NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY HOA MAI VÀNG HUẾ (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.)

Đặng Văn Đông[1], Nguyễn Thị Hồng Nhung[2,*], Bùi Thị Hồng[2],
Mai Thị Ngoan[2], Ngô Văn Kỳ[2], Nguyễn Văn Tỉnh[2], Nguyễn Văn Tiến[2]

TÓM TẮT

Cây mai vàng Huế (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.) hiện đang là đối tượng rất được quan tâm, vì vậy, việc nhân giống để phát triển là yêu cầu cần thiết, phương pháp nhân giống *in vitro* sẽ đưa ra lượng cây giống lớn đồng đều về mặt di truyền cũng như tuổi cây. Với vật liệu vào mẫu là mắt ngủ đoạn cành mai vàng Huế cho tỷ lệ mẫu phát sinh chồi đạt 66,7%, thời gian phát sinh chồi nhanh 24,3 ngày, số chồi trung bình tạo ra là 3,1 chồi/mẫu. Khử trùng mẫu cấy với NADCC1% trong 15 phút và NaDCC 0,5% trong 5 phút cho tỷ lệ mẫu tái sinh cao nhất 76,7%, tỷ lệ mẫu nhiễm thấp 13,3%. Môi trường ½ MS+ 30 g/l sucrose + 6,8 g/l agar + 2 mg/l than hoạt tính + 1 mg/l IBA thích hợp cho ra rễ *in vitro* của giống mai vàng Huế với tỷ lệ ra rễ đạt 100%, thời gian ra rễ 37 ngày, số rễ/mẫu là 5,1 rễ, chất lượng cây giống tạo ra tốt.

Từ khóa: *Giống mai vàng Huế, nhân giống in vitro, nuôi cấy mô.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong các loài hoa, cây cảnh sử dụng để trang trí và thưởng ngoạn, thì hoa mai có vẻ đẹp đặc trưng mà ít loài hoa nào có được. Hoa mai thường nở vào dịp tết Nguyên đán, nên được coi là "sứ giả" của mùa xuân [1].

Ở Việt Nam, mai vàng được trồng rất phổ biến từ các tỉnh miền Trung trở vào và một số tỉnh phía Bắc. Ở Thừa Thiên Huế, mai vàng Huế (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.) được trồng và phát triển từ lâu đời, đã trở thành đặc hữu với tên gọi "mai vàng xứ Huế", hay "Hoàng mai Huế". Đề án "*Xây dựng tỉnh Thừa Thiên Huế trở thành xứ sở mai vàng của Việt Nam"* của UBND tỉnh Thừa Thiên Huế được phê duyệt nhằm khôi phục truyền thống trồng mai… [2].

Việc nhân giống cây mai vàng Huế chủ yếu áp dụng theo phương pháp nhân từ hạt. Tuy nhiên, cây mai là cây giao phấn, nhân giống cây từ hạt sẽ không kiểm soát được đặc tính của cây nguyên bản. Hiện nay, phương pháp nuôi cấy mô tế bào đang được áp dụng rộng rãi trên nhiều đối tượng cây trồng, bao gồm cả cây thân gỗ như hoa mai, giúp tạo ra một số lượng lớn cây giống đồng đều và sạch bệnh. Tuy nhiên những công bố về nhân giống *in vitro* về loài cây này còn hạn chế, chưa có kết quả nào về nhân giống nuôi cấy mô giống mai vàng Huế được đưa ra. Do đó, biện pháp nhân giống *in vitro* mai vàng Huế cần được nghiên cứu và đưa vào ứng dụng để phục vụ cho công tác bảo tồn và phát triển giống mai này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Vật liệu nghiên cứu: Sử dụng đỉnh chồi, đoạn cành bánh tẻ và chồi hoa của cây hoa mai vàng Huế được tuyển chọn làm cây đầu dòng tại Khu vực bảo tồn phường Phú Thượng, thành phố Huế (Những cây ưu tú, vượt trội về khả năng sinh trưởng phát triển, năng suất và chất lượng).

- Thời gian nghiên cứu: Tháng 01 - 12/2023

- Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Hoa, Cây cảnh - Viện Nghiên cứu Rau quả.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Bố trí thí nghiệm: Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) với 3 lần nhắc. Mỗi công thức tiến hành 30 mẫu.

- Điều kiện thí nghiệm: Tất cả các môi trường

[1] Viện Nghiên cứu Rau quả
[2] Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Hoa, Cây cảnh
[*] Email: nhungmorecnsh510280@gmail.com

nuôi cấy dùng trong nghiên cứu được điều chỉnh pH 5,8, khử trùng ở 121^{0}C, 1 atm trong 20 phút. Các mẫu thí nghiệm nuôi cấy ở điều kiện nhiệt độ 25 ± 2^{0}C, thời gian chiếu sáng 12 giờ, cường độ chiếu sáng 2.000 - 2.500 lux.

- Phương pháp khử trùng mẫu cấy: Mẫu cấy được khử trùng bằng cồn 70% trong 1 phút. Tiếp theo, mẫu được xử lý với dung dịch khử trùng trong các thí nghiệm, sau đó rửa 3 lần với nước cất. Mẫu cấy sau khi khử trùng được cấy vào môi trường MS + 30 g/l sucrose + 6,8 g/l agar + 1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA.

+ Giai đoạn nhân nhanh chồi sử dụng môi trường MS + 30 g/l sucrose + 6,8 g/l agar + 2 mg/l kinetin + 4 mg/l BAP [3].

+ Giai đoạn ra rễ sử dụng các chồi cao hơn 1 cm (khoảng 1 - 2 đốt thân) cấy vào môi trường ½ MS + 30 g/l sucrose + 6,8 g/l agar + 2 mg/l than hoạt tính và có bổ sung IBA ở các nồng độ khác nhau.

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của chủng loại mẫu cấy đến khả năng tái sinh chồi

CT1: Đỉnh chồi; CT2: Mắt ngủ đoạn cành; CT3: Chồi hoa

Mẫu cấy được khử trùng bằng NaClO 1,25% trong 20 phút và $Ca(ClO)_2$ 0,8% trong 10 phút.

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của chế độ khử trùng đến khả năng tái sinh mẫu

CT1: NaClO 1,25% trong 20 phút và $Ca(ClO)_2$ 0,8% trong 10 phút (Đối chứng); CT2: NaDCC 0,5% trong 20 phút; CT3: NaDCC 1% trong 20 phút; CT4: NaDCC 1% trong 15 phút và NADCC 0,5% trong 5 phút (khử trùng kép). Mẫu cấy được sử dụng là mắt ngủ đoạn cành bánh tẻ.

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ IBA đến chất lượng cây con tạo ra

CT1: ½ MS + 30 g/l sucrose + 6,8 g/l agar + 2 mg/l than hoạt tính (Đối chứng); CT2: Đối chứng + 0,5 mg/l IBA; CT3: Đối chứng + 1 mg/l IBA; CT4: Đối chứng + 1,5 mg/l IBA; CT5: Đối chứng + 2 mg/l IBA. Mẫu cấy được sử dụng là chồi *in vitro* có chiều cao 1 - 1,5 cm.

2.3. Phương pháp và chỉ tiêu theo dõi

Mỗi công thức thí nghiệm theo dõi 30 mẫu. Định kỳ theo dõi 5 ngày/lần.

Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ hóa nâu (%), tỷ lệ mẫu sạch không phản ứng (%), tỷ lệ mẫu sạch tái sinh (%), thời gian phát sinh chồi, số chồi trung bình/mẫu (chồi), chiều cao chồi trung bình (cm), đường kính trung bình của chồi (cm), chất lượng chồi, thời gian ra rễ (ngày), tỷ lệ mẫu ra rễ (%), tỷ lệ mẫu không phát sinh (%), chiều dài lá trung bình (cm), chiều rộng lá trung bình (cm), số rễ trung bình/cây (rễ), chiều cao cây trung bình (cm).

2.4. Xử lý số liệu

Các tham số thống kê cơ bản như hệ số biến động (CV%), giá trị sai khác nhỏ nhất có ý nghĩa ($LSD_{0,05}$) và phân tích phương sai (ANOVA) kết quả thí nghiệm nghiên cứu được tính toán bằng phần mềm IRRISTAT 5.0, Excel 2013.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của chủng loại mẫu cấy đến khả năng tái sinh chồi mai vàng Huế

Bảng 1. Khả năng tái sinh chồi của mai vàng Huế trên các chủng loại mẫu cấy khác nhau

Thời gian theo dõi: Sau 8 tuần nuôi cấy

Công thức	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu hóa nâu (%)	Tỷ lệ mẫu sạch không phản ứng (%)	Tỷ lệ mẫu sạch tái sinh chồi (%)	Thời gian phát sinh chồi (ngày)
CT1	36,7	26,7	13,3	50,0	28,5
CT2	23,3	43,3	10,0	66,7	24,3
CT3	53,3	76,7	26,7	20,0	48,5

Ghi chú: CT1: Đỉnh chồi; CT2: mắt ngủ đoạn cành; CT3: Chồi hoa.

Hình 1. Vật liệu vào mẫu mai vàng Huế

Phát sinh chồi bất định và hình thành phôi soma là các cách được áp dụng thành công trong việc nhân giống cây mai từ nhiều nguồn vật liệu khác nhau [4]. Với mục đích tạo ra được nhiều mẫu cấy mà không làm mất đi vật liệu ban đầu, đã tiến hành xác định chủng loại cấy thích hợp nhất để nhân nhanh dựa trên 2 hướng tái sinh của mô tế bào đó là: Trực tiếp từ chồi đỉnh, chồi bên hoặc gián tiếp từ chồi hoa.

Tỷ lệ mẫu nhiễm dao động từ 23,3 - 53,3%. Sử dụng mẫu cấy là mắt ngủ đoạn cành cho tỷ lệ mẫu nhiễm thấp nhất là 23,3%; tiếp theo là sử dụng vật liệu đỉnh chồi với 36,7%. Tỷ lệ mẫu nhiễm đạt cao nhất khi sử dụng chồi hoa với 53,3%. Việc sử dụng vật liệu là đỉnh chồi và chồi hoa có nhiều lớp vỏ làm cho hiệu quả tác động của hóa chất khử trùng bị hạn chế, đồng thời dễ gây nhiễm tạp do thao tác.

Mẫu cấy là chồi hoa sản sinh ra nhiều hợp chất thứ cấp làm cho mẫu bị hóa nâu, tỷ lệ này lên tới 76,7%. Các vật liệu còn lại tỷ lệ mẫu hóa nâu là 26,7 - 43,3%,

Tỷ lệ mẫu sạch không phản ứng ở mức thấp với đỉnh chồi và mắt ngủ đoạn cành 10 - 13,3%. Tuy nhiên, đối với chồi hoa, số lượng mẫu không tái sinh chồi đạt cao 26,7%. Việc tái sinh chồi của mẫu phụ thuộc lớn vào chủng loại mẫu cấy. Khả năng tái sinh của mẫu đạt tương đối cao khi sử dụng vật liệu là đỉnh chồi và mắt ngủ đoạn cành từ 50 - 66,7%. Trong khi đó, sử dụng chồi hoa cho tỷ lệ mẫu sạch tái sinh chỉ đạt 20%.

Thời gian phát sinh chồi ở các công thức sử dụng đỉnh chồi và mắt ngủ đoạn cành là tương đương nhau từ 24,3 - 28,5 ngày. Các mẫu cấy sử dụng chồi hoa phải cần 48,5 ngày để biệt hóa thành chồi vì phải qua giai đoạn hình thành callus (mô sẹo).

Bảng 2. Chất lượng chồi tạo ra của giống mai vàng Huế trên các chủng loại mẫu cấy khác nhau

Thời gian theo dõi: Sau 8 tuần nuôi cấy

Công thức	Số chồi/mẫu (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Đường kính chồi (cm)	Đặc điểm chồi/mẫu phát sinh
CT1	$2,5^{b}$	$2,1^{ns}$	$0,19^{a}$	Chồi mập, xanh
CT2	$3,1^{b}$	$2,2^{ns}$	$0,21^{a}$	Chồi mập, màu xanh đậm
CT3	$4,3^{a}$	$1,9^{ns}$	$0,15^{b}$	Chồi nhỏ, xanh nhạt, xuất hiện callus (mô sẹo)
CV (%)	3,1	4,0	2,5	
$LSD_{0,05}$	0,8	0,4	0,03	

Ghi chú: CT1: Đỉnh chồi; CT2: mắt ngủ đoạn cành; CT3: Chồi hoa.

Đối với mẫu cấy là đỉnh chồi và mắt ngủ đoạn cành cho số chồi/mẫu đạt từ 2,5 - 3,1 chồi. Điều này tương đồng với nghiên cứu của Hồ Thị Cẩm Nguyên và cs (2019) [3] khi nhân giống mai vàng bằng đoạn thân và chồi ngọn, số chồi/mẫu đoạn thân là 3,2 chồi. Sử dụng mẫu cấy là chồi hoa có số

chồi hình thành/mẫu nhiều nhất là 4,3 chồi, chồi này được phân hóa từ callus và phản phân hóa từ chồi hoa.

Chiều cao chồi ở các nguồn vật liệu khác nhau cho thấy, không có sự sai khác có ý nghĩa, từ 1,9 - 2,2 cm.

Đường kính chồi của các chồi được hình thành từ mẫu đỉnh chồi và mắt ngủ đoạn cành có kích thước lớn hơn các chồi hình thành từ mẫu chồi hoa tương ứng là 0,19 - 0,21 cm và 0,15 cm.

Về chất lượng chồi, các chồi mới tạo ra từ mẫu cấy chồi đỉnh và mắt ngủ đoạn cành có chất lượng tốt hơn chồi mập và màu xanh đậm. Trong khi đó, chồi được hình thành từ mẫu cấy là chồi hoa thì nhỏ và xanh nhạt.

Tóm lại, sử dụng mẫu cấy là mắt ngủ đoạn cành cho hiệu quả cao nhất với tỷ lệ mẫu phát sinh chồi đạt 66,7%, thời gian phát sinh chồi nhanh 24,3 ngày, số chồi trung bình tạo ra là 3,1 chồi/mẫu.

3.2. Ảnh hưởng của chế độ khử trùng đến khả năng tái sinh mẫu mai vàng Huế

Trong quá trình nuôi cấy *in vitro*, mẫu cấy vô trùng là điều kiện bắt buộc, quyết định thành công của thí nghiệm. Việc khử trùng phải đảm bảo tỷ lệ nhiễm thấp, đồng thời tỷ lệ mẫu tái sinh cao, mô tồn tại được và phát triển tốt. Ở thí nghiệm này, vật liệu nghiên cứu là mắt ngủ đoạn cành và sử dụng 4 chế độ khử trùng khác nhau. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Khả năng tái sinh chồi của giống mai vàng Huế qua các chế độ khử trùng khác nhau

Thời gian theo dõi: Sau 8 tuần nuôi cấy

Công thức	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu hóa nâu (%)	Tỷ lệ mẫu sạch không phản ứng (%)	Tỷ lệ mẫu sạch tái sinh chồi (%)	Thời gian phát sinh chồi (ngày)
CT1	20,0	46,7	13,3	66,7	25,5
CT2	53,3	43,3	10,0	36,7	27,3
CT3	13,3	16,7	43,3	43,3	24,7
CT4	13,3	23,3	10,0	76,7	25,3

Ghi chú: CT1: NaClO 1,25% trong 20 phút và $Ca(ClO)_2$ 0,8% trong 10 phút (Đối chứng); CT2: NaDCC 0,5% trong 20 phút; CT3: NaDCC 1% trong 20 phút; CT4: NaDCC 1% trong 15 phút và NADCC 0,5% trong 5 phút.

Tỷ lệ mẫu bị nhiễm ở tất cả các công thức từ 13,3 - 53,3%. Sử dụng hoạt chất NaDCC 1% (CT3, CT4) có tỷ lệ mẫu bị nhiễm ở mức thấp nhất là 13,3%, tiếp đến là sử dụng NaClO 1,25% trong 20 phút và $Ca(ClO)_2$ 0,8% trong 10 phút với tỷ lệ mẫu nhiễm là 20%. Tỷ lệ mẫu nhiễm cao nhất khi sử dụng NaDCC 0,5% trong 20 phút với 53,3%.

Đối với cùng một hoạt chất khử trùng NaDCC, khi tăng nồng độ khử trùng thì tỷ lệ mẫu nhiễm và tỷ lệ mẫu hóa nâu giảm xuống đáng kể. Cụ thể, tỷ lệ hóa nâu ở CT2 (NaDCC 0,5%) chiếm 43,33%, trong khi đó CT3 và CT4 (NaDCC 1%) chỉ có 16,7 - 23,3%.

Đối với CT3 và CT4 ở cùng một thời gian xử lý 20 phút, hiệu quả làm sạch mẫu của CT4 (giảm dần nồng độ hoạt chất khử trùng và chia làm 2 lần khử trùng) tốt hơn với tỷ lệ mẫu không phản ứng thấp 10%. Trong khi đó ở CT3 thời gian mẫu ngâm liên tục kéo dài làm cho hóa chất khử trùng thẩm thấu vào trong mô, gây chết mẫu (mẫu không phản ứng) đạt 43,3%.

Thời gian phát sinh chồi của mẫu ở các chế độ khử trùng khác nhau không chênh lệch nhau từ 24,7 - 27,3 ngày.

Số lượng chồi tạo ra/mẫu và chiều cao chồi ở các chế độ khử trùng không có sự sai khác ý nghĩa, cụ thể số chồi/mẫu từ 3 - 3,3 chồi với chiều cao từ 2,1 - 2,7 cm.

Chất lượng chồi tạo ra khác nhau ở đường kính chồi tạo ra. Đường kính chồi đạt cao nhất ở CT4 với

0,25 cm; trong khi đó các chồi tạo ra ở cùng hoạt chất khử trùng NaDCC nhưng với nồng độ và thời gian ngâm mẫu dài (CT3) làm giảm sức sinh trưởng của mẫu, tương ứng đường kính chồi nhỏ chỉ đạt 0,17 cm. Các công thức còn lại đường kính chồi đạt từ 0,21 - 0,22 cm.

Bảng 4. Chất lượng chồi tạo ra của giống mai vàng Huế qua các chế độ khử trùng khác nhau

Thời gian theo dõi: Sau 8 tuần nuôi cấy

Công thức	Số chồi/mẫu (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Đường kính chồi (cm)	Đặc điểm chồi/mẫu phát sinh
CT1	$3,3^{ns}$	$2,3^{ns}$	$0,21^{b}$	Chồi mập, màu xanh đậm
CT2	$3,0^{ns}$	$2,1^{ns}$	$0,22^{ab}$	Chồi mập, màu xanh đậm
CT3	$3,1^{ns}$	$2,7^{ns}$	$0,17^{c}$	Chồi nhỏ, xanh nhạt
CT4	$3,3^{ns}$	$2,5^{ns}$	$0,25^{a}$	Chồi mập, màu xanh đậm
CV (%)	*2,7*	*3,1*	*2,1*	
$LSD_{0,05}$	*0,5*	*0,9*	*0,04*	

Ghi chú: CT1: NaClO 1,25% trong 20 phút và $Ca(ClO)_2$ 0,8% trong 10 phút (Đối chứng); CT2: NaDCC 0,5% trong 20 phút; CT3: NaDCC 1% trong 20 phút; CT4: NaDCC 1% trong 15 phút và NaDCC 0,5% trong 5 phút.

Như vậy, khử trùng mẫu cấy với NaDCC1% trong 15 phút và NaDCC 0,5% trong 5 phút cho tỷ lệ mẫu tái sinh cao nhất 76,7%, tỷ lệ mẫu nhiễm thấp 13,3%.

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ IBA đến chất lượng cây giống mai vàng Huế tạo ra

Khả năng ra rễ của chồi mai vàng *in vitro* có phụ thuộc vào chất kích thích sinh trưởng hay không còn chưa được rõ ràng giữa các nghiên cứu đã được công bố: Theo Lâm Ngọc Phương và Mai Vũ Duy (2012) [5] môi trường có bổ sung 6 mg/l NAA cho rễ hình thành nhiều, trong khi đó kết quả nghiên cứu của Hồ Thị Cẩm Nguyên và cs (2019) [3] cho thấy, khả năng ra rễ của chồi mai vàng không hoàn toàn phụ thuộc vào NAA.

Bảng 5. Khả năng ra rễ của mẫu cấy mai vàng Huế trên các môi trường khác nhau

Thời gian theo dõi: Sau 8 tuần nuôi cấy

Chỉ tiêu / Công thức	Thời gian ra rễ (ngày)	Tỷ lệ mẫu ra rễ (%)	Tỷ lệ mẫu không ra rễ (%)
CT1	51	83,3	6,7
CT2	42	98,9	1,1
CT3	37	100,0	0,0
CT4	35	100,0	0,0
CT5	35	98,9	1,1

Ghi chú: CT1: ½ MS + 30 g/l sucrose + 6,8 g/l agar + 2 mg/l than hoạt tính (Đối chứng); CT2: Đối chứng + 0,5 mg/l IBA; CT3: Đối chứng + 1 mg/l IBA; CT4: Đối chứng + 1,5 mg/l IBA; CT5: Đối chứng + 2 mg/l IBA

IBA là một auxin được sử dụng có hiệu quả cho tạo cây hoàn chỉnh của rất nhiều đối tượng cây trồng, nên trong nghiên cứu này đã xác định ảnh hưởng của IBA đến giai đoạn ra rễ của cây giống mai vàng Huế. Thời gian ra rễ của chồi *in vitro* mai vàng Huế với các môi trường có nồng độ IBA khác nhau cho kết quả khác nhau. Thời gian ra rễ dài nhất ở CT1 với 51 ngày sau cấy. Tiếp theo là CT2 có bổ sung 0,5 mg/l IBA với 42 ngày sau cấy. Thời gian này được rút ngắn khi tăng nồng độ IBA vào môi trường ra rễ, các công thức còn lại có thời gian ra rễ từ 35 - 37 ngày.

Tương tự, ở tất cả các công thức có tỷ lệ hình thành rễ đạt cao từ 93,3 - 100%. Các công thức có bổ sung IBA cho hiệu quả ra rễ cao hơn, tỷ lệ ra rễ đạt từ 98,9 - 100%. Như vậy auxin IBA có ảnh

hưởng tích cực đến khả năng ra rễ của mai vàng Huế. Tuy nhiên, cũng chỉ cần bổ sung một lượng nhỏ auxin ngoại sinh kích thích phát sinh rễ vào trong môi trường tạo cây hoàn chỉnh của mẫu mai vàng Huế.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nồng độ IBA đến chất lượng cây *in vitro* tạo ra ở các môi trường khác nhau

Thời gian theo dõi: Sau 12 tuần nuôi cấy

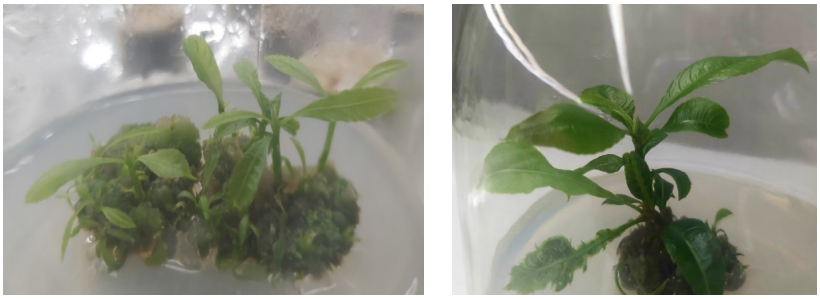
Chỉ tiêu / Công thức	Số rễ /mẫu (rễ)	Chiều cao cây (cm)	Số lá /cây (lá)	Chiều dài lá (cm)	Chiều rộng lá (cm)	Chất lượng chồi
CT1	$3,3^{b}$	$6,1^{b}$	$5,3^{b}$	$3,5^{b}$	$1,5^{b}$	Lá nhỏ, mỏng, xanh nhạt
CT2	$3,7^{b}$	$7,1^{a}$	$6,1^{a}$	$3,8^{b}$	$1,7^{b}$	Lá to, dày, xanh đậm
CT3	$5,1^{a}$	$7,8^{a}$	$6,5^{a}$	$4,3^{a}$	$2,1^{a}$	Lá to, dày, xanh đậm
CT4	$5,3^{a}$	$7,5^{a}$	$6,3^{a}$	$4,3^{a}$	$2,1^{a}$	Lá to, dày, xanh đậm
CT5	$4,7^{a}$	$7,7^{a}$	$6,1^{a}$	$4,0^{ab}$	$1,8^{ab}$	Lá to, dày, xanh đậm
CV%	*3,1*	*2,7*	*4,2*	*2,5*	*3,2*	
$LSD_{0,05}$	*0,71*	*1,05*	*0,83*	*0,43*	*0,35*	

Ghi chú: CT1: ½ MS + 30 g/l sucrose + 6,8 g/l agar + 2 mg/l than hoạt tính (Đối chứng); CT2: Đối chứng + 0,5 mg/l IBA; CT3: Đối chứng + 1 mg/l IBA; CT4: Đối chứng + 1,5 mg/l IBA; CT5: Đối chứng + 2 mg/l IBA

Số rễ hình thành/mẫu đạt từ 3,3 - 5,3 rễ. Trong đó, các công thức có bổ sung nồng độ IBA từ 1 mg/l cho hiệu quả ra rễ cao hơn với số rễ/mẫu từ 4,7 - 5,3 rễ.

Chất lượng cây giống tạo ra chênh lệch giữa hai loại môi trường không bổ sung và bổ sung IBA. Sử dụng môi trường có bổ sung IBA cho chiều cao cây đạt từ 7,1 - 7,8 cm; 6,1 - 6,5 lá/cây. Với môi trường không bổ sung IBA, cây giống có chiều cao 6,1 cm và số lá/cây là 5,3 lá.

Kích thước lá của cây *in vitro* mai vàng Huế đạt cao nhất ở các công thức bổ sung 1 - 1,5 mg/l IBA với chiều dài lá 4,3 cm; chiều rộng lá 2,1 cm. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Goel và cs (2008) [6] cho thấy, hiệu quả của IBA (1,0 mg/l) đến khả năng hình thành rễ của giống mai Tứ quý (*Ochna serulata*). Tiếp đến là ở môi trường có bổ sung 2 mg/l IBA. Thấp nhất là kích thước lá ở môi trường không bổ sung và bổ sung 0,5 mg/l IBA, tương ứng chiều dài lá 3,5 - 3,8 cm; chiều rộng lá từ 1,5 - 1,7 cm.



Hình 2. Chồi và cây giống mai vàng Huế được tạo ra

Như vậy, môi trường ½ MS+ 30 g/l sucrose + 6,8 g/l agar + 2 mg/l than hoạt tính + 1 mg/l IBA thích hợp cho ra rễ *in vitro* của giống mai vàng Huế với tỷ lệ ra rễ đạt 100%, thời gian ra rễ 37 ngày, số rễ/mẫu là 5,1 rễ, chất lượng cây giống tạo ra tốt.

4. KẾT LUẬN

- Sử dụng mẫu cấy là mắt ngủ đoạn cành cho tỷ lệ mẫu phát sinh chồi đạt 66,7%, tỷ thời gian phát sinh chồi nhanh 24,3 ngày, số chồi trung bình tạo ra là 3,1 chồi/mẫu.

- Áp dụng phương pháp khử trùng kép với lần 1 sử dụng NADCC1% trong 15 phút và lần 2 sử dụng NaDCC 0,5% trong 5 phút cho tỷ lệ mẫu cấy tái sinh cao nhất 66,7%, tỷ lệ mẫu nhiễm thấp 13,3%.

- Môi trường ½ MS+ 30 g/l sucrose + 6,8 g/l agar + 2 mg/l than hoạt tính + 1 mg/l IBA thích hợp cho ra rễ *in vitro* của giống mai vàng Huế với tỷ lệ ra rễ đạt 100%, thời gian ra rễ 37 ngày, số rễ/mẫu là 5,1 rễ, chất lượng cây giống tạo ra tốt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Việt Chương (2007). *Kỹ thuật trồng mai*. Nxb thành phố Hồ Chí Minh.

2. UBND tỉnh Thừa Thiên Huế (2021). *Quyết định 915/QĐ-UBND ngày 26/4/2021 về việc phê duyệt đề án "Xây dựng Thừa Thiên Huế trở thành xứ sở mai vàng của Việt Nam".*

3. Hồ Thị Cẩm Nguyên, Phạm Ngọc Hà, Nguyễn Thị Nhã (2019). Thiết lập quy trình nhân giống *in vitro* cây mai vàng (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ,* số 6, tr. 28 - 32.

4. Ma G. , J. Lu, J. T. Silva, X. Zhang and J. Zhao (2010). Shoot organogenesis and somatic embryo genesis from leaf and shoot explants of *Ochna integerrima* (Lour). *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 104: pp. 157 - 162.

5. Lâm Ngọc Phương và Mai Vũ Duy (2012). Hiệu quả của các chất điều hòa sinh trưởng BA, NAA và IBA trên sự tạo chồi và rễ cây mai vàng (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.) *in vitro*. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, 24a, tr. 70 - 77.

6. Goel M. K., Malik V., Kumar S. and Govil C. M. (2008). *In vitro* micropropagation of *Ochna serrulata*. *Advances in Plant Sciences*, 21(I), 19.

IN VITRO MICROPROPAGATION OF OCHNA VARIETY "MAI VANG HUE" (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.)

Dang Van Dong[1], Nguyen Thi Hong Nhung[2], Bui Thi Hong[2], Mai Thi Ngoan[2], Ngo Van Ky[2], Nguyen Van Tinh[2], Nguyen Van Tien[2]

[1] *Fruit and Vegetable Research Institute*

[2] *Center for Flowers, Ornamentals Research and Development*

Summary

Ochna variety "Mai vang Hue" (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.) is currently an ornamental plant of great interest, so propagation for developing this variety is a necessary requirement. *In vitro* micropropagation method will produce a large number of plantlets that are uniform in genetics and age. With the materials being stem segments of ochna variety "Mai vang Hue", the rate of shoot generation reached 66.7%, the shoot generation time was 24.3 days, the average number of shoots produced was 3.1 shoots/explant. Sterilizing the explants with NADCC1% for 15 minutes and NaDCC 0.5% for 5 minutes gave the highest regeneration rate of 66.7%, and the low infection rate of 13.3%. Medium ½ MS+ 30 g/l sucrose + 6.8 g/l agar + 2 mg/l Activated charcoal + 1 mg/l IBA is suitable for *in vitro* rooting of ochna variety "Mai vang Hue", with a rooting rate of 100%, rooting time of 37 days, number of roots/explant is 5.1 roots and the plantlet quality is good.

Keywords: *Ochna variety "Mai vang Hue"* (*Ochna integerrima (Lour.) Merr.), micropropagation, in vitro.*

Người phản biện: TS. Vũ Thị Hoài

Ngày nhận bài: 29/3/2024

Ngày thông qua phản biện: 22/4/2024

Ngày duyệt đăng: 26/4/2024