05$. Trong đó, công thức đối chứng sử dụng 1 mg/l BAP + 2 mg/l NAA, được kế thừa từ nghiên cứu của Bui Van Thang và đồng tác giả (2018), là công thức đã được xác định tối ưu cho cảm ứng mô sẹo từ nội nhũ cây Xoan ta với tỷ lệ tạo mô sẹo đạt 55,9%. Khi áp dụng công thức này trên đối tượng nghiên cứu hiện tại, tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo chỉ đạt 36,67%, mô sẹo có đặc điểm tốt, màu xanh nhạt, mềm, xốp và sinh trưởng ổn định có thể do khác biệt do đặc điểm di truyền của mẫu nuôi cấy. Kết quả này tương đương với công thức BAP 1,0 mg/l + IAA 2,0 mg/l (S2), cho tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo 42,22% và chất lượng mô sẹo tốt nhất trong các công thức thử nghiệm. Sự tương đồng về hiệu quả giữa hai công thức cho thấy IAA ở

nồng độ 2,0 mg/l có thể thay thế cho NAA trong việc kích thích hình thành mô sẹo, đồng thời vẫn duy trì được hoạt tính sinh trưởng của mô. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ IAA lên 3,0 và 4,0 mg/l hoặc tăng BAP lên 1,5 mg/l, tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo giảm rõ rệt, mô sẹo có xu hướng hóa nâu và thoái hóa. Khi tăng nồng độ BAP và IAA, tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo có xu hướng giảm, có thể do sự thay đổi tỷ lệ cân bằng giữa cytokinin và auxin trong môi trường nuôi cấy.

Sự thay đổi này ảnh hưởng đến quá trình phân chia, biệt hóa và duy trì trạng thái phản phân hóa của tế bào; trong trường hợp nồng độ chất điều hòa sinh trưởng quá cao có thể gây stress sinh lý, làm giảm khả năng cảm ứng mô sẹo của mẫu nuôi cấy (Skoog, Miller, 1957; George *et al.*, 2008).

Như vậy, công thức BAP 1,0 mg/l + IAA 2,0 mg/l (S2) là phù hợp để tái sinh mô sẹo từ nội nhũ của cây trội HB3 (hình 1).



Hình 1. Quá trình cảm ứng tạo mô sẹo từ nội nhũ Xoan ta

(Ghi chú: A: Mô sẹo tái sinh từ nội nhũ trên môi trường S2, B: Mô sẹo tái sinh từ nội nhũ trên môi trường ĐC, C: Mô sẹo tái sinh trên môi trường S8).

3.2. Kết quả ảnh hưởng chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo.

mô sẹo được cấy chuyển sang môi trường tái sinh chồi. Kết quả thể hiện ở bảng 2.

Các mô sẹo được tạo ra từ mô nội nhũ tiếp tục được nhân lên qua 3 - 4 chu kỳ, sau đó các khối

Bảng 2. Kết quả ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo nội nhũ (sau 10 tuần nuôi cấy)

Ký hiệu CTTN	BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	TDZ (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tái sinh chồi (%)	Số chồi tái sinh/mẫu tái sinh	Chất lượng chồi
TS1	0,3	-	-	52,2	8,58	TB
TS2	0,5	-	-	61,1	6,23	Tốt
TS3	1,0	-	-	60,0	5,53	TB
TS4	1,5	-	-	46,7	4,93	TB
TS5	0,3	0,2	-	75,6	13,23	Tốt
TS6	0,5	0,2	-	80,0	14,55	Tốt
TS7	1,0	0,2	-	88,9	18,22	Tốt
TS8	1,5	0,2	-	74,4	16,74	Tốt
TS9	0,3	-	0,2	16,7	2,22	Xấu
TS10	0,5	-	0,2	25,6	3,52	TB
TS11	1,0	-	0,2	16,7	2,63	Xấu
TS12	1,5	-	0,2	13,3	2,25	Xấu
Sig				<0,05	<0,05	
L _{Sd}					1,12	

Kết quả trình bày ở bảng 2 cho thấy ảnh hưởng rõ rệt của nồng độ và loại chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh chồi, số chồi trung bình và chất lượng chồi của mẫu nuôi cấy. Phân tích thống kê cho thấy sự khác biệt giữa các công thức có ý nghĩa ở mức $\text{sig} < 0,05$, chứng tỏ chất điều hòa sinh trưởng là nhân tố quyết định đến hiệu quả tái sinh chồi từ mô sẹo. Khi phối hợp BAP với NAA (0,2 mg/l) (TS5 - TS8), hiệu quả tái sinh được cải thiện rõ rệt. Tỷ lệ mẫu tái sinh chồi trung bình đạt 79,7%, số chồi 15,69 chồi/mẫu và chất lượng chồi được đánh giá là tốt. Đặc biệt, công thức 1,0 mg/l BAP + 0,2 mg/l NAA (TS7) cho kết quả tối ưu với tỷ lệ mẫu tái sinh chồi đạt 88,9% và số chồi 18,22 chồi/mẫu, chồi có chất lượng tốt. Điều này cho thấy, sự phối hợp cân đối giữa cytokinin và auxin ở nồng độ thích hợp có tác dụng hiệp đồng, kích thích mạnh quá trình phân hóa và phát triển chồi. Kết quả này tương tự nhận định của Vila và đồng tác giả (2003), Salim (2014) khi nghiên cứu trên *Melia azedarach*, khi sự kết hợp giữa BAP và auxin giúp tăng đáng kể tỷ lệ tái sinh chồi và cải thiện hình thái chồi so với việc sử dụng cytokinin đơn lẻ. Điều này có thể được giải thích do auxin ở nồng độ thấp hỗ trợ phân chia tế bào và khởi phát chồi, trong khi cytokinin (BAP) thúc đẩy quá trình phân hóa chồi non, dẫn đến hiệu quả tổng hợp cao hơn

(Skoog, Miller, 1957; George *et al.*, 2008). So sánh với nghiên cứu của Bui Van Thang và đồng tác giả (2018) - tái sinh cây tam bội Xoan ta từ nội nhũ non, kết quả đã ghi nhận tỷ lệ cảm ứng chồi cao nhất 98%, trung bình 16,7 chồi/mẫu trên môi trường 1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA. Như vậy, công thức TS7 trong nghiên cứu hiện tại cho hiệu quả tương đương với nghiên cứu trước. Điều này cho thấy, mô sẹo cũng có khả năng tái sinh mạnh mẽ khi sử dụng tổ hợp cytokinin (BAP) và auxin (NAA) ở nồng độ phù hợp.

Ngược lại, ở nhóm công thức BAP kết hợp TDZ (0,2 mg/l) (TS9 - TS12), hiệu quả tái sinh giảm mạnh, tỷ lệ mẫu tái sinh chỉ đạt 18,1%, số chồi 2,65 chồi/mẫu và chất lượng chồi kém. TDZ mặc dù có hoạt tính cytokinin mạnh, nhưng ở nồng độ cao hoặc khi phối hợp không phù hợp với các chất điều hòa sinh trưởng khác có thể thúc đẩy quá trình phản phân hóa tế bào, làm tăng sự hình thành mô sẹo hoặc gây biến dạng chồi, từ đó làm giảm khả năng tái sinh cây hoàn chỉnh.

Như vậy, công thức 1,0 mg/l BAP + 0,2 mg/l NAA (TS7) được xác định là tối ưu cho quá trình tái sinh chồi từ mô sẹo, vừa cho tỷ lệ tái sinh cao, số chồi nhiều và chất lượng chồi tốt (hình 2).



Hình 2. Chồi Xoan ta tái sinh từ mô sẹo trên các môi trường nuôi cấy (sau 10 tuần nuôi cấy)

3.3. Kết quả ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh chồi

Các chồi tái sinh từ mô sẹo được cấy chuyển sang môi trường nhân nhanh chồi. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh chồi (sau 3 tuần nuôi cấy)

Ký hiệu CTTN	BAP (mg/l)	Kinetin (mg/l)	NAA (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Số chồi hữu hiệu (cái)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
NN1	0,3	0,2	-	83,33	2,23	2,54	1,52	TB
NN2	0,5	0,2	-	87,78	2,59	3,61	1,86	TB
NN3	1,0	0,2	-	88,89	3,23	4,63	2,55	Tốt
NN4	1,5	0,2	-	82,22	2,17	3,23	2,22	TB
NN5	0,3	0,2	0,1	81,11	2,38	3,71	2,49	TB
NN6	0,5	0,2	0,1	90,00	2,82	4,43	2,65	Tốt
NN7	1,0	0,2	0,1	95,56	3,82	5,67	3,47	Tốt
NN8	1,5	0,2	0,1	91,11	2,13	4,31	2,34	TB
Sig				0,048	<0,05	<0,05	<0,05	
Lsd					0,45	0,57	0,28	

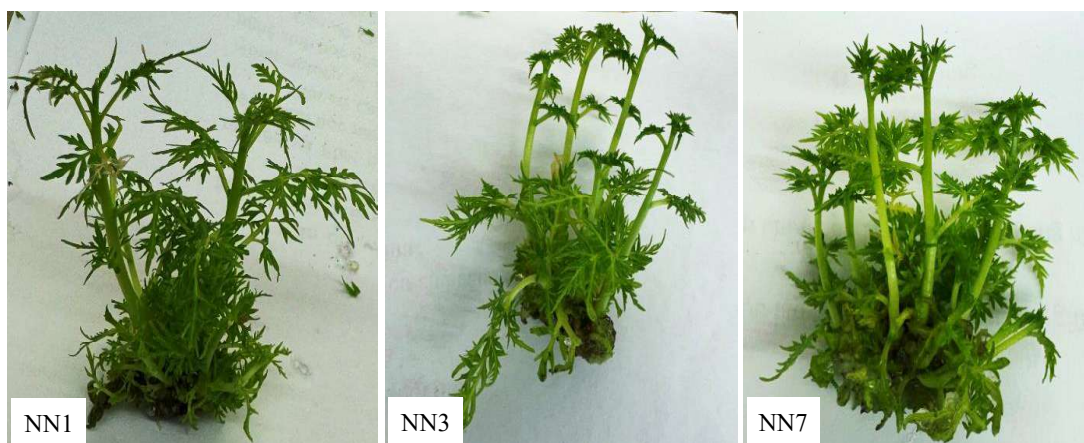
Kết quả nghiên cứu cho thấy các tổ hợp chất điều hòa sinh trưởng có ảnh hưởng rõ rệt đến quá trình nhân nhanh chồi Xoan ta (Sig < 0,05). Tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi đạt từ 81,11 đến 95,56%, cho thấy cả các công thức đều có khả năng tạo cụm chồi, đặc biệt khi sử dụng cytokinin hoặc kết hợp với auxin ở nồng độ phù hợp.

Trong các công thức, NN7 (1,0 mg/l BAP + 0,2 mg/l Kinetin + 0,1 mg/l NAA) cho kết quả nổi bật nhất với tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi đạt 95,56%, hệ số nhân chồi 3,82 lần, số chồi hữu hiệu 5,67, chiều cao chồi trung bình 3,47 cm và chất lượng chồi tốt. Sự phối hợp giữa hai loại cytokinin (BAP và kinetin) cùng một lượng nhỏ auxin (NAA) đã tạo ra sự cân bằng giữa quá trình phân chia và kéo dài tế bào, qua đó thúc đẩy sự hình thành và phát triển chồi khỏe mạnh. Cơ chế này phù hợp với nhận định của Huetteman và Preece (1993) khi cho rằng việc bổ sung đồng thời cytokinin và auxin với tỷ lệ thích hợp có thể duy trì khả năng phân hóa mầm chồi trong mô thân gỗ mà không gây hóa mô sẹo hoặc biến dạng. Trong khi đó, các công thức có nồng độ BAP cao (như NN8: 1,5 mg/l) tuy vẫn cho tỷ lệ

mẫu cảm ứng chồi cao (91,11%), nhưng số chồi hữu hiệu và chất lượng chồi giảm, chồi ngắn và dễ hóa nâu. Hiện tượng này có thể do nồng độ cytokinin cao làm rối loạn quá trình sinh tổng hợp chlorophyll và auxin nội sinh, dẫn đến hiện tượng ức chế kéo dài chồi. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Salim (2014) trên *Melia azedarach*, trong đó tác giả nhận thấy việc bổ sung BAP ở nồng độ thích hợp giúp tăng khả năng phát sinh và sinh trưởng chồi, trong khi các tổ hợp chất điều hòa sinh trưởng ở nồng độ cao có xu hướng làm giảm hiệu quả tái sinh. Theo nghiên cứu của Arora và đồng tác giả (2011) trên loài Xoan Ấn Độ (*Azadirachta indica* - loài cùng họ với *Melia azedarach*), khi hai cytokinin (BAP và 2iP) được phối hợp với auxin (IAA) và adenine hemisulphate giúp tái sinh và nhân nhanh chồi hiệu quả từ mẫu rễ. Mặc dù môi trường của Arora có bổ sung thêm adenine hemisulphate và putrescine, kết quả nghiên cứu hiện tại trên cây Xoan ta cho thấy công thức chỉ gồm BAP, kinetin và NAA ở nồng độ thích hợp vẫn đạt hiệu quả tương đương về tỷ lệ tái sinh, hệ số nhân chồi và chất lượng chồi. Tương tự, Vila và đồng tác giả (2003) khi

ngiên cứu tái sinh *Melia azedarach* L. cũng khẳng định rằng việc kết hợp nhiều loại cytokinin (như BAP và kinetin) ở nồng độ trung bình giúp gia tăng đáng kể số chồi hữu hiệu mà vẫn duy trì được hình thái chồi bình thường.

Như vậy, công thức phù hợp để nhân nhanh chồi xoan là 1,0 mg/l BAP + 0,2 mg/l Kinetin + 0,1 mg/l NAA (NN7) vừa đảm bảo hệ số nhân chồi cao, vừa tạo được số chồi hữu hiệu và chất lượng chồi tốt (hình 3).



Hình 3. Chồi Xoan ta trên môi trường nhân nhanh (sau 3 tuần nuôi cấy)

3.4. Kết quả ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng ra rễ của chồi *in vitro*

Các chồi có chiều cao 2,5 - 3,5 cm được cấy chuyển sang môi trường tạo rễ. Kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tạo cây hoàn chỉnh (sau 3 tuần nuôi cấy)

Ký hiệu CTTN	IBA (mg/l)	NAA (mg/l)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ/chồi (cái)	Chiều dài rễ (cm)	Chất lượng rễ
IB1	0,5	-	71,11	2,87	1,73	Xấu
IB2	1,0	-	80,00	3,34	2,31	Tốt
IB3	1,5	-	91,11	4,50	3,44	Tốt
IB4	2,0	-	82,22	2,67	2,23	TB
NA1	-	0,5	62,22	1,94	1,64	Xấu
NA2	-	1,0	66,67	2,06	2,38	TB
NA3	-	1,5	77,78	2,52	2,64	TB
NA4	-	2,0	62,22	1,87	1,57	Xấu
Sig			<0,05	<0,05	<0,05	
Lsd				0,41	0,49	

Kết quả thí nghiệm cho thấy, loại chất điều hòa sinh trưởng và nồng độ khác nhau đã ảnh hưởng rõ rệt đến kết quả ra rễ của chồi *in vitro* Xoan ta. Trong các công thức thí nghiệm, môi trường có bổ sung IBA đơn lẻ ở nồng độ 1,5 mg/l (IB3) cho tỷ lệ ra rễ cao nhất (91,11%), số rễ trung

bình đạt 4,5 rễ/chồi, chiều dài rễ 3,44 cm và chất lượng rễ được đánh giá là tốt. Ở nồng độ IBA thấp hơn (0,5 - 1,0 mg/l) hay cao hơn (2,0 mg/l) tỷ lệ ra rễ và số rễ đều giảm. Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ IBA có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng phát sinh rễ của chồi Xoan

ta. Trong phạm vi các công thức thí nghiệm, IBA ở nồng độ 1,5 mg/l được xác định là phù hợp nhất, cho tỷ lệ ra rễ và chất lượng cây con cao hơn so với các công thức còn lại. Trong khi đó, các công thức bổ sung NAA đơn lẻ cho tỷ lệ ra rễ thấp hơn (62,22 - 77,78%), số rễ/chồi giảm còn 1,87 - 2,52 và rễ có chất lượng trung bình đến xấu.

Những kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây, Vila và đồng tác giả (2003) ghi nhận rằng chồi tái sinh từ mô sẹo của lá chết khi được xử lý bằng IBA 12,26 μ M (~2,2 mg/l) đạt tỷ lệ ra rễ cao nhất 89%, cho thấy IBA hiệu quả hơn

NAA trong cảm ứng ra rễ. Các nghiên cứu của Arora và đồng tác giả (2011), Luis và Rey (2013) cũng nhấn mạnh vai trò của IBA trong kích thích ra rễ, với cây con phát triển khỏe mạnh, đồng đều và hoàn chỉnh. Ngoài ra, nghiên cứu của Arif Nirsatmanto (2006) cũng cho thấy IBA là chất điều hòa sinh trưởng thuộc nhóm auxin có hiệu quả cao trong việc kích thích sự hình thành rễ của chồi.

Như vậy, IBA đơn lẻ ở nồng độ 1,5 mg/l là tối ưu cho quá trình ra rễ chồi *in vitro* của Xoan ta, vừa tạo ra số lượng rễ nhiều, chiều dài rễ dài, vừa đảm bảo chất lượng rễ tốt (hình 4).



Hình 4. Cây con hoàn chỉnh Xoan ta trên môi trường IB3

(Ghi chú: A: Cây con Xoan ta hoàn chỉnh trong bình nuôi cấy MS+1.5mg/l IBA. B,C: Cây sau 2 tuần huấn luyện chuẩn bị cấy ra bầu đất)

3.5. Kết quả ảnh hưởng của loại giá thể đến khả năng sống, sinh trưởng của cây mô giai đoạn vườn ươm

Các bình cây mô được huấn luyện 2 tuần trong điều kiện có ánh sáng tán xạ nhằm giúp cây

thích nghi dần với điều kiện môi trường bên ngoài. Sau thời gian huấn luyện, cây được lấy ra khỏi bình nuôi cấy, rửa sạch phần thạch bám trên rễ và cấy vào bầu chứa các loại giá thể khác nhau. Kết quả được trình bày tại bảng 5.

Bảng 5. Kết quả ảnh hưởng của loại giá thể đến tỷ lệ cây sống, sinh trưởng của cây ở giai đoạn vườn ươm (sau 1 tháng ra ngôi)

Ký hiệu CTTN	Tỷ lệ cây sống (%)	Tăng trưởng chiều cao cây (cm/tháng)	Chất lượng cây
GT1	62,22	2,33	TB
GT2	86,67	3,15	Tốt
GT3	73,33	2,81	TB
GT4	91,11	3,72	Tốt
Sig	<0,05	<0,05	
Lsd		0,36	

Ghi chú: GT1: 100% là đất tầng B sàng kỹ; GT2: 75% đất tầng B sàng kỹ và 25% trấu hun; GT3: 75% đất tầng B + 25% xơ dừa xay; GT4: 50% đất tầng B + 25% trấu hun + 25% xơ dừa xay)

Kết quả theo dõi cây con giai đoạn vườn ươm sau 1 tháng ra ngôi cho thấy tỷ lệ sống và tăng trưởng chiều cao của cây con Xoan ta có sự khác biệt rõ rệt giữa các loại giá thể khác nhau. Tỷ lệ cây sống cao nhất đạt 91,11% ở công thức GT4 (50% đất tầng B + 25% trấu hun + 25% xơ dừa xay), với mức tăng trưởng chiều cao trung bình 3,72 cm/tháng và cây con có chất lượng tốt. Ngược lại, GT1 (100% đất tầng B) có cấu trúc nén chặt, thoát nước kém nên rễ dễ bị úng và thiếu oxy; GT2 (đất + trấu hun) cải thiện thông khí nhưng giữ ẩm kém, gây khô hạn cục

bộ; còn GT3 (đất + xơ dừa) giữ ẩm tốt nhưng dễ ú nước, giảm oxy vùng rễ do vậy tỷ lệ cây lệ sống thấp hơn dao động từ 62,22 - 86,67%, mức tăng trưởng thấp hơn (2,33 - 3,15 cm/tháng).

Như vậy, giá thể 50% đất tầng B + 25% trấu hun + 25% xơ dừa xay cho tỷ lệ cây sống và khả năng sinh trưởng tốt hơn so với các công thức giá thể khác trong điều kiện thí nghiệm. Kết quả này cho thấy sự phối hợp các thành phần giá thể có ảnh hưởng tích cực đến khả năng thích nghi của cây con Xoan ta sau giai đoạn nuôi cấy *in vitro*.



Hình 5. Cây con Xoan ta trồng ngoài vườn ươm sau 1 tháng ra ngôi

(Ghi chú: GT1: 100% đất tầng B, GT4: 50% đất tầng B + 25% trấu hun + 25% xơ dừa xay)

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu tái sinh cây Xoan ta từ nội nhũ thu được kết quả như sau:

- Môi trường thích hợp nhất cho cảm ứng tạo mô sẹo từ mô nội nhũ là MS bổ sung 1,0 mg/l BAP và 2,0 mg/l IAA, với 42,22% mẫu tạo mô sẹo, mô sẹo có chất lượng tốt.
- Môi trường tối ưu cho tái sinh chồi từ mô sẹo là MS bổ sung 1,0 mg/l BAP và 0,2 mg/l NAA, đạt tỷ lệ tái sinh chồi 88,9% và trung bình 18,22 chồi/mẫu, chồi sinh trưởng tốt.
- Môi trường thích hợp cho nhân nhanh chồi là MS bổ sung 1,0 mg/l BAP + 0,2 mg/l Kinetin + 0,1 mg/l NAA, với tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi 95,56%, hệ số nhân chồi 3,82 lần, số chồi hữu hiệu đạt 5,67 chồi/mẫu, chiều cao chồi trung bình 3,47 cm và chất lượng chồi tốt.

- Môi trường ra rễ *in vitro* hiệu quả là MS bổ sung 1,5 mg/l IBA, với tỷ lệ ra rễ đạt 91,11%, số rễ trung bình 4,5 rễ/chồi, chiều dài rễ 3,44 cm, rễ phát triển tốt.

- Giá thể ra ngôi thích hợp nhất là hỗn hợp 50% đất tầng B + 25% trấu hun + 25% xơ dừa xay, cho tỷ lệ cây sống cao nhất (91,11%), sinh trưởng chiều cao trung bình 3,72 cm/tháng, cây con phát triển tốt.

Lời cảm ơn: Bài viết này là một phần nghiên cứu của đề tài khoa học và công nghệ: Nghiên cứu chọn tạo giống Xoan ta (*Melia azedarach* L.) tam bội bằng phương pháp nuôi cấy mô nội nhũ non sinh trưởng nhanh phục vụ trồng rừng gỗ lớn. Mã số: KC.12.17/21 - 30. Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn Bộ Khoa học và Công nghệ đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Arif Nirsatmantol, 2006. *In-vitro* culture for regeneration of *Melia azedarach* L., using agitated liquid medium. Journal of Forestry Research Vol. 3 No. 2, July 2006: 115 - 122.
2. Arora K., M. Sharma , J. Srivastava , S.A. Ranade And A.K. Sharma, 2011. *In vitro* cloning of *Azadirachta indica* from root explants. Biologia plantarum 55 (1): 164 - 168, 2011.
3. Bhojwani, S.S., Razdan, M.K., 1983. Somatic embryogenesis and regeneration of triploid plants in endosperm cultures of *Acacia nilotica*. Plant Cell Reports, 2(6), 321 - 323.
4. Bui Van Thang, Nguyen Van Viet, Vu Quang Nam, Hoang Thanh Tung, Duong Tan Nhut, 2018. Triploid plant regeneration from immature endosperms of *Melia azedarach*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), DOI: 10.1007/s11240 - 018 - 1387 - 8.
5. Chaturvedi, Rakhi , Razdan, Maharaj K., Bhojwani, Sant S., 2002. An efficient protocol for the production of triploid plants from endosperm callus of neem, *Azadirachta indica* A. Juss. Journal of Plant Physiology, Volume 160, Issue 5, pp. 557 - 564.
6. Elsevier B.V., 2017. Endosperm-derived triploid plant regeneration in diploid *Actinidia kolomikta*, a cold-hardy kiwifruit relative. Scientia horticulturae Volume 219 Pagination 53 - 59 ISSN 0304 - 4238.
7. George E.F., Hall M.A. and De Klerk G.J., 2008. Plant propagation by tissue culture. Volume 1: The Background. 3rd Edition. Springer, Dordrecht.
8. Gui Y, Hong S, Ke S, Skirvin R,M, 1993. Fruit and vegetative characteristics of endosperm-derived kiwifruit (*Actinidia chinensis* F.). plant, Euphytica 71: 57 - 62.
9. Huetteman, C. A., Preece, J. E., 1993. Thidiazuron: A potent cytokinin for woody plant tissue culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 33(2), 105 - 119.
10. Luis A Mroginski, Hebe Y Rey, 2013. Micropropagation of paradise tree (*Melia azedarach*) by *in vitro* culture of axillary buds. Methods Mol Biol. 2013;11013:223 - 30. DOI: 10.1007/978 - 1 - 62703 - 074 - 8_17.
11. Nakano, A., Mii, M., Hoshino, Y., 2025. Endosperm culture-based allotriploid hybrid production from an interspecific cross of *Haemanthus* spp.: New insights into polyploidization and hybridization. BMC Plant Biology, 25, Article 423. DOI: 10.1186/s12870 - 025 - 05269 - 0.
12. Nguyễn Hải Tuất, Nguyễn Trọng Bình, 2005. Khai thác và sử dụng SPSS để xử lý số liệu nghiên cứu trong lâm nghiệp. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
13. Razdan Tikun, A., Razdan, M.K., Raina, S.N., 2014. Production of triploid plants from endosperm cultures of *Phlox drummondii* . Biol Plant 58, 153 - 158. DOI: 10.1007/s10535 - 013 - 0372 - 7.
14. Salim, S. A. R., 2014. Effect of explant source and growth regulators on *in vitro* callus induction and organogenesis of *Melia azedarach* L. trees. Journal of Biotechnology Research Center, 8(3), 20 - 27. DOI: 10.24126/jobrc.2014.8.3.349 jobrc.org.
15. Skoog F. and Miller C.O., 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. Symposia of the Society for Experimental Biology 11: 118 - 131.
16. Sun, D.Q., Lu, X.H., Liang, G.L., Guo, Q.G., Mo, Y.W., Xie, J.H., 2011. Production of triploid plants of papaya (*Carica papaya* L.) by endosperm culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 104(1), 23 - 29.
17. Tang, J., Zhang, H., Chen, Q., Li, C., Liu, Y., 2024. *In vitro* regeneration of triploid from mature endosperm culture of *Passiflora edulis* ‘Mantianxing’. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 88(4), 412 - 420. http BMC Plant Biol.
18. Thomas T.D, Bhatnagar A.K, Bhojwani S.S, 2000. Production of triploid plants of mulberry (*Morus alba* L.) by endosperm culture. Plant Cell Rep 19: 395 - 399.
19. Tian L.T, Ke Y.N., Gan S.R, Chen Y.Q., Chen Y., Yang Z.F., Wang X.G., 2012. Triploid plant regeneration from mature endosperms of *Sapium sebiferum*, Plant Growth Regul 68: 319 - 324.
20. Trịnh Hiền Mai, 2018. Nghiên cứu cải thiện tính chất vật lý và cơ học của gỗ Xoan ta (*Melia azedarach* L.) bằng hóa chất. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp, số 1.132 - 141.
21. Vila, S. K., González, A. M., Rey, H. Y., Mroginski, L. A., 2003. *In-vitro* plant regeneration of *Melia azedarach* L.: Shoot organogenesis from leaf explants. Biologia Plantarum, 47(1), 13 - 19. DOI:10.1023/A:1027364427795.

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

Ngày nhận bài: 15/06/2026

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 20/07/2026; 21/07/2026

Ngày duyệt đăng: 04/08/2026