

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG *In vitro* CÂY HỒNG MÔN CRYSTALLINUM (*Anthurium crystallinum*)

Nguyễn Thị Việt Hà, Lê Sơn

Viện Nghiên cứu Giống và Công nghệ sinh học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Hồng môn crystallinum (*Anthurium crystallinum*) là một loài thực vật có hoa thuộc họ Ráy (Araceae). Đây là loài cây cảnh có giá trị kinh tế cao. Hiện nay, nhu cầu sử dụng loài cây này ngày càng tăng cao, trong khi khả năng nhân chồi ngoài tự nhiên của chúng khá thấp và mất nhiều thời gian. Việc ứng dụng quy trình nhân giống *in vitro* trong nhân giống loài cây này là giải pháp tốt để đáp ứng nguồn vật liệu trong tương lai. Quy trình nhân giống cây Hồng môn crystallinum bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào đã được thực hiện thành công trong nghiên cứu này. Các đoạn thân chứa chồi hoặc mắt ngủ thu thập ngoài tự nhiên được khử trùng bằng Javel 2% trong thời gian 5 phút rồi khử trùng bằng HgCl₂ 0,1% trong 6 phút cho tỷ lệ mẫu sạch và tỷ lệ mẫu bật chồi cao nhất (lần lượt đạt 87,78% và 79,97%). Môi trường tái sinh và nhân chồi phù hợp để nhân nhanh chồi Hồng môn crystallinum là môi trường MS bổ sung 2,0 mg/l BAP và 0,5 mg/l NAA cho hệ số nhân chồi đạt 4,85 chồi/cụm chồi, chiều cao chồi trung bình đạt 2,61 cm. Môi trường 1/2MS có bổ sung 0,5 mg/l NAA và 1,0 mg/l IBA thích hợp để chồi ra rễ với tỷ lệ chồi ra rễ khá cao đạt 91,11%. Thành phần chứa 50% vỏ thông:40% đá:10% phân hữu cơ là giá thể tốt nhất cho cây con thích nghi với điều kiện sống tự nhiên cho tỷ lệ sống đạt 100% sau 30 ngày.

Từ khóa: Giá thể, hệ số nhân chồi, Hồng môn crystallinum, nhân giống

RESEARCH ON IN VITRO PROPAGATION OF *Anthurium crystallinum*

Nguyen Thi Viet Ha, Le Son

Institute of Forest Tree Improvement and Biotechnology

SUMMARY

Anthurium crystallinum is a flowering plant belonging to the family Araceae. This is a plant with high economic value. Currently, when the demand for this plant is increasing while the ability to multiply shoots in the wild is quite low and takes time, the application of *in vitro* propagation process in propagating this plant is the best solution to meet the material source in the future. The process of propagating *A. crystallinum* plants using the tissue culture method was successfully carried out in this study. Natural *A. crystallinum* shoots were sterilized with Javel 2% for 5 minutes and HgCl₂ 0.1% for 6 minutes to give the highest clean sample rate and shoots rate (87.78% and 79.97%). The suitable regeneration and multiplication medium for rapid multiplication of *A. crystallinum* is MS medium supplemented with 2.0 mg/l BAP and 0.5 mg/l NAA for an absorption coefficient of 4.85 shoots/explant, with an average height of 2.61 cm. The medium 1/2 MS supplemented with 0.5 mg/l NAA and 1.0 mg/l IBA is suitable for roots exudation. Ingredients containing 50% pine bark:40% stone:10% organic fertilizer is the best substrate for seedlings to adapt to natural living conditions, after 30 days survival rate reaches 100%.

Keyword: *Anthurium crystallinum*, *in vitro*, micropropagation, substrate

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hồng môn *crystallinum* (*Anthurium crystallinum*) là loài có giá trị kinh tế cao và rất được ưa chuộng hiện nay. Loài này có nguồn gốc phân bố tự nhiên từ Trung Mỹ, Nam Mỹ và vùng Caribe. Cây sống tốt trong môi trường nhiệt đới và cận ôn đới, ưa ánh sáng mạnh nhưng tránh nắng trực tiếp, thích hợp tại nơi có độ ẩm trong không khí cao và thường được lựa chọn làm cây cảnh trong nhà. Lá cây có hình tim hơi thuôn dài với các đường gân trắng sáng nổi bật trên nền lá xanh nhưng đậm, nhìn gần hoặc dưới ánh nắng có thể thấy các gân lấp lánh kim tuyến nên loài này thường có giá trị kinh tế cao hơn so với các loài cùng chi. Mặt khác, việc khai thác trực tiếp từ tự nhiên một cách ồ ạt cũng làm suy giảm số lượng cá thể và mức độ đa dạng di truyền của loài cây này.

Hiện nay, các nghiên cứu nhân giống đã được thực hiện bằng nhiều phương pháp khác nhau trên đối tượng thuộc chi *Anthurium* như giống *A. andreanum* được tạo mô sẹo từ hạt (Pierik *et al.*, 1974); nhân giống từ chồi (Kunisaki, 1980); vì nhân giống qua nuôi cấy lớp mỏng tế bào (Trần Thị Ngọc Lan và Trần Thị Hoàn Anh, 2017); nhân nhanh chồi thông qua nuôi cấy PLB (Dương Tấn Nhựt *et al.*, 2017); nuôi cấy lỏng phôi soma (Guangdong Wang *et al.*, 2019); giống *Anthurium* sp. tái sinh thông qua tạo mô sẹo từ lá (Nhut *et al.*, 2004); giống *A. crystallinum* tái sinh thông qua mô sẹo (Lin *et al.*, 2017)... Tuy nhiên, việc nghiên cứu nhân giống và trồng Hồng môn *crystallinum* tại Việt Nam chưa được thực hiện, cây giống hiện có trên thị trường chủ yếu là từ hạt và không đủ cung ứng nhu cầu thị trường, dẫn đến giá thành cây con còn tương đối cao so với các loài thuộc chi Hồng môn khác. Vì vậy, nghiên cứu nhân giống bằng nuôi cấy mô cho loài cây này là rất cần thiết và có ý nghĩa thực tiễn.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày quy trình nhân giống ở điều kiện *in vitro* và giá thể

phù hợp trồng cây con Hồng môn *crystallinum* (*A. crystallinum*) tại vườn ươm góp phần thiết lập được quy trình nhân giống hàng loạt cho loài cây cảnh có giá trị này.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Đoạn thân non chứa chồi nách hoặc mắt ngủ của cây Hồng môn *crystallinum* 3 năm tuổi có sinh trưởng và phát triển tốt, không bị sâu bệnh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến khả năng tạo mẫu sạch chồi

Các đoạn chồi sau khi thu được lặt trong dung dịch xà phòng 2 lần (4 - 5 phút/lần) và rửa sạch bằng nước đến khi không còn bọt. Sau đó, dùng cồn 70° lặt mẫu trong 1 phút rồi tráng lại bằng nước cất vô trùng. Sau đó, mẫu được lặt trong dung dịch Javel 2% trong thời gian khác nhau rồi tráng lại bằng nước cất vô trùng 2 lần. Tiếp tục lặt mẫu trong dung dịch HgCl₂ 0,1% ở các thời gian khác nhau (bảng 1). Sau đó, mẫu được lặt bằng nước cất vô trùng 3 lần và cắm mẫu lên môi trường MS (Murashige and Skoog medium) (MS + 30 g/l sucrose + 7 g/l agar).

Trong quá trình nuôi mẫu, thường xuyên kiểm tra và loại bỏ những mẫu nhiễm khuẩn, nấm để tránh lây nhiễm cho mẫu khác. Sau 3 tuần, theo dõi số lượng mẫu sống và số lượng mẫu bật chồi.

2.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng tái sinh chồi

Các mẫu sạch được chuyển sang môi trường tái sinh chồi: MS + 30 g/l sucrose + 100 mg/l inositol + 7 g/l agar có bổ sung BAP (6-Benzylaminopurine) ở các nồng độ khác nhau (bảng 2) để kích thích chồi tái sinh. Sau 3 tuần nuôi cấy, tiến hành theo dõi và thu số liệu số lượng mẫu tái sinh.

2.2.3. Ảnh hưởng của sự kết hợp giữa BAP và NAA đến khả năng nhân nhanh chồi

Các chồi sau khi tái sinh được cắt hạ và chuyển sang môi trường nhân nhanh chồi: MS + 30 g/l sucrose + 2 mg/l BAP + 100 mg/l inositol + 7 g/l agar có bổ sung NAA (*Naphthalene acetic acid*) ở các nồng độ khác nhau (bảng 3) để kích thích sự đa chồi. Sau 4 tuần nuôi cấy, theo dõi hệ số nhân chồi, chất lượng chồi.

2.2.4. Ảnh hưởng của nồng độ IBA và NAA đến khả năng ra rễ

Chồi đạt kích thước 2 - 3 cm được tách riêng cấy chuyển sang môi trường ra rễ: 1/2 MS + 15 g/l sucrose + 7 g/l agar và bổ sung IBA (*Indole-3-Butyric Acid*), NAA ở các nồng độ khác nhau (bảng 4). Sau 4 tuần nuôi cấy, theo dõi tỷ lệ chồi ra rễ, số rễ/chồi, chiều dài rễ trong từng công thức thí nghiệm.

2.2.5. Ảnh hưởng của thành phần giá thể đến khả năng sống và chất lượng cây con vườn ươm

Cây con *in vitro* ra rễ được huấn luyện 7 - 10 ngày trong nhà lưới có mái che. Sau thời gian huấn luyện, cây được rút ra khỏi bình và rửa sạch agar ở phần rễ cây, ngâm cây trong dung dịch ViBen C 0,3% rồi cấy cây vào các giá thể có thành phần ruột bầu bao gồm: vỏ thông, đá, phân với tỷ lệ khác nhau (bảng 5). Trong quá trình trồng tại vườn ươm cần tưới nước giữ ẩm cho cây hàng ngày. Sau 4 tuần, theo dõi tỷ lệ sống, chiều cao trung bình của cây con tại vườn ươm.

2.2.6. Điều kiện nuôi cấy

Môi trường được điều chỉnh đến pH = 5,8, khử trùng ở nhiệt độ 121°C, áp suất 1,5 atm trong 20 phút.

Mẫu được nuôi cấy trong phòng thí nghiệm nuôi cấy mô đảm bảo nhiệt độ 25°C ± 2°C; giàn đèn ánh sáng trắng với cường độ chiếu sáng 2.500 lux, thời gian chiếu sáng từ 8 - 10 h/ngày.

2.2.7. Thu thập và xử lý số liệu

Số liệu được thu thập bằng phương pháp theo dõi, quan sát, đếm trực tiếp trên từng công thức thí nghiệm. Các số liệu được tính toán theo phương pháp phân tích thống kê toán học.

Sử dụng phần mềm SPSS và kiểm định Duncan với mức ý nghĩa $p < 0,05$ để xử lý số liệu các chỉ tiêu bao gồm tỷ lệ mẫu sạch, tỷ lệ mẫu bật chồi, tỷ lệ mẫu tái sinh, hệ số nhân chồi, chiều cao chồi trung bình, tỷ lệ mẫu tạo rễ, số rễ trung bình, chiều dài rễ trung bình, tỷ lệ cây sống, chiều cao cây trung bình. Công thức thí nghiệm được tính như sau:

$$\text{Tỷ lệ mẫu sạch (\%)} = \frac{\text{Số mẫu sạch}}{\text{Tổng số mẫu}}$$

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

$$\text{Hệ số nhân chồi (chồi/cụm chồi)} = \frac{\text{Tổng số chồi tạo ra}}{\text{Tổng số chồi}}$$

$$\text{Chiều cao chồi trung bình (cm)} = \frac{\text{Tổng chiều cao các chồi}}{\text{Tổng số chồi}}$$

$$\text{Tỷ lệ mẫu tạo rễ (\%)} = \frac{\text{Tổng số chồi ra rễ}}{\text{Tổng số chồi}} \times 100\%$$

$$\text{Số rễ trung bình (rễ/chồi)} = \frac{\text{Tổng số rễ đếm được}}{\text{Tổng số rễ}} \times 100\%$$

$$\text{Chiều dài rễ trung bình (cm)} = \frac{\text{Tổng chiều dài các rễ}}{\text{Tổng số rễ}}$$

$$\text{Tỷ lệ cây sống (\%)} = \frac{\text{Tổng số cây sống}}{\text{Tổng số cây}} \times 100\%$$

$$\text{Chiều cao cây trung bình (cm)} = \frac{\text{Tổng chiều cao các cây}}{\text{Tổng số cây}}$$

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến khả năng tạo mẫu sạch

Mẫu được thu thập ngoài tự nhiên thường tiếp xúc với nhiều nguồn nấm, vi khuẩn khác nhau. Trước khi đưa mẫu vào môi trường nuôi cấy cần đảm bảo mẫu hoàn toàn sạch, không bị nhiễm nấm, khuẩn, đồng thời vẫn giữ được sức

sống. Hơn nữa, Hồng môn *crystallinum* thường có chồi sát mặt đất nên khả năng tiếp xúc với nguồn bệnh khá cao. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng cồn 70%, Javel 2,0% và

HgCl₂ 0,1% để làm chất khử trùng tạo mẫu sạch. Sau thời gian theo dõi, kết quả tỷ lệ mẫu sạch và tỷ lệ mẫu bật chồi ở các công thức thí nghiệm được trình bày ở bảng 1 dưới đây.

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian khử trùng đến khả năng tạo mẫu sạch

CTTN	Thời gian khử trùng (phút)		Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu bật chồi (%)
	Javel (2%)	HgCl ₂ (0,1%)		
ĐC	-	-	0	0
CT1	4	4	35,56 ± 1,93	31,11 ± 1,93
CT2		5	42,22 ± 3,85	38,89 ± 1,93
CT3		6	77,78 ± 3,85	60,00 ± 3,33
CT4		7	55,56 ± 1,93	52,22 ± 3,85
CT5	5	4	64,44 ± 3,33	61,11 ± 6,94
CT6		5	76,67 ± 3,33	71,11 ± 3,85
CT7		6	87,78 ± 1,93	78,89 ± 1,93
CT8		7	71,11 ± 1,93	57,78 ± 5,09
CT9	6	4	57,78 ± 3,33	48,89 ± 1,93
CT10		5	66,67 ± 5,09	55,56 ± 1,93
CT11		6	76,67 ± 1,93	58,89 ± 1,93
CT12		7	52,22 ± 1,93	47,78 ± 3,85
Sig.			0,000	0,000

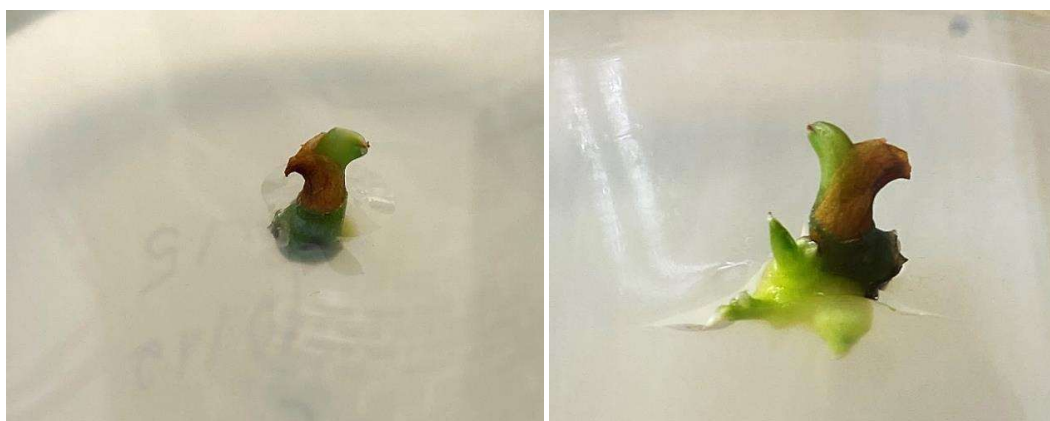
Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ mẫu sạch dao động từ 35,56 - 87,78%, tỷ lệ mẫu bật chồi dao động từ 31,11 - 78,89%. Công thức đối chứng (ĐC) không sử dụng hóa chất trong quá trình khử trùng, toàn bộ mẫu đều bị nhiễm sau thời gian theo dõi. Tại thời gian khử trùng bằng Javel là 4 phút (CT1 đến CT4), khi tăng thời gian khử trùng bằng HgCl₂ từ 4 đến 6 phút cho tỷ lệ mẫu sạch và tỷ lệ mẫu bật chồi tăng dần, còn khi tăng lên 7 phút thì tỷ lệ mẫu sạch và mẫu bật chồi giảm xuống. Công thức CT1 là công thức có tỷ lệ mẫu sạch và mẫu bật chồi thấp nhất trong 12 công thức thí nghiệm (đạt lần lượt là 35,56% và 31,11%). Thời gian khử trùng ở các công thức này còn khá ít, chưa đủ để làm sạch bề mặt cũng như bên trong tế bào mẫu nên tỷ lệ mẫu nhiễm cao hơn các công thức còn lại.

Tại thời gian khử trùng bằng Javel là 5 phút (CT5 đến CT8), khi tăng thời gian khử trùng bằng HgCl₂ từ 4 đến 6 phút cho tỷ lệ mẫu sạch và tỷ lệ mẫu bật chồi tăng dần và cao nhất tại

công thức CT7 (đạt lần lượt 87,78% và 78,89%), còn khi thời gian khử trùng HgCl₂ là 7 phút tỷ lệ mẫu sống và tỷ lệ mẫu bật chồi giảm xuống còn 71,11% và 57,78%.

Tương tự, tại thời gian khử trùng bằng Javel là 6 phút (CT9 đến CT12), khi tăng thời gian khử trùng bằng HgCl₂ từ 4 đến 6 phút cho tỷ lệ mẫu sạch và tỷ lệ mẫu bật chồi tăng dần, còn khi thời gian khử trùng HgCl₂ là 7 phút cho tỷ lệ mẫu sạch giảm xuống còn 52,22% và tỷ lệ mẫu bật chồi còn 47,78% (bảng 1). Trong nghiên cứu của Lin Hui-feng và đồng tác giả (2017) cho rằng việc sử dụng HgCl₂ 0,1% trong 8 phút để khử trùng hạt của cây Hồng môn *crystallinum* đạt hiệu quả tốt nhất (Lin Hui-feng *et al.*, 2017).

Như vậy, tại CT7 khi khử trùng mẫu Hồng môn *crystallinum* được thu thập ngoài tự nhiên bằng Javel 2% trong 5 phút và HgCl₂ 0,1% trong 6 phút là công thức khử trùng cho tỷ lệ mẫu sạch và tỷ lệ mẫu bật chồi là cao nhất (hình 1).



Hình 1. Mẫu bột chồi sau 2 tuần (trái) và sau 4 tuần (phải) trên môi trường MS

3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng tái sinh chồi

Khả năng tái sinh chồi trong nuôi cấy *in vitro* Hồng môn *crystallinum* được đánh giá là bước tạo nguồn vật liệu dồi dào cho quá trình tạo cây hoàn chỉnh về sau. Chồi trong điều kiện không có chất điều hòa sinh trưởng vẫn có khả năng tái sinh, tuy nhiên quá trình này diễn ra rất chậm. Thể chồi thường không đồng đều, nhỏ, chất lượng kém hoặc cho hệ số nhân thấp. Chính vì vậy, quá trình tái sinh chồi cần bổ sung thêm

các chất điều hòa sinh trưởng vào môi trường nuôi cấy.

Các chồi không bị nhiễm khuẩn và nấm thu được sau giai đoạn tạo mẫu sạch sẽ được cấy chuyển sang môi trường tái sinh nhân chồi. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng BAP ở các nồng độ khác nhau với mục đích thăm dò ngưỡng nồng độ thích hợp nhất từ đó có hướng điều chỉnh cũng như kết hợp với các chất kích thích khác cho hệ số nhân chồi cao. Sau 3 tuần, kết quả được thể hiện tại bảng 2.

Bảng 2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng nồng độ BAP đến khả năng tái sinh chồi

CTTN	BAP (mg/l)	Tỷ lệ mẫu tái sinh chồi (%)
ĐC	-	21,11 ^a ± 3,85
C1	0,5	53,33 ^b ± 3,33
C2	1,0	62,22 ^{bc} ± 1,92
C3	1,5	71,11 ^c ± 3,85
C4	2,0	86,67 ^d ± 3,36
C5	2,5	66,67 ^c ± 1,93

Chú thích: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột cho biết sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ theo kiểm định Duncan

Bảng 2 cho thấy, nồng độ BAP khác nhau thì tỷ lệ mẫu tái sinh thu được là khác nhau, chứng tỏ BAP có ảnh hưởng đến sự tái sinh chồi của Hồng môn *crystallinum* trong điều kiện *in vitro*. Công thức ĐC không bổ sung BAP cho tỷ lệ mẫu tái sinh là thấp nhất chỉ đạt 21,11%. Khi tăng nồng độ BAP từ 0,5 mg/l lên 2,5 mg/l, tỷ lệ

mẫu tái sinh dao động từ 53,33% đến 86,67%. Trong đó, công thức C4 (bổ sung 2 mg/l BAP vào môi trường nuôi cấy) cho tỷ lệ mẫu tái sinh là cao nhất đạt 86,67%, chồi có màu xanh, mập và sinh trưởng tốt (hình 2). Tuy nhiên, khi tăng cao nồng độ BAP lên 2,5 mg/l thì tỷ lệ chồi tái sinh giảm xuống còn 66,67%.



Hình 2. Chồi Hồng môn tái sinh trên môi trường C4 bổ sung 2 mg/l BAP

Như vậy, môi trường tốt nhất để tái sinh chồi Hồng môn *crystallinum* sau giai đoạn tạo mẫu sạch là môi trường MS + 2 mg/l BAP + 30 g/l sucrose + 7 g/l agar cho tỷ lệ mẫu tái sinh chồi cao nhất đạt 86,67%.

3.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của sự kết hợp giữa BAP và NAA đến khả năng nhân nhanh chồi

Sau khi tái sinh chồi, sử dụng 2 mg/l BAP kết

hợp cùng NAA với các nồng độ khác nhau để nghiên cứu sự ảnh hưởng của chúng đến hệ số nhân chồi và chất lượng chồi. Kết quả thu được cho thấy, khi kết hợp 2 mg/l BAP với NAA ở các nồng độ khác nhau có sự ảnh hưởng rõ rệt đến hệ số nhân chồi, chiều cao chồi và chất lượng chồi cây Hồng môn *crystallinum* (bảng 3).

Bảng 3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng NAA đến khả năng nhân nhanh chồi

CTTN	BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Hệ số nhân chồi (chồi/cụm chồi)	Chiều cao chồi (cm)	Chất lượng chồi
H1	2,00	0,25	$3,01^c \pm 0,05$	$2,40^{bc} \pm 0,14$	++
H2	2,00	0,50	$4,85^d \pm 0,32$	$2,61^c \pm 0,06$	+++
H3	2,00	0,75	$2,87^c \pm 0,04$	$2,26^b \pm 0,04$	++
H4	2,00	1,00	$2,41^b \pm 0,09$	$2,02^a \pm 0,35$	+
H5	2,00	1,25	$1,91^a \pm 0,10$	$1,82^a \pm 0,07$	+

Chú thích: +: Chất lượng chồi kém (chồi thấp và không đồng đều, màu vàng).

++: Chất lượng chồi khá (chồi cao, mảnh, không đồng đều, màu xanh hoặc vàng).

+++ : Chất lượng chồi tốt (chồi cao, mập, đồng đều, màu xanh).

Khi kết hợp BAP và NAA nhận thấy có sự ảnh hưởng tích cực đến hệ số nhân chồi, chiều cao chồi cũng như chất lượng chồi. Khi tăng dần nồng độ NAA từ 0,25 mg/l lên 0,50 mg/l vào môi trường nuôi cấy cho hệ số nhân chồi tăng từ 3,01 đến 4,85 chồi/cụm và chiều cao chồi từ 2,40 cm đến 2,61 cm. Nhưng khi tăng nồng độ

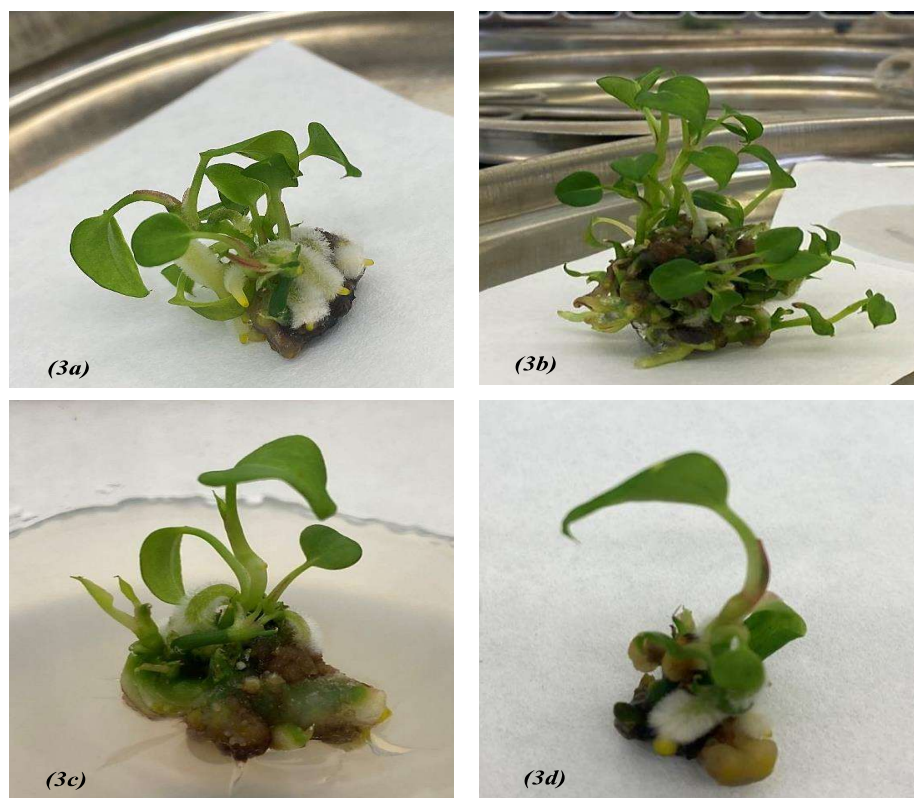
NAA từ 0,75 mg/l đến 1,25 mg/l thì hệ số nhân chồi giảm dần từ 2,87 xuống còn 1,91 chồi/cụm chồi; chiều cao chồi giảm từ 2,26 xuống 1,92 cm. Như vậy, khi bổ sung NAA ở nồng độ cao thì hệ số nhân chồi cũng như chất lượng chồi thu được sau thời gian nuôi cấy cũng giảm đi, chứng tỏ khi kết hợp NAA và BAP với nhau

ảnh hưởng đến khả năng nhân chồi Hồng môn *crystallinum*.

Khi so sánh kết quả thu được với một số công bố trước đây của một số loài thuộc chi *Anthurium* là tương đương hoặc cao hơn. Đối với *A. andreanum* Tropical sử dụng môi trường bổ sung 1 mg/l BAP và 0,3 mg/l NAA cho khả năng nhân nhanh chồi đạt 22,67 chồi/mẫu sau 6 tuần nuôi cấy (Phạm Thị Sương *et al.*, 2013).

Trong nghiên cứu Lin và đồng tác giả (2017), môi trường bổ sung 2,0 mg/l BAP và 0,3 mg/l NAA cho hệ số nhân chồi đạt 2,40 chồi/cụm.

Như vậy, môi trường MS bổ sung 2 mg/l BAP và 0,50 mg/l NAA phù hợp cho nhân nhanh chồi Hồng môn *crystallinum* với chồi cao, mập, thân và lá xanh đồng đều được sử dụng làm nguồn vật liệu giai đoạn nghiên cứu ra rễ *in vitro* (hình 3).



Hình 3. Cụm chồi Hồng môn trên môi trường nhân nhanh

(3a: môi trường H1; 3b: môi trường H2; 3c: môi trường H4; 3d: môi trường H5)

3.4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của IBA và NAA đến khả năng ra rễ

Chồi có chiều cao từ 2 - 3 cm, sinh trưởng tốt được sử dụng là nguồn vật liệu ra rễ. Dựa trên các công bố trước đây về các loài thuộc chi *Anthurium* cho thấy IBA và NAA tại nồng độ 0,5 mg/l đến 2 mg/l có sự ảnh hưởng đến khả năng phát sinh chồi ra rễ.

Trong nghiên cứu của Phạm Thị Sương và đồng tác giả (2013), môi trường có bổ sung 0,5 mg/l

NAA thích hợp ở giai đoạn ra rễ tạo cây con hoàn chỉnh cây Hồng môn (*Anthurium andreanum* Tropical) với số lượng rễ khá cao (7,0 rễ/chồi). Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng 0,5 mg/l NAA kết hợp IBA nồng độ từ 0 - 2 mg/l để nghiên cứu ảnh hưởng của chúng đến khả năng ra rễ của chồi. Kết quả thí nghiệm được thể hiện tại bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ NAA và IBA đến khả năng ra rễ

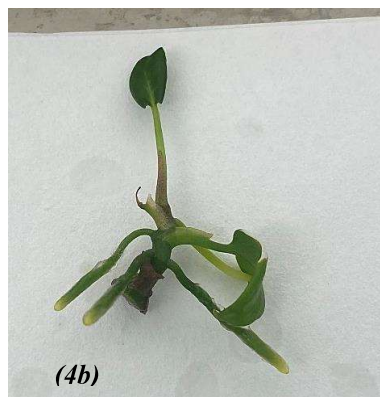
CTTN	NAA (mg/l)	IBA (mg/l)	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ/chồi (rễ)	Chiều dài rễ (cm)
HM1	0,5	-	55,56 ^a ± 1,93	2,27 ^a ± 0,09	1,20 ^a ± 0,07
HM2	0,5	0,5	71,11 ^b ± 3,85	2,58 ^b ± 0,09	1,57 ^c ± 0,01
HM3	0,5	1,0	91,11 ^d ± 1,92	3,80 ^e ± 0,18	1,90 ^e ± 0,04
HM4	0,5	1,5	82,22 ^c ± 5,09	3,13 ^d ± 0,17	1,72 ^d ± 0,03
HM5	0,5	2,0	68,89 ^b ± 5,09	2,82 ^c ± 0,09	1,35 ^b ± 0,03

Chú thích: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột cho biết sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ theo kiểm định Duncan

Kết quả bảng 4 cho thấy, khi kết hợp 0,5 mg/l NAA và IBA với nồng độ từ 0 đến 2,0 mg/l có ảnh hưởng tới khả năng ra rễ của chồi Hồng môn crystallinum *in vitro* bao gồm tỷ lệ ra rễ, số lượng rễ cũng như chiều dài rễ. Trong đó, công thức HM1 chỉ bổ sung 0,5 mg/l NAA cho tỷ lệ chồi ra rễ là thấp nhất (55,56%). Tại công thức HM3 với 0,5 mg/l NAA và 1,0 mg/l IBA cho hiệu quả cao nhất với tỷ lệ chồi ra rễ đạt 91,11%, số rễ trung bình đạt 3,80 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình đạt 1,90 cm. Khi nồng

độ IBA giảm xuống (0,5 mg/l) hoặc tăng lên (1,5 mg/l; 2,0 mg/l) thì tỷ lệ chồi ra rễ cũng như số rễ/cây và chiều dài rễ giảm xuống. Ở công thức HM5 được bổ sung 2 mg/l IBA, tỷ lệ chồi ra rễ giảm còn 68,89%, số rễ trung bình và chiều dài rễ trung bình cũng giảm dần lần lượt là 2,82 rễ/chồi, 1,35 cm.

Như vậy, môi trường ra rễ bổ sung 0,5 mg/l NAA và 1 mg/l IBA là thích hợp cho kết quả cao hơn các công thức còn lại.



Hình 4. Chồi Hồng môn ra rễ trên môi trường nuôi cấy

(4a: môi trường HM1; 4b: môi trường HM3)

3.5. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thành phần giá thể đến khả năng sống của cây

Thành phần giá thể có vai trò quan trọng giúp cây có khả năng hút nước và chất dinh dưỡng tốt đồng thời không làm thối rễ. Thông thường với ưu điểm là thoáng, nhẹ và giữ ẩm tốt, vỏ thông, dớn mùt... được sử dụng khá phổ biến để làm giá thể cho các loài cây cảnh và cho tỷ lệ

sống khá cao (Vũ Quốc Luận *et al.*, 2021). Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng giá thể chứa thành phần gồm vỏ thông, đá, phân hữu cơ cho giai đoạn huấn luyện cây con *in vitro*. Sau khi đặt cây vào giá thể, phủ lớp nilon trắng với độ che phủ 70%, tưới nước phun sương 3 - 4 lần/ngày tránh mất nước trên bề mặt lá. Kết quả thu thập được thể hiện trong bảng 5.

Bảng 5. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thành phần giá thể đến khả năng sống của cây

CTTN	Thành phần giá thể	Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao TB (cm)	Chất lượng cây
CT1	40% vỏ thông:40% đá:20% phân hữu cơ	86,67 ^b ± 3,33	4,65 ^b ± 0,13	Cây khỏe, cao
CT2	50% vỏ thông:40% đá:10% phân hữu cơ	100,00 ^c	6,49 ^c ± 0,19	Cây khỏe, cao, mập
CT3	60% vỏ thông:40% đá	77,78 ^a ± 1,92	3,83 ^a ± 0,22	Cây thấp, lá vàng

Chú thích: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột cho biết sự sai khác có ý nghĩa thống kê của trung bình mẫu với $p < 0,05$ theo kiểm định Duncan.

Bảng 5 cho thấy, thành phần giá thể bao gồm 50% vỏ thông:40% đá:10% phân hữu cơ là phù hợp cho trồng cây con *in vitro* Hồng môn *crystallinum* ngoài vườn ươm. Sau 30 ngày trồng, tỷ lệ cây sống đạt 100% và chất lượng cây con thu được khỏe mạnh, cao và mập mạp.

Trong nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể lên khả năng sống sót ở giai đoạn vườn ươm của một số giống chi Hồng môn cho thấy, với các loại giá thể khác và sự kết hợp giữa các thành phần của giá thể cho tỷ lệ sống khá cao. Trong kết quả nghiên cứu của Trần Thị Ngọc Lan và Trần Thị Hoàn Anh (2017), giá thể phù hợp để trồng cây con Hồng môn (*Anthurium andraeanum*) *in vitro* là tro trấu hun và dớn với tỷ lệ 1:1, sau 30

ngày nuôi trồng trong vườn ươm cho tỷ lệ sống sót đạt 100%. Khi trồng loài Lan gấm (*Anoectochilus formosanus* Hayata) trên dớn mát tốt hơn giá thể vụn xơ dừa, với chiều cao cây 12,5 cm, chiều dài rễ 8,0 cm, khối lượng tươi 1,94 gam/cây, tỷ lệ sống đạt 100% (Phan Xuân Huyền, Nguyễn Thị Phương Hoàng, 2017). Cây Lan kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume), được trồng bằng phương pháp thủy canh với giá thể là sợi xơ dừa hoặc trồng trên giá thể là than củi + vỏ thông + rêu với tỷ lệ phối trộn là 3:2:1 hoặc trên giá thể rêu + than với tỷ lệ 4:1 sau 6 tuần tỷ lệ sống sót ngoài vườn ươm xấp xỉ 100% (Trần Thị Hồng Thúy *et al.*, 2015).



Hình 5. Cây Hồng môn *crystallinum* trên giá thể sau 1 tuần (hình 5a), sau 3 tuần (hình 5b) và sau 6 tuần (hình 5c và 5d) ngoài vườn ươm

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nhân giống cây Hồng môn *crystallinum* bằng phương pháp *in vitro* cho thấy, đoạn thân non chứa chồi nách hoặc mắt ngủ cây Hồng môn *crystallinum* được khử trùng bằng Javel 2% trong 5 phút và HgCl_2 0,1% trong 6 phút phù hợp tạo mẫu sạch. Môi trường tái sinh chồi tốt nhất khi bổ sung 2,0 mg/l BAP (C4) vào môi trường nuôi cấy. Môi trường nhân nhanh chồi (H2) bổ sung

2 mg/l BAP và 0,5 mg/l NAA là tốt nhất cho chồi nhân nhanh với hệ số nhân cao. Môi trường ra rễ có bổ sung 0,5 mg/l NAA và 1 mg/l IBA (HM3) thích hợp cho chồi ra rễ. Bước đầu cho thấy, thành phần gồm 50% vỏ thông: 40% đá: 10% phân hữu cơ thích hợp là giá thể để huấn luyện và cây con *in vitro* với tỷ lệ sống đạt 100% sau 30 ngày. Các cây con khỏe, cao, chồi mập và sinh trưởng tốt giai đoạn vườn ươm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dương Tấn Nhựt, Đinh Văn Khiêm, Nguyễn Thị Thanh Hằng, Hà Thị Thuý, Đỗ Năng Vịnh, 2004. Sự tái sinh chồi từ callus, sự tạo cây từ hạt và ứng dụng của nó trong việc nhân nhanh giống hoa Hồng môn (*Anthurium* sp.). Tạp chí Khoa học và Công nghệ 42(3): 32-36.
2. Dương Tấn Nhựt, Phạm Thị Sương, Trần Tiểu Hằng, Đỗ Mạnh Cường, Hoàng Thanh Tùng, Vũ Quốc Luận, Vũ Thị Hiền, Nguyễn Bá Nam, 2017. Nhân nhanh chồi cây Hồng môn (*Anthurium andreaeanum* “Tropical”) thông qua nuôi cấy PLB.
3. Kunisaki J. T., 1980. In vitro propagation of *Anthurium andreaeanum* Lind. Hort Sci 15: 508-509.
4. Lin Hui-feng, Shang Wei, Chen Chang-ming, Xia Chao-shui, Yao Feng-qin, Zhou Hui-ming. Aseptic Sowing and Rapid Propagation of *Anthurium crystallinum*. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2017, 32(3): 273-277. DOI: 10.19303/j.issn.1008-0384.2017.03.009.
5. Pierik R. L. M., Steegmans H. H. M., Van der M. J. A. J., 1974. Plantlet formation in callus tissue of *Anthurium andreaeanum* Lind. Sci Hort 2: 193-198.
6. Phạm Thị Sương, Nguyễn Bá Nam, Hoàng Thanh Tùng, Hà Thị Mỹ Ngân, Nguyễn Thị Nhật Linh, Dương Tấn Nhựt, 2013. Hoàn thiện quy trình vi nhân giống cây Hồng môn (*Anthurium andreaeanum* “Tropical”). Kỷ yếu Hội nghị Công nghệ Sinh học, Hà Nội, 1033-1037.
7. Phan Xuân Huyền, Nguyễn Thị Phụng Hoàng, 2017. Nghiên cứu tái sinh chồi *in vitro* và nuôi trồng cây Lan gấm (*Anoectochilus formosanus* Hayata). Tạp chí Công nghệ Sinh học 15(3): 515-524, 2017.
8. Trần Thị Hồng Thúy, Đỗ Thị Gấm, Nguyễn Khắc Hưng, Phạm Bích Ngọc, Chu Hoàng Hà, 2015. Nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* loài Lan kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume) thông qua cảm ứng tạo protocorm like bodies. Tạp chí Sinh học, 37(1): 76-83. DOI: 10.15625/0866-7160/v37n1.6442.
9. Trần Thị Ngọc Lan, Trần Thị Hoàn Anh, 2017. Vi nhân giống Hồng môn (*Anthurium andreaeanum*) qua nuôi cấy lớp mỏng tế bào. Tạp chí Công nghệ Sinh học 15(2): 319-326, 2017.
10. Vũ Quốc Luận, Hoàng Thanh Tùng, Vũ Thị Hiền, Hoàng Đắc Khải, Đỗ Mạnh Cường, Trịnh Thị Hương, Bùi Văn Thế Vinh, Vũ Thị Tư, Dương Tấn Nhựt, 2021. Ảnh hưởng của một số yếu tố lên quá trình sinh trưởng và phát triển Lan thạch hộc tía (*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) trong nuôi cấy *in vitro* và *ex vitro*. Tạp chí Công nghệ Sinh học 19(2): 321-335.
11. Wang G., Xu C., Yan S. and Xu B., 2019. An efficient somatic embryo liquid culture system for potential use in Large-Scale and synchronic production of *Anthurium andreaeanum*. Seedlings. Front. Plant Sci. 10:29. doi: 10.3389/fpls.2019.00029.

Email tác giả liên hệ: leson@vafs.gov.vn

Ngày nhận bài: 25/02/2025

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 05/03/2025; 06/03/2025

Ngày duyệt đăng: 07/03/2025