

## HOÀN THIỆN QUY TRÌNH VI NHÂN GIỐNG CÂY HỒNG MÔN (*ANTHURIUM ANDREANUM* 'TROPICAL')

Phạm Thị Suong, Nguyễn Bá Nam, Hoàng Thanh Tùng, Hà Thị Mỹ Ngân, Nguyễn Thị Nhật Linh, Dương Tân Nhật\*

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

### TÓM TẮT

Hồng môn (*Anthurium andreanum*) là cây thân thảo lâu năm và có nguồn gốc từ vùng nhiệt đới Trung và Nam Mỹ, chúng được ưa chuộng bởi màu sắc đẹp và lâu tàn. Để thương mại hóa cây trồng này và đáp ứng nhu cầu ngày càng tăng của thị trường, vi nhân giống cây hoa Hồng môn đã được thực hiện. Trong bài báo này, sự thay đổi nồng độ khoáng trong môi trường MS và các chất điều hòa sinh trưởng (2,4-D, BA, NAA, IAA, IBA) ở nồng độ khác nhau được sử dụng để đánh giá tác động của chúng đến toàn bộ quy trình nhân giống cây Hồng môn (*Anthurium andreanum* 'Tropical'). Kết quả cho thấy, việc giảm ½ hàm lượng  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$  trong môi trường MS cơ bản (MS1) có thể giúp tăng khả năng hình thành mô sẹo thông qua nuôi cấy lá *in vitro*. Trên môi trường này tỉ lệ hình thành mô sẹo (79,48%) cao hơn trên môi trường MS (41,0%), khi cả hai loại môi trường đều kết hợp với 0,08 mg/l 2,4-D và 1 mg/l BA. Ở giai đoạn tạo chồi, môi trường MS1 lại vượt trội hơn so với MS khi giá tăng hệ số tạo chồi lên 2,61 lần (6,00 chồi/mẫu trong môi trường MS so với 15,67 chồi/mẫu trong môi trường MS1 sau 6 tuần nuôi cấy). Giai đoạn nhân nhanh chồi trên môi trường MS1 có bổ sung kết hợp 1 mg/l BA và 0,3 mg/l NAA cho hiệu quả cao nhất (22,67 chồi/mẫu) sau 1,5 tháng. Ở giai đoạn ra rễ, cây con hoàn chỉnh thích hợp nhất trên môi trường MS1 bổ sung 0,5 mg/l NAA.

*Từ khóa:* Hồng môn, khoáng, mô sẹo, nhân chồi, vi nhân giống

### MỞ ĐẦU

Hồng môn (*Anthurium andreanum*) là cây thân thảo lâu năm, có nguồn gốc từ vùng nhiệt đới Trung và Nam Mỹ, được ưa chuộng bởi màu sắc đẹp và hoa bền. Chúng là loài hoa cắt cành chính ở các nước nhiệt đới và cận nhiệt đới, cũng với hoa lan trở thành hai loài hoa nhiệt đới chiếm thị phần lớn trên thị trường hoa thế giới (Chen *et al.*, 2003). Với giá trị thương mại lớn, Hồng môn đã được chú ý trong vi nhân giống, nghiên cứu đầu tiên được thực hiện bởi Pierik và đồng tác giả (1974). Từ đó, vi nhân giống cây Hồng môn được thực hiện trên nhiều giống và nhiều loại mẫu cây khác nhau (lá, cuống lá, bông mo, hạt, chồi...). Các giống khác nhau có khả năng đáp ứng với môi trường nuôi cấy khác nhau nên tối ưu hóa môi trường nuôi cấy để phù hợp với từng giống là khâu quan trọng hoàn thiện quy trình nhân giống.

Môi trường nuôi cấy là nhân tố quan trọng quyết định sự thành công của một quy trình nhân giống. Trong đó, các nồng độ khác nhau của auxin và cytokinin trong sự cảm ứng tạo mô sẹo, hình thành cơ quan và nhân nhanh đã được nghiên cứu sâu rộng với một số lượng lớn cây trồng. Tuy nhiên, trên thực tế, ở các loài hay các giống khác nhau sẽ đáp ứng khác nhau với tỷ lệ auxin/cytokinin, tỉ lệ này không phải là cơ chế duy nhất kiểm soát sự phát triển thực vật *in vitro*. Một nghiên cứu đã chứng minh mối quan hệ phức tạp giữa thành phần môi trường và sự thay đổi phân tử cấu thành nên tế bào dẫn đến sự thay đổi trong quá trình tái sinh (Williams, 1995). Từ đó, nếu có thể tối ưu hóa thành phần khoáng của môi trường nuôi cấy có thể giảm được nồng độ chất điều hòa sinh trưởng cần thiết cho một quy trình vi nhân giống. Môi trường MS được Murashige và Skoog tạo ra cách đây hơn 50 năm khi nghiên cứu sự tăng trưởng của mô sẹo cây thuốc lá. Trước đây, môi trường MS (Murashige, Skoog, 1962) là môi trường sử dụng phổ biến cho cả sản xuất lẫn thí nghiệm. Tuy nhiên, MS không phải là môi trường thích hợp cho tất cả các loài cây và ở tất cả các giai đoạn khác nhau của một quy trình sản xuất giống. Vì vậy, các nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân giống ngoài việc khảo sát các nồng độ hormone thực vật đều tập trung nghiên cứu thành phần khoáng của môi trường, với mục đích hạn chế chi phí và lợi ích kinh tế nhưng vẫn đảm bảo sự sinh trưởng phát triển của cây giống. Nghiên cứu phải kể đến là: Gia tăng số lượng chồi *Vitex negundo* L. tái sinh trên môi trường MS bổ sung thêm 100 mg/l  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  và tăng lượng rễ khi sử dụng môi trường ½MS (Chandramu *et al.*, 2003). Khi giảm ½ lượng  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  trong môi trường MS, không hiệu quả trong quá trình vi nhân giống 'Jonagold' (Srisankarajad *et al.*, 1990). Trong nghiên cứu này, Hồng môn giống 'Tropical' (*Anthurium andreanum* 'Tropical' – giống Hồng môn trồng phổ biến ở nước ta) là đối tượng được sử dụng để nghiên cứu tác động của các mức độ khoáng đa lượng, vi lượng và hàm lượng  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$  trong môi trường MS đến giai đoạn tạo mô sẹo, tái sinh chồi, sự kết hợp của auxin, cytokinin lên quá trình nhân nhanh chồi và tạo rễ của quy trình nhân giống Hồng môn. Qua đó, chúng ta có thể chuẩn hóa quy trình nhân giống Hồng môn, rút ngắn thời gian nuôi cấy và tăng cường hiệu quả nhân giống.

### VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Mẫu lá từ cây *in vitro* 3 tháng tuổi (phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo giống cây trồng thuộc Viện Nghiên cứu Khoa học Tây nguyên) được cắt với kích thước  $0,8 \times 0,8$  cm, sau đó cấy vào các bình thủy tinh 250 ml chứa 40 ml môi trường. Các chất điều hòa sinh trưởng thực vật với nồng độ 0,08 mg/l 2,4-D và 1 mg/l BA (Nhut *et al.*, 2006) kết hợp với 30 g/l sucrose và 8 g/l agar được bổ sung vào các môi trường khoáng: MS (Murashige, Skoog, 1962) và môi trường MS cải biến: ½MS (Môi trường MS giảm một nửa các yếu tố đa lượng); MS1 (Môi trường MS giảm 1/2 các chất  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ); MS2 (Môi trường MS giảm 1/4 các chất  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ); MS3 (Môi trường MS giảm 1/2 thành phần các yếu tố vi lượng). Sau 8 tuần nuôi cấy, mẫu mô sẹo hình thành ở nghiệm thức tốt nhất trong giai đoạn cảm ứng tạo mô sẹo sẽ được cấy lên lượt trên các môi trường MS, ½MS, MS1, MS2 và MS3 bổ sung thêm 30 g/l sucrose, 8 g/l agar và 1,00 mg/l BA (Nhut *et al.*, 2006) cho thí nghiệm tái sinh chồi từ mô sẹo. Các môi trường với nồng độ khoáng khác nhau được

sử dụng trong hai thí nghiệm trên nhằm tìm ra môi trường khoáng thích hợp cho giai đoạn cảm ứng và tái sinh của quy trình nhân giống cây Hồng môn.

Giai đoạn nhân nhanh chồi và tạo cây hoàn chỉnh là bước tiếp theo trong quy trình nhân giống. Hiệu quả của hai giai đoạn này quyết định đến hiệu quả của toàn bộ quy trình nhân giống. Kế thừa môi trường khoáng tốt nhất ở giai đoạn tái sinh, chúng tôi chỉ khảo sát ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng ở giai đoạn tiếp theo. Từ đó, xác định môi trường thích hợp ở giai đoạn nhân nhanh chồi và tạo cây hoàn chỉnh. Ở giai đoạn nhân nhanh chồi, 1 mg/L BA kết hợp với NAA (0,1; 0,3; 0,5, 0,7; 1 mg/l), 8 g/l agar và 30 g/l sucrose được sử dụng để khảo sát khả năng nhân nhanh chồi từ các mô sẹo (0,5 × 0,5 cm, có các chồi nhỏ) hình thành trong giai đoạn tái sinh. Ở giai đoạn hình thành cây con hoàn chỉnh, các chồi *in vitro* có hai lá (1,5 - 2,0 cm) tách ra từ cụm chồi được cấy vào môi trường (tốt nhất ở thí nghiệm tái sinh) kết hợp với các loại auxin NAA, IAA, IBA ở các nồng độ khác nhau (0,1; 0,3; 0,5, 0,7; 0,9 và 1,1 mg/l) bổ sung 30 g/l sucrose, 8 g/l agar và 1 g/l than hoạt tính để khảo sát khả năng hình thành và phát triển của rễ từ chồi *in vitro*. Sau 6 tuần, cây Hồng môn *in vitro* hoàn chỉnh lấy ra từ các thí nghiệm được rửa sạch agar, xử lý bằng thuốc nấm Zodiac 80 WP trước khi trồng vào giá thể dương xỉ.

Điều kiện *in vitro*, môi trường được điều chỉnh pH 5,8 trước khi hấp ở 121°C, áp suất 1atm, trong 30 phút. Các thí nghiệm được đặt trong điều kiện nhiệt độ 25 ± 2°C, thời gian chiếu sáng 16 giờ/ ngày với cường độ chiếu sáng 45 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> và độ ẩm trung bình 55 - 65%. Riêng giai đoạn tạo mô sẹo thí nghiệm đặt trong điều kiện che tối. Điều kiện *ex vitro*, nhiệt độ 25 ± 2°C và độ ẩm tương đối 80 - 85%, sử dụng lưới đen để giảm độ sáng xuống 50 - 70% so với ánh sáng tự nhiên, phun sương 2 lần/ngày. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi lần thí nghiệm tiến hành trên 10 bình, mỗi bình cấy 3 mẫu. Các số liệu được thu nhận (sau 2, 6 và 8 tuần nuôi cấy) bao gồm chỉ tiêu: Mô sẹo (tỉ lệ hình thành, trọng lượng tươi, trong lượng khô). Nhân chồi (tỉ lệ hình thành, số chồi, chiều cao chồi). Ra rễ (chiều cao cây, trọng lượng tươi, khô của cây, số lá, chiều dài lá, chiều rộng lá, số rễ, chiều dài trung bình rễ). Riêng giai đoạn vườn ươm ghi nhận tỉ lệ sống sót sau 2 tuần. Số liệu được xử lý và phân tích bằng phần mềm SPSS 16.0 theo phép thử Duncan với α = 0,05.

**KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**Ảnh hưởng của nồng độ khoáng khác nhau lên khả năng hình thành mô sẹo từ mẫu lá của cây Hồng môn *Anthurium andreanum* 'Tropical'**

Sau 8 tuần nuôi cấy, ảnh hưởng của các nồng độ khoáng lên khả năng hình thành mô sẹo từ mẫu lá của cây Hồng môn (*Anthurium andreanum* 'Tropical') thể hiện qua các chỉ tiêu tỉ lệ tạo mô sẹo, trọng lượng tươi, trong lượng khô được trình bày ở Bảng 1.

**Bảng 1. Ảnh hưởng nồng độ khoáng khác nhau lên khả năng hình thành mô sẹo từ mẫu lá *in vitro* của cây Hồng môn *Anthurium adrsanum* 'Tropical'**

Môi trường	Tỉ lệ tạo mô sẹo (%)	Trọng lượng tươi (mg)	Trọng lượng khô (mg)	Hình thái mô sẹo
MS	41,03 <sup>ca</sup>	164,33 <sup>b</sup>	26,00 <sup>c</sup>	Vàng chanh nhạt, hình thành ở đầu gân chính
½MS	70,26 <sup>c</sup>	201,67 <sup>a</sup>	31,67 <sup>b</sup>	Vàng cam, hình thành ở mép bì cắt
MS1	79,48 <sup>d</sup>	337,67 <sup>a</sup>	49,00 <sup>a</sup>	Vàng đậm, hình thành ở mép cắt và toàn mẫu lá, mô sẹo dày
MS2	75,38 <sup>b</sup>	212,33 <sup>b</sup>	39,33 <sup>b</sup>	Vàng ở đầu mô sẹo, hình thành ở mép lá bị cắt
MS3	3,08 <sup>a</sup>	87,00 <sup>c</sup>	4,67 <sup>d</sup>	Mẫu hóa nâu, chết

<sup>a</sup> Các chữ cái a, b... trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với α = 0,05 trong phép thử Duncan's test.

Kết quả cho thấy, khả năng hình thành mô sẹo khác nhau khi nồng độ khoáng môi trường thay đổi. Việc giảm nồng độ NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> xuống ¼ hay ½ đều làm gia tăng tỉ lệ hình thành mô sẹo so với các nghiệm thức còn lại. Và tỉ lệ hình thành mô sẹo cao nhất (79,48%) trên môi trường MS1 (Môi trường MS có nồng độ NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> giảm ¼), tỉ lệ này giảm dần lượt khi nuôi cấy trên môi trường MS2 (môi trường MS có nồng độ NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> giảm ½) và môi trường ½MS là 75,38% và 70,26%. Ngược lại, trên môi trường MS3, tỉ lệ hình thành mô sẹo rất thấp (3,08%) do các mẫu lá dần hóa nâu và chết đi, các chỉ tiêu được ghi nhận trên môi trường này là thấp nhất. Không những cho tỉ lệ hình thành mô sẹo cao nhất, ở môi trường MS1 tiếp tục thể hiện khả năng hình thành mô sẹo ở chỉ tiêu về trọng lượng (trọng lượng tươi (337,67 mg) và trọng lượng khô (49,00 mg) cao hơn trọng lượng tươi (164,33 mg) và trọng lượng khô (26,00 mg) trên môi trường đối chứng MS. Thêm vào đó hình thái mô sẹo cũng có sự khác biệt rõ ràng. Trên môi trường MS, mô sẹo có màu xanh nhạt, chỉ hình thành ở đầu gân chính, có kích thước nhỏ hơn các nghiệm thức khác. Trên môi trường ½MS, mô sẹo có màu vàng đậm hơn ở các mép lá. Kết quả tốt nhất được ghi nhận là trên môi trường MS1, mô sẹo hình thành nhiều, có màu vàng đậm, cứng. Khả năng hình thành mô sẹo giảm dần khi nuôi cấy trên môi trường MS2. Mẫu lá trong môi trường MS3 hóa nâu và không có dấu hiệu cảm ứng (Hình 1a).

**Ảnh hưởng nồng độ khoáng khác nhau lên khả năng tái sinh chồi của mẫu mô sẹo *Anthurium andreanum* 'Tropical'**

Sau 6 tuần nuôi cấy, khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo của loài *Anthurium andreanum* 'Tropical' trên các môi trường MS, ½MS, MS1, MS2, MS3 có sự khác nhau (Bảng 2).

**Bảng 2. Ảnh hưởng nồng độ khoáng khác nhau lên khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo cây Hồng môn *Anthurium andreanum* 'Tropical'**

Môi trường	Số chồi (chồi/mẫu)	Trọng lượng tươi (mg)	Trọng lượng khô (mg)
------------	--------------------	-----------------------	----------------------

MS	6,00 <sup>c</sup>	303,33 <sup>b</sup>	40,00 <sup>d</sup>
½MS	7,00 <sup>c</sup>	857,33 <sup>a</sup>	107,33 <sup>c</sup>
MS1	15,67 <sup>a</sup>	1672,00 <sup>a</sup>	189,00 <sup>a</sup>
MS2	11,70 <sup>b</sup>	1072,00 <sup>b</sup>	124,00 <sup>b</sup>
MS3	6,00 <sup>c</sup>	266,00 <sup>c</sup>	30,33 <sup>d</sup>

\*Các chữ cái a, b,... trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với  $\alpha = 0,05$  trong phép thử Duncan

Kết quả cho thấy nồng độ khoáng trong môi trường ảnh hưởng rõ rệt lên khả năng hình thành chồi từ mô sẹo. Khi giảm nồng độ khoáng trong môi trường MS đến ½MS thì khả năng tạo chồi tăng nhưng không đáng kể. Tuy nhiên, trong lượng tươi, trong lượng khô thì tăng lên đáng kể. Khi giảm nồng độ  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$  trong môi trường MS khả năng tái sinh chồi tăng lên. Số chồi hình thành trên môi trường MS1 là 15,67 chồi/mẫu, cao hơn trên môi trường MS (6,00 chồi/mẫu) 2,61 lần, cao hơn trên môi trường ½MS (7,00 chồi/mẫu) 2,24 lần. Trên môi trường MS2, MS3 tỉ lệ tái sinh chồi cũng giảm, chất lượng chồi kém (Hình 1b). Chồi *in vitro* trên môi trường MS1 có màu xanh non, mập, cụp mô sẹo phát triển thêm nhiều mô sẹo có khả năng tái sinh chồi. Trên môi trường ½MS, MS2 các chồi hình thành ít hơn và mô sẹo có màu vàng sẫm

Thành phần môi trường nuôi cấy là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự tăng trưởng và phát triển của tế bào và mô thực vật trong nuôi cấy *in vitro*. Thành phần môi trường thay đổi tùy theo loài thực vật và bộ phận nuôi cấy. Trong nuôi cấy *in vitro*, các khoáng đa lượng và vi lượng trong môi trường nuôi cấy có ý nghĩa rất quan trọng trong quá trình cảm ứng hình thành mô sẹo và tái sinh chồi. Trong đó, nitrogen là một nhân tố khá quan trọng, tồn tại trong các cation và anion có trong môi trường MS là  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ . Ở loài cây này, Dufour và Guérinb (2005) nghiên cứu về ảnh hưởng yếu tố  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ , P, K, Ca lên sự phát triển và năng suất của *Anthurium andreanum* 'Tropical' nhưng chỉ dừng lại ở ngoài đồng ruộng. Mẫu là *ex vitro* *Anthurium andreanum* 'Tropical' cho tỉ lệ hình thành chồi chỉ đạt 34,3% sau 60 ngày (Nhut *et al.*, 2006). Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy tỉ lệ hình thành mô sẹo cao nhất (79,6%) khi sử dụng mẫu 'in vitro' và nuôi cấy các mẫu là này trong môi trường MS1. Kết quả cho thấy rằng nguồn mẫu, nồng độ các chất khoáng ảnh hưởng rất lớn tới tỉ lệ hình thành mô sẹo cũng như hình thái và khối lượng của mô sẹo. Trong môi trường MS1, nồng độ  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$  là hai thành phần quan trọng quyết định đến hàm lượng nitrogen trong môi trường. Nitrogen rất cần cho việc tạo ra acid amin, giúp mẫu là duy trì màu xanh, tuy hàm lượng nitrogen chỉ cần ít để quá trình cảm ứng xảy ra, nhưng nếu thiếu  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$  sẽ làm quá trình cảm ứng bị ức chế. Tương tự ở quá trình tái sinh chồi, hàm lượng nitrogen là thành phần không thể thiếu trong nuôi cấy *in vitro*, nhưng nồng độ trong môi trường MS cao, thì hạn chế khả năng tăng sinh và tái sinh chồi. Trong các nghiên cứu trước đây (Pierik *et al.*, 1974, Nhut *et al.*, 2006) đã sử dụng môi trường MS, ½MS trong nuôi cấy cây Hồng môn. Qua hai thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của nồng độ khoáng trong môi trường MS lên khả năng cảm ứng và tái sinh chồi, kết quả cho thấy môi trường MS1 là thích hợp nhất cho quá trình nhân giống Hồng môn *Anthurium andreanum* 'Tropical'.

**Ảnh hưởng của BA và NAA lên khả năng nhân nhanh chồi cây Hồng môn *Anthurium andreanum* 'Tropical'**

Sự kết hợp của BA và NAA ảnh hưởng lên khả năng nhân nhanh chồi cây Hồng môn (*Anthurium andreanum* 'Tropical') trên môi trường MS1 được ghi nhận sau 6 tuần nuôi cấy (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng BA và NAA lên khả năng nhân nhanh chồi cây Hồng môn *Anthurium andreanum* 'Tropical'

BA (mg/l)	NAA (mg/l)	Số chồi (chồi/mẫu)	Chiều cao chồi (cm)
-	-	3,33 <sup>a</sup>	1,33 <sup>b</sup>
1	-	13,67 <sup>a</sup>	1,43 <sup>b</sup>
1	0,1	11,33 <sup>a</sup>	2,77 <sup>a</sup>
1	0,3	22,67 <sup>a</sup>	3,57 <sup>a</sup>
1	0,5	8,33 <sup>a</sup>	2,17 <sup>a</sup>
1	0,7	7,67 <sup>a</sup>	1,73 <sup>a</sup>
1	1	5,00 <sup>a</sup>	1,33 <sup>b</sup>

\*Các chữ cái a, b, c,... trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với  $\alpha = 0,05$  trong phép thử Duncan's test

Mẫu mô sẹo nuôi cấy trên môi trường MS1 bổ sung 1 mg/l BA và NAA (0,1; 0,3, 0,5; 0,7; 1 mg/l) đều cho khả năng phát sinh chồi (Hình 1c). Chiều cao chồi và chất lượng chồi tốt hơn khi không bổ sung hoặc bổ sung BA đơn lẻ. Khi tăng nồng độ NAA thì số chồi, chiều cao chồi cũng tăng theo. Khả năng hình thành chồi cao nhất khi kết hợp 1 mg/l BA với 0,3 mg/l NAA (22,67 chồi/mẫu, chiều cao chồi 3,57 cm). Các chồi hình thành có lá màu xanh non, thân cứng cáp và có màu đỏ tím. Khi nồng độ NAA lớn hơn 0,3 mg/l, số chồi và chiều cao chồi giảm dần và các mẫu mô sẹo xuất hiện rõ từ cụp mô sẹo.

Theo nghiên cứu của Islam và đồng tác giả (2010), *Anthurium andreanum* cv. Nitias được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 1ml NAA và 1 mg/L BAP cho tỉ lệ hình thành chồi cao nhất (88,30%), trong thí nghiệm của chúng tôi các mẫu cho tỉ lệ phát sinh chồi 100% Trong nghiên cứu của Viégas và đồng tác giả (2007) lên quá trình nhân chồi ở loài *Anthurium andreanum* Linden ex André cv. 'Tropical' cho thấy sau 63 ngày nuôi cấy chi thu được 7,24 chồi/mẫu. Trong khi đó, chúng tôi đã thu được đến 22,67 chồi trên mẫu chi sau 42 ngày. Kết quả cho thấy sự kết hợp 1 mg/l BA với 0,3 mg/l NAA cho khả năng nhân nhanh chồi tốt nhất ở loài này.

**Ảnh hưởng của một số loại auxin lên khả năng ra rễ chồi Hồng môn *Anthurium andreanum* 'Tropical'**

Sự hình thành rễ từ các chồi nuôi cấy là giai đoạn quan trọng trong vi nhân giống cây trồng. Giai đoạn này quyết định đến sự thành công của giai đoạn ngoài vườn ươm. Các chất kích thích ra rễ được sử dụng trong giai đoạn này chủ yếu là các auxin. Trong thí nghiệm này, NAA, IAA, IBA ở các nồng độ khác nhau (0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9 và 1,1 mg/l) được sử

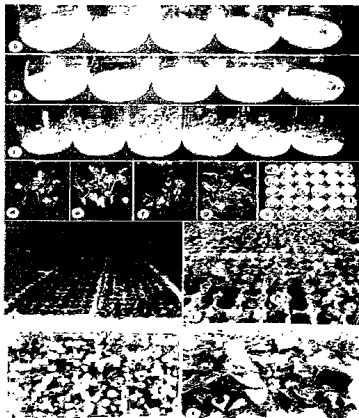
dụng để nghiên cứu ảnh hưởng của chúng lên sự hình thành rễ ở chồi Hồng môn. Sau 6 tuần nuôi cấy, các chỉ tiêu đánh giá ảnh hưởng của loại và nồng độ auxin lên khả năng ra rễ chồi Hồng môn nuôi cấy *in vitro* được trình bày ở Bảng 4. Kết quả cho thấy nghiệm thức có bổ sung 0,5 mg/l NAA, 0,7 mg/l IAA và 0,3 mg/l IBA cho các chỉ tiêu theo dõi cao hơn các nghiệm thức còn lại (Hình 1d, e, f, g). Trong đó, nghiệm thức bổ sung 0,5 mg/l NAA cho các chỉ tiêu số rễ (7,0), chiều cao chồi (4,8 cm), trọng lượng khô (35,67 mg) là cao nhất. IBA, IAA tỏ ra không thích hợp cho quá trình ra rễ chồi Hồng môn *Anthurium andreanum* 'Tropical'. Cây hình thành trên các nghiệm thức này có thân ngắn, mảnh, lá mỏng, rễ ít, trọng lượng khô thấp. Khi trồng ra vườn ươm sau 2 tuần, kết quả thu được cho thấy cây được xử lý bằng NAA cho tỉ lệ sống (99%) cao hơn khi xử lý bằng IBA (87,5%), IAA (79,3%) (Hình 1i). Nghiên cứu này cũng cho kết quả giống nghiên cứu của Joseph và đồng tác giả (2003) trên đối tượng *Anthurium andreanum* Hort khi bổ sung 0,54 µM naphthaleneacetic acid (NAA) cho quá trình ra rễ. Sau khi trồng ra vườn ươm, chúng tôi tiếp tục theo dõi sự phát triển của chúng sau 1, 2, 6 tháng (Hình 1j, k, l).

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của một số loại Auxin lên khả năng hình thành rễ cây Hồng môn *Anthurium andreanum* 'Tropical'

Nồng độ CDHSTTV (mg/l)	Chiều cao chồi (cm)			Trọng lượng tươi chồi (mg)	Trọng lượng khô chồi (mg)	Số lá	Chiều dài lá (cm)	Chiều rộng lá (cm)	Số rễ	Chiều dài trung bình rễ (cm)
	NAA	IAA	IBA							
-	-	-	3,9 <sup>abc</sup>	137,33 <sup>ab</sup>	15,33 <sup>abc</sup>	5,7 <sup>bc</sup>	1,1 <sup>defg</sup>	1,0 <sup>abc</sup>	4,0 <sup>abcd</sup>	0,6 <sup>de</sup>
0,1	-	-	2,8 <sup>ab</sup>	153,33 <sup>ab</sup>	15,00 <sup>abc</sup>	5,0 <sup>abc</sup>	1,1 <sup>defg</sup>	0,8 <sup>ab</sup>	4,7 <sup>abcd</sup>	0,5 <sup>e</sup>
0,3	-	-	4,5 <sup>b</sup>	324,00 <sup>c</sup>	17,67 <sup>ab</sup>	5,3 <sup>abc</sup>	1,3 <sup>bcdef</sup>	1,1 <sup>abcde</sup>	4,7 <sup>abcd</sup>	1,3 <sup>ab</sup>
0,5	-	-	4,8 <sup>b</sup>	450,00 <sup>a</sup>	35,67 <sup>a</sup>	6,7 <sup>a</sup>	1,5 <sup>bc</sup>	1,3 <sup>b</sup>	7,0 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>
0,7	-	-	3,7 <sup>abc</sup>	282,67 <sup>cd</sup>	21,67 <sup>ab</sup>	6,0 <sup>ab</sup>	1,2 <sup>bcde</sup>	1,0 <sup>abc</sup>	4,7 <sup>abcd</sup>	1,1 <sup>bc</sup>
0,9	-	-	3,2 <sup>c</sup>	213,67 <sup>cd</sup>	14,33 <sup>cd</sup>	5,0 <sup>abc</sup>	1,0 <sup>defg</sup>	1,0 <sup>abc</sup>	4,0 <sup>abcd</sup>	0,6 <sup>de</sup>
1,1	-	-	2,1 <sup>c</sup>	107,33 <sup>d</sup>	9,00 <sup>d</sup>	3,3 <sup>c</sup>	0,9 <sup>gh</sup>	0,7 <sup>bc</sup>	3,0 <sup>de</sup>	0,6 <sup>de</sup>
-	0,1	-	3,8 <sup>a</sup>	305,33 <sup>cd</sup>	25,00 <sup>c</sup>	4,3 <sup>bc</sup>	1,0 <sup>defg</sup>	0,8 <sup>ab</sup>	4,0 <sup>abcd</sup>	0,6 <sup>de</sup>
-	0,3	-	3,0 <sup>ab</sup>	193,33 <sup>d</sup>	18,00 <sup>d</sup>	4,7 <sup>bc</sup>	1,0 <sup>defg</sup>	0,8 <sup>ab</sup>	3,1 <sup>abcde</sup>	0,6 <sup>de</sup>
-	0,5	-	3,9 <sup>ab</sup>	211,00 <sup>d</sup>	21,67 <sup>cd</sup>	5,3 <sup>abc</sup>	1,0 <sup>defg</sup>	1,0 <sup>abc</sup>	4,0 <sup>abcd</sup>	0,9 <sup>cd</sup>
-	0,7	-	4,4 <sup>b</sup>	402,33 <sup>b</sup>	32,33 <sup>b</sup>	6,0 <sup>ab</sup>	2,1 <sup>a</sup>	1,6 <sup>a</sup>	5,3 <sup>bc</sup>	1,1 <sup>abc</sup>
-	0,9	-	3,8 <sup>ab</sup>	158,67 <sup>d</sup>	16,00 <sup>cd</sup>	5,3 <sup>abc</sup>	1,0 <sup>defg</sup>	1,0 <sup>abc</sup>	5,3 <sup>bc</sup>	0,5 <sup>e</sup>
-	1,1	-	2,7 <sup>b</sup>	143,67 <sup>cd</sup>	12,33 <sup>d</sup>	4,7 <sup>bc</sup>	0,7 <sup>hi</sup>	0,4 <sup>gh</sup>	2,7 <sup>de</sup>	0,4 <sup>e</sup>
-	-	0,1	2,3 <sup>c</sup>	137,33 <sup>cd</sup>	14,00 <sup>cd</sup>	4,3 <sup>bc</sup>	0,7 <sup>hi</sup>	0,4 <sup>gh</sup>	3,7 <sup>abcde</sup>	0,6 <sup>de</sup>
-	-	0,3	4,8 <sup>b</sup>	471,00 <sup>a</sup>	33,33 <sup>ab</sup>	6,7 <sup>a</sup>	1,5 <sup>bc</sup>	1,2 <sup>bc</sup>	6,3 <sup>ab</sup>	1,2 <sup>ab</sup>
-	-	0,5	4,1 <sup>c</sup>	228,67 <sup>c</sup>	22,67 <sup>cd</sup>	5,3 <sup>abc</sup>	1,3 <sup>bcde</sup>	1,0 <sup>abc</sup>	5,3 <sup>bc</sup>	1,2 <sup>ab</sup>
-	-	0,7	2,7 <sup>b</sup>	130,67 <sup>cd</sup>	12,67 <sup>cd</sup>	4,0 <sup>cd</sup>	0,7 <sup>gh</sup>	0,5 <sup>gh</sup>	3,7 <sup>abcde</sup>	0,7 <sup>de</sup>
-	-	0,9	2,1 <sup>c</sup>	138,67 <sup>cd</sup>	14,67 <sup>cd</sup>	5,3 <sup>abc</sup>	0,5 <sup>h</sup>	0,5 <sup>gh</sup>	3,7 <sup>abcde</sup>	0,6 <sup>de</sup>
-	-	1,1	2,0 <sup>d</sup>	117,67 <sup>d</sup>	9,67 <sup>d</sup>	4,3 <sup>bc</sup>	0,5 <sup>h</sup>	0,4 <sup>gh</sup>	2,3 <sup>e</sup>	0,5 <sup>de</sup>

\*Các chữ cái a, b, c... trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa với  $\alpha = 0,05$  trong phép thử Duncan.

**Hình 1** Quy trình nhân giống Hồng môn *Anthurium andreanum* 'Tropical'. a. Cầm ứng tạo mô sẹo từ mẫu lá, b. Tái sinh chồi từ mô sẹo, c. Chồi Hồng môn nhân nhanh trên môi trường MS1 có bổ sung 1 mg/l BA kết hợp với NAA ở các nồng độ khác nhau (0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1 mg/l) (từ trái sang phải), d, e, f, g. Ra rễ trên môi trường MS1 có bổ sung nồng độ chất DHSTTV lần lượt là 0, 5 mg/l NAA, 7 mg/l IAA, 0,3 mg/l IBA (từ trái sang phải); h. Cây *in vitro*, i. Cây con *ex vitro* sau 2 tuần; j. Cây *ex vitro* sau 1 tháng; k. Cây *ex vitro* sau 2 tháng, l. Cây *ex vitro* sau 6 tháng



**KẾT LUẬN**

Mỗi loại cây phát triển tốt trên một môi trường nhất định. Môi trường MS giảm ½ các thành phần NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> là thích hợp nhất cho quá trình tạo mô sẹo, tái sinh chồi cũng như toàn bộ quá trình nhân giống Hồng môn *Anthurium andreanum* 'Tropical'. Việc bổ sung 1 mg/l BA và 0,3 mg/l NAA là tốt nhất cho quá trình nhân nhanh chồi cao nhất ở loài cây này. Cũng trên môi trường này khi bổ sung 0,5 mg/l IAA thì cho hiệu quả trong việc tạo rễ và phát triển của cây con trong *in vitro* và *ex vitro*.

## Lời cảm ơn

Các tác giả xin chân thành cảm ơn Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (Nafosted), Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên đã hỗ trợ kinh phí cho đề tài nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chandramu C, Rao DM, Reddy VD (2003). High frequency induction of multiple shoots from nodal explants of *Vitex negundo* L. using sodium sulphate. *J Plant Biotech*, 5: 107-113.
- Dufour I, Guerin V (2003). Growth developmental features and flower production of *Anthurium andreanum* Lind. In tropical conditions *Scientia Horticulturae*, 98 (1), 25-35
- Islam SA, Dewan MMR, Mukul MMR, Hossen MA, Khatun F (2010). *In vitro* regeneration of *Anthurium andreanum* cv. Nitta. *Bangladesh J Agril Res*, 35 (2): 217-228.
- Joseph D, Martin KP, Madassery J, Philip VJ (2003) *In vitro* propagation of three commercial cut flower cultivars of *Anthurium andreanum* Hort. *Ind J Exp Biol*, 41, 154-159
- Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures *Physiol Plant*, 15, 473-497.
- Nhut DT, Duy N, Vy NNH, Khue CD, Khiem DV, Vinh DN (2006). Impact of *Anthurium* spp genotype on callus induction derived from leaf explants, shoot and root regeneration capacity from callus. *J Applied Herb*, 8 (2): 135-137
- Pienk RLM, Steegmansand HMM, Van der Meys JAJ (1974). Plantlet formation in callus tissues of *Anthurium andreanum* Lind. *Scien Hort*, 2 193-198.
- Preece JE (1995). Can nutrient salts partially substitute for plant growth regulators. *Plant Tiss Cult Biotech*, 1: 28-37.
- Sharafi Y (2010). Biological characteristics of pollens in some genotypes of *Rosa canina* as main factors affecting fruit set *Afr J Med Plants Res*, 4 (20): 2173-2175.
- Skiskandarajah S, Skirvin RM, Abu Qaoud H (1990) The effect of some macronutrients on adventitious root development on scion apple cultivars *in vitro*. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 21: 185-189.
- Viegas J, Rosa da Rocha MF, Ferreira IM, Celina da Rosa D, Almeida de Souza J, Correa MGS, Teixeira da Silva JA (2007) *Anthurium andreanum* (Linden ex Andre) culture *in vitro* and *ex vitro* *Floricult Ornamental Biotech*, 1: 61-65
- Williams RR (1995). The chemical micro-environment. Ailken-Christie J, Kozai T, Smith MAL, eds Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture *Dordrecht. Kluwer Academic*, 1: 405-439.

## EFFICIENT PROTOCOL FOR MICROPROPAGATION OF ANTHURIUM ANDREANUM 'TROPICAL'

Pham Thi Suong, Nguyen Ba Nam, Hoang Thanh Tung, Ha Thi My Ngan, Nguyen Thi Nhat Linh, Duong Tan Nhut  
Tay Nguyen Institute for Scientific Research, Vietnam Academy of Science and Technology

## SUMMARY

*Anthuriums (Anthurium andreanum)* are perennial, herbaceous plant, and native to Central and North America. They are widespread owing to their attractive, colorful, and long-lasting flowers. In order to satisfy demand for the product, a large number of studies of *Anthurium* micropropagation have been carried out. For the purpose of estimating the effect of mineral salts concentration and plant growth regulators on the propagation of *Anthurium (Anthurium andreanum 'Tropical')*, MS medium with half amount of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  and  $\text{KNO}_3$  (MS1) and basal MS medium (MS) supplemented with different concentrations of 2,4-D, BA, NAA, IAA and IBA were utilized. Results showed that leaf explants cultured on MS1 medium supplemented with 0.08 mg/l 2,4-D, and 1 mg/l BA resulted in the highest increase of callus formation (79.48%), and the shoot regeneration on MS1 medium containing 1 mg/l BA was 2.61-fold higher than on MS medium with same plant growth regulators after six weeks of culture. Shoot multiplication was the best achieved from callus explant on MS1 medium containing 1.0 mg/l BA, 0.3 mg/l NAA, 30 g/l sucrose, 8 g/l agar. The combinations of BA (1.0 mg/l) and NAA (0.3 mg/l) gave the best multiple shoot formation response with an average of 22.67 shoots per explant. Data also showed that MS1 medium supplemented with 0.5 mg/l NAA is suitable for plant regeneration.

**Key words:** *Anthurium*, callus, micropropagation, mineral, shoot formation

\*Author for correspondence: duongtannhut@gmail.com