

# ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ ĐẾN SINH TRƯỞNG CỦA CHỒI DẠ YẾN THẢO (*PETUNIA HYBRIDA* L.) TRONG HỆ THỐNG VI THỦY CANH

## EFFECTS OF SOME FACTORS ON THE GROWTH OF *PETUNIA HYBRIDA* L. SHOOTS IN ESTABLISHED MICROPONIC CULTURE SYSTEM

Võ Thanh Phúc<sup>1,2\*</sup>, Nguyễn Phương Thy<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Bách khoa Tp. Hồ Chí Minh, Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>2</sup>Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Hồ Chí Minh, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ / Corresponding author: vothanhphuc@hcmut.edu.vn

(Nhận bài / Received: 16/8/2023; Sửa bài / Revised: 07/11/2023; Chấp nhận đăng / Accepted: 21/11/2023)

**Tóm tắt** - Dạ yến thảo có tên khoa học là *Petunia hybrida* L. Cây rất được ưa chuộng trên thị trường cây cảnh vì cho hoa đẹp, màu sắc phong phú và hương thơm dễ chịu. Phương pháp vi thủy canh kế thừa nhiều ưu điểm của kỹ thuật thủy canh và phương pháp vi nhân giống, góp phần nâng cao chất lượng cây con. Trong nghiên cứu này, một số yếu tố ảnh hưởng lên sự sinh trưởng của chồi Dạ yến thảo nuôi cấy trong điều kiện vi thủy canh được khảo sát. Từ các kết quả thu được, chồi sinh trưởng tốt khi được nuôi trong môi trường khoáng  $\frac{1}{2}$  MS, thể tích môi trường 30 mL, xử lý chồi với IBA 50 mg/L với thời gian 20 phút, mật độ 3 mẫu/bình với nắp có 2 lỗ thoáng khí (đường kính 0,5 cm). Chiều cao cây đạt 13,20 cm; số rễ trên cây là 32,50; chiều dài rễ là 4,58 cm; khối lượng khô 0,055 g sau 3 tuần nuôi cấy.

**Từ khóa** - *Petunia hybrida* L.; vi thủy canh; ra rễ

### 1. Mở đầu

Dạ yến thảo (*Petunia hybrida* L.) là loài cây ưa sáng và chịu nhiệt. Hoa nở nhiều, có nhiều màu sắc (trắng, hồng, đỏ...) và kiểu dáng cây cũng đa dạng [1]. Cây được ưa chuộng và thường được dùng để trang trí phổ biến ở sân vườn, quán ăn. Do đó, qui trình sản xuất giống hiệu quả cần được thiết lập để đáp ứng nhu cầu của thị trường. Hiện nay, nhiều quy trình nhân giống (từ hạt, nhân giống *in vitro*) đã được nghiên cứu [2, 3]. Tuy vậy, các qui trình này vẫn chưa được đánh giá hiệu quả cụ thể. Cây con có nguồn gốc *in vitro* thường có khả năng thích nghi ngoài vườn ươm kém do đã được quen với môi trường vô trùng và đầy đủ dinh dưỡng.

Kết hợp giữa kỹ thuật vi nhân giống và thủy canh, vi thủy canh sở hữu các điểm mạnh của 2 kỹ thuật này, giúp cây tăng trưởng nhanh hơn và khỏe mạnh hơn, giảm tỉ lệ chết của cây khi chuyển ra ngoài vườn ươm. Ngoài ra, hệ thống vi thủy canh còn có ưu điểm là một hệ thống mở, dễ thực hiện, dễ dàng thương mại hóa và vận chuyển cây giống [4]. Phương pháp này đã được tiến hành trên một số loài cây như cúc trắng [4], cúc vàng [5], chuỗi ngọc đại hoàng [6], chuỗi tiêu hồng [7], hoa chuông, sâm bố chính [8], cây giọt băng [9].

Nồng độ khoáng là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến sự hình thành cơ quan *in vitro*. Khoáng đa lượng nồng độ thấp được nhận thấy có tác dụng thúc đẩy sự hình thành rễ tốt hơn, vì các muối nồng độ cao có thể ức chế sự phát triển của rễ, ngay cả khi có mặt của các auxin trong môi trường nuôi cấy [10]. Bên cạnh đó, khi nuôi cấy vi thủy canh, thể tích môi trường cần được xác định sao cho mẫu được cung cấp đầy đủ

**Abstract** - *Petunia hybrida* L. is a beautiful flower that comes in a variety of colors and has a pleasant fragrance. It is very popular in the bonsai market. The microponic method inherits many advantages from hydroponic and micropropagation techniques, contributing to the improvement of seedling quality. The effect of some factors on the growth of *Petunia* shoots cultured in microponic conditions was investigated. The experimental results showed that using half-strength MS medium, a medium volume of 30 mL, pretreatment with IBA solution at a concentration of 50 mg/L for 20 minutes, 3 explants per bottle, and a cap with 2 ventilation holes (diameter 0.5 cm) helped shoots grow well in the microponic system. After 3 weeks of culture, plantlets had an average height of 13.20 cm, 32.50 roots, 4.58 cm root length, and 0.055 g dry weight.

**Key words** - *Petunia hybrida* L.; microponic system; rooting

chất dinh dưỡng, lượng oxy trong môi trường đủ cho rễ phát triển. Tiền xử lý auxin cũng đã ghi nhận mang lại hiệu quả rõ rệt so với bổ sung auxin vào môi trường, giúp chồi sinh trưởng và hình thành rễ tốt [4, 5]. Mật độ mẫu cây cũng ảnh hưởng nhiều đến chất lượng cây khi nuôi cấy, vì nó liên quan đến sự tương tác và cạnh tranh dinh dưỡng giữa các mẫu trong một bình nuôi. Ngoài ra, một yếu tố quan trọng khi nuôi cấy vi thủy canh là tìm ra điều kiện thoáng khí phù hợp. Điều kiện thoáng khí giúp tăng lượng không khí lưu thông ra và vào bình nuôi, từ đó gia tăng quá trình quang hợp, thoát được các chất độc tích tụ trong bình nuôi [4]. Điều kiện thoáng khí phù hợp cũng rất quan trọng đối với sự hình thành rễ và quá trình thích nghi khí hậu của cây con [11].

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm ra các điều kiện phù hợp để chồi Dạ yến thảo sinh trưởng và ra rễ trong điều kiện vi thủy canh. Nồng độ khoáng đa lượng, thể tích môi trường dinh dưỡng, việc tiền xử lý auxin, mật độ mẫu cây và điều kiện thoáng khí lần lượt được khảo sát, nhằm tạo cây con có chất lượng, thích nghi tốt khi được chuyển ra trồng trong điều kiện *ex vitro*.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.1. Vật liệu và điều kiện nuôi cấy

Mẫu cây là các chồi Dạ Yến Thảo có chiều cao 4 cm, đã được cắt bỏ phần lá dưới gốc. Cây được cung cấp bởi Viện sinh học nhiệt đới TP.HCM.

Điều kiện nuôi cấy là  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , chiếu sáng với cường độ 2500 - 2600 lux, 12 giờ/ ngày.

<sup>1</sup> Ho Chi Minh University of Technology, Hochiminh, Vietnam (Vo Thanh Phuc, Nguyen Phuong Thy)

<sup>2</sup> Vietnam National University Ho Chi Minh City, Hochiminh, Vietnam (Vo Thanh Phuc, Nguyen Phuong Thy)

Trong các thí nghiệm, mẫu được cấy vào các bình thủy tinh cây mô có thể tích 380 mL, cao 10 cm, đường kính bình 5,5 cm. Giá thể được sử dụng là ống hút nhựa trong suốt. Các ống hút này có đường kính là 1 cm được cắt thành các đoạn dài 2 cm, xếp đầy phần đáy bình để giá thể có thể đứng được. Phía ngoài bình (phần gần đáy bình) được dán băng keo đen (Hình 1). Bình được đậy kín bằng các tấm nylon chịu nhiệt. Môi trường dinh dưỡng không chứa đường sucrose, vitamin, sucrose, được chỉnh đến pH 5,8, không hấp khử trùng.

Ở các thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của khoáng đa lượng, thể tích môi trường, tiền xử lý auxin, mật độ mẫu cấy, trong tuần đầu, bình nuôi cấy được đậy kín. Sau đó, tiến hành đục 1 lỗ thoáng khí ở tuần thứ 2 và đục tiếp 1 lỗ thoáng khí với có kích thước 0,5 cm ở tuần thứ 3 trên nắp bình.



Hình 1. Bình vi thủy canh chồi Dạ Yến Thảo

## 2.2. Phương pháp

### 2.2.1. Nghiên cứu khả năng sinh trưởng của chồi trong các môi trường bổ sung hàm lượng khoáng đa lượng khác nhau

Các môi trường nuôi cấy được khảo sát lần lượt là môi trường Murashige Skoog (MS) [12] giảm còn 1/2, 1/3, 1/5 nồng độ khoáng đa lượng (1/2 MS, 1/3 MS, 1/5 MS) và môi trường 1/3 MS\* (môi trường MS giảm còn 1/3 nồng độ khoáng đa lượng với khoáng đa lượng giảm 1/2 hàm lượng  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ). Mỗi bình được cấy 4 mẫu.

### 2.2.2. Nghiên cứu khả năng sinh trưởng của chồi ở các thể tích môi trường khác nhau

Môi trường được sử dụng là 1/2 MS. Thể tích môi trường thay đổi lần lượt là 20 mL, 30 mL, 40 mL, 50 mL. Mỗi bình được cấy 4 mẫu.

### 2.2.3. Nghiên cứu khả năng sinh trưởng của chồi khi được tiền xử lý auxin

Mẫu được nuôi trong môi trường 1/2 MS, thể tích môi trường là 30 mL. Trước đó, phần gốc của mẫu cấy được nhúng vào dung dịch IBA với thời gian 20 phút, và được rửa lại bằng nước cất. Trong khi đó, phần gốc của các mẫu đối chứng được nhúng vào nước cất. Nồng độ IBA thay đổi lần lượt là 1; 5; 10; 50 ppm. Mỗi bình được cấy 4 mẫu.

### 2.2.4. Nghiên cứu khả năng sinh trưởng của chồi ở các mật độ mẫu cấy khác nhau

Môi trường dinh dưỡng là 1/2 MS với thể tích môi trường 30 mL. Mẫu được xử lý kích thích ra rễ với IBA 50 mg/L rồi cấy vào bình. Mật độ mẫu cấy thay đổi lần lượt là 3; 4; 5; 7 chồi/bình.

### 2.2.5. Nghiên cứu khả năng sinh trưởng của chồi trong các điều kiện thoáng khí khác nhau

Mẫu được xử lý ra rễ với IBA 50 mg/L rồi cấy vào môi trường 1/2 MS, thể tích môi trường 30 mL, 3 mẫu/ bình. Trong tuần đầu tiên, bình nuôi cấy được đậy kín. Sau đó, ở

tuần thứ 2, thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên gồm 4 nghiệm thức gồm không đục lỗ; đục 1 lỗ; đục 3 lỗ; đục 5 lỗ (đường kính lỗ 0,5 cm) trên nắp nylon của bình vi thủy canh. Ở tuần thứ 3 của quá trình nuôi cấy, tất cả các nắp ở các nghiệm thức đều được đục tiếp 1 lỗ với kích thước 0,5 cm.

## 2.3. Xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần và được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) với 4 bình/ nghiệm thức. Phương pháp phân tích phương sai một chiều (ANOVA) được áp dụng để xử lý dữ liệu bằng phần mềm SPSS phiên bản 20. Thử nghiệm Duncan được sử dụng để phân tích sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các nghiệm thức ( $\alpha = 0,05$ ). Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm chiều cao cây, số lá trên cây, số rễ trên cây, chiều dài rễ, khối lượng khô, hình thái cây được ghi nhận sau 3 tuần nuôi cấy.

## 3. Kết quả và thảo luận

### 3.1. Khả năng sinh trưởng của chồi trong môi trường bổ sung hàm lượng khoáng đa lượng khác nhau

Tất cả các thành phần trong môi trường MS đã được chứng minh là cần thiết cho sự phát triển của thực vật *in vitro*, trong đó có khoáng đa lượng. Kết quả cho thấy, môi trường 1/2 MS cho chiều cao cây cao nhất (11,93 cm). Chiều cao cây giảm khi giảm nồng độ khoáng đa lượng và đạt thấp nhất trên môi trường 1/5 MS (6,60 cm). Khối lượng khô đạt cao nhất trên môi trường 1/2 MS (0,044 g). Chỉ tiêu này cũng đạt khá cao trên môi trường 1/3 MS giảm 1/2 hàm lượng  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (Bảng 1). Tuy nhiên, ở môi trường 1/3 MS giảm 1/2 hàm lượng  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , chiều cao cây thấp hơn so với ở nghiệm thức 1/2 MS.

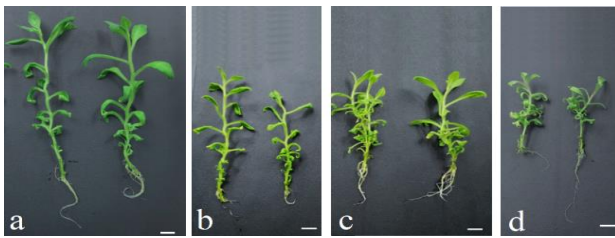
Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ khoáng đa lượng đến sinh trưởng của chồi sau 3 tuần nuôi cấy

Khoáng	Chiều cao cây (cm)	Số lá/ cây	Số rễ/ cây	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng khô (g)
1/2 MS	11,93 <sup>a</sup>	20,33 <sup>b</sup>	15,33 <sup>a</sup>	4,12 <sup>a</sup>	0,044 <sup>a</sup>
1/3 MS	8,40 <sup>b</sup>	31,67 <sup>a</sup>	13,50 <sup>a</sup>	2,53 <sup>a</sup>	0,024 <sup>b</sup>
1/3 MS*	9,03 <sup>b</sup>	39,33 <sup>a</sup>	15,50 <sup>a</sup>	4,47 <sup>a</sup>	0,043 <sup>a</sup>
1/5 MS	6,60 <sup>c</sup>	33,00 <sup>a</sup>	11,67 <sup>a</sup>	4,55 <sup>a</sup>	0,027 <sup>b</sup>

**Ghi chú:** Trong cùng một cột, các số có chữ cái (a, b, c) theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 0,05 qua phép thử Duncan

Ở môi trường 1/2 MS, các cây khoẻ, lá xanh đậm (Hình 2). Như vậy, môi trường 1/2 MS là môi trường khoáng phù hợp với chồi Dạ yến thảo khi nuôi cấy vi thủy canh.

Ở nghiệm thức 1/3 MS, các cây xanh tốt nhưng thân cây thấp hơn ở nghiệm thức 1/2 MS. Ở môi trường 1/3 MS giảm 1/2 hàm lượng  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , một số lá bị vàng. Trên môi trường 1/5 MS, cây thấp, thân mảnh và nhiều lá bị vàng (Hình 2d). Nguyên nhân có thể là do sự khác nhau của nồng độ khoáng đa lượng. Môi trường có nồng độ khoáng thấp sẽ không đáp ứng đủ nguồn dưỡng chất đảm bảo cho sự phát triển ổn định của cây. Môi trường dinh dưỡng thấp sẽ kích thích cây nhanh hình thành và kéo dài rễ nhằm tìm kiếm nguồn dưỡng chất đảm bảo cho sự phát triển ổn định của cây. Cây phát triển chiều cao kém ở môi trường 1/5 MS có thể là hàm lượng khoáng trong môi trường thấp, đặc biệt là sự thiếu hụt nguyên tố Mg. Đây là nguyên tố cần thiết cho sự sinh tổng hợp diệp lục tố đồng thời tham gia vào cấu trúc của một số enzyme như enzyme vận chuyển phosphate (GTPase, ATPase) [10].



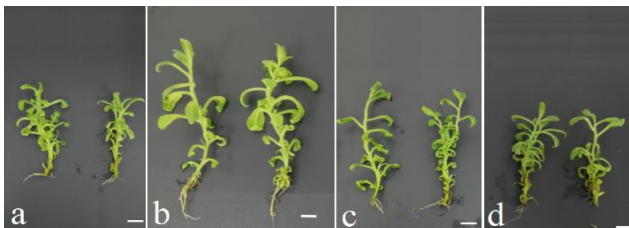
**Hình 2.** Mẫu cây được nuôi cấy ở các môi trường có hàm lượng khoáng khác nhau sau 3 tuần: a: 1/2 MS; b: 1/3 MS; c: 1/3 MS giảm 1/2 hàm lượng  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ; d: 1/5 MS (thanh kích thước 1 cm)

Trong quá trình vi thủy canh, việc giảm nồng độ khoáng đa lượng xuống không những giúp cây thích nghi tốt hơn ở điều kiện vườn ươm mà còn giúp hạn chế hiện tượng thủy tinh thể trên nhiều giống cây [4].

Các nghiên cứu trên các đối tượng khác cũng cho thấy việc giảm hàm lượng khoáng giúp gia tăng chất lượng cây. Hoàng Thanh Tùng cũng báo cáo môi trường 1/2 MS giúp cây hoa cúc trắng (*Chrysanthemum morifolium*) sinh trưởng tốt trong hệ thống vi thủy canh [4]. Võ Thanh Phúc khi nuôi cấy vi thủy canh cây hoa chuông cũng báo cáo môi trường 1/3 MS giúp chồi tăng trưởng và ra rễ tốt [8].

### 3.2. Khả năng sinh trưởng của chồi ở các thể tích môi trường khác nhau

Sau 3 tuần nuôi cấy, mặc dù tất cả các chồi ở các nghiệm thức đều ra rễ, nhưng khả năng sinh trưởng của chồi ở các thể tích môi trường là khác nhau. Dạ yến thảo trong hệ thống vi thủy canh. Đa số các chỉ tiêu sinh trưởng tăng khi thể tích môi trường tăng từ 20 đến 30 mL. Ở thể tích môi trường 30 mL, chồi sinh trưởng mạnh nhất (chiều cao chồi 10,88 cm, chiều dài rễ 2,48 cm, khối lượng khô 0,039 g); các cây xanh tốt; thân cao khỏe; rễ ngắn nhưng dày (Hình 3). Tuy nhiên, sự sinh trưởng của cây giảm khi thể tích môi trường tăng lên 40, 50 mL. Ở thể tích 40 mL, thân cây thấp và mảnh hơn ở nghiệm thức 30 mL. Ở nghiệm thức 20 và 50 mL, cây thấp, thân mảnh, số rễ ít (Hình 3).



**Hình 3.** Mẫu cây được nuôi cấy ở các thể tích môi trường khác nhau sau 3 tuần

a: 20 mL; b: 30 mL; c: 40 mL; d: 50 mL (thanh kích thước 1 cm)

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của thể tích môi trường dinh dưỡng đến sinh trưởng của chồi sau 3 tuần nuôi cấy

Thể tích (mL)	Chiều cao cây (cm)	Số lá/ cây	Số rễ/ cây	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng khô (g)
20	6,45 <sup>c</sup>	30,17 <sup>a</sup>	9,17 <sup>b</sup>	1,22 <sup>b</sup>	0,025 <sup>b</sup>
30	10,88 <sup>a</sup>	26,33 <sup>a</sup>	22,67 <sup>a</sup>	2,48 <sup>a</sup>	0,039 <sup>a</sup>
40	9,30 <sup>b</sup>	22,00 <sup>a</sup>	17,00 <sup>a</sup>	1,57 <sup>b</sup>	0,026 <sup>b</sup>
50	7,02 <sup>c</sup>	23,67 <sup>a</sup>	7,17 <sup>b</sup>	1,25 <sup>b</sup>	0,026 <sup>b</sup>

**Ghi chú:** Trong cùng một cột, các số có chữ cái (a, b, c) theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 0,05 qua phép thử Duncan

Nguyên nhân có thể là do ở thể tích môi trường 20 mL,

lượng chất dinh dưỡng cung cấp cho mẫu quá ít. Môi trường bay hơi và nhanh cạn, vì vậy chồi không thể tăng trưởng tốt. Ở thể tích 40 và 50 mL, lượng môi trường nhiều dẫn đến chồi phát triển chậm, ít rễ. Sự ngập nước dẫn đến tình trạng thiếu oxy ở thực vật do tốc độ khuếch tán của khí trong nước chậm và cạn kiệt carbohydrate [13]. Đây là nguyên nhân dẫn đến chồi sinh trưởng chậm ở nghiệm thức 50 mL. Bùi Thị Thu Hương, Đồng Huy Giới cũng thu được kết quả tương tự khi nuôi cấy chuối tiêu hồng nuôi cấy vi thủy canh. Các tác giả này cũng nhận thấy, khi tăng thể tích môi trường lên 50 mL, số rễ của cây giảm mạnh, cây thấp, lá yếu và thân mảnh. Chồi bị ngập trong môi trường nên đã gây ảnh hưởng xấu lên sự phát triển của chồi cũng như bộ rễ [7].

Ở nghiệm thức 30 mL, lượng chất lỏng sau khi bay hơi vừa đủ, tạo ra sự thông thoáng cho cây sinh trưởng và phát triển tốt. Các nghiên cứu khác về hệ thống vi thủy canh cũng cho thấy chồi sẽ sinh trưởng tốt nhất khi được nuôi cấy ở thể tích môi trường phù hợp. Bùi Thị Lan Hương và cộng sự nhận thấy chồi cúc vàng sinh trưởng tốt nhất ở thể tích môi trường 40 mL (so với các nghiệm thức có thể tích 20 mL, 30 mL, 50 mL, 60 mL) [5].

Như vậy, ở thí nghiệm này, thể tích môi trường 30 mL giúp chồi Dạ yến thảo sinh trưởng tốt nhất khi nuôi cấy vi thủy canh.

### 3.3. Khả năng sinh trưởng của chồi khi được tiền xử lý auxin ở các nồng độ khác nhau

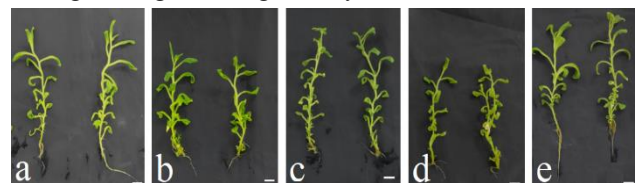
Sau 3 tuần nuôi cấy, tất cả các mẫu ở các nghiệm thức đều ra rễ. Số rễ ở các mẫu đối chứng, tiền xử lý với IBA 1, 10, 50 ppm là tương đương nhau, không có sự khác biệt về mật thông kê (Bảng 3).

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của việc xử lý tiền xử lý với IBA đến sinh trưởng của chồi sau 3 tuần nuôi cấy

IBA (mg/L)	Chiều cao cây (cm)	Số lá/ cây	Số rễ/ cây	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng khô (g)
0	13,2 <sup>a</sup>	16,00 <sup>b</sup>	22,00 <sup>ab</sup>	2,73 <sup>ab</sup>	0,034 <sup>c</sup>
1	13,57 <sup>a</sup>	20,00 <sup>ab</sup>	26,33 <sup>a</sup>	3,93 <sup>a</sup>	0,052 <sup>ab</sup>
5	12,53 <sup>ab</sup>	27,00 <sup>a</sup>	15,67 <sup>b</sup>	1,57 <sup>b</sup>	0,036 <sup>c</sup>
10	10,80 <sup>b</sup>	23,33 <sup>ab</sup>	18,67 <sup>ab</sup>	1,67 <sup>b</sup>	0,039 <sup>bc</sup>
50	13,80 <sup>a</sup>	22,33 <sup>ab</sup>	24,33 <sup>ab</sup>	3,47 <sup>a</sup>	0,056 <sup>a</sup>

**Ghi chú:** Trong cùng một cột, các số có chữ cái (a, b, c) theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 0,05 qua phép thử Duncan

Ở nghiệm thức đối chứng (không tiền xử lý với auxin), cây tuy cao nhưng thân mảnh và ít lá. Ở các nghiệm thức còn lại, các cây đều xanh tốt, thân dày. Khi xử lý với IBA 50 mg/L, rễ nhiều, dài hơn rõ rệt so với các nghiệm thức còn lại (Hình 4). Khối lượng khô thu được tốt nhất khi xử lý với IBA 50 mg/L. Ở nghiệm thức này, cây có bộ rễ phát triển tốt, vì vậy tăng thu nhận các chất dinh dưỡng từ môi trường và tăng khả năng tích lũy sinh khối khô.



**Hình 4.** Mẫu cây được xử lý IBA ở các nồng độ khác nhau sau 3 tuần: a: 0 mg/L; b: 1 mg/L; c: 5 mg/L; d: 10 mg/L; e: 50 mg/L; (thanh kích thước 1 cm)

Auxin là nhóm chất điều hòa sinh trưởng thực vật có tác dụng kích thích sự tăng trưởng và kéo dài tế bào. Auxin kích thích cây phát sinh rễ, giúp rễ cây phát triển về số lượng và chiều dài trong thời gian ngắn [10]. Bản thân thực vật đã sản sinh ra auxin tự nhiên. Khi chồi được cắt ra khỏi cây mẹ, auxin nội sinh từ đỉnh chồi sẽ được vận chuyển từ tế bào này đến tế bào khác nhờ các protein vận chuyển và xuống vị trí cắt để hình thành rễ. Tuy nhiên, lượng auxin nội sinh không đủ cho cây tạo rễ. Vì vậy, việc bổ sung thêm auxin tổng hợp giúp quá trình này xảy ra tốt hơn [14]. Auxin cần để kích thích sự hình thành mầm rễ; nhưng lại cản sự kéo dài của rễ. Khi nhân giống cây giọt băng (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) trong hệ thống vi thủy canh, Trương Thị Bích Phượng đã ghi nhận bổ sung trực tiếp IBA hay NAA vào môi trường không cho hiệu quả tốt bằng tiền xử lí với IBA hoặc NAA. Xử lý chồi với IBA ở nồng độ 0,5 mg/l giúp chồi ra rễ tốt nhất [9]. Trong khi đó, Dương Tân Nhựt và cộng sự báo cáo loại auxin phù hợp để xử lý ra rễ chồi hoa cúc là NAA. [15]. Có thể thấy, mỗi loài thực vật cần một loại auxin phù hợp khác nhau để kích thích sự hình thành và phát triển rễ. Ngoài ra, cơ chế tác động của từng loại auxin lên các loại cây vẫn chưa được hiểu rõ [13]. Như vậy, trong thí nghiệm này, tiền xử lý với IBA 50 mg/L giúp chồi Dạ yến thảo sinh trưởng và hình thành rễ tốt.

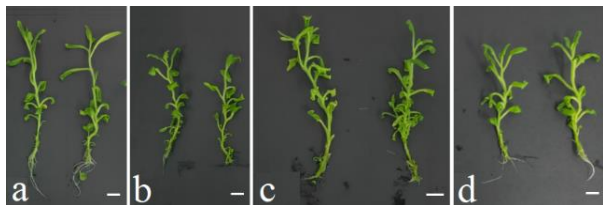
### 3.4. Khả năng sinh trưởng của chồi ở các mật độ mẫu cây khác nhau

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy, mẫu cây sinh trưởng và ra rễ tốt nhất ở mật độ 3 mẫu/ bình. Khi tăng số mẫu/ bình lên, chiều cao cây, số rễ, chiều dài rễ và khối lượng khô có xu hướng giảm (ngoại trừ số lá/ cây đạt cao nhất ở thí nghiệm thứ 5 mẫu/ bình) (Bảng 4).

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của mật độ mẫu cây đến sinh trưởng của chồi sau 3 tuần nuôi cấy

Số mẫu/ bình	Chiều cao cây (cm)	Số lá/ cây	Số rễ/ cây	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng khô (g)
3	12,98 <sup>a</sup>	16,20 <sup>b</sup>	31,40 <sup>a</sup>	3,30 <sup>a</sup>	0,040 <sup>a</sup>
4	10,48 <sup>b</sup>	15,00 <sup>b</sup>	20,60 <sup>b</sup>	2,12 <sup>ab</sup>	0,028 <sup>b</sup>
5	9,98 <sup>b</sup>	24,00 <sup>a</sup>	20,2 <sup>b</sup>	1,70 <sup>b</sup>	0,023 <sup>b</sup>
7	9,76 <sup>b</sup>	14,00 <sup>b</sup>	16,2 <sup>b</sup>	2,00 <sup>b</sup>	0,02 <sup>ab</sup>

**Ghi chú:** Trong cùng một cột, các số có chữ cái (a, b) theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 0,05 qua phép thử Duncan



**Hình 5.** Mẫu cây được nuôi cấy với các mật độ mẫu cây khác nhau sau 3 tuần a: 3 mẫu/bình; b: 4 mẫu/bình; c: 5 mẫu/bình; d: 7 mẫu/bình (thanh kích thước 1 cm)

Về mặt hình thái, ở mật độ mẫu cây 3 mẫu/bình, các cây xanh tốt; thân cây cao và khỏe; lá xanh đậm; rễ dài và nhiều, tốt hơn rõ rệt so với các thí nghiệm còn lại. Các thí nghiệm còn lại không có khác biệt đáng kể về hình thái, thân cây thấp hơn; rễ nhiều nhưng ngắn (Hình 5). Yildiz nhận thấy rằng, khi giảm mật độ mẫu cây trụ dưới lá mầm cây *Linum usitatissimum*, trọng lượng tươi và trọng

lượng khô của cây tăng lên; Có thể giải thích rằng khi giảm mật độ mẫu cây, lượng nước và dinh dưỡng mà mỗi mẫu cây nhận được sẽ cao hơn [16]. Khi nuôi cấy cây dâu tây, Trần Thị Thương và cộng sự cũng nhận thấy mật độ mẫu cây có ảnh hưởng lên sự hình thành rễ của mẫu. Ở mật độ cao (15 cây/ bình), giữa các mẫu có sự cạnh tranh về dinh dưỡng, ánh sáng, vì vậy không thể sinh trưởng tốt [17].

Như vậy, chồi Dạ yến thảo sinh trưởng tốt nhất ở mật độ 3 mẫu/ bình.

### 3.5. Khả năng sinh trưởng của chồi trong các điều kiện thoáng khí khác nhau

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy, ở thí nghiệm đối chứng (không đục lỗ thoáng khí vào tuần 2), mẫu tăng trưởng kém, các chỉ tiêu thu được đều thấp so với các thí nghiệm đục lỗ. Về mặt hình thái, cây có thân mảnh, rễ ngắn, đa số mẫu cây không ra rễ (Hình 6a). Như vậy, điều kiện thoáng khí giúp gia tăng nồng độ CO<sub>2</sub>, giúp cây tăng khả năng quang hợp và sinh trưởng tốt.

Khi đục 1 lỗ thoáng khí/nắp vào tuần thứ 2 của quá trình nuôi cấy, chiều cao cây (13,20 cm) và chiều dài rễ (4,58 cm) đạt tốt nhất. Ở thí nghiệm này, các cây xanh tốt; rễ khỏe và tốt hơn rõ rệt so với các thí nghiệm còn lại. Khi số lượng lỗ thoáng khí tăng lên 3 và 5 lỗ/ nắp, chiều cao cây và chiều dài rễ giảm xuống.

Các kết quả trên cho thấy, điều kiện thoáng khí giúp chồi phát triển tốt hơn. Khi nắp bình nuôi cấy được đậy kín, việc lưu thông không khí giữa trong và ngoài bình bị hạn chế, mẫu sinh trưởng trong điều kiện độ ẩm cao, đồng thời các khí như ethylene không thoát được ra ngoài, nên mẫu sinh trưởng kém. Majada và cộng sự đã nhận thấy khí khâu của cây con hoa cẩm chướng sinh trưởng trong bình nuôi cấy thoáng khí có chức năng tốt hơn so với cây sinh trưởng trong bình nuôi cấy kín [18]. Cây lan kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume) cũng sinh trưởng và phát triển chồi tốt hơn khi được nuôi cấy với nắp đậy thoáng khí so với nắp kín [19]. Bùi Thị Thu Hương cũng nhận thấy, chồi cúc ở bình mà nắp có 3 lỗ thoáng khí tăng trưởng tốt [5].

**Bảng 5.** Ảnh hưởng của điều kiện thoáng khí đến sinh trưởng của chồi sau 3 tuần nuôi cấy

Số lỗ/ nắp	Chiều cao cây (cm)	Số lá/ cây	Số rễ/ cây	Chiều dài rễ (cm)	Khối lượng khô (g)
0	7,80 <sup>c</sup>	12,25 <sup>c</sup>	3,50 <sup>b</sup>	0,5 <sup>c</sup>	0,016 <sup>b</sup>
1	13,20 <sup>a</sup>	20,25 <sup>ab</sup>	32,50 <sup>a</sup>	4,58 <sup>a</sup>	0,055 <sup>a</sup>
3	11,58 <sup>b</sup>	19,25 <sup>ab</sup>	25,75 <sup>a</sup>	3,83 <sup>ab</sup>	0,056 <sup>a</sup>
5	10,93 <sup>b</sup>	25,00 <sup>a</sup>	38,50 <sup>a</sup>	2,63 <sup>b</sup>	0,048 <sup>a</sup>

**Ghi chú:** Trong cùng một cột, các số có chữ cái (a, b, c) theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 0,05 qua phép thử Duncan



**Hình 6.** Mẫu được nuôi cấy ở các bình nuôi cấy thoáng khí sau 3 tuần

a, b, c, d: lần lượt là các mẫu cây ở các thí nghiệm được đục 0, 1, 3, 5 lỗ ở tuần thứ 2 của quá trình nuôi cấy (thanh kích thước 1 cm)

Tuy nhiên, khi độ thoáng khí quá cao, môi trường dinh dưỡng bay hơi nhanh chóng từ khoảng tuần thứ hai làm cây dừng phát triển vì cạn kiệt môi trường. Đây chính là nguyên nhân ở nghiệm thức có mức độ thoáng khí cao (5 lỗ/nắp), mẫu cây không phát triển tốt.

Như vậy, hệ thống vi thủy canh có nắp đục 1 lỗ thoáng khí/ nắp vào tuần thứ 2 và đục thêm 1 lỗ thoáng khí/ nắp vào tuần thứ 3 của quá trình nuôi cấy là phù hợp, giúp chồi Dạ yến thảo sinh trưởng tốt trong điều kiện vi thủy canh.

#### 4. Kết luận

Khi nuôi cấy vi thủy canh, các yếu tố như nồng độ khoáng đa lượng, thể tích môi trường dinh dưỡng, việc tiền xử lý auxin, mật độ mẫu cây và điều kiện thoáng khí đều có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của chồi Dạ Yến Thảo.

Môi trường 1/2 MS, thể tích môi trường 30 mL, tiền xử lý với IBA 50 mg/L trong 20 phút, mật độ 3 mẫu/bình với nắp có 2 lỗ thoáng khí (đục 1 lỗ vào tuần thứ 2 và 1 lỗ vào tuần thứ 3 của quá trình nuôi cấy) giúp chồi Dạ yến thảo sinh trưởng tốt. Chiều cao cây 13,20 cm; số rễ 32,50; chiều dài rễ 4,58 cm; khối lượng khô 0,055 g sau 3 tuần nuôi cấy.

Các kết quả của nghiên cứu này có thể góp phần hoàn thiện quy trình vi nhân giống Dạ Yến Thảo, tạo ra cây giống có chất lượng cao.

**Lời cảm ơn:** Nhóm tác giả xin cảm ơn Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh đã hỗ trợ cho nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] P. H. Ho, *An Illustrated Flora of Vietnam*, Tre Publishing House, 2000.
- [2] B. T. Cuc, D. H. Gioi, and B. T. T. Huong, "In vitro propagation of *Petunia hybrida*", *Journal of Forestry Science and Technology*, Vol. 7, pp. 3 – 10, 2017.
- [3] P. P. Thu and P. T. T. Hien, "Micropropagation of the dark pink wild draft *Petunia hybrida* Hort. ex Vilm.-Andr.", *Scientific report on biology research and teaching in Vietnam - 4th National Science Conference*, 2020, pp. 838 - 847.
- [4] H. T. Tung, T. T. B. Phuong, and D. T. Nhut, "Microponic system in propagation of *Chrysanthemum morifolium*", *Vietnam Journal of Biotechnology*, Vol. 13, No. 4, pp. 1127 – 1137, 2015.
- [5] B. T. T. Huong, H. T. T. Huong, D. T. Xuan, and D. H. Gioi, "Study affects some factors on the study of yellow chrysanthemum in the micro-hydroponic system", *Journal of Forestry Science and Technology*, No. 2, pp. 21 – 27, 2021.
- [6] B. T. T. Huong, D. H. Gioi, P. T. H. Lich, and T. H. Linh, "Research on micropropagation of Dai Hoang banana (*Musa spp.*)", *Journal of Forestry Science and Technology*, No 1, pp. 11 – 16, 2020.
- [7] B. T. T. Huong and D. H. Gioi, "Effect of some elements on the growth, the development of banana shoots (*M. acuminata*) in microponic system", *Journal of Forestry science and technology*, No. 9, pp. 11 – 16, 2020.
- [8] V. T. Phuc, N. D. Linh, and N. Duy, "Effects of Mineral Content and Auxin Pre-Treatment on the Growth of *Sinningia Speciosa* and *Hibiscus Sagittifolius* Kurz in Microponic System", *The University of Danang - Journal of Science and Technology*, Vol. 20, No. 9, pp. 43-48, 2022.
- [9] T. T. B. Phuong, N. T. Suong, N. D. Tuan, N. T. D. Khoa, and H. T. K. Hong, "Using microponic system in micropropagation of ice plant", *Scientific Report on Ecology and Biological Resources, 7th National Scientific Conference on Ecology and Biological Resources*, Ha Noi, 2017, pp. 1857 - 1865.
- [10] N. D. Luong and L. T. T. Tien, *Cell technology*, VNU-HCM Publishing House, 2011.
- [11] D. T. Nhut, H. T. Tung, and E.C. Yeung, *Plant Tissue Culture: New techniques and application in horticultural species of tropical region*, Springer, 2022.
- [12] T. Murashige and F. Skoog, "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures". *Physiologia Plantarum*, vol. 15, no. 3, pp. 473 – 497, 1962.
- [13] L. Mommer and E. J. Visser, "Underwater photosynthesis in flooded terrestrial plants: a matter of leaf plasticity", *Annals of botany*, vol 96, no 4, pp. 581-589, 2005.
- [14] P. Basuchaudhuri, "Auxins in rooting of cuttings", *Indian Journal of Plant Science*, vol. 10, pp. 69 – 85, 2021.
- [15] D. T. Nhut *et al.*, "Microponic and hydroponic techniques in disease-free chrysanthemum (*Chrysanthemum sp.*) production", *Journal of Applied Horticulture*, vol 7, no. 2, pp. 67 – 71, 2005.
- [16] M. Yildiz, Ç. Sağlık, C. T. Kahramanoğullari, and E. G. Erkilic, "The effect of *in vitro* competition on shoot regeneration from hypocotyl explants of *Linum usitatissimum*", *Turkish Journal of Botany*, vol. 35, no. 2, pp. 211 – 218, 2011.
- [17] T. T. Thuong *et al.*, "Production of *in vitro* strawberry (*Fragaria × ananassa*) plantlets in large-scale system supplemented with silver nanoparticles", *Journal of Biotechnology*, Vol. 19, No. 3, pp. 481 – 493, 2021.
- [18] J. P. Majada, M. I. Sierra, and R. Sanchez-Tames, "Air exchange rate affects the *in vitro* developed leaf cuticle of carnation", *Scientia Horticulturae*, vol. 87, no. 1-2, pp. 121 – 130, 2001.
- [19] V. Q. Luan *et al.*, "Influence of culture vessel volume and ventilation on *in vitro* culture and adenosine accumulation of *Anoectochilus setaceus* Blume)", *Journal of Biotechnology*, Vol. 15, No. 2, pp. 307 – 317, 2017.