

Thiết lập qui trình nhân giống *in vitro* cây mai vàng (*Ochna integerrima* (Lour.) Merr.)

Hồ Thị Cẩm Nguyên¹, Phạm Ngọc Hà², Nguyễn Thị Nhã^{1,*}

¹Đại học Nguyễn Tất Thành, ²Đại học Tôn Đức Thắng

*ntnha@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Ở Việt Nam, mai vàng là một loại cây cảnh phổ biến, có giá trị kinh tế cao. Qui trình vi nhân giống mai vàng từ đoạn cành và búp chồi, được thiết lập qua 4 bước chính. Môi trường MS bổ sung cả BA và NAA với nồng độ tương ứng 1,5mg/l và 0,5mg/l thích hợp để tái sinh chồi mai *in vitro* từ mẫu ban đầu. Môi trường MS bổ sung 2mg/l kinetin và 4mg/l BA được nghiên cứu thích hợp nhất để nhân số lượng chồi, đạt 3,4 chồi/mẫu, và có hiện tượng tạo cụm chồi từ mẫu búp chồi ban đầu. Nghiên cứu cũng cho thấy môi trường nền ½ MS thích hợp cho chồi mai vàng *in vitro* sinh trưởng, phát triển. Nồng độ GA₃ 0,5 – 1mg/l nên được sử dụng để kéo dài chồi trước khi đưa cây ra bầu trong giá thể gồm cát, đất, xơ dừa, trấu với tỉ lệ lần lượt là 30:50:10:10, cho tỉ lệ cây sống đến 70%.

Nhận 08.01.2019
Được duyệt 04.04.2019
Công bố 26.06.2019

Từ khóa
mai vàng, vi nhân giống, cây thân gỗ

© 2019 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Mai vàng là cây thân gỗ được trồng phổ biến ở Thái Lan, Việt Nam và một số nước Đông Nam Á khác. Cây có tuổi thọ trên 100 năm, nếu trồng ngoài vườn, chăm sóc tốt, cây có thể có đường kính lên đến 30cm và cao khoảng 4m[1]. Tại Việt Nam, mai vàng là cây cảnh phổ biến của miền Trung và Nam. Đặc biệt mai vàng là biểu tượng của mùa xuân, của sự may mắn đầu năm, nên nhu cầu chơi mai ngày Tết rất lớn. Mai vàng trở thành một loại cây thương phẩm có giá trị kinh tế cao. Các cây mai đẹp được ưa chuộng cho dù giá thành rất đắt. Nghiên cứu đánh giá đa dạng di truyền bằng chỉ thị RAPD các giống mai Việt Nam cho kết quả nhận diện được 15 giống mai khác nhau[2], cho thấy sự phong phú về các chủng loại mai. Những cây mai có các đặc tính quý (hương thơm, màu sắc hoa, số cánh hoa ...) bị khai thác quá mức, trở thành mai hiếm, tiêu biểu như mai vàng Yên Tử, Việt Nam. Ngoài làm cảnh, mai vàng còn được sử dụng làm dược liệu, thực phẩm, lấy gỗ... Hiện tại, mai là một trong bốn nhóm cây kiểng chủ lực của thành phố Hồ Chí Minh[3]. Vì là cây thân gỗ, mai vàng sinh trưởng và phát triển khá chậm, chủ yếu được nhân giống bằng các phương pháp truyền thống, nhưng không đáp ứng đủ nhu cầu của thị trường. Phương pháp nhân giống hữu tính bằng gieo hạt tuy đơn giản nhưng quá trình thụ phấn tự nhiên làm thoái hóa giống, không giữ được các đặc tính quý mong muốn. Phương

pháp nhân giống vô tính bằng ghép cành, giâm cành hạn chế về số lượng cây tạo ra và độ đồng đều của tuổi cây. Phương pháp vi nhân giống bằng nuôi cấy mô thực vật hiện nay đã rất phổ biến, nhưng sử dụng phương pháp này để vi nhân giống cây họ mai chỉ được công bố ở một số quốc gia phát triển mạnh về khoa học kỹ thuật như Trung Quốc, Ấn Độ, và số lượng nghiên cứu còn hạn chế. Các nhà khoa học Ấn Độ đã thành công tạo chồi cây mai tứ quý (*Ochna serrulata*) *in vitro* trên môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) bổ sung 2,0mg/l benzyl adenine (BA) và 0,25mg/l indol-3-butyric acid (IBA); và nuôi cấy chồi trên môi trường MS bổ sung 2% sucrose + 1,0mg/l IBA cho rễ hình thành nhiều và phát triển mạnh nhất[4]. Ở Trung Quốc, nghiên cứu tiến hành với đối tượng mai vàng (*Ochna integerrima* (Lour.)) nhằm tạo chồi và phôi soma từ vật liệu lá và chồi *in vitro*; kết quả cho thấy sử dụng thidiazuron (TDZ) nồng độ cao (10 – 15μM) cảm ứng phát sinh cả chồi bất định và phôi soma từ mô *in vitro*; khi sử dụng TDZ ở nồng độ thấp (5μM) hoặc BA (5 – 15μM) chỉ làm phát sinh chồi bất định; nghiên cứu cũng thành công trong việc tạo rễ *in vitro*, với môi trường MS bổ sung 0,5α – naphthalen acetic acid (NAA) + 8μM IBA + 0,1% than hoạt tính sau 1 tháng[5]. Tại Việt Nam, Trường Đại học Cần Thơ cũng đã thành công trong việc nhân giống mai vàng *in vitro* nhằm phục vụ nghiên cứu và ứng dụng trong lai tạo giống.



Nghiên cứu sử dụng vật liệu là thân và chồi ngọn cây mai 4 tuần tuổi để vô mẫu, kết quả tạo chồi mai *in vitro* với môi trường MS bổ sung BA (4mg/l) cho số chồi cao nhất, tạo rễ trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS bổ sung NAA (6mg/l) cho rễ hình thành nhiều và phát triển bình thường[6]. Qua các nghiên cứu cho thấy việc nhân giống *in vitro* mai vàng có tiềm năng ứng dụng cao, nhưng phạm vi của các nghiên cứu này cũng chỉ ở mức phòng thí nghiệm, do vậy cần tìm ra qui trình nhân giống có tính khả thi hơn, có thể đưa ra sản xuất đại trà phục vụ cho nhu cầu thị trường và phục vụ công tác bảo tồn các giống mai quý.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Vật liệu và địa điểm nghiên cứu

Cành cây mai vàng không quá non hoặc quá già, phát triển tốt, không bị sâu bệnh, được thu tại Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam.

Các thí nghiệm trong nghiên cứu được tiến hành tại Phòng thí nghiệm Sinh học phân tử Thực vật, Khoa Công nghệ sinh học và Môi trường, Đại học Nguyễn Tất Thành.

2.2 Tạo vật liệu *in vitro* từ mẫu mai vàng ngoài tự nhiên

Trên cành mai vàng, cắt lấy các đoạn cành chứa mắt ngủ và chồi ngọn, sau đó cắt bỏ lá. Mẫu cây được khử trùng bằng cồn 70% trong 1 phút, dung dịch sodium hypochlorite (NaClO) 1,25% trong 20 phút, cuối cùng khử trùng bằng dung dịch calcium hypochlorite ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) 8g/l trong 10 phút. Mẫu được cấy vào môi trường MS bổ sung 30g/l sucrose + 6,8g/l agar, pH môi trường 5,8 – 6.

2.3 Tái sinh chồi mai vàng *in vitro*

Mẫu vô trùng được chuyển sang nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 30g/l sucrose + 6,8g/l agar + 0,5mg/l NAA và 0,5 – 1,5mg/l BA nhằm xác định nồng độ BA thích hợp tái sinh chồi từ mẫu cấy ban đầu. Sau 8 tuần nuôi cấy, chồi phát sinh từ mẫu đoạn cành và mẫu búp chồi ban đầu được cấy chuyển sang môi trường tạo đa chồi mai.

2.4 Nhân số lượng và nuôi cấy chồi mai vàng *in vitro*

Sử dụng môi trường MS bổ sung 30g/l sucrose + 6,8g/l agar + tỉ lệ nồng độ các tổ hợp chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST) gồm 2 – 4mg/l kinetin và 0 – 4mg/l BA để kích thích tạo đa chồi từ mẫu cấy, nhằm nhân nhanh số lượng chồi mai vàng *in vitro*.

Sau 8 tuần nuôi cấy, các chồi cao hơn 1cm (khoảng 1 – 2 đốt thân) được tách riêng nuôi cấy trên các môi trường có nồng độ khoáng khác nhau để chọn ra môi trường nền thích hợp nhất cho nuôi cấy chồi mai vàng *in vitro*. Các cụm chồi non được cấy chuyển sau mỗi 8 tuần sang môi trường tái sinh mai ban đầu.

2.5 Tạo cây hoàn chỉnh từ chồi mai vàng *in vitro*

Sử dụng môi trường nền thích hợp nhất bổ sung các nồng độ GA_3 khác nhau để chọn nồng độ phù hợp nuôi cấy các chồi mai ngắn 0,5 – 1cm nhằm kéo dài thân chồi. Đồng thời, khảo

sát ảnh hưởng của NAA đến khả năng tạo rễ ở các chồi mai dài hơn 1cm.

2.6 Đưa cây *in vitro* ra bầu

Cây *in vitro* từ 4 – 5cm được tạo điều kiện thích nghi 2 tuần trước khi cho ra bầu. Các thành phần của giá thể dùng cho bầu cây mai vàng bao gồm đất, cát, trấu, xơ dừa được phối trộn theo nhiều tỉ lệ khác nhau. Đất được sử dụng trong thí nghiệm là đất sạch giàu dinh dưỡng của hãng Tribat®. Tất cả các bầu cây đều được giữ ẩm bằng cách đậy hũ nhựa trong suốt phủ lên bầu cây và được để ở nơi thoáng mát, tránh ánh nắng trực tiếp. Cây được tưới phun sương dung dịch khoảng $\frac{1}{2}$ MS lỏng 1 lần/ngày.

2.7 Bố trí thí nghiệm và xử lí số liệu

Tất cả các môi trường được hấp khử trùng ở 121°C trong 18 phút. Mẫu được nuôi cấy ở điều kiện nhiệt độ $25^\circ\text{C} \pm 1$, chiếu sáng 16 giờ/ngày, cường độ chiếu sáng 2000lux.

Thí nghiệm tái sinh chồi, tạo đa chồi cấy 5 mẫu/nghiệm thức, thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của GA_3 đến khả năng kéo dài chồi và NAA đến khả năng tạo rễ, cấy 1 chồi/nghiệm thức, các thí nghiệm được lặp lại 5 lần. Thí nghiệm khảo sát môi trường nền thích hợp và giá thể thích hợp nuôi cấy mai vàng *ex vitro*, bố trí 3 cây/nghiệm thức, thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Các thí nghiệm được bố trí theo phương pháp ngẫu nhiên đơn yếu tố. Số liệu thí nghiệm được thu thập và tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Office Excel và phân tích thống kê theo ANOVA và trắc nghiệm phân hạng LSD (Least Significant Difference Test) bằng phần mềm SAS 9.1.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Tái sinh chồi mai vàng *in vitro*

Khi phối hợp cùng với auxin thì cytokinin sẽ kích thích sự phân chia tế bào và điều khiển sự phát sinh hình thái. Chất ĐHST BA là loại cytokinin có hiệu quả cao trong việc cảm ứng tạo chồi ở nhiều loài thực vật, kết hợp với NAA (α – naphtalen acetic acid) là một chất trong nhóm auxin, được nghiên cứu thích hợp sử dụng trong nuôi cấy chồi[7]. Điều này được thể hiện qua kết quả thí nghiệm, tất cả các nghiệm thức với các nồng độ khác nhau của BA và NAA đều có khả năng phát sinh chồi, nồng độ BA càng cao khả năng phát sinh chồi càng nhiều (Bảng 1). Mẫu đoạn thân nuôi cấy trong môi trường có bổ sung 1,5mg/l BA + 0,5mg/l NAA đạt số lượng chồi cao nhất (3,2 chồi, cao trung bình 2,4cm). So sánh với kết quả của Mai Vũ Duy và Lâm Ngọc Phương (2012), hệ số nhân chồi trong nghiên cứu này đạt cao hơn (3,2 so với 2,3), từ đó chứng minh được việc sử dụng kết hợp 2 loại chất ĐHST BA và NAA cho kết quả tốt hơn so với chỉ sử dụng BA.

Bảng 1 Ảnh hưởng của BA đến khả năng phát sinh chồi mai vàng *in vitro*

Mẫu	Nồng độ BA (mg/l)	Nồng độ NAA (mg/l)	Số lượng chồi	Chiều cao chồi
Đoạn thân	0,5	0,5	1,6 ^c	1,7 ^c
	1	0,5	2,4 ^b	2,1 ^b
	1,5	0,5	3,2 ^a	2,4 ^a
Chồi ngọn	0,5	0,5	1,1 ^d	1,3 ^d
	1	0,5	1,6 ^c	1,6 ^c
	1,5	0,5	2,3 ^b	1,8 ^c
CV (%)			8,9	4,9
LSD _{0,01}			0,5	0,2

**Trong cùng 1 cột, các giá trị trung bình có chữ cái theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê*

Bản thân mẫu búp chồi mang đỉnh sinh trưởng cùng với nhiều nách lá chưa phát sinh, tuy nhiên mẫu còn quá non nên cần thời gian lâu hơn để phát sinh được nhiều chồi. Vì thế ở thời điểm 8 tuần nuôi cấy, chồi ở đoạn thân phát sinh nhiều và cao hơn so với chồi phát sinh từ búp chồi.

3.2 Nhân số lượng và nuôi cấy chồi mai vàng *in vitro*

Đối với nuôi cấy chồi *in vitro*, kinetin không được dùng phổ biến như BA, dù vậy, kết quả Bảng 2 cho thấy nồng độ kinetin có ảnh hưởng đến chồi mai vàng, và khi dùng kinetin kết hợp với BA, đạt được hệ số nhân chồi cao hơn so với khi sử dụng BA kết hợp NAA ở thí nghiệm khảo sát sự phát sinh chồi (3,9 so với 3,2 chồi/mẫu).



A



B



C



D

Hình 1 Tái sinh chồi và tạo đa chồi mai vàng *in vitro*

(A, B) - Chồi *in vitro* phát sinh từ mẫu đoạn cành và búp chồi trên môi trường MS bổ sung 1,5mg/l BA + 0,5mg/l NAA

(C, D) - Tạo đa chồi từ mẫu chồi *in vitro* và mẫu búp chồi trên môi trường MS bổ sung 2mg/l kinetin + 4mg/l BA

Cây mai thân gỗ với đặc tính sinh trưởng phát triển chậm hơn so với những loài cây thân thảo, nên chúng cũng thường đòi hỏi nhu cầu khoáng thấp hơn để tăng trưởng, điều này được thể hiện qua việc nuôi cấy chồi trên môi trường ½ MS và WPM cho kết quả tốt hơn so với MS (Bảng 3). Mặc dù WPM (Woody Plant Medium) là môi trường chuyên dụng cho nuôi cấy mô cây thân gỗ, đã được nghiên cứu tái sinh thành công rất nhiều loại cây thân gỗ khác nhau, nhưng trong trường hợp nuôi cấy chồi mai vàng, lượng chất khoáng thích hợp nhất tương ứng với ½ MS. WPM có nồng độ khoáng tương đương

Bảng 2 Ảnh hưởng của chất ĐHST BA và kinetin đến khả năng tạo đa chồi mai vàng *in vitro*

Nồng độ kinetin (mg/l)	Nồng độ BA (mg/l)	Số lượng chồi	Chiều cao chồi (cm)	Số lượng lá
2	0	1,7 ^d	2,4 ^a	2,8 ^e
2	2	2,1 ^d	2,1 ^b	3,5 ^{cd}
2	4	3,4 ^{ab}	1,7 ^c	4,3 ^{ab}
4	0	2,7 ^c	1,8 ^c	3,8 ^{bc}
4	2	3,3 ^b	1,5 ^d	3,1 ^{de}
4	4	3,9 ^a	1,2 ^e	4,6 ^a
CV (%)		7,6	5,1	5,6
Lsd _{0,05}		0,5	0,2	0,5

**Trong cùng 1 cột, các giá trị trung bình có chữ cái theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê*

Tác động của cytokinin nồng độ cao giúp kích thích các chồi bên từ các nách lá phát triển, từ đó tăng số lượng chồi của mẫu. Vai trò của cytokinin trong trường hợp này là hạn chế ưu thế ngọn để cho các chồi bên phát triển[7]. Do đó, tất cả các chồi *in vitro* có khả năng tạo đa chồi khi kết hợp 2 loại cytokinin kinetin và BA với nồng độ tương đối cao (2 – 4mg/l). Số lượng chồi tăng khi tăng nồng độ cytokinin, tuy nhiên cả 2 mức nồng độ kinetin 2 và 4mg/l khi kết hợp với 4mg/l BA cho kết quả số lượng chồi trên một mẫu chồi ban đầu không sai khác có ý nghĩa, riêng các mẫu búp chồi có hiện tượng tạo cụm chồi cứng gồm rất nhiều búp chồi. Do đó chọn tổ hợp kinetin và BA với nồng độ lần lượt 2mg/l và 4mg/l thích hợp nhất để tạo đa chồi.

với khoảng ¼ MS, nhưng với lượng vitamin B1 cao gấp 10 lần, đây có thể là lí do chồi trong môi trường WPM sinh trưởng tốt hơn so với ¼ MS (Bảng 3).

Bảng 3 Khả năng sinh trưởng, phát triển của chồi mai *in vitro* trong một số môi trường thay đổi nồng độ khoáng

Môi trường	Chiều cao chồi 4 tuần (cm)	Chiều cao chồi 8 tuần (cm)	Số rễ hình thành 16 tuần
MS	1,74 ^{bc}	1,99 ^{cd}	2,33 ^e
½ MS	2,28 ^a	3,29 ^a	9,99 ^b
¼ MS	1,69 ^{cd}	2,34 ^{bc}	3,11 ^{de}

WPM	1,80 ^b	2,52 ^b	6,00 ^c
½ WPM	1,62 ^d	2,37 ^b	4,22 ^d
½ MS than	1,63 ^d	1,82 ^d	17,33 ^a
CV (%)	3,13	8,68	9,23
LSD _{0,01}	0,139	0,369	1,18
<i>*Trong cùng 1 cột, các giá trị trung bình có chữ cái theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê</i>			

Ở giai đoạn 16 tuần, chồi mai vàng đã có sự hình thành và phát triển rõ, đặc biệt là môi trường ½ MS bổ sung 2g/l than hoạt tính với số rễ trung bình hình thành là 17 rễ, rễ khỏe, màu nâu trắng. Các chất khoáng đóng vai trò quan trọng trong sự tạo rễ, đặc biệt các thực vật thuộc nhóm cây thân gỗ cần một nồng độ khoáng thấp để ra rễ. Qua bước khảo sát này, chọn môi trường ½ MS làm môi trường nền cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.3 Tạo cây mai vàng *in vitro* hoàn chỉnh

Những đoạn chồi mai *in vitro* sau khi tách khỏi cụm chồi thường có kích thước rất khác nhau trong khi chồi cây *in vitro* cần phải đạt chiều cao đủ tiêu chuẩn mới được chuyển sang giai đoạn tạo cây con hoàn chỉnh, do đó GA₃ được sử dụng để khảo sát sự kéo dài chồi *in vitro*. Gibberellin trong đó phổ biến nhất là GA₃ là chất kích thích kéo dài lóng, đốt và sự sinh trưởng của cây, giúp phá vỡ trạng thái lùn di truyền của cây[8].

Bảng 4 Khả năng kéo dài chồi mai vàng *in vitro* của GA₃

Nồng độ GA ₃ (mg/l)	Chiều cao chồi (cm)		Số rễ	
	Sau 4 tuần	Sau 8 tuần	Sau 4 tuần	Sau 8 tuần



A



B



C



D

Hình 2 Tạo cây mai vàng *in vitro* hoàn chỉnh và ra cây

(A)– Cụm chồi mai vàng *in vitro* - Chồi mai vàng *in vitro*

(B)– Cây mai vàng hoàn chỉnh *in vitro* - Cây mai vàng *ex vitro* sau khi ra bầu 4 tuần

3.4 Đưa cây *in vitro* ra bầu

Đối với cây thân gỗ, cảm ứng tạo rễ khó, rễ và lá tạo thành thường là rễ và lá giả, nghĩa là sẽ rụng đi khi chuyển qua điều kiện *ex vitro*. Do đó, cây con *ex vitro* cần phải có một giai đoạn chuyển tiếp để thích nghi với điều kiện độ ẩm, dinh dưỡng được giả lập tương tự như trong môi trường *in vitro*. Việc đặt các hũ nhựa trong suốt có lỗ thoáng khí lên cây mai mới ra cây giúp giữ độ ẩm cao cho cây vừa cho ánh sáng đi qua, rất thích hợp để bảo vệ cây *ex vitro*.

0	0,7 ^b	1,84 ^b	0	0,8 ^b
0,5	0,7 ^b	2,14 ^a	0	5,8 ^a
1	1,7 ^a	2,14 ^a	0	4,2 ^a
1,5	1,22 ^{ab}	1,88 ^b	0	0,4 ^b
2	1,25 ^{ab}	2 ^{ab}	0	0,2 ^b
CV (%)	5,73	8,97		59,17
LSD _{0,05}	0,63	0,237		1,780

**Trong cùng 1 cột, các giá trị trung bình có chữ cái theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê*

Khả năng kéo dài chồi của GA₃ thể hiện rõ sau 8 tuần nuôi cấy, tăng trưởng trung bình đạt từ 1,38 – 1,64cm/8 tuần, tuy nhiên, số lượng đốt thân và lá gần như không thay đổi. Có thể giải thích cơ chế tác động của gibberellin chủ yếu là kích thích đặc trưng lên pha giãn của tế bào theo chiều dọc chứ không thúc đẩy phân chia tế bào như auxin và cytokinin. Nhìn chung đối với mai vàng *in vitro*, GA₃ nồng độ 0,5 – 1mg/l có tác dụng kích thích kéo dài chồi, ở nồng độ cao (1,5 – 2mg/l), GA₃ gây nên hiện tượng vàng và rụng lá.

Thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của NAA (nồng độ 0,5 – 2mg/l) đến việc tạo rễ của chồi mai trên môi trường nền ½ MS sau 6 tuần theo dõi đã ghi nhận NAA không có tác dụng kích thích hình thành rễ (không đưa dữ liệu ở nghiên cứu này). Tuy nhiên, chỉ cần nuôi cấy trên môi trường nền ½ MS có bổ sung thêm 2mg/l than hoạt tính, sau 8 tuần nuôi cấy chồi mai *in vitro* đã có thể tạo rễ với số lượng khá nhiều (Bảng 3). Điều này cho thấy khả năng ra rễ của chồi mai *in vitro* không hoàn toàn phụ thuộc vào chất ĐHST, mà bị tác động bởi nồng độ khoáng, tuổi chồi, hoặc các điều kiện khác như số lần cấy chuyển.

Bảng 5 Tỷ lệ sống của chồi mai vàng *ex vitro* trên một số loại giá thể

Thành phần giá thể	Tỷ lệ	Tỷ lệ sống
Cát + đất + xơ dừa + trấu	35:35:15:15	66,7
Cát + đất + xơ dừa + trấu	30:50:10:10	77,8
Cát + đất + xơ dừa + trấu	50:30:10:10	44,4
Đất	100	33,3
Cát + đất	50:50	44,4

Cát và đất gây độ chặt cho giá thể, tưới nước lâu ngày dễ bị nén chặt xuống gây bí rễ. Xơ dừa và cám trấu có độ rời cao, tạo độ xốp, thoáng khí cho rễ, tuy nhiên lại ít có khả năng giữ lại chất dinh dưỡng, do đó cần phối hợp cả 4 loại nguyên liệu này. Nghiên cứu cho thấy cây mai vàng *ex vitro* thích hợp với loại giá thể có độ thoáng trung bình, với thành phần giá thể cát + đất + xơ dừa + trấu có tỉ lệ lần lượt 30:50:10:10 là phù hợp nhất để ra cây, đạt tỉ lệ sống trên 70% (Bảng 5).

4 Kết luận

Thiết lập được qui trình vi nhân giống mai vàng trong đó:

Môi trường MS có bổ sung BA 1,5mg/l và NAA 0,5mg/l thích hợp để tái sinh chồi mai *in vitro* từ mẫu ban đầu.

Nhân số lượng chồi mai trên môi trường MS có bổ sung 2mg/l kinetin và 4 mg/l BA.

Sử dụng môi trường nền ½ MS bổ sung 2mg/l than hoạt tính để tạo rễ cho chồi mai vàng *in vitro*.

Sử dụng GA₃ với nồng độ 0,5 – 1mg/l trong môi trường nền ½ MS để phát triển cây *in vitro* hoàn chỉnh.

Cây *ex vitro* được tạo điều kiện thích nghi trong giá thể chứa cát, đất, xơ dừa, trấu với tỉ lệ 30:50:10:10 cho tỉ lệ cây sống cao nhất, đạt 78%.

Tài liệu tham khảo

1. Việt Chương (2007), *Kỹ thuật trồng mai*, Nhà xuất bản Thành phố Hồ Chí Minh.
2. Nguyễn Thị Nhã và Phan Minh Đạt (12/2017), Đánh giá đa dạng di truyền các giống mai vàng (*Ochna integerrima*) bằng chỉ thị RAPD, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*.
3. Ủy ban Nhân dân Thành phố Hồ Chí Minh (2016), Quyết định về phê duyệt chương trình phát triển hoa kiểng trên địa bàn thành phố giai đoạn 2016 – 2020.
4. Goel M. K., V. Malik, S. Kumar and C. M. Govil (2008), *In vitro* Micropropagation in *Ochna Serrulata*. *Advances in Plant Sciences*, 21(1) pp. 19 – 21.
5. 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.
6. Mai Vũ Duy, Lâm Ngọc Phương (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.
7. Nguyễn Đức Lượng, Lê Thị Thuý Tiên (2002), Công nghệ tế bào. Nhà xuất bản Đại Học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.
8. Vũ Văn Vụ (1999), *Sinh lí thực vật ứng dụng*, Nhà xuất bản Giáo dục.

Process of the micropropagation of *Ochna integerrima* (Lour.) Merr

Ho Thi Cam Nguyen¹, Pham Ngoc Ha², Nguyen Thi Nha^{1,*}

¹Faculty of Biotechnology and Environment, Nguyen Tat Thanh University

²Ton Duc Thang University

*ntnha@ntt.edu.vn

Abstract *Ochna integerrima* (Lour.) Merr. is a popular ornamental plant which has high economic value in Viet Nam. The process of *in vitro* propagation of *Ochna integerrima* (Lour.) Merr. using stem segments and shoot buds was established with four steps. On medium containing 1.5mg/l BA and 0.5mg/l NAA, shoots proliferated from stem segments have the best count and height of shoots. Medium contain 2mg/l kinetin and 4mg/l BA was the most suitable for propagation of *Ochna integerrima*'s shoots (3.4 shoots/specimen) and found that clusters of shoot were created from shoot buds. The best medium for growing and developing of shoots was ½ MS. The concentration of 0.5 – 1mg/l GA₃ should be added to the culture medium to extend the shoots. Then *ex vitro* *Ochna integerrima* (Lour.) Merr. were grown in a combination of soil, sand, coir and rice husk with the proportion of 30:50:10:10, achieving the survival rate of 70%.

Keywords *Ochna integerrima*, micropropagation, woody plant

