

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG TÁI SINH *IN VITRO* VÀ SINH TRƯỞNG, PHÁT TRIỂN *EX VITRO* CÂY HỒNG MÔN THIÊN NGÀ (*Anthurium scherzerianum* Schott)

Phan Xuân Huyền¹*, Đinh Văn Khiêm¹,
Nguyễn Thị Thanh Hằng¹, Nguyễn Thị Phượng Hoàng¹

TÓM TẮT

Cây hồng môn thiên nga (*Anthurium scherzerianum* Schott) là giống hoa nhập nội, có giá trị kinh tế cao. Hiện nay ở nước ta chưa có công bố nhân giống *in vitro* và nuôi trồng hoa hồng môn thiên nga. Nghiên cứu khả năng tái sinh *in vitro* và sinh trưởng, phát triển *ex vitro* cây hồng môn thiên nga cho thấy, môi trường MS bổ sung 0,3 mg/l - 0,5 mg/l BA kết hợp 0,1 mg/l 2,4-D đều phù hợp đến sự hình thành callus từ lá non (khối lượng tươi của callus 0,19 g/mẫu - 0,20 g/mẫu, tỷ lệ mẫu tạo callus 80%). Môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BA là phù hợp đến sự biệt hóa chồi từ callus (chiều cao chồi 2,98 cm, số chồi 25,10 chồi/mẫu, số mẫu biệt hóa chồi 100%). Môi trường MS bổ sung 0 mg/l - 1 mg/l IBA đều thích hợp tạo rễ *in vitro* (tỷ lệ mẫu tạo rễ 100%). Vụn xơ dừa là giá thể tốt nhất để chuyển cây cấy mô ra điều kiện *ex vitro* (chiều cao cây 7,14 cm, chiều dài rễ 3,92 cm, tỷ lệ sống 94,44%). Giá thể 70% vụn xơ dừa + 20% trấu hun + 10% phân dê phù hợp cho cây sinh trưởng, phát triển và ra hoa ở điều kiện *ex vitro* (chiều cao cây 22,42 cm, số hoa 1,30 hoa/chậu, tỷ lệ sống và ra hoa 100%). Khí hậu của Đà Lạt - Lâm Đồng phù hợp cho trồng hồng môn thiên nga, cây phát triển tốt, ra hoa sau 8 tháng trồng và đồng loạt ra hoa sau 12 tháng trồng. Cây sinh trưởng tốt ra hoa nhiều hơn sau 24 tháng trồng (chiều cao cây 37,13 cm, số hoa 3,2 hoa/chậu), sau 36 tháng trồng (chiều cao cây 47,79 cm, số hoa 4,4 hoa/chậu).

Từ khóa: Cây hồng môn thiên nga, chiều cao cây, chiều dài rễ, giá thể, môi trường MS, sinh trưởng phát triển.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đà Lạt - Lâm Đồng có điều kiện tự nhiên thích hợp cho nhiều loại hoa sinh trưởng, phát triển và đã trở thành trung tâm trồng hoa của cả nước. Trong đó, hồng môn thiên nga (*Anthurium scherzerianum* Schott) là giống hoa nhập nội, có nguồn gốc từ Bắc Mỹ, có giá trị kinh tế cao, mỗi chậu hoa có giá từ vài trăm ngàn đồng đến vài triệu đồng bởi cây ra hoa quanh năm, hoa đẹp, bền và chậu hoa chơi được nhiều năm. Do đó, việc nghiên cứu nhân giống phát triển và thuần hóa loại cây có giá trị này là rất cần thiết. Hiện nay trên thế giới đã có nhiều công bố nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây hồng môn thiên nga [4], [5], [6], [15], nhưng ở nước ta chưa có công bố. Phương pháp nhân giống vô tính truyền thống bằng cách tách chiết ngoài vườn ươm không tạo ra một số lượng lớn cây giống để trồng trên quy mô công nghiệp, cây không đồng nhất, thường bị nhiễm bệnh thoái hóa, sinh trưởng yếu và cho hoa kém chất

lượng. Ứng dụng công nghệ sinh học, nuôi cấy mô tế bào thực vật trong nhân giống vô tính *in vitro* cây hồng môn thiên nga sẽ khắc phục những hạn chế của nhân giống vô tính truyền thống. Bài báo tiến hành nghiên cứu sự hình thành callus từ lá non, tái sinh chồi từ callus, tạo rễ *in vitro*, chuyển cây cấy mô ra ngoài vườn ươm và sự sinh trưởng phát triển cây hồng môn thiên nga ở điều kiện *ex vitro*. Nghiên cứu khả năng tái sinh *in vitro* và sinh trưởng, phát triển *ex vitro* cây hồng môn thiên nga sẽ góp phần cung cấp dữ liệu khoa học về nhân giống vô tính *in vitro* cây hồng môn thiên nga, hướng đến cung cấp cây giống cấy mô cho người sản xuất.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu: Chậu hồng môn thiên nga trưởng thành nuôi trồng tại Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên (Hình 1a), những lá non (Hình 1b) lấy từ chậu cây được rửa sạch bằng nước xà phòng, sau đó khử trùng bằng cồn 70° trong thời gian 1 phút, rửa lại mẫu bằng nước cất vô trùng 6 lần. Tiếp theo, lá non được khử trùng bằng dung dịch NaOCl 2% trong thời gian 8 phút, rửa lại mẫu bằng nước cất vô trùng 6 lần

¹ Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

*Email: phanxuanhuyen1974@gmail.com

[11]. Lá non sau khi khử trùng được cắt thành những mẫu có kích thước 1 cm x 1 cm, các mẫu này (Hình 1c) được sử dụng làm nguồn vật liệu cho thí nghiệm.

Môi trường: MS [9] được sử dụng cho những thí nghiệm nhân giống *in vitro*, tùy theo mục đích của các thí nghiệm mà bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng như: BA (6-benzyl adenin), IBA (Indole-3-butyric acid), 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy acetic acid). Giá thể nghiên cứu chuyển cây cấy mô ra ngoài vườn ươm là vụn xơ dừa, dớn và trấu hun.

Điều kiện: Đối với những thí nghiệm *in vitro*, thời gian chiếu sáng 8 giờ/ngày, cường độ ánh sáng $34 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, nhiệt độ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ và độ ẩm không khí 75% - 85%. Thí nghiệm ở điều kiện *ex vitro* được thực hiện trong nhà màng có mái nylon trắng che mưa.

Thời gian và địa điểm: Thời gian thực hiện từ tháng 1/2017 - 12/2020. Địa điểm thực hiện tại Phòng Công nghệ thực vật, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của các nồng độ BA kết hợp 2,4-D đến sự hình thành callus *in vitro*

Những mẫu lá non (Hình 1c) được cấy trên môi trường MS bổ sung 0 mg/l, 0,1 mg/l, 0,3 mg/l, 0,5 mg/l, 0,7 mg/l, 1 mg/l BA kết hợp 0,1 mg/l 2,4-D, 30 g/l sucrose, 10 g/l agar, pH 5,8. Mỗi nghiệm thức cấy 20 mẫu, thu số liệu sau 1 tháng nuôi cấy, theo dõi khối lượng tươi của mẫu (g/mẫu), tỷ lệ mẫu hình thành callus (%) và đánh giá cảm quan hình thái callus.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của các nồng độ BA đến sự biệt hóa chồi *in vitro* từ callus

Từ thí nghiệm trên chọn môi trường hình thành callus tốt nhất nuôi cây mẫu lá (Hình 1c) tạo ra các mẫu callus để làm vật liệu cho thí nghiệm. Những mẫu callus (Hình 1e) được cấy trên môi trường MS bổ sung 0 mg/l, 0,5 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l, 2 mg/l BA, 30 g/l sucrose, 10 g/l agar, pH 5,8. Mỗi nghiệm thức cấy 20 mẫu, thu số liệu sau 3 tháng nuôi cấy, theo dõi số mẫu callus biệt hóa chồi (%), chiều cao chồi (cm), số chồi/mẫu và đánh giá cảm quan hình thái chồi.

2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của các nồng độ IBA đến sự tạo rễ *in vitro*

Cắt những chồi biệt hóa từ callus đồng đều về kích thước và chiều cao khoảng 1,5 cm cấy trên môi

trường MS bổ sung 0 mg/l, 0,1 mg/l, 0,5 mg/l, 1 mg/l IBA, 1 g/l than hoạt tính, 30 g/l sucrose, 10 g/l agar, pH 5,8. Mỗi nghiệm thức cấy 60 mẫu, thu số liệu sau 2 tháng nuôi cấy, theo dõi chiều cao chồi (cm), chiều dài rễ (cm), tỷ lệ mẫu tạo rễ (%) và đánh giá cảm quan hình thái cây.

2.2.4. Khảo sát ảnh hưởng của giá thể đến sự thích nghi và sinh trưởng cây cấy mô ở điều kiện *ex vitro*

Những cây *in vitro* có đầy đủ thân lá rễ, có chiều cao khoảng 3,5 cm (Hình 2a) được trồng trên giá thể vụn xơ dừa, dớn và 50% vụn xơ dừa + 50% dớn. Mỗi nghiệm thức trồng 90 cây, thu số liệu sau 3 tháng nuôi trồng, theo dõi chiều cao cây (cm), chiều dài rễ (cm), tỷ lệ sống của cây (%) và đánh giá cảm quan hình thái cây.

2.2.5. Khảo sát ảnh hưởng của giá thể đến sự sinh trưởng, phát triển của cây ở điều kiện *ex vitro*

Những cây cấy mô đã thích nghi ở điều kiện *ex vitro* 3 tháng tuổi có chiều cao 6 cm - 7 cm được trồng vào chậu trên giá thể 70% vụn xơ dừa + 20% trấu hun + 10% phân dê và giá thể 70% dớn + 20% trấu hun + 10% phân dê. Phun phân Nitrophoska (2 g/l) định kỳ 10 ngày/lần, phun thuốc phòng trừ sâu, bệnh Kasuran (3 g/l) và Radiant (1 ml/l) định kỳ 15 ngày/lần. Mỗi nghiệm thức trồng 90 chậu, trồng 1 cây/chậu (chiều cao chậu 14 cm, đường kính chậu 18 cm), thu số liệu sau 12 tháng nuôi trồng, theo dõi chiều cao cây (cm), số hoa/cây, tỷ lệ sống của cây (%), tỷ lệ cây ra hoa (%) và đánh giá cảm quan hình thái cây.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu của các thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS (bản 15.0) trong Duncan's test và T-test [2], với $P \leq 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát ảnh hưởng của các nồng độ BA kết hợp 2,4-D đến sự hình thành callus *in vitro*

Khả năng hình thành callus từ mẫu lá sau 1 tháng nuôi cấy được thể hiện ở bảng 1. Kết quả cho thấy, các nồng độ BA kết hợp với 0,1 mg/l 2,4-D có ảnh hưởng tích cực đến hình thành callus của mẫu lá, mẫu cấy trên môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng không hình thành callus. Các môi trường bổ sung chất điều hòa sinh trưởng thì thúc đẩy mẫu tạo callus, tuy nhiên ở nồng độ BA khác

nhau thì tỷ lệ hình thành callus khác nhau. Nghiệm thức bổ sung 0,3 mg/l và 0,5 mg/l BA là tốt nhất (Hình 1d₁, 1d₂, 1d₃) với khối lượng tươi của mẫu tương ứng là 0,20 g/mẫu và 0,19 g/mẫu, tỷ lệ mẫu hình thành callus của hai nghiệm thức đều đạt 80%. Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy, khi nồng độ BA thấp thì khối lượng tươi của mẫu và tỷ lệ mẫu hình thành callus tăng, nhưng khi nồng độ BA tăng cao thì chỉ tiêu này giảm. Điều này có thể giải thích, khi nồng độ BA thấp thì kích thích tăng khối lượng tươi của mẫu và tỷ lệ mẫu hình thành callus, nhưng khi nồng độ BA tăng cao thì xảy ra quá trình ngược lại ức chế khối lượng tươi của mẫu và tỷ lệ mẫu hình thành callus.

Đặc điểm hình thái của mẫu lá cho thấy, ở môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng thì mẫu lá không tạo callus, chuyển sang màu vàng và chết; ở môi trường có bổ sung các nồng độ BA kết hợp với 0,1 mg/l 2,4-D thì callus hình thành xung quanh mẫu lá, dạng tròn, màu trắng ngà. Chất điều hòa sinh trưởng BA là một cytokinin có tác dụng kích thích sự phân chia tế bào, còn 2,4-D thuộc nhóm auxin và thường được sử dụng nghiên cứu tạo callus

trong nhân giống *in vitro*. Hiện nay ở nước ta chưa có công bố nghiên cứu tạo callus từ mẫu lá cây hồng môn thiên nga, nhưng trên thế giới đã có nhiều công bố. Kết quả của thí nghiệm cũng phù hợp với kết quả của Hamidah và cs (1997) [6] khi tiến hành nghiên cứu phát sinh phôi xô ma và tái sinh cây hồng môn thiên nga *in vitro* đã sử dụng kết hợp BA và 2,4-D cho tỷ lệ mẫu lá hình thành callus 73%. Hamidah và cs (1997) [6] cũng cho thấy, khi sử dụng độc lập IAA, IBA, NAA và 2,4-D thì tỷ lệ mẫu lá tạo callus thấp hơn, tương ứng 62% - 64,5%, 63% - 64%, 55% - 56,5% và 65% - 66,5%. Nghiên cứu này cũng tương đồng với nghiên cứu của Geier (1987) [4] khi nhân giống *in vitro* cây hồng môn thiên nga đều thông qua nuôi cấy mẫu lá. Ngoài ra còn một số nghiên cứu tạo callus từ mẫu lá ở cây hồng môn cắt cành (*Anthurium andreanum* 'Tropical') [10], sử dụng BA kết hợp với 2,4-D cho tỷ lệ mẫu tạo callus đạt 77,33%, cây hồng môn cắt cành đạt 79,48% [14].

Như vậy, môi trường MS bổ sung 0,3 mg/l - 0,5 mg/l BA kết hợp 0,1 mg/l 2,4-D là tốt nhất đến sự hình thành callus *in vitro* từ lá cây hoa hồng môn thiên nga.

Bảng 1. Ảnh hưởng của các nồng độ BA kết hợp 2,4-D đến sự hình thành callus *in vitro* sau 1 tháng nuôi cấy

BA (mg/l)	2,4-D (mg/l)	Khối lượng tươi callus (g/mẫu)	Tỷ lệ mẫu hình thành callus (%)	Hình thái mẫu lá
0,0	0,0	0,11 ^d	0	Mẫu lá không tạo callus, nhiều mẫu lá chuyển sang màu vàng và chết
0,1	0,1	0,14 ^c	55	Callus hình thành xung quanh mẫu lá, dạng tròn, màu trắng ngà
0,3	0,1	0,20 ^a	80	Callus hình thành xung quanh mẫu lá, dạng tròn, màu trắng ngà
0,5	0,1	0,19 ^a	80	Callus hình thành xung quanh mẫu lá, dạng tròn, màu trắng ngà
0,7	0,1	0,16 ^b	75	Callus hình thành xung quanh mẫu lá, dạng tròn, màu trắng ngà
1,0	0,1	0,13 ^c	65	Callus hình thành xung quanh mẫu lá, khối tròn, màu trắng ngà

Ghi chú: *Những chữ khác nhau (a, b,...) trong cùng một cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với $P \leq 0,05$ trong Duncan's test.

3.2. Khảo sát ảnh hưởng của các nồng độ BA đến sự biệt hóa chồi *in vitro* từ callus

Khả năng biệt hóa và sinh trưởng chồi từ callus sau 3 tháng nuôi cấy được thể hiện ở bảng 2. Kết quả cho thấy, chất điều hòa sinh trưởng BA có ảnh hưởng tốt đến sự biệt hóa và sinh trưởng chồi từ callus. Tất cả các mẫu callus ở các nghiệm thức đều biệt hóa

chồi, tỷ lệ đạt 100%. Tuy nhiên ở nghiệm thức khác nhau với nồng độ BA khác nhau thì sự biệt hóa và sinh trưởng chồi khác nhau. Mẫu callus ở nghiệm thức bổ sung 1,5 mg/l BA biệt hóa và sinh trưởng chồi tốt nhất, với 25,10 chồi/mẫu và chiều cao chồi 2,98 cm (Hình 1f). Trong khi đó, mẫu ở nghiệm thức không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng chỉ biệt hóa 4,20 chồi/mẫu và chiều cao chồi 1,54 cm. Kết

quả cũng chỉ ra rằng, khi tăng nồng độ BA từ 0 mg/l - 1,5 mg/l thì số chồi biệt hóa tăng lên và chiều cao chồi cũng tăng lên, nhưng khi nồng độ BA tăng lên 2 mg/l thì các chỉ tiêu này giảm. Như vậy cho thấy, khi nồng độ BA thấp thì kích thích mẫu callus biệt hóa chồi và tăng chiều cao chồi, nhưng khi nồng độ BA tăng cao thì ức chế biệt hóa chồi và sự sinh trưởng của chồi.

Về đặc điểm hình thái của chồi: trên môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng, chồi khỏe có màu xanh đậm, sinh trưởng chậm; ở môi trường bổ sung 0,5 mg/l BA, chồi khỏe có màu xanh mượt, sinh trưởng chậm; môi trường từ 1 mg/l - 1,5 mg/l BA, chồi khỏe có màu xanh mượt, sinh trưởng nhanh và trên môi trường bổ sung 2 mg/l BA, chồi có màu xanh mượt, sinh trưởng nhanh nhưng có hiện tượng mọng nước. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên

cứu của Wang và cs (2002) [15] khi nghiên cứu biệt hóa chồi từ callus mẫu lá cây hồng môn thiên nga đã sử dụng BA độc lập ở các nồng độ 0,5 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l và 2 mg/l có số chồi biệt hóa tương ứng 7 chồi/mẫu, 9 chồi/mẫu, 18 chồi/mẫu và 14 chồi/mẫu. Phan Xuân Huyền và cs (2015) [11] nhân giống *in vitro* hồng môn mini chỉ ra rằng BA ở nồng độ 1,5 mg/l là tốt nhất đến tái sinh chồi từ callus của lá, với 13,90 chồi/mẫu. Trần Thị Ngọc Lan và Trần Thị Hoàn Anh (2017) [14] thông qua nuôi cấy mẫu lá tạo callus từ cây hồng môn cắt cành (*Anthurium andraeanum*) cho chồi biệt hóa cao nhất trên môi trường bổ sung 1,5 mg/l BA, với 18,54 chồi/mẫu.

Như vậy, môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BA là tốt nhất đến sự biệt hóa chồi *in vitro* từ callus cây hồng môn thiên nga.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các nồng độ BA đến sự biệt hóa chồi *in vitro* từ callus sau 3 tháng nuôi cấy

BA (mg/l)	Số chồi/mẫu callus	Chiều cao chồi (cm)	Tỷ lệ mẫu callus tạo chồi (%)	Hình thái chồi
0,0	4,20 ^{e*}	1,54 ^e	100	Chồi có màu xanh đậm, sinh trưởng chậm và chồi cây khỏe
0,5	12,0 ^d	1,97 ^d	100	Chồi có màu xanh mượt, sinh trưởng chậm và chồi cây khỏe
1,0	16,20 ^c	2,50 ^b	100	Chồi có màu xanh mượt, sinh trưởng nhanh và chồi cây khỏe
1,5	25,10 ^a	2,98 ^a	100	Chồi có màu xanh mượt, sinh trưởng nhanh và chồi cây khỏe
2,0	19,60 ^b	2,14 ^c	100	Chồi có màu xanh mượt, sinh trưởng nhanh và có hiện tượng mọng nước

Ghi chú: *Những chữ khác nhau (a, b,...) trong cùng một cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với $P \leq 0,05$ trong Duncan's test.

3.3. Khảo sát ảnh hưởng của các nồng độ IBA đến sự tạo rễ *in vitro*

Khả năng tạo rễ *in vitro* của cây hồng môn thiên nga sau 2 tháng nuôi cấy được thể hiện ở bảng 3. Kết quả cho thấy, tất cả các mẫu ở các môi trường bổ sung và không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng đều tạo rễ, với tỷ lệ 100% (Hình 1g₁, 1g₂, 1g₃, 1g₄). Tuy nhiên, ở các nghiệm thức với những nồng độ IBA khác nhau thì có ảnh hưởng đến chiều dài rễ cây, khi nồng độ IBA tăng dần 0 mg/l, 0,1 mg/l, 0,5 mg/l và 1 mg/l thì chiều dài rễ giảm xuống, tương ứng 2,47 cm, 2,42 cm, 2,24 cm và 1,98 cm. Nguyên nhân là do khi tăng nồng độ IBA thì ức chế sự tăng trưởng chiều dài của rễ. Theo số liệu thì chiều cao

cây ở các nghiệm thức có sự khác nhau, nhưng xử lý thông kê số liệu thì không có sự khác biệt.

Đặc điểm hình thái cây cho thấy, tất cả cây nuôi cấy ở các môi trường đều sinh trưởng tốt, lá ở gốc bị vàng và héo, lá mọc mới có màu xanh đậm. Hiện nay ở nước ta chưa có công bố nghiên cứu tạo rễ *in vitro* cây hồng môn thiên nga, nhưng trên thế giới đã có nhiều công bố [6], [5]. Kết quả cũng chỉ ra hồng môn thiên nga là cây dễ dàng tái sinh rễ *in vitro* trên môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng auxin. Kết quả trên cũng phù hợp với nhiều nghiên cứu đã công bố như: tỷ lệ tạo rễ *in vitro* đạt 100% trên môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng ở cây hồng môn cắt cành - *Anthurium*

andraeanum 'Tropical' [14], cây hồng môn mini [11], cây sâm bố chính [12] và cây lan gấm [13].

Như vậy, môi trường MS bổ sung 0 mg/l - 1 mg/l IBA đều thích hợp đến sự tạo rễ *in vitro* cây hồng môn thiên nga.

Bảng 3. Ảnh hưởng của các nồng độ IBA đến sự tạo rễ *in vitro* sau 2 tháng nuôi cấy

IBA (mg/l)	Chiều cao chồi (cm)	Chiều dài rễ (cm)	Tỷ lệ mẫu tạo rễ (%)	Hình thái cây
0,0	3,63 ^{a*}	2,47 ^a	100	Cây sinh trưởng tốt, lá ở gốc bị vàng và héo, lá mọc mới có màu xanh đậm
0,1	3,61 ^a	2,42 ^a	100	Cây sinh trưởng tốt, lá ở gốc bị vàng và héo, lá mọc mới có màu xanh đậm
0,5	3,53 ^a	2,24 ^b	100	Cây sinh trưởng tốt, lá ở gốc bị vàng và héo, lá mọc mới có màu xanh đậm
1,0	3,50 ^a	1,98 ^c	100	Cây sinh trưởng tốt, lá ở gốc bị vàng và héo, lá mọc mới có màu xanh đậm

Ghi chú: *Những chữ khác nhau (a, b,...) trong cùng một cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với $P \leq 0,05$ trong Duncan's test.



Hình 1. Nghiên cứu khả năng tái sinh *in vitro* và sinh trưởng phát triển *ex vitro* cây hồng môn thiên nga (*Anthurium scherzerianum* Schott)

Ghi chú: a. Cây hồng môn thiên nga trưởng thành đã ra hoa; b. Lá non cây hồng môn thiên nga để đưa vào ống nghiệm; c. Mẫu lá non làm vật liệu nghiên cứu tái sinh callus *in vitro*; d, d₂, d₃. Callus hình thành trên môi trường MS bổ sung 0,3 mg/l - 0,5 mg/l BA kết hợp 0,1 mg/l 2,4-D; e. Mẫu callus làm vật liệu nghiên cứu tái sinh chồi *in vitro*; f. Chồi tái sinh từ callus trên môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BA; g₁, g₂, g₃, g₄. Tạo rễ *in vitro* trên môi trường MS bổ sung 0 mg/l; 0,1 mg/l; 0,5 mg/l; 1 mg/l IBA.

3.4. Khảo sát ảnh hưởng của giá thể đến sự thích nghi và sinh trưởng cây cấy mô ở điều kiện *ex vitro*

Khả năng thích nghi và sinh trưởng của cây hồng môn thiên nga cấy mô sau 3 tháng chăm sóc ở điều kiện *ex vitro* được thể hiện ở bảng 4. Nghiên

cứu chuyển cây cấy mô ra ngoài vườn ươm là một công đoạn quan trọng trong nuôi cấy mô thực vật. Cây cấy mô thường nuôi cấy trên môi trường thạch khi chuyển ra điều kiện *ex vitro* bộ rễ phải thích nghi trên giá thể mới, hơn nữa, độ ẩm trong điều kiện *in vitro* cao và ổn định hơn ở điều kiện *ex vitro*. Do đó, cây cấy mô thường bị héo và chết khi chuyển từ điều kiện *in vitro* ra điều kiện *ex vitro*, vì vậy trong thời gian đầu chuyển cây cấy mô ra điều kiện *ex vitro* cần phun sương đảm bảo độ ẩm cho cây và cây con cần trồng trên giá thể thích hợp. Kết quả cho thấy, giá thể vụn xơ dừa tốt nhất, với tỷ lệ sống của cây đạt 94,44%, chiều cao cây đạt 7,14 cm, chiều dài rễ là 3,92 cm (Hình 2b). Giá thể dón kém nhất, tỷ lệ sống đạt 77,78%, chiều cao cây đạt 4,98 cm, chiều dài rễ là 3,16 cm. Giá thể 50% vụn xơ dừa + 50% dón kém hơn giá thể vụn xơ dừa nhưng tốt hơn giá thể dón, với tỷ lệ sống là 87,78%, chiều cao cây là 6,12 cm, chiều dài rễ là 3,80 cm. Điều này là do giá thể vụn xơ dừa tơi xốp, thông thoáng, giữ ẩm thích hợp cho cây con thích nghi và sinh trưởng trong giai đoạn đầu chuyển ra điều kiện *ex vitro*.

Về đặc điểm hình thái cây: Cây trồng trên giá thể vụn xơ dừa sinh trưởng tốt, cây khỏe và lá có màu xanh đậm; trên giá thể dón cây sinh trưởng kém và lá ở phần gốc có màu vàng; còn trên giá thể 50% vụn xơ dừa + 50% dón cây sinh trưởng bình thường và lá có màu xanh đậm. Hiện nay ở nước ta chưa có công bố nghiên cứu chuyển cây hồng môn thiên nga ra điều kiện *ex vitro* nhưng trên thế giới đã có công bố. Hamidah và cs (1997) [6] đã chuyển cây cấy mô ra điều kiện nhà kính thành công. Vụn xơ dừa là giá thể

được sử dụng để nghiên cứu chuyển cây cấy mô ra điều kiện *ex vitro* cho tỷ lệ sống đạt 95% - 100% như: hồng môn cắt cành - *Anthurium andraeanum* 'Tropical' [7], hồng môn mini [11], sâm bố chính [12] và lan gấm [13].

Như vậy, giá thể vụn xơ dừa là tốt nhất để chuyển cây hồng môn thiên nga cấy mô ra ngoài vườn ươm.

Bảng 4. Ảnh hưởng của giá thể đến sự thích nghi và sinh trưởng cây cấy mô ở điều kiện *ex vitro* sau 3 tháng nuôi trồng

Giá thể	Chiều cao cây (cm)	Chiều dài rễ (cm)	Tỷ lệ sống của cây (%)	Hình thái cây
Vụn xơ dừa	7,14 ^a	3,92 ^a	94,44	Cây sinh trưởng tốt, khỏe và lá có màu xanh đậm
Dón	4,98 ^c	3,16 ^b	77,78	Cây sinh trưởng kém, cây yếu và lá ở phần gốc có màu vàng
50% vụn xơ dừa + 50% dón	6,12 ^b	3,80 ^a	87,78	Cây sinh trưởng bình thường và lá có màu xanh đậm

Ghi chú: *Những chữ khác nhau (a, b) trong cùng một cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với $P \leq 0,05$ trong Duncan's test.



Hình 2. Nghiên cứu khả năng tái sinh *in vitro* và sinh trưởng phát triển *ex vitro* cây hồng môn thiên nga (*Anthurium scherzerianum* Schott)

Ghi chú: a. Cây hồng môn thiên nga cấy mô; b. Khả năng thích nghi và sinh trưởng cây cấy mô trên giá thể vụn xơ dừa sau 3 tháng nuôi trồng; c. Sự sinh trưởng, phát triển của cây trên giá thể 70% vụn xơ dừa + 20% trấu hun + 10% phân dê sau 8 tháng nuôi trồng; d. Sự sinh trưởng, phát triển của cây trên giá thể 70% vụn xơ dừa + 20% trấu hun + 10% phân dê sau 12 tháng nuôi trồng; e, f. Sự sinh trưởng, phát triển của cây trên giá thể 70% vụn xơ dừa + 20% trấu hun + 10% phân dê sau 24 tháng và 36 tháng nuôi trồng.

3.5. Khảo sát ảnh hưởng của giá thể đến sự sinh trưởng, phát triển của cây ở điều kiện *ex vitro*

Khả năng sinh trưởng, phát triển cây hoa hồng môn thiên nga sau 12 tháng nuôi trồng và chăm sóc được thể hiện ở bảng 5. Kết quả cho thấy, tỷ lệ sống của cây ở cả hai nghiệm thức đạt 100% và đều ra hoa

sau 12 tháng nuôi trồng. Tuy nhiên, do cây trồng trên giá thể khác nhau nên sinh trưởng, phát triển khác nhau. Trên giá thể 70% vụn xơ dừa + 20% trấu hun + 10% phân dê sinh trưởng tốt hơn, chiều cao cây đạt 22,42 cm; còn trên giá thể 70% dón + 20% trấu hun + 10% phân dê chiều cao cây đạt 18,59 cm. Theo số liệu thì số hoa/cây ở hai nghiệm thức có sự khác nhau, nhưng xử lý thống kê số liệu thì không có sự khác biệt.

Đặc điểm hình thái của cây cho thấy, trên giá thể 70% vụn xơ dừa + 20% trấu hun + 10% phân dê cây sinh trưởng phát triển tốt, cây khỏe, 1 hoa/cây - 2 hoa/cây; còn trên giá thể 70% dón + 20% trấu hun + 10% phân dê sinh trưởng phát triển kém, cây yếu, 1 - 2 hoa/cây. Kết quả cũng cho thấy, khí hậu tại Đà Lạt - Lâm Đồng phù hợp cho trồng hồng môn thiên nga. Cây con đã thích nghi ở điều kiện *ex vitro* được trồng vào chậu, sinh trưởng, phát triển tốt ra hoa sau 8 tháng trồng (Hình 2c) và đồng loạt ra hoa sau 12 tháng trồng (Hình 2d); ra hoa nhiều hơn sau 24 tháng (chiều cao cây 37,13 cm, số hoa 3,2 hoa/cây) (Hình 2e) và 36 tháng (chiều cao cây 47,79 cm, số hoa 4,4 hoa/cây) (Hình 2f) trồng. Hiện nay ở nước ta chưa có công bố nghiên cứu nuôi trồng cây hoa hồng môn thiên nga, nhưng trên thế giới đã có công bố [1], [3], [8].

Như vậy, cây hoa hồng môn thiên nga nuôi trồng trên giá thể 70% vụn xơ dừa + 20% trấu hun + 10% phân dê sinh trưởng, phát triển tốt hơn trên giá thể 70% dón + 20% trấu hun + 10% phân dê.

Bảng 5. Ảnh hưởng của giá thể đến sự sinh trưởng, phát triển của cây ở điều kiện *ex vitro* sau 12 tháng nuôi trồng

Giá thể	Chiều cao cây (cm)	Số hoa/cây	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ ra hoa (%)	Hình thái cây
70% vụn xơ dừa + 20% trấu hun + 10% phân dê	22,42 ^a	1,30 ^a	100	100	Cây sinh trưởng, phát triển tốt, cây khỏe, 1 hoa/cây - 2 hoa/cây.
70% dón + 20% trấu hun + 10% phân dê	18,59 ^b	1,20 ^a	100	100	Cây sinh trưởng, phát triển kém, cây yếu, 1 hoa/cây - 2 hoa/cây.

Ghi chú: *Những chữ khác nhau (a, b,...) trong cùng một cột biểu diễn sự khác nhau có ý nghĩa với $P \leq 0,05$ trong T-test.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Môi trường MS bổ sung 0,3 mg/l - 0,5 mg/l BA kết hợp 0,1 mg/l 2,4-D phù hợp đến sự hình thành callus *in vitro* từ mẫu lá (khối lượng tươi của callus 0,19 g/mẫu - 0,20 g/mẫu, tỷ lệ mẫu tạo callus 80%).

Môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BA phù hợp đến sự biệt hóa chồi *in vitro* từ callus (chiều cao chồi 2,98 cm, số chồi 25,10 chồi/mẫu, số mẫu biệt hóa chồi 100%).

Môi trường MS bổ sung 0 mg/l - 1 mg/l IBA đều thích hợp đến sự tạo rễ *in vitro* (tỷ lệ mẫu tạo rễ 100%).

Giá thể vụn xơ dừa phù hợp để chuyển cây cấy mô ra điều kiện *ex vitro* (chiều cao cây 7,14 cm, chiều dài rễ 3,92 cm, tỷ lệ sống 94,44%). Giá thể 70% vụn xơ dừa + 20% trấu hun + 10% phân dê phù hợp cho cây sinh trưởng tốt và ra hoa ở điều kiện *ex vitro* (chiều cao cây 22,42 cm, số hoa 1,30 hoa/cây, tỷ lệ sống và ra hoa 100%).

Khí hậu của Đà Lạt - Lâm Đồng phù hợp nuôi trồng hồng môn thiên nga, cây ra hoa sau 8 tháng trồng và đồng loạt ra hoa sau 12 tháng trồng và tiếp tục sinh trưởng ra hoa nhiều hơn sau 24 tháng (chiều cao cây 37,13 cm, số hoa 3,2 hoa/cây) và 36 tháng trồng (chiều cao cây 47,79 cm, số hoa 4,4 hoa/cây).

Tiếp tục nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro*, quy trình trồng *ex vitro* và trồng hồng môn thiên nga ở quy mô lớn.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã hỗ trợ nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cuquel F. L., Polack S. W., Favaretto N., Possamai J. C. (2012). Fertigation and growing media for production of *Anthurium* cut flower. *Hortic. Bras.*, 30: 279 - 285.
2. Duncan D. B. (1955). Multiple range and F tests. *Biometrics*, 11: 1 - 42.
3. Dufour L., Gue'rin V. (2003). Growth, developmental features and flower production of *Anthurium andreaeanum* Lind. in tropical conditions. *Sci. Hortic.*, 98: 25 - 35.
4. Geier T. (1987). *Micropropagation of Anthurium scherzerianum: propagation schemes and plant conformity*. *Acta Hortic.*, 212: 439 - 444.
5. Geier T. (1988). *Ploidy variation in callus and regenerated plants of Anthurium scherzerianum Schott*. *Acta Hortic.*, 226: 293 - 298.
6. Hamidah M., Ghani A., Karim A., Debergh P. (1997). Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Anthurium scherzerianum*. *Plant Cell, Tissue and Organ Cult.*, 48: 189 - 193.
7. Hoàng Thị Như Phương, Trần Tuấn Đạt, Trần Văn Minh (2014). Nhân giống *in vitro* hoa hồng môn (*Anthurium andreaeanum*). *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 2: 74 - 80.
8. Lalnunmawia F., Khawlhing N. (2011). *Cultivation of Anthurium in Mizoram, India: present scenario and future prospect*. *Sci. Vis.*, 11 (4): 203 - 207.
9. Murashige T., Skoog F. (1962). Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue. *Plant Physiol.*, 15: 473 - 497.

10. 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')*. Hội nghị khoa học công nghệ sinh học toàn quốc 2013, 1033 - 1037.
11. Phan Xuân Huyền, Nguyễn Thị Thanh Hằng, Hoàng Văn Cương, Đinh Văn Khiêm, Nguyễn Thị Phương Hoàng (2015). *Vi nhân giống cây hoa hồng môn mini (Anthurium sp.)*. Kỷ yếu hội thảo công bố khoa học và hợp tác đối tác khoa học công nghệ các tỉnh Tây Nguyên, trang: 160 - 165.
12. Phan Xuân Huyền, Huỳnh Thị Ngoan, Nguyễn Thị Phương Hoàng (2017). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây sâm bố chính (*Hibiscus sagittifolius* Kurz) thông qua nuôi cấy chồi ngủ đốt thân. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 15 (5): 664 - 672.
13. Phan Xuân Huyền, Trần Thị Hoàn Anh, Nguyễn Thị Phương Hoàng, Nguyễn Thị Thanh Hằng, Đinh Văn Khiêm, Hoàng Văn Cương (2018). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* và ảnh hưởng của phân bón lá đến sinh trưởng cây lan gấm (*Anoetochilus formosanus* Hayata) tại Lâm Đồng. *Tạp chí Dược liệu*, 23 (1): 52 - 59.
14. Trần Thị Ngọc Lan, Trần Thị Hoàn Anh (2017). Vi nhân giống hồng môn (*Anthurium andraeanum*) qua nuôi cấy lớp mỏng tế bào. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 15 (2): 319 - 326.
15. Wang L. M., Wang X. G., Li J. Y., Li J., Zhang H. M. (2002). *Tissue culture and rapid propagation of Anthurium scherzerianum and Philodendron enbesoens cv Red Emerald of modern ornamental aroid*. *Acta Agric. Bor. Sin.*, 17 (1): 213 - 218.

STUDY ON ABILITY OF *IN VITRO* REGENERATION AND *EX VITRO* DEVELOPMENT GROWTH OF *Anthurium scherzerianum* Schott

Phan Xuan Huyen¹, Dinh Van Khiem¹,
Nguyen Thi Thanh Hang¹, Nguyen Thi Phuong Hoang¹

¹Tay Nguyen Institute for Scientific Research,
Vietnam Academy of Science and Technology

Summary

Anthurium scherzerianum Schott is an imported flower plant with high economic value. Currently, in our country, there is no publication of *in vitro* propagation and cultivation of *Anthurium scherzerianum*. This paper investigated ability of *in vitro* regeneration and *ex vitro* development growth of *Anthurium scherzerianum*. The results showed that MS medium supplemented with 0.3 mg/l - 0.5 mg/l BA combined with 0.1 mg/l 2,4-D were suitable for callus formation from young leaves (fresh weight of callus 0.19 g/explant - 0.20 g/explant, the rate of callus formation 80%). MS medium supplemented with 1.5 mg/l BA was suitable for the regeneration of shoots from callus (shoot height 2.98 cm, 25.10 shoots/explant, explant number of shoot regeneration 100%). MS medium supplemented with 0 mg/l - 1 mg/l IBA were suitable for *in vitro* formation (rate of root explant 100%). Coconut fiber powder was the best substrate for transfer of cultivated - tissue plants to the greenhouse (plant height 7.14 cm, root length 3.92 cm, survival rate 94.44%). The substrate of 70% coconut fiber powder + 20% charred rice husk + 10% goat dung was suitable for good development growth of plants and flowered in *ex vitro* conditions (plant height 22.42 cm, 1.30 flowers/pot, survival and flowering rate 100%). The climate of Da Lat - Lam Dong was suitable for cultivation of *Anthurium scherzerianum* Schott, the plants grew well after 8 months of cultivation and all flowered after 12 months of cultivation. Plants grew well and flowered more after 24 of cultivation (plant height 37.13 cm, number of flowers 3.2 flowers/pot), after 36 months of cultivation (plant height 47.79 cm, number of flowers 4.4 flowers/pot).

Keywords: *Anthurium scherzerianum* Schott, development growth, MS medium, plant height, root length, substrate.

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

Ngày nhận bài: 02/8/2021

Ngày thông qua phản biện: 6/9/2021

Ngày duyệt đăng: 13/9/2021