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

Phan Xuân Huyên[1, *], Đinh Văn Khiêm[1],
Nguyễn Thị Thanh Hằng[1], Nguyễn Thị Phượng Hoàng[1]

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 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$, nhiệt độ 25 ± 2^0C 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