

NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP KHỬ TRÙNG VÀ NHÂN NHANH *IN VITRO* CÂY HOA GIẤY CẨM THẠCH ĐỎ SEN (*Bougainvillea* ‘Tropical Rainbow’)

Phan Diễm Quỳnh^{1*}, Hà Thị Loan¹,
Nguyễn Trần Phước Huy¹, Nguyễn Kim Thủy¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định nồng độ chất khử trùng, thời gian khử trùng và môi trường nhân nhanh thích hợp góp phần hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* cây hoa giấy Cẩm thạch đỏ sen. Các thí nghiệm sử dụng môi trường cơ bản MS (Murashige, Skoog, 1962) và WPM (Woody Plant Medium, Lloyd, McCown, 1981) có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng. Mẫu nuôi cấy là đoạn chồi ngọn dài 5 cm của cây hoa giấy Cẩm thạch 1 năm tuổi. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sử dụng chất khử trùng Javel theo tỉ lệ 1 Javel: 3 nước, xử lý trong thời gian 20 phút cho tỉ lệ mẫu sống vô trùng cao nhất đạt 82,22%. Môi trường thích hợp để tạo chồi trong nhân giống *in vitro* cây hoa giấy là WPM + 3,0 mg/L BA + 30 g/L sucrose + 7 g/L agar cho tỷ lệ tạo chồi cao nhất, đạt 100% sau 10 tuần nuôi cấy. Môi trường WPM bổ sung 1,0 mg/L BA là thích hợp cho nhân nhanh chồi hoa giấy *in vitro*.

Từ khóa: *In vitro*, cây hoa giấy, khử trùng, chồi ngọn, chất điều hòa sinh trưởng thực vật.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ lâu, cây hoa giấy Trà Vinh đã trở thành thương hiệu nổi tiếng thu hút các thương lái từ các tỉnh, thành phố như: Bến Tre, Đồng Tháp, Bình Dương, thành phố Hồ Chí Minh tìm đến đặt hàng mỗi dịp xuân về Tết đến và hoa giấy trồng chậu trở thành sản phẩm thương mại có giá trị kinh tế cao. Hiện nay, trên địa bàn thành phố Trà Vinh có 2 làng nghề hoa kiểng ở ấp Vĩnh Yên, xã Long Đức và ấp Long Bình, phường 4. Diện tích đất trồng hoa của 2 làng nghề là 35 ha với các chủng loại hoa kiểng như: Hoa giấy, hoa cúc, vạn thọ, huệ trắng, mai vàng... Bên cạnh những giống hoa giấy có từ lâu đời như: Vạn hoa lâu, Cao bồi, Giấy ta.... nhiều giống hoa giấy nhập nội từ Thái Lan, Trung Quốc, Singapore với chủng loại vô cùng phong phú, màu sắc rực rỡ được dùng để trang trí sân vườn, hàng rào, công trình rất đẹp. Đặc biệt, giống hoa giấy Cẩm thạch đỏ sen có nguồn gốc từ Thái Lan, thích nghi tốt với điều kiện khí hậu nắng nóng như ở tỉnh Trà Vinh đang rất được ưa chuộng. Cây có kiểu hình sinh

trưởng dạng nửa đứng, lá màu xanh pha đốm trắng kết hợp với chùm hoa có màu sắc đỏ tươi rất độc lạ và đẹp. Tuy nhiên, hiện nay giống hoa giấy Cẩm thạch đỏ sen chỉ có rải rác ở các nhà vườn với số lượng rất ít và đang thử nghiệm nhân giống bằng phương pháp giâm cành nhưng tỷ lệ thành công thấp do tỷ lệ hom giâm ra rễ thấp, cây sinh trưởng không đồng đều, dẫn đến tình trạng thiếu hụt nguồn cây giống cung cấp cho sản xuất và thị trường tiêu thụ.

So với nhân giống bằng giâm hom, cây giống được nhân theo phương pháp nuôi cấy mô tế bào có độ trẻ hoá cao, cây sinh trưởng tương đối đồng đều và việc sản xuất cây giống với số lượng lớn có thể thực hiện quanh năm. Do đó, trong phạm vi nghiên cứu của đề tài “*Tuyển chọn và nhân giống hoa giấy phù hợp với điều kiện tại tỉnh Trà Vinh*”, đã tiến hành “*Nghiên cứu phương pháp khử trùng và nhân nhanh in vitro cây hoa giấy Cẩm thạch đỏ sen (Bougainvillea ‘Tropical Rainbow’)*”, góp phần hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* nhằm cung cấp số lượng lớn cây giống hoa giấy Cẩm thạch đỏ sen có chất lượng, đồng đều và sạch bệnh, đáp ứng nhu cầu sản xuất hiện nay.

¹ Trung tâm Công nghệ sinh học thành phố Hồ Chí Minh

* Email: quynhdiem1471@gmail.com

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Nguồn mẫu *in vitro*: Cây hoa giấy Cẩm thạch đỏ sen lấy từ cây vật liệu gốc 1 năm tuổi đã được xử lý tạo chồi tại vườn sưu tập của Trung tâm Công nghệ Sinh học thành phố Hồ Chí Minh.

Môi trường nuôi cấy: Môi trường nuôi cấy cơ bản là môi trường MS [1] và môi trường WPM [2], bổ sung 7 g/L agar, 30 g/L sucrose. Các chất điều hòa sinh trưởng gồm: α -naphthaleneacetic acid (NAA), benzylaminopurine (BA), được bổ sung riêng lẻ hoặc kết hợp với các nồng độ khác nhau tùy công thức thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện 3 thí nghiệm từ tháng 4/2022 đến tháng 11/2022 tại Phòng nuôi cấy mô tế bào thực vật thuộc Trung tâm Công nghệ sinh học thành phố Hồ Chí Minh.

2.2.1. Khảo sát điều kiện khử trùng mẫu

Các chồi ngọn dài 5 cm được cắt và rửa với vài giọt xà phòng, sau đó rửa lại dưới vòi nước chảy trong 30 phút. Mẫu được khử trùng với cồn 70 độ trong 1 phút, sau đó rửa lại với nước cất (3 lần) cho sạch cồn. Sau khi khử trùng, tiến hành rửa lại mẫu bằng nước cất vô trùng (3 lần). Tiếp tục lắc mẫu trong dung dịch Javel (thương phẩm) có nhỏ 2 giọt Tweens - 20 với 3 nồng độ: i/1 Javel pha 4 nước; ii/1 Javel pha 3 nước; iii/1 Javel pha 2 nước trong thời gian 15 phút và 20 phút, cuối cùng rửa lại mẫu bằng nước cất vô trùng 3 lần. Đoạn chồi non sau khi đã khử trùng được cắt bỏ những phần mẫu bị Javel làm tổn thương ở 2 đầu, sau đó cấy mẫu vào môi trường MS. Mẫu nuôi cấy được đặt trong điều kiện: 25°C, 12 giờ chiếu sáng và ẩm độ là 80%. Thí nghiệm 2 yếu tố, gồm 6 nghiệm thức, 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 10 chai/nghiệm thức, mỗi chai 1 mẫu. Quy mô thí nghiệm: 180 chai, 180 mẫu. Chỉ tiêu theo dõi tỷ lệ mẫu sống vô trùng (%). Theo dõi mẫu sau 10 ngày nuôi cấy.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ BA và NAA lên sự hình thành chồi

Các mẫu vô trùng sẽ được cấy vào môi trường WPM bổ sung 30 g/L sucrose, 7 g/L agar có chứa BA (0 - 3 mg/l) kết hợp với NAA (0 - 0,2 mg/l). Chiếu sáng 12 giờ/ngày, cường độ chiếu sáng

2.500 ± 500 lux, nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm $40 \pm 5\%$. Thí nghiệm 2 yếu tố, gồm 8 nghiệm thức, 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 5 chai/nghiệm thức, mỗi chai cấy 3 mẫu. Quy mô thí nghiệm: 120 chai, 360 mẫu. Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu hình thành chồi (%), số chồi, số lá, chiều cao chồi (cm). Thí nghiệm được theo dõi sau 60 ngày.

2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ BA và NAA lên quá trình nhân nhanh chồi

Mẫu chồi hoa giấy *in vitro* được chuyển sang môi trường nhân nhanh WPM bổ sung 30 g/L sucrose, 7 g/L agar có chứa 3 BA (0 - 2 mg/L) kết hợp với NAA (0 - 0,2 mg/L). Chiếu sáng 12 giờ/ngày, cường độ chiếu sáng 2.500 ± 500 lux, nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm $40 \pm 5\%$. Thí nghiệm 2 yếu tố gồm: 8 nghiệm thức, 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 5 chai, mỗi chai cấy 3 mẫu. Quy mô thí nghiệm: 120 chai, 360 mẫu. Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%), số chồi/mẫu, chiều cao chồi (cm) sau 60 ngày.

Số liệu được tính trung bình bằng phần mềm Microsoft Excel, xử lý thống kê, trắc nghiệm phân hạng bằng phần mềm thống kê SAS 9.1.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát nồng độ Javel và thời gian khử trùng thích hợp cho tạo mẫu vô trùng cây hoa giấy

Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến kết quả khử trùng: Phương pháp lấy mẫu, thời điểm lấy mẫu, thời gian khử trùng, hoá chất khử trùng... Phương pháp khử trùng thích hợp phải đảm bảo tỷ lệ nhiễm thấp, tỷ lệ mẫu sống cao, mô nuôi cấy sinh trưởng tốt. Có nhiều hoá chất khác nhau được sử dụng cho mục đích khử trùng: $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, NaOCl (Javel), HgCl_2 ... Trong nghiên cứu này, các chồi ngọn hoa giấy được khử trùng với dung dịch Javel ở các nồng độ và thời gian khác nhau. Sau 10 ngày nuôi cấy, kết quả cho thấy, có sự khác biệt về khả năng khử trùng của Javel đối với mẫu hoa giấy (Bảng 1).

Quan sát các nguồn mẫu sau khi được nuôi cấy cho thấy, khi tăng thời gian và nồng độ các chất khử trùng thì tỷ lệ mẫu sống vô trùng tăng theo tỷ lệ thuận, tuy nhiên nồng độ Javel quá cao làm tăng tỷ lệ mẫu chết. Như vậy, mẫu chết trong suốt quá trình nuôi cấy là do mẫu tiếp xúc với chất

khử trùng trong thời gian khá lâu, vì chất khử độc cho tế bào thực vật [3].
trùng ngoài tác dụng tiêu diệt vi sinh vật cũng gây

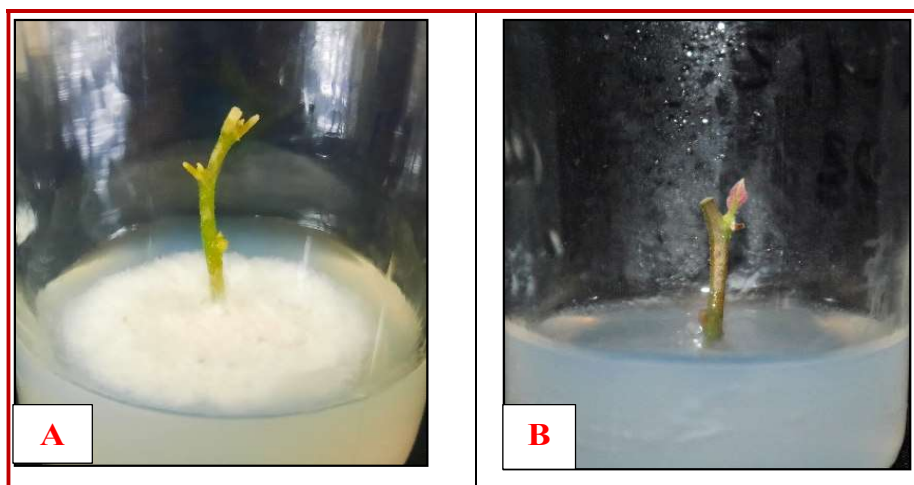
Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ chất khử trùng và thời gian khử trùng đến sự tạo nguồn vật liệu khởi đầu cây hoa giấy

Nghiem thức	Tỉ lệ Javel/nước	Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu sống vô trùng (%)
NT1	1/4	15	65,56 ^{ab}
NT2		20	68,89 ^b
NT3	1/3	15	71,11 ^b
NT4		20	82,22 ^c
NT5	1/2	15	65,57 ^{ab}
NT6		20	58,89 ^a
CV (%)			11,78

Các mẫu được khử trùng bằng Javel (1/3 Javel/nước) trong thời gian 20 phút (NT4) cho hiệu quả khử trùng cao hơn so với các nghiệm thức khác được thể hiện thông qua tỉ lệ sống vô trùng của mẫu (82,22%). Kết quả này cao hơn so với kết quả nghiên cứu của Ahmad và cs (2016) [4], khi tiến hành thực hiện khử trùng đoạn chồi cây *Bougainvillea spectabilis* WillD kích thước 1

cm với NaOCl 2% và NaOCl 4% trong các khoảng thời gian từ 1 - 5 phút cho tỉ lệ mẫu sống vô trùng đạt từ 50 - 68,75%.

Như vậy, để tạo nguồn vật liệu khởi đầu trong nhân giống *in vitro* cây hoa giấy, sử dụng chất khử trùng Javel theo tỷ lệ 1 Javel: 3 nước trong thời gian 20 phút cho tỉ lệ mẫu sống vô trùng cao nhất, đạt 82,22%.



Hình 1. Kết quả khử trùng cây hoa giấy

A - Mẫu nhiễm; B - Mẫu sống vô trùng

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của BA và NAA lên quá trình hình thành chồi hoa giấy *in vitro*

Chất điều hoà sinh trưởng không những là công cụ hữu ích giúp nghiên cứu sâu hơn về sự phát sinh hình thái thực vật, còn giúp chủ động định hướng cho sự phát triển của thực vật trong ống nghiệm. Đặc biệt, với mục đích nhân giống tạo số lượng lớn trong thời gian ngắn thì việc sử dụng các loại chất điều hoà sinh trưởng ở nồng độ khác nhau cho tỷ lệ nảy mầm tái sinh lớn nhất là tất yếu.

Nghiên cứu của Mosleh và cs (2014) [5] về nhân giống *in vitro* cây hoa giấy cho thấy, tổ hợp BA và NAA có ảnh hưởng tích cực đến tăng trưởng chiều cao chồi, đặc biệt ở môi trường WPM có bổ sung 2 mg/L BA và 0,2 mg/L NAA. Vì vậy, đã thử

thực nghiệm các nồng độ của BA (0; 1,0; 2,0; 3,0) kết hợp với NAA (0 - 0,2 mg/L) trên môi trường WPM. Kết quả cho thấy, khi không có sự hiện diện của chất điều hoà sinh trưởng trong môi trường nuôi cấy, các mẫu cấy vẫn có sự kích ứng tạo chồi, điều này có thể là do trong mẫu cấy còn cytokinin nội sinh, tuy nhiên tỷ lệ các mẫu tạo chồi tương đối thấp, chỉ đạt 35,33%, số lượng chồi và chiều cao chồi cũng đạt ở mức thấp, lần lượt là 1,4 chồi/mẫu và 0,33 cm. Khi tăng nồng độ BA từ 1,0 - 3,0 mg/L và không bổ sung NAA, tỷ lệ các mẫu tạo chồi tăng, cùng với số chồi, chiều cao chồi cũng tăng tỷ lệ thuận với nồng độ BA. Cụ thể, ở nghiệm thức T4 cho tỷ lệ tạo chồi, số chồi/mẫu, chiều cao chồi đạt cao nhất, lần lượt là 100%; 2,30 chồi/mẫu; 1,80 cm trên môi trường bổ sung 3,0 mg/L BA (Bảng 2).

Bảng 2. Ảnh hưởng của BA và NAA lên quá trình hình thành chồi cây hoa giấy *in vitro*

Nghiệm thức	Chất điều hoà sinh trưởng (mg/L)		Tỷ lệ tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu (chồi)	Chiều cao (cm)
	BA	NAA			
T1	0	0	35,33 ^b	1,40 ^b ± 0,02	0,33 ^b ± 0,04
T2	1,0	0	40,00 ^b	1,54 ^b ± 0,32	0,40 ^b ± 0,07
T3	2,0	0	42,17 ^b	1,66 ^b ± 0,17	0,42 ^b ± 0,05
T4	3,0	0	100,00 ^a	2,30 ^a ± 0,36	1,80 ^a ± 0,11
T5	0	0,2	29,50 ^b	1,24 ^b ± 0,23	0,30 ^b ± 0,05
T6	1,0	0,2	29,83 ^b	1,38 ^b ± 0,16	0,30 ^b ± 0,05
T7	2,0	0,2	33,00 ^b	1,48 ^b ± 0,40	0,33 ^b ± 0,06

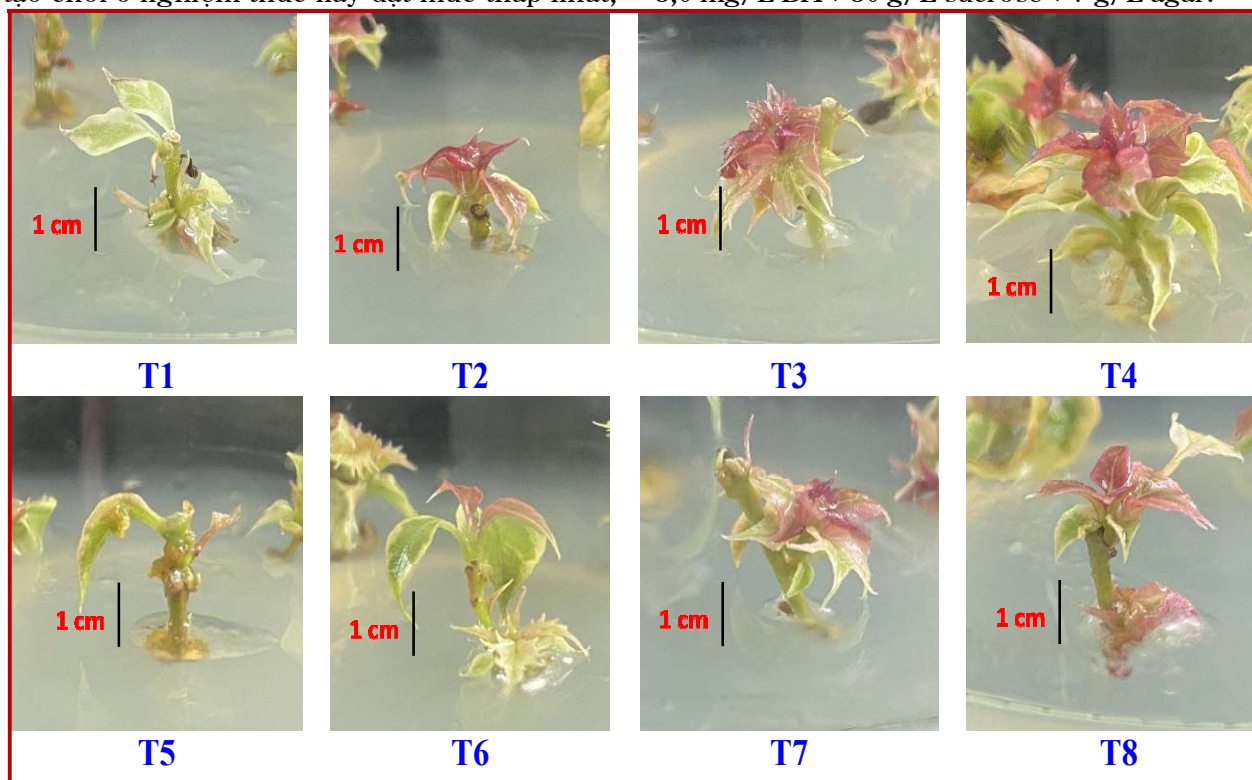
T8	3,0	0,2	39,17 ^b	1,63 ^b ± 0,31	0,40 ^b ± 0,07
CV (%)			16,57	18,21	17,20

Ghi chú: * Các giá trị theo sau bởi chữ cái trong cùng một cột không cùng ký tự biểu hiện sự khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức độ 0,05.

Khi có sự hiện diện của NAA, tỷ lệ các mẫu tạo chồi đạt mức thấp nhất ở nghiệm thức T5 (29,5%). Theo Nguyễn Như Khanh (2011) [6], trong nuôi cấy mô, tương quan giữa nồng độ auxin và cytokinin có ảnh hưởng đến sự phát sinh hình thái của mô nuôi cấy, cụ thể là khi tỷ lệ auxin/cytokinin cao trong môi trường nuôi cấy sẽ xúc tiến sự phân hoá tạo rễ. Ngược lại, nếu tỷ lệ đó giảm, ưu thế nghiêng về cytokinin sẽ xuất hiện chồi. Do đó, quan sát ở nghiệm thức T5 cho thấy, khi nồng độ BA nhỏ hơn nồng độ của NAA đã ức chế cảm ứng tạo chồi dẫn đến tỷ lệ tạo chồi ở nghiệm thức này đạt mức thấp nhất,

đồng thời xuất hiện một số mẫu có biểu hiện chuyển màu đen và chết. Ở nghiệm thức T7 và T8, khi tăng nồng độ BA từ 2,0 - 3,0 mg/L, tỷ lệ tạo chồi đã được cải thiện, các chỉ tiêu như số chồi, chiều cao chồi cũng tăng dần, tuy nhiên các chồi phát triển kém và có màu xanh nhạt. Điều này chứng tỏ, sự có mặt của NAA trong thí nghiệm này không mang lại hiệu quả cao trong việc tạo chồi cây hoa giấy Cẩm thạch đỏ sen *in vitro*.

Như vậy, môi trường thích hợp để tạo chồi trong nhân giống *in vitro* cây hoa giấy là: WPM + 3,0 mg/L BA + 30 g/L sucrose + 7 g/L agar.



Hình 2. Kết quả thí nghiệm tạo chồi cây hoa giấy *in vitro*

T1 - 0 mg/L BA + 0 mg/L NAA; T2 - 1,0 mg/L BA + 0 mg/L NAA; T3 - 2,0 mg/L BA + 0 mg/L NAA; T4 - 3,0 mg/L BA + 0 mg/L NAA; T5 - 0 mg/L BA + 0,2 mg/L NAA; T6 - 1,0 mg/L BA + 0,2 mg/L NAA; T7 - 2,0 mg/L BA + 0,2 mg/L NAA; T8 - 3,0 mg/L BA + 0,2 mg/L NAA

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của BA và NAA lên quá trình nhân nhanh chồi cây hoa giấy *in vitro*

Nhân nhanh là giai đoạn kích thích sự phân hoá các mầm chồi từ một hay vài chồi ban đầu. Trong giai đoạn này, sự sinh trưởng và phát triển của mô nuôi cấy phụ thuộc vào điều kiện nuôi cấy (nhiệt độ, ánh sáng), môi trường nuôi cấy (thành phần dinh dưỡng, chất điều hoà sinh trưởng và tỉ lệ giữa chúng). Tùy theo từng loại cây có thể bổ

sung vào môi trường nuôi cấy các chất điều hoà sinh trưởng với nồng độ và tỉ lệ khác nhau để thu được hệ số nhân chồi và chất lượng chồi cao nhất.

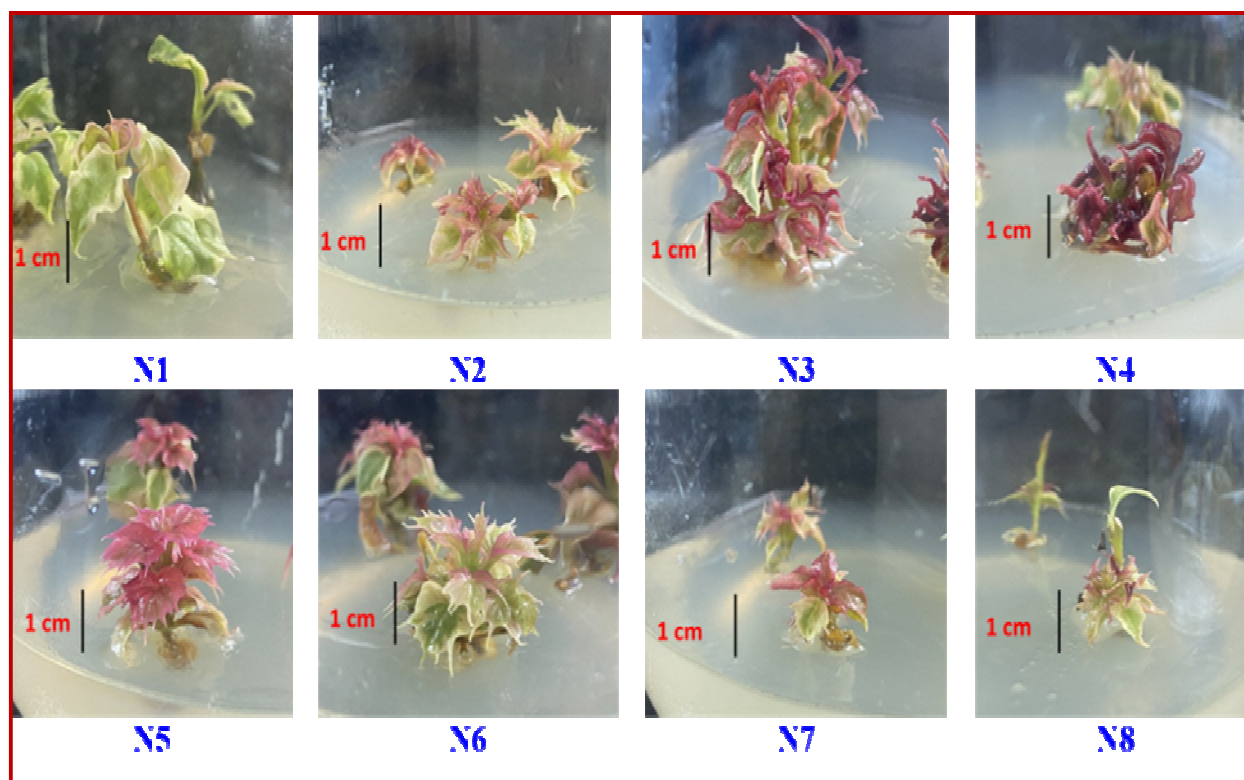
Trong thí nghiệm này, BA được bổ sung vào môi trường nuôi cấy ở các nồng độ khác nhau, bổ sung độc lập hoặc kết hợp với NAA, sau 60 ngày theo dõi, kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của BA và NAA lên quá trình nhân nhanh chồi cây hoa giấy *in vitro*

Thí nghiệm	Nồng độ chất điều hoà sinh trưởng (mg/L)		Tỉ lệ mẫu hình thành chồi mới (%)	Số chồi/mẫu (chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Hình thái chồi
	BA	NAA				
N1	0,0	0,0	40 ± 0,06	1,22 ^{bc} ± 0,00	4,02 ^{bc} ± 0,12	Chồi đơn, phát triển nhanh về chiều cao, không có hiện tượng nhân chồi
N2	0,5	0,0	40 ± 0,06	1,37 ^{ab} ± 0,09	4,90 ^{ab} ± 0,10	Chồi đơn, mẫu có hiện tượng nhân chồi nhưng còn thấp
N3	1,0	0,0	100 ± 0,16	1,55 ^a ± 0,14	5,48 ^a ± 0,11	Chồi xanh, mập, mẫu hình thành chồi đồng đều và phân đốt rõ
N4	2,0	0,0	20 ± 0,00	1,30 ^{ab} ± 0,07	3,98 ^{bc} ± 0,08	Chồi có hiện tượng thủy tinh thể, kém phát triển và có hiện tượng nâu hóa
N5	0	0,2	20 ± 0,06	1,12 ^c ± 0,10	3,36 ^c ± 0,05	Chồi đơn, mẫu có hiện tượng tạo cây hoàn chỉnh

N6	0,5	0,2	$20 \pm 0,06$	$1,30^{ab} \pm 0,07$	$4,10^{bc} \pm 0,15$	Mẫu có hiện tượng nhân chồi nhưng còn thấp
N7	1,0	0,2	$40 \pm 0,00$	$1,37^{ab} \pm 0,09$	$4,10^{bc} \pm 0,06$	Chồi đơn, mẫu phát triển kém
N8	2,0	0,2	$20 \pm 0,00$	$1,22^{bc} \pm 0,00$	$4,64^{ab} \pm 0,06$	Chồi đơn, mẫu chồi phát triển kém và có hiện tượng mẫu bị biến dị
<i>CV (%)</i>			<i>22,72</i>	<i>16,09</i>	<i>11,94</i>	

*Ghi chú: * Các giá trị theo sau bởi chữ cái trong cùng một cột không cùng ký tự biểu hiện sự khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức độ 0,05.*



Hình 3. Kết quả ảnh hưởng của BA và NAA lên quá trình nhân nhanh chồi cây hoa giấy *in vitro*

(N1 - 0 mg/L BA + 0 mg/L NAA; N2 - 0,5 mg/L BA + 0 mg/L NAA; N3 - 1,0 mg/L BA + 0 mg/L NAA; N4 - 2,0 mg/L BA + 0 mg/L NAA; N5 - 0 mg/L BA + 0,2 mg/L NAA; N6 - 0,5 mg/L BA + 0,2 mg/L NAA; N7 - 1,0 mg/L BA + 0,2 mg/L NAA; N8 - 2,0 mg/L BA + 0,2 mg/L NAA)

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, các chất điều hoà sinh trưởng BA và NAA có ảnh hưởng đến khả năng nhân nhanh chồi cây hoa giấy *in vitro*. Mẫu cấy trên môi trường WPM có bổ sung các chất điều hoà sinh trưởng ở các nồng độ khác nhau đều kích thích sự hình thành chồi mới. Ở nghiệm thức N3 (1 mg/L BA) có 100% mẫu hình thành chồi mới. Các nghiệm thức N1 (đối chứng), N2 (0,5 mg/L BA) và N7 (1 mg/L BA + 0,2 mg/L NAA) cho 40% mẫu hình thành chồi. Các nghiệm thức còn lại đều cho tỷ lệ mẫu hình thành chồi mới thấp nhất, đạt 20%.

Đặc biệt, chỉ tiêu số chồi/mẫu và chiều cao chồi đạt cao nhất ở nghiệm thức N3 (1,55 chồi/mẫu và 5,48 cm). Các nghiệm thức còn lại có sự sai khác không đáng kể, dao động từ 1,22 - 1,37 chồi/mẫu và 3,36 - 4,90 cm đối với chiều cao chồi.

Trên các môi trường có BA và bổ sung NAA (0,2 mg/L) cho số chồi/mẫu và chiều cao chồi thấp hơn so với các môi trường có BA không bổ sung NAA. Điều này có thể giải thích, sự có mặt của NAA có thể gây tác động làm giảm khả năng nhân nhanh chồi của cây hoa giấy *in vitro*.

Như vậy, trong nghiên cứu này, môi trường WPM bổ sung 1,0 mg/L BA là thích hợp cho nhân nhanh chồi hoa giấy *in vitro*.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Sử dụng chất khử trùng theo tỷ lệ 1 Javel: 3 nước trong thời gian 20 phút cho tỷ lệ mẫu sống vô trùng cao nhất, đạt 82,22%. Môi trường thích hợp để tạo chồi trong nhân giống *in vitro* cây hoa giấy là WPM + 3,0 mg/L BA + 30 g/L sucrose + 7 g/L agar, cho tỷ lệ tạo chồi đạt 100% và số chồi là 2,3 chồi/mẫu. Môi trường WPM bổ sung 1,0 mg/L BA là thích hợp cho nhân nhanh chồi hoa giấy *in vitro* với tỷ lệ mẫu hình thành chồi mới đạt 100%, chiều cao chồi khá đồng đều, đạt 5,48 cm, màu sắc chồi xanh, mập, mẫu hình thành chồi đồng đều và phân đốt rõ. Kết quả này góp phần hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* cây hoa giấy Cẩm thạch đỏ sen.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục nghiên cứu các giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh, hoàn thiện quy trình thuần hóa cây hoa giấy Cẩm thạch đỏ sen hậu *in vitro* giai đoạn vườn ươm để cung cấp cây giống cho sản xuất với lượng lớn, chất lượng tốt, đáp ứng nhu cầu thị trường tiêu thụ tại tỉnh Trà Vinh và trên cả nước.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Trà Vinh và Trung tâm Công nghệ sinh học thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ kinh phí, trang thiết bị và cơ sở vật chất để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*. 15 (3) : 473 - 497.
2. Lloyd, G. and B. Mccown (1981). Commercially-Feasible Micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, By Use of Shoot-Tip Culture. *Combined Proceedings - International Plant Propagators' Society*. 30 : 421 - 427.
3. Nguyễn Đức Lượng (2006). *Công nghệ vi sinh - Tập 1*. Nxb Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.
4. Ahmad Izhar, *et al.* (2016). *In vitro* surface sterilization of the shoot tips of *Bougainvillea spectabilis* Wild. Published by Bolan Society for Pure and Applied Biology. Vol. 5, Issue 4, pp. 1171 - 1175.
5. Mosleh M. S. Duhoky and Layla S. M. Al-Mizory (2014). *In vitro* micropropagation of selected *Bougainvillea* sp. through callus induction. *Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)* p-ISSN: 2319 - 2372. Volume 6, pp. 01 - 06.
6. Nguyễn Như Khanh (2011). *Giáo trình các chất điều hòa sinh trưởng thực vật*. Nxb Giáo dục Việt Nam, tr. 361 - 364.

**RESEARCH ON THE STERILIZATION AND PROPAGATION PROCESS OF
IN VITRO CULTURE OF *Bougainvillea* 'Tropical Rainbow'**

Phan Diem Quynh¹, Ha Thi Loan¹,

Nguyen Tran Phuoc Huy¹, Nguyen Kim Thuy¹

¹Biotechnology Center of HoChiMinh city

Summary

This study was carried out to determine the concentration of disinfectants, sterilization time and appropriate propagation medium, contributing to the completion of the *in vitro* propagation protocol of *Bougainvillea* 'Tropical Rainbow'. The experiments used the basic MS (Murashige and Skoog, 1962) and WPM (Woody Plant Medium, Lloyd, McCown, 1981) medium supplemented with different plant growth regulators. The culture sample was a 5 cm long tip shoot of a 1 year old plant. The results showed that using Javel disinfectant in the ratio of 1 Javel: 3 water for 20 minutes gives the highest rate of sterile survival samples reaching 82.22%. It was observed that on WPM medium supplemented 3 mg/L BA combined with 30 g/L sucrose and 7 g/L agar gave the highest shoot multiplication, the shoots were clearly internode and well grown after 10 weeks cultured. The suitable medium for shoot growth was WPM supplemented with 1.0 mg/L BA to improve shoot quality before moving the rooting stage in culture process.

Keywords: *In vitro, Bougainvillea, sterilization, shoot tips, plant growth regulators.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Lý

Ngày nhận bài: 25/9/2023

Ngày thông qua phản biện: 17/10/2023

Ngày duyệt đăng: 18/01/2024