

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG TẾCH (*Tectona grandis* Linn.f) CÁC DÒNG ALTS2 VÀ PN4 BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY MÔ

Nguyễn Anh Dũng, Văn Thu Huyền, Đồng Thị Ung, Lưu Thị Quỳnh, Lê Thị Hoa,
Hoàng Thị Hồng Hạnh, Nguyễn Thị Hiền, Mai Thị Phương Thúy

*Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp
Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam*

TÓM TẮT

Từ khóa: Nhân chồi, khử trùng, nuôi cấy mô, ra rễ, Tếch (dòng ALTS2, PN4)

Tếch (*Tectona grandis*) là một trong những loài gỗ cứng chất lượng, có giá trị kinh tế cao. Với tầm quan trọng và vị trí nổi bật của gỗ Tếch trong thị trường gỗ toàn cầu, cùng với tiềm năng góp phần tăng trưởng kinh tế quốc gia và dân sinh cho các địa phương, Tếch là một trong những đối tượng được quan tâm trong quản lý rừng bền vững (SMF) ở nhiều nước nhiệt đới và cận nhiệt, trong đó có Việt Nam. Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp đã thu thập được một số dòng Tếch có tiềm năng sinh trưởng tốt. Trong nghiên cứu này, phương pháp nhân giống bằng nuôi cấy mô tế bào thực vật đã được thực hiện cho 2 dòng Tếch ALTS2 và PN4, bao gồm các nội dung nghiên cứu: công thức khử trùng thích hợp, ảnh hưởng của chất kích thích sinh trưởng đến khả năng nhân chồi và ra rễ. Kết quả cho thấy: Khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,05% trong 5 phút kết hợp với H₂O₂ 15% trong 5 phút cho kết quả tỷ lệ bật chồi cao nhất đạt 16,67% đối với dòng ALTS2 và 17,78% đối với dòng PN4. Môi trường MS* có bổ sung BAP 0,5 mg/l, 30 g/l sucrose, 3,5 g/l agar cho hệ số nhân chồi tốt nhất 2,86 (ALTS2) và 3,29 (PN4). Tỷ lệ ra rễ đạt 88,89% (PN4) - 90% (ALTS2) khi sử dụng môi trường 1/2 MS* có bổ sung 1,5 mg/l IBA.

Propagation of *Tectona grandis* Linn.f clones ALTS2 and PN4 using tissue culture method

Keywords: Disinfectant, rooting, shoot multiplication, *Tectona grandis*, tissue culture

Teak (*Tectona grandis*) is one of the species of quality hardwood, with high economic value. With the importance and prominent position of Teak in the global timber market, along with the potential to contribute to national economic growth and population for localities, teak is one of the objects of interest in sustainable forest management in many tropical and subtropical countries, including Vietnam. Currently, in order to boarder the genetic resource, some teak clones with good growth potential have been collected by Institute of Forestry Tree Improvement and Biotechnology. Propagation ALTS2 and PN4 teak clones by tissue culture method was conducted, including studies on: Chemicals and appropriate bud disinfectant concentration, study the effect of growth stimulants on bud multiplier and rooting rate in the two clones. The results showed that disinfecting the sample with HgCl₂ 0.05% in 5 minutes followed by H₂O₂ 15% in 5 minutes gave the best results 16.67% (ALTS2) and 17.78% (PN4). The MS* medium was supplemented with BAP 0.5 mg/l, 30 g/l sucrose, 3.5 g/l agar for the best multiplier (2.86 for ALTS2 and 3.29 for PN4). The rooting rate was 88.89% (PN4) - 90% (ALTS2) with the medium of 1/2 MS* with the addition of 1.5 mg/l IBA.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tếch (*Tectona grandis*) là một trong những loài cây trồng lấy gỗ có diện tích lớn trên thế giới, chiếm 75% diện tích rừng trồng gỗ cứng chất lượng cao, thu hút sự chú ý của các nhà đầu tư và các chương trình trồng rừng trong bối cảnh quản lý rừng bền vững (SFM-Sustainable Forest Management) ở nhiều nước nhiệt đới, bao gồm châu Mỹ latin, châu Phi và châu Á. Tếch đã được trồng và phát triển ở hơn 69 quốc gia vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới trên khắp thế giới với ước tính là 4346 triệu ha, trong đó châu Á (83%), châu Phi (11%), Mỹ la tinh (6%) và châu Đại Dương (1%) (Ole K Hansen *et al.*, 2015). Rừng Tếch tự nhiên chỉ xuất hiện ở bốn quốc gia trên thế giới là Ấn Độ, Lào, Myanmar, Thái Lan (Pandey, Brown, 2000) với diện tích ước tính hơn 29,035 triệu ha, gần một nửa trong số đó phân bố tại Myanmar (13,5 triệu ha) (Walter Kollert, Michael Kleine, 2017). Với những tính chất đặc biệt của gỗ Tếch như tỷ trọng nhẹ, ít bị hà bám, chịu được va đập và ngâm trong nước mặn đã giúp Tếch trở thành một trong những loại gỗ cứng nhiệt đới có nhu cầu cao đối với thị trường xa xỉ phẩm (ví dụ như để xây dựng du thuyền, làm bảng súng), sử dụng trong xây dựng và sản xuất đồ nội thất (tại Trung Quốc được sử dụng nhiều). Ngoài ra, Tếch còn được sử dụng trong sản xuất ván bóc, gỗ xẻ thu lại lợi nhuận tương đối nhanh. Vì những ưu điểm nổi trội đó, gỗ Tếch rất được ưa chuộng trên thị trường gỗ quốc tế tại thời điểm hiện tại. Năm nước và vùng lãnh thổ nhập khẩu gỗ Tếch chính là Trung Quốc, Ấn Độ, Thái Lan, Đài Loan, Hàn Quốc. Đầu năm 2014, do diện tích rừng Tếch tự nhiên ngày càng suy giảm nên Myanmar đã thực hiện lệnh cấm xuất khẩu gỗ Tếch đã làm giảm nguồn cung cấp trên toàn cầu, từ đó đẩy giá thành gỗ Tếch tăng cao từ

750 USD/m³ cuối năm 2013 lên gần 1.000 USD/m³ đầu năm 2014, nâng giá trị thị trường của gỗ Tếch tự nhiên tăng cao (Walter Kollert, Michael Kleine, 2017).

Với tầm quan trọng của gỗ Tếch trong thị trường gỗ toàn cầu tại thời điểm hiện tại, trước sự suy giảm mạnh mẽ của rừng Tếch tự nhiên và tiềm năng thúc đẩy tăng trưởng kinh tế tại một số quốc gia, tăng nguồn sinh kế cho các đại phương, năm 2017, Hội đồng Gỗ chuyên đề Quốc tế (ITTC) trong khuôn khổ làm việc của ITTO (Tổ chức Gỗ nhiệt đới quốc tế), tại phiên họp thứ 53 tại Peru đã thông qua một hoạt động mang tên “Tăng cường bảo tồn và quản lý bền vững rừng tếch và chuỗi cung ứng gỗ Tếch bền vững và hợp pháp ở tiểu vùng sông Me Kong” do Bộ Nông nghiệp và Thực phẩm Liên bang (BMEL), chính phủ Đức tài trợ. Dự án nhằm mục đích bảo tồn nguồn gen, quản lý, xây dựng mạng lưới quốc tế, sử dụng bền vững rừng tếch, cũng như góp phần tăng trưởng kinh tế và dân sinh cho các địa phương được thực hiện tại 5 quốc gia, bao gồm Thái Lan, Lào, Campuchia, Myanmar, Việt Nam. Dự án đã khởi động tại Thái Lan năm 2019 (Ramon *et al.*, 2021).

Ở Việt Nam, nguồn vật liệu gỗ Tếch chủ yếu được nhập khẩu từ nước ngoài (Thái Lan, Lào) do diện tích rừng và năng suất rừng tếch trong nước không cung ứng đủ phục vụ cho sản xuất. Tếch được trồng phổ biến từ hạt nhưng chất lượng di truyền không đồng đều, có sự biến đổi kiểu hình rộng, điều này trở thành mặt hạn chế cho việc nhân giống và trồng đại trà rừng Tếch (Krishnapillay *et al.*, 1998). Mặt khác, việc nhân giống bằng hom cho hiệu quả hạn chế do tỷ lệ ra rễ không cao, chỉ đạt từ 10 đến 24% (Đoàn Thị Mai *et al.*, 2009). Các nghiên cứu trước đây của tác giả Đoàn Thị Mai và đồng tác giả (Đoàn Thị Mai *et al.*,

2009; Đoàn Thị Mai và Lê Sơn, 2010); Vũ Thu Phương và đồng tác giả (Vũ Thu Phương và Nguyễn Thị Hồng, 2019) trên các đối tượng Tếch cũng cho thấy, sử dụng phương pháp nuôi cấy *in vitro* cho hiệu quả nhân giống cao và thích hợp với việc nhân nhanh các giống Tếch đã được chọn lọc. Do đó, việc nghiên cứu nhân giống các dòng Tếch mới bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật là rất cần thiết để có thể giúp tạo ra cây giống có nguồn di truyền ổn định, chất lượng và số lượng cây đồng đều, phục vụ các nhu cầu trồng khảo nghiệm nhằm mục đích đưa cây giống vào sản xuất đại trà.

Gần đây, Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp đã thu thập và tuyển chọn được 2 dòng Tếch ALTS2 và PN4 có tiềm năng sinh trưởng tốt. Nghiên cứu nhân giống tếch dòng ALTS2 và PN4 bằng phương pháp nuôi cấy mô được tiến hành nhằm cung cấp nguồn giống tốt phục vụ cho các chương trình cải thiện và phát triển giống Tếch có năng suất phục vụ trồng rừng gỗ lớn.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chồi của 2 dòng Tếch ALTS2 và PN4 đạt 30 - 40 ngày tuổi được thu từ cây Tếch ghép 4 năm tuổi có nguồn gốc từ Lào được dẫn giống về trồng tại vườn ươm Viện nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp Việt Nam, phường Đức Thắng, quận Bắc Từ Liêm, Hà Nội. Chồi được cắt thành từng đoạn 3 - 6 cm, mỗi đoạn mang 1 - 2 nách lá.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Địa điểm và điều kiện bố trí thí nghiệm

* Địa điểm: Thí nghiệm được tiến hành tại phòng nuôi cấy bộ môn Công nghệ tế bào thực

thực vật thuộc Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.

Các môi trường nuôi cấy được điều chỉnh ở độ pH = 5,8; chiếu sáng 10 giờ trong ngày, với cường độ ánh sáng 2.000 - 3.000 lux, nhiệt độ phòng nuôi đạt $26 \pm 2^\circ\text{C}$.

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

2.2.2 Phương pháp bố trí thí nghiệm

Các nội dung nghiên cứu được tiến hành như sau:

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

Thí nghiệm sử dụng loại hóa chất khử trùng là HgCl_2 nồng độ 0,05% và H_2O_2 nồng độ 15% trong các khoảng thời gian khác nhau. Mẫu sau khi khử trùng được tráng lại bằng nước cất vô trùng từ 3 - 5 lần và được cất tạo mẫu trước khi cấy vào môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962), được bổ sung 30 g/l sucrose và 4,5 g/l agar.

Các chỉ tiêu theo dõi: Số mẫu sống, số mẫu nhiễm, số mẫu nảy chồi.

** Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP và Kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi của 2 dòng Tếch thí nghiệm*

Các thí nghiệm được tiến hành nhằm xác định sự ảnh hưởng của BAP và Kinetin (Kn) ở các nồng độ: 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 mg/l đến khả năng nhân chồi của 2 dòng Tếch. Ở giai đoạn này, môi trường được sử dụng là MS được cải tiến thành phần, tỷ lệ các chất đa lượng, vi lượng được kế thừa từ các nghiên cứu trước đây và được bổ sung Biotin 1 mg/l, Thiamin 1 g/l,

Vitamin B3 1 g/l, Vitamin B6 5 g/l, 30 g/l sucrose, 3,5 g/l agar kết hợp với BAP và Kn (Ký hiệu là môi trường MS*).

Các chỉ tiêu theo dõi sau 10 tuần nuôi cấy gồm: Hệ số nhân (số chồi/cụm) và chiều cao chồi (cm).

** Xác định ảnh hưởng của IBA và NAA đến khả năng ra rễ của 2 dòng Tếch thí nghiệm*

Những chồi khoẻ mạnh, đủ tiêu chuẩn chiều cao từ 2,5 cm sẽ được cấy chuyển sang môi trường tạo rễ, thành phần 1/2MS* có bổ sung IBA, NAA ở các nồng độ 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l riêng rẽ.

Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm: Số chồi ra rễ, số rễ/cây sau 4 tuần nuôi cấy.

2.2.3. 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

- Tỷ lệ mẫu sạch bật chồi (%) = $\frac{\text{Số mẫu sạch bật chồi}}{\text{Tổng số mẫu cấy}} \times 100$

- Hệ số nhân chồi (lần) = $\frac{\text{Số chồi tạo thành}}{\text{Tổng số chồi cấy ban đầu}}$

- Tỷ lệ ra rễ (%) = $\frac{\text{Số chồi ra rễ}}{\text{Tổng số chồi cấy ban đầu}} \times 100$

- So sánh các công thức thí nghiệm các chỉ tiêu về chất (tỷ lệ cây sống, tỷ lệ mẫu sạch, tỷ lệ nảy chồi,...) bằng tiêu chuẩn χ^2_n .

+ Nếu Sig (xác suất của χ^2) nhỏ hơn 0,05, các chỉ tiêu về chất có sự sai khác giữa các công thức thí nghiệm.

+ Nếu Sig (xác suất của χ^2) lớn hơn 0,05, các chỉ tiêu sinh trưởng không có sự sai khác giữa các công thức thí nghiệm.

nghiệm về hệ số nhân, chiều dài chồi, chiều dài rễ và số lượng rễ/cây bằng phân tích phương sai một nhân tố.

Số liệu đã thu thập được xử lý bằng phần mềm Excel, SPSS (Nguyễn Hải Tuất, Ngô Kim Khôi, 1996).

- Các đặc trưng mẫu được tính toán theo công thức sau:

Trung bình mẫu $\bar{X} = \frac{\sum_0^n Xi}{n}$

Trong đó, Xi là giá trị quan sát của mẫu i

- Sai tiêu chuẩn mẫu $Sx = \pm \sqrt{\frac{Qx}{n-1}}$

Trong đó:

$Qx = \sum_{i=1}^n (xi - \bar{x})^2$,

xi là giá trị quan sát mẫu thứ i

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hóa chất và thời gian khử trùng đối với 2 dòng Tếch ALTS2 và PN4

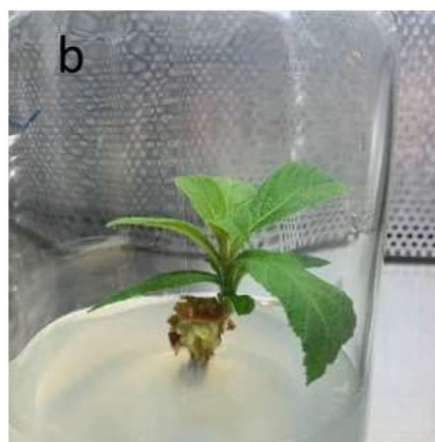
Kết quả tạo mẫu sạch từ chồi khi được xử lý bằng HgCl₂ và H₂O₂ với thời gian khác nhau được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của các loại hóa chất và thời gian khử trùng lên 2 dòng Téch

Hóa chất/Thời gian (phút)		ALTS2			PN4		
HgCl ₂ 0,05%	H ₂ O ₂ 15%	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu sạch		Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu sạch	
			Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ mẫu bật chồi (%)		Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ mẫu bật chồi (%)
7	-	84,44	10	5,56	82,22	11,11	6,67
10	-	74,44	14,44	11,11	72,22	16,67	11,11
12	-	64,44	28,89	6,67	66,67	27,78	5,56
Sig		0,006			0,033		
3	5	95,56	2,22	2,22	96,67	2,22	1,11
5	5	78,89	4,44	16,67	77,78	4,44	17,78
7	5	66,33	22,56	11,11	66,67	25,56	7,78
Sig		<0,05			<0,05		
-	5	96,67	1,11	2,22	96,67	3,33	0
-	10	88,89	5,56	5,56	91,11	5,56	3,33
-	15	73,33	14,44	4,44	82,22	13,33	4,44
Sig		0,006			0,022		

Sau 6 tuần quan sát, kết quả phân tích số liệu thể hiện ở bảng 1 cho thấy, khử trùng mẫu chồi bằng HgCl₂ 0,05% hoặc H₂O₂ 15% với

thời gian khác nhau ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ mẫu sạch bật chồi (sig<0,05).



Hình 1. Chồi Téch ALTS2 (a) và PN4 (b) được khử trùng bằng HgCl₂ 0,05% (5 phút) và H₂O₂ 15% (5 phút) sau 30 ngày

Khi so sánh giữa 2 phương pháp khử trùng chồi Téch bằng HgCl₂ 0,05% hoặc H₂O₂ 15% (sig<0,05) cho thấy, khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,05% hoặc HgCl₂ 0,05% kết hợp H₂O₂ 15% cho tỷ lệ mẫu sạch tốt hơn hẳn so với khử trùng bằng H₂O₂ 15% (0 - 5,56%). Điều này

chứng tỏ H₂O₂ 15% không có tác dụng cao trong việc khử trùng mẫu. Kết quả nghiên cứu này cũng tương tự như một số nghiên cứu trước đây khi tiến hành các thí nghiệm khử trùng cho một số dòng Téch mới được chọn lọc, với hóa chất khử trùng thích hợp là HgCl₂

nồng độ 0,05% trong vòng 10 phút (Đoàn Thị Mai *et al.*, 2009; Đoàn Thị Mai và Lê Sơn, 2010). Kết quả thí nghiệm về khử trùng chồi Téch ở các nghiên cứu khác cũng cho thấy HgCl₂ là hóa chất rất thích hợp cho việc khử trùng mẫu với Téch như nghiên cứu của Vũ Thị Phương và Nguyễn Thị Hồng (2019) trên 2 dòng Téch VN19 và VN34 sử dụng HgCl₂ 0,1% trong 10 phút. Tuy nhiên, với mỗi loại vật liệu khác nhau thì thời gian tiến hành khử trùng cũng có sự khác biệt. Ví dụ với các chồi Téch thu từ cây trội trên hiện trường thí nghiệm, Fatima Shirin và đồng tác giả (2005) sử dụng HgCl₂ nồng độ 0,1% trong 6 - 7 phút do các mẫu này được thu từ rừng tự nhiên 60 năm tuổi, chồi khỏe mạnh và có thể chứa nhiều vi khuẩn hơn so với chồi Téch được

trồng và chăm sóc ở vườn ươm trong nghiên cứu của chúng tôi.

Như vậy, đối với 2 dòng Téch nghiên cứu, khử trùng chồi bằng HgCl₂ 0,05% trong 5 phút kết hợp với H₂O₂ 15% trong 5 phút cho hiệu quả mẫu sạch nảy chồi tốt nhất.

3.2. Ảnh hưởng của BAP và Kinetin đến khả năng nhân chồi của 2 dòng Téch ALTS2 và PN4

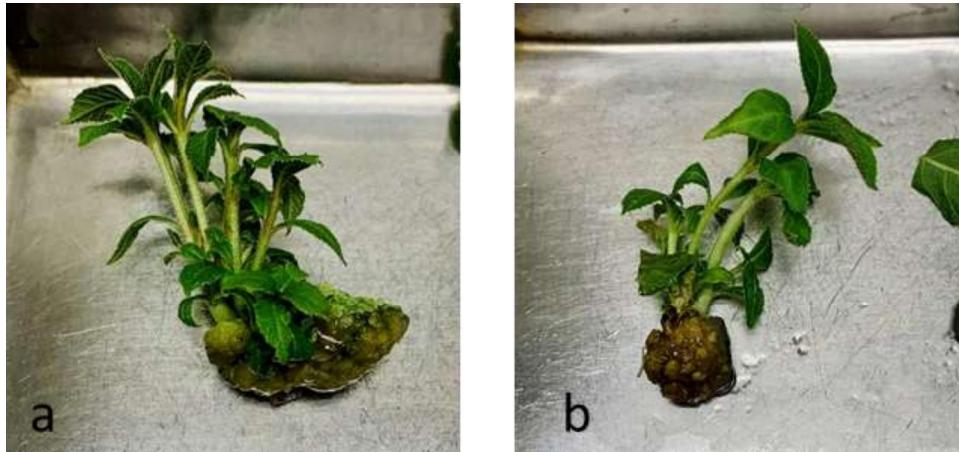
Các chồi hình thành sau khi khử trùng được cấy chuyển sang môi trường MS* có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng BAP hoặc Kinetin (Kn) có nồng độ từ 0,1 - 1,5 mg/l, 30 g/l sucrose và 3,5 g/l agar. Sau 4 tuần quan sát thí nghiệm, kết quả được tổng hợp và thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tạo cụm chồi Téch (sau 10 tuần nuôi cấy)

Chất điều hòa sinh trưởng (mg/l)			ALTS2		PN4	
			HSNC (lần)	Chiều cao chồi TB (cm)	HSNC (lần)	Chiều cao chồi TB (cm)
ĐC	0	0	1,61 ± 0,07	2,26 ± 0,08	1,61 ± 0,07	2,26 ± 0,08
BAP	0,1	-	2,00 ± 0,29	3,16 ± 0,14	1,88 ± 0,12	3,16 ± 0,08
	0,5	-	3,29 ± 0,19	4,80 ± 0,13	2,86 ± 0,05	3,63 ± 0,03
	1,0	-	2,84 ± 0,23	3,68 ± 0,18	2,32 ± 0,04	3,22 ± 0,10
	1,5	-	2,53 ± 0,15	3,40 ± 0,07	2,22 ± 0,10	3,16 ± 0,10
Sig			0,001	<0,05	<0,05	<0,05
Kn	-	0,1	1,81 ± 0,13	3,00 ± 0,09	1,61 ± 0,11	2,80 ± 0,07
	-	0,5	2,32 ± 0,23	3,63 ± 0,12	1,86 ± 0,13	2,86 ± 0,08
	-	1,0	2,84 ± 0,17	4,63 ± 0,20	2,22 ± 0,15	3,20 ± 0,13
	-	1,5	2,40 ± 0,07	3,56 ± 0,10	2,00 ± 0,12	2,86 ± 0,12
Sig			<0,05	<0,05	<0,05	0,005

Kết quả nghiên cứu cho thấy, BAP và Kinetin có ảnh hưởng rõ rệt đến hệ số nhân chồi và chiều cao trung bình của chồi (sig<0,05). Trong đó, việc sử dụng BAP có ảnh hưởng tích cực nhất đến hệ số nhân chồi Téch (Fatima Shirin *et al.*, 2005) . Kết quả tốt nhất được thể hiện khi bổ sung BAP 0,5 mg/l cho hệ số nhân chồi 3,29

ở dòng ALTS2 và 2,86 ở dòng PN4, chiều cao trung bình đạt 4,80 cm ở dòng ALTS2 và 3,63 cm ở dòng PN4. Điều này cũng tương đồng với nghiên cứu trước đây của tác giả Đoàn Thị Mai và đồng tác giả (2009) khi nghiên cứu trên một số dòng Téch được tuyển chọn tại lâm phần rừng trồng ở Việt Nam.



Hình 2. Các chồi Tách dòng ALTS2 (a) và PN4 (b) được nuôi cấy trên môi trường MS* bổ sung 0,5 mg/l BAP sau 30 ngày

3.3. Ảnh hưởng của IBA và NAA đến khả năng ra rễ của 2 dòng Tách ALTS2 và PN4

Tạo cây hoàn chỉnh là một giai đoạn quan trọng trong quy trình nhân giống bằng nuôi cấy mô. Cây con có bộ rễ khoẻ mạnh sẽ có khả năng sống và sinh trưởng tốt khi đưa từ điều kiện phòng thí nghiệm ra trồng ngoài tự nhiên. Các chồi có chiều cao từ 3 cm được cấy chuyển sang môi trường 1/2 MS* có bổ

sung riêng rẽ IBA và NAA ở các nồng độ khác nhau. Các thí nghiệm sau 2 tuần quan sát cho thấy, IBA và NAA sử dụng ở các nồng độ khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ chồi ra rễ, số lượng rễ/chồi và chiều dài rễ (sig < 0,05) (bảng 3). Tỷ lệ ra rễ, số rễ trung bình/chồi và chiều dài trung bình/rễ của các công thức thí nghiệm đều cao hơn hẳn so với công thức đối chứng.

Bảng 3. Ảnh hưởng của IBA và NAA đến tỷ lệ ra rễ chồi Tách

Chất điều hòa sinh trưởng	Nồng độ (mg/l)	ALTS2			PN4		
		Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ TB (cái)	Chiều dài rễ (cm)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ TB (cái)	Chiều dài rễ (cm)
ĐC	0	46,67	1,2	1,2	46,67	1,2	1,1
IBA	0,5	81,11	2,6	1,7	77,78	1,9	1,5
	1,0	85,56	2,8	1,6	82,22	2,6	1,6
	1,5	90,00	2,7	1,7	88,89	2,5	1,8
	2,0	74,44	1,9	1,3	72,22	1,8	1,7
Sig		0,039	<0,05	0,004	0,037	<0,05	0,031
NAA	0,5	61,11	1,3	1,2	62,22	1,2	1,3
	1,0	76,67	1,6	1,8	73,33	1,6	1,8
	1,5	86,67	2,5	2,1	81,11	2,4	1,7
	2,0	76,67	2,2	1,6	72,22	2,1	1,7
Sig		0,001	<0,05	0,003	0,032	<0,05	0,007

Trong nghiên cứu này, môi trường có bổ sung IBA 1,5 mg/l cho tỷ lệ ra rễ cao nhất, đạt 90% ở dòng ALTS2 và 88,89% ở dòng PN4. Kết quả này giống với các nghiên cứu trước đây cho các dòng Téch được tuyển chọn tại các lâm phần ở Việt Nam (Đoàn Thị Mai *et al.*, 2009; Đoàn Thị Mai và Lê Sơn, 2010). Tỷ lệ ra rễ trong nghiên cứu này cao hơn nghiên cứu của Vũ Thị Phương và Nguyễn Thị Hồng (2019) cho 2 dòng VN19 và VN34 (đạt cao nhất 77 - 78%). Fatima Shirin và đồng tác giả (2005) lại chỉ ra rằng, việc sử dụng NAA 15 μ M cho tỷ lệ ra rễ tốt nhất, sau đó là IBA;

môi trường bổ sung IAA hoặc IBA không có hiệu quả cao trong việc ra rễ. Kết quả này là do mỗi dòng cây vật liệu có độ thích ứng với mỗi loại auxin khác nhau cho ra hiệu quả khác nhau. Khi bổ sung chất kích thích sinh trưởng với nồng độ 2,0 mg/l thì tỷ lệ ra rễ giảm xuống, điều này chứng tỏ nồng độ chất kích thích sinh trưởng cao có thể làm ức chế khả năng ra rễ.

Như vậy, đối với 2 dòng Téch ALTS2 và PN4, môi trường 1/2MS* có bổ sung IBA 1,5 mg/l cho tỷ lệ ra rễ cao nhất, đạt 90% ở dòng ALTS2 và 88,89% ở dòng PN4.



Hình 3. Chồi Téch ra rễ dòng ALTS2 (a) và PN4 (b) sau 20 ngày nuôi cấy trên môi trường 1/2 MS* có bổ sung 1,5 mg/l IBA

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô cho 2 dòng Téch ALTS2 và PN4 cho một số kết quả sau:

1. Phương pháp khử trùng thích hợp cho 2 dòng Téch ALTS2 và PN4 là sử dụng dung dịch HgCl₂ 0,05% trong 5 phút kết hợp với H₂O₂ 15% trong 5 phút cho tỷ lệ bật chồi hữu hiệu là 16,67% (dòng ALTS2) và 17,78% (dòng PN4).

2. Môi trường MS* cải tiến có bổ sung BAP 0,5 mg/l có tác dụng rõ rệt đến khả năng nhân nhanh cụm chồi ở 2 dòng Téch ALTS2 (3,29) và PN4 (2,86).

3. Môi trường ra rễ *in vitro* thích hợp nhất cho 2 dòng Téch thí nghiệm là môi trường 1/2 MS* có bổ sung 1,5 mg/l IBA cho tỷ lệ ra rễ cao nhất, đạt 88,89% ở dòng PN4 và 90,0% ở dòng ALTS2.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đoàn Thị Mai, 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.
2. Đoàn Thị Mai, Lương Thị Hoan, Nguyễn Thị Thuỳ Dương, Lê Sơn, Nguyễn Thị Mỹ Hương, Nguyễn Văn Long, 2009. Nhân giống cho một số dòng Tách có năng suất cao mới được tuyển chọn. <http://vafs.gov.vn/vn/nhan-giong-cho-mot-so-dong-tech-co-nang-suat-cao-moi-duoc-tuyen-chon/>. Ngày truy cập: 10 tháng 8 năm 2022.
3. Fatima Shirin, Prem Kumar Rana, Asim Kumar Mandal, 2005. In vitro clonal propagation of mature *Tectona grandis* through axillary bud proliferation. The Japanese Forest Society and Springer-Verlag Tokyo 2005, J For Res 10:465 - 469.
4. Krishnapillay B., Mohd Noh M., Noraini H., Ab Rasib AG., Yahya AZ., and Mahmood AW., 1998. Viability of Planting Teak and Sentang in Malaysia. Forest Research Institute Malaysia: 23 - 27.
5. Murashige T. and Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15:493 - 497.
6. Nguyễn Hải Tuất, Ngô Kim Khôi, 1996. Xử lý thống kê kết quả nghiên cứu thực nghiệm trong nông nghiệp trên máy vi tính. NXB Nông nghiệp, Hà Nội: 126.
7. Ole K. Hansen, Suchitra Changtragoon, Bundit Ponoy, Erik D. Kjær, Knud B. Nielsen, Yazar Minn, Reiner Finkeldey, and Lars Graudal. Worldwide Teak Resources: Genetic Map of Natural Populations. 3rd World Teak Conference 2015, 11 - 15 May 2015, Guayaquil, Ecuador.
8. Pandey D. and Brown C., 2000. Teak: a global overview. *Unasylva* 51: 3 - 13.
9. Ramon Carrillo, Kenneth Sato, and Kanako Ishii, 2021. Tropical forest update. Printing Hakon Holm Grafisk ApS (Denmark). Volume 30: 18.
10. Vũ Thị Phương, Nguyễn Thị Hồng, 2019. Nghiên cứu nhân giống tách dòng VN19, VN34 (*Tectona grandis* Linn) bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Thái Nguyên 194(1): 163 - 168.
11. Walter Kollert and Michael Kleine, 2017. The Global Teak Study. Analysis, Evaluation and Future Potential of Teak Resources IUFRO World Series Volume 36. Vienna: 83 -89.

Email tác giả liên hệ: dung.vafs94@gmail.com

Ngày nhận bài: 24/08/2022

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 05/09/2022

Ngày duyệt đăng: 12/09/2022