

NGHIÊN CỨU VI NHÂN GIỐNG CÂY TRẦU BÀ ĐẾ VƯƠNG ĐỎ (*Philodendron* ‘Imperial Red’)

Trịnh Thị Hương¹, Nguyễn Thị Vân Anh¹, Phạm Ngọc Trâm¹,
Trần Kim Chi¹, Lại Đình Biên¹, Trần Trọng Tuấn^{2*}

¹Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

²Viện Sinh học Nhiệt đới

*Email: trantrongtuan.itb@gmail.com

Ngày nhận bài: 23/5/2022; Ngày chấp nhận đăng: 26/9/2022

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, quy trình vi nhân giống cây trầu bà đế vương đỏ (*Philodendron* ‘Imperial Red’) từ mẫu chồi nuôi cấy *in vitro* được thực hiện. Kết quả thu được cho thấy, môi trường MS (Muraghige và Skoog) bổ sung 1,5 mg/L benzyl adenine (BA) là môi trường thích hợp cho giai đoạn nhân nhanh, với số lượng chồi mới tạo thành 6,50 chồi/mẫu sau 6 tuần nuôi cấy. Trong giai đoạn tiếp theo, chồi được chuyển sang môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/L indole-3-butyric acid (IBA) để tạo rễ. Sau 8 tuần nuôi cấy ở điều kiện *in vitro*, tỷ lệ cây con ra rễ 100% với trung bình 14,55 rễ/mẫu, chiều dài đạt 4,38 cm và số lá đạt 6,83. Các cây con sau đó thích nghi tốt khi được đưa ra trồng ở điều kiện vườn ươm, với tỷ lệ sống 100%, trung bình chiều cao cây 6,80 cm, chiều dài lá 5,27 cm, chiều rộng lá 2,90 cm và chỉ số diệp lục (SPAD) là 11,68 sau 4 tuần trồng. Khí khổng và chỉ số SPAD của cây ở các giai đoạn nuôi trồng khác nhau cũng được quan sát ở nghiên cứu này. Số lượng khí khổng gia tăng dần theo thứ tự các giai đoạn: cây nuôi cấy ở giai đoạn *in vitro*, cây trồng ở vườn ươm, và cây được trồng ở điều kiện tự nhiên (cây thành thực). Chỉ số SPAD cũng có sự thay đổi, theo thứ tự gia tăng dần là: cây trồng ở vườn ươm, cây nuôi cấy ở giai đoạn *in vitro*, và cây được trồng ở điều kiện tự nhiên (cây thành thực). Các kết quả đạt được của nghiên cứu góp phần xây dựng một quy trình vi nhân giống loài cây này có hệ số nhân giống cao, chất lượng cây giống tốt, cung cấp cây giống cho thị trường cây cảnh ở Việt Nam.

Từ khóa: Benzyl adenine (BA), Indole-3-butyric acid (IBA), khí khổng, SPAD, trầu bà đế vương đỏ, vi nhân giống.

1. MỞ ĐẦU

Ngày nay, cùng với sự phát triển của kinh tế, xã hội, nhu cầu đưa cây cảnh vào không gian sống của con người ngày tăng nhanh. Trồng cây cảnh trong nhà ngoài mục đích trang trí còn đóng góp vai trò giống như một bộ lọc giúp cải thiện chất lượng không khí trong nhà [1]. *Philodendron* là một chi lớn thứ hai của họ Araceae và bao gồm hơn 500 loài có nguồn gốc từ châu Mỹ nhiệt đới và cận nhiệt đới và Tây Ấn, các cây thuộc chi này hiện nay đang rất được ưa chuộng trên thị trường cây cảnh. Tại Đài Loan, nó được xếp hạng vào nhóm mười loại cây phổ biến trong ngành trồng hoa [2]. *Philodendron* ‘Imperial Red’ là một loài lai, cây có tán lá rộng, lá hình tim, thuôn dài nhọn ở đầu, khi còn non lá có màu đỏ tía hoặc xanh nõn, khi trưởng thành thì chuyển thành màu xanh lục đậm hoặc đỏ thẫm nên loài cây này rất phù hợp cho mục đích trồng chậu và trang trí nội thất. Để đáp ứng nhu cầu ngày càng tăng đối với cây trầu bà đế vương đỏ thì việc nhân giống là điều cần thiết. Phương pháp nhân giống truyền thống loài cây này chủ yếu là giâm cành. Tuy nhiên, phương thức nhân giống này cho số lượng

cây con từ mỗi lần giâm thấp do số lượng hom có thể được tạo ra từ mỗi cây thấp, cây dễ nhiễm bệnh và tốn thời gian công sức [2]. Do đó, việc tìm ra phương thức nhân giống mới nhằm sản xuất được lượng cây giống lớn trong thời gian ngắn và kiểm soát được nhiễm bệnh là rất cần thiết. Hiện nay, vi nhân giống là một trong những kỹ thuật rất tiềm năng để giải quyết được các vấn đề nói trên. Một số nghiên cứu nhân giống từ các nguồn vật liệu khởi đầu khác nhau như chồi bên, đốt thân, phiến lá,... ở *Philodendron* đã được báo cáo [2-9]. Tuy nhiên, mỗi loài có kiểu gen khác nhau, nên quy trình tối ưu cho nhân giống các loài khác nhau cũng có sự thay đổi. Trong nghiên cứu này, quy trình vi nhân giống cây trầu bà đế vương đỏ (*Philodendron* ‘Imperial Red’) được thực hiện, nhằm mục đích xây dựng quy trình nhân giống loài cây này với hệ số nhân giống cao, chất lượng cây giống tốt, làm cơ sở cung cấp cây giống cho thị trường cây cảnh ở Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Nghiên cứu sử dụng nguồn mẫu thực vật ban đầu là chồi của cây trầu bà đế vương đỏ (*Philodendron* ‘Imperial Red’) được nuôi cấy *in vitro* trong môi trường MS [10] có bổ sung 30 g/L sucrose, 8,0 g/L agar, do Phòng thí nghiệm Công nghệ tế bào, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM cung cấp.

Các môi trường cơ bản sử dụng trong nghiên cứu là môi trường MS có bổ sung 30 g/L sucrose, 8,0 g/L agar, pH 5,8 trước khi hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, áp suất 1 atm trong 15 phút. Tùy thuộc vào mục đích của mỗi thí nghiệm mà các chất điều hòa sinh trưởng thực vật (BA hoặc IBA) với nồng độ khác nhau được bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Môi trường MS sử dụng ở dạng pha sẵn và các chất điều hoà sinh trưởng thực vật sử dụng trong nghiên cứu thuộc hãng Duchefa Biochemie (Hà Lan).

2.2. Phương pháp

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của BA đến khả năng nhân nhanh chồi của cây trầu bà đế vương đỏ

Mẫu chồi *in vitro* của cây trầu bà đế vương đỏ 8 tuần tuổi có kích thước 1,0 cm được nuôi cấy trên môi trường cơ bản MS có chứa 30 g/L sucrose; 8,0 g/L agar; pH 5,8. Để nhân nhanh chồi, chất điều hoà sinh trưởng thực vật BA được bổ sung vào môi trường nuôi cấy ở các nồng độ khác nhau: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L; đối chứng là môi trường không bổ sung BA. Các chỉ tiêu theo dõi là: Tỷ lệ mẫu tạo chồi; số chồi/mẫu và chiều cao chồi.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của IBA lên khả năng ra rễ của chồi và sự thích nghi của cây con khi trồng ở vườn ươm

Để cảm ứng tạo rễ *in vitro* cho mẫu chồi thu nhận được sau giai đoạn nhân nhanh, các chồi có kích thước 1,5 cm được tách riêng, sau đó nuôi cấy trên môi trường MS cơ bản có bổ sung IBA với các nồng độ khác nhau: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L. Đối chứng là môi trường không bổ sung IBA. Các chỉ tiêu theo dõi là: Tỷ lệ mẫu ra rễ; số rễ/mẫu; chiều cao cây, số lá/cây.

Sau 8 tuần nuôi cấy, các cây con *in vitro* hoàn chỉnh thu nhận được ở các nghiệm thức được chuyển ra vườn ươm nhằm đánh giá sự thích nghi và khả năng sinh trưởng của chúng.

Quy trình đưa cây con ra vườn ươm:

(1) Các bình chứa cây con sau 8 tuần nuôi cấy ở điều kiện *in vitro* sẽ được chuyển ra khỏi phòng nuôi cấy và đặt ở vườn ươm trong 5 ngày để cây con tập thích nghi dần với điều kiện nhiệt độ, ánh sáng của vườn ươm.

(2) Nắp bình chứa cây con được mở và để trong thời gian 1-2 ngày để giảm độ ẩm trong bình, giúp cây con quen dần với độ ẩm của vườn ươm.

(3) Cây con được lấy ra khỏi các bình nuôi và rửa bằng nước để loại bỏ agar còn dính trên bề mặt rễ. Tiếp theo, cây được trồng vào chậu nhựa chứa giá thể gồm hỗn hợp gồm tro trấu và xơ dừa được phối trộn theo tỷ lệ 1:1. Cuối cùng, các chậu cây được tưới nước và đặt ở vị trí thích hợp để theo dõi.

Chăm sóc và theo dõi khả năng thích nghi của cây con ở vườn ươm:

Cây con được đặt ở vườn ươm có trang bị hệ thống lưới đen che mát, và lắp đặt hệ thống tưới phun sương tự động. Tần suất tưới phun sương là 3 lần/ ngày vào các thời điểm: 7 giờ; 11 giờ và 15 giờ. Thời gian của mỗi lần tưới phun sương là 5 phút.

Sau khi trồng được 3 tuần, cây con đã thích nghi được với điều kiện ở vườn ươm thì bắt đầu bổ sung thêm dung dịch MS pha loãng 100 lần để cung cấp thêm dinh dưỡng cho cây sinh trưởng.

Để đánh giá khả năng thích nghi của cây con, các chỉ tiêu theo dõi gồm: Tỷ lệ cây sống sót (%); chiều cao cây (cm), chiều rộng và chiều dài của lá (cm); chỉ số SPAD (hàm lượng chlorophyll); số lượng khí khổng được ghi nhận sau 4 tuần trồng ở vườn ươm.

Chỉ số SPAD: Được đo bằng máy đo hàm lượng chất diệp lục Hansatech CL-01 (Hasatech Instruments LTD, Anh), vị trí đo ở lá số 3 đếm từ ngọn xuống.

Đếm và quan sát khí khổng tế bào khí khổng được thực hiện trên kính hiển vi Olympus: Dùng keo sơn móng tay quét một lớp mỏng lên bề mặt trên và dưới lá, để khô lớp keo, cẩn thận bóc nhẹ lớp keo đặt lên tiêu bản và quan sát dưới kính hiển vi với các độ phóng đại 10X và 40X. Sau đó, đếm số lượng khí khổng trên một trường hiển vi ở độ phóng đại 10X.

2.3. Điều kiện thí nghiệm

Các thí nghiệm nuôi cấy *in vitro* được đặt ở điều kiện nhiệt độ phòng $24 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm trung bình 50-60%, thời gian chiếu sáng là 12 giờ/ngày, cường độ chiếu sáng 2.500 ± 3.00 lux.

Vườn ươm có nhiệt độ trung bình $32 \pm 2^\circ\text{C}$, cường độ ánh sáng 1.300 ± 200 lux và độ ẩm 40-50%. Các thông số này được đo vào thời điểm 9-10 giờ sáng.

2.4. Xử lý thống kê

Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Các số liệu thí nghiệm được thu thập, xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và phần mềm Statgraphic Centurion XV theo phép thử LSD với độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng BA lên khả năng nhân nhanh chồi của cây trầu bà đế vương đỏ

Một số nghiên cứu trên các cây thuộc chi *Philodendron* cho thấy, BA có tác dụng kích thích sự tái sinh và nhân nhanh chồi [2-6, 11]. Trong nghiên cứu này, BA được bổ sung vào môi trường nuôi cấy ở các nồng độ từ 0 - 2,0 mg/L nhằm tìm ra nồng độ BA thích hợp để nhân nhanh chồi cây trầu bà đế vương đỏ. Kết quả thu được sau 6 tuần nuôi cấy cho thấy, ở nghiệm thức không bổ sung BA, không quan sát thấy có sự hình thành chồi mới; trong khi đó, ở tất cả các nghiệm thức có bổ sung BA đều có sự xuất hiện chồi mới (Bảng 1, Hình 1). Điều này chứng tỏ BA có vai trò tích cực trong việc gia tăng khả năng nhân nhanh chồi ở cây trầu bà đế vương đỏ. Tỷ lệ mẫu tạo chồi mới đều đạt 100% ở các nghiệm thức có bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy. Tuy nhiên, số lượng chồi và chiều cao chồi có sự khác biệt giữa các nồng độ BA khác nhau. Số lượng chồi gia tăng dần cùng với sự gia tăng nồng độ của BA bổ sung vào

môi trường nuôi cấy từ 0,5-1,5 mg/L, sau đó giảm khi tiếp tục tăng nồng độ BA lên 2,0 mg/L (Bảng 1, Hình 1). Như vậy, bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy giúp kích thích gia tăng số lượng chồi tạo thành từ đó giúp nâng cao hệ số vi nhân giống cây trà bả đế vương đỏ, tuy nhiên khi nồng độ BA bổ sung vào môi trường nuôi cấy vượt quá ngưỡng cần thiết lại hạn chế số lượng chồi tạo thành. Kết quả thu được ở nghiên cứu này cũng tương đồng với các báo cáo của Rayle và cộng sự và Babu và cộng sự đó là trong các môi trường có nồng độ cytokinin cao sẽ cản trở sự hình thành chồi, cụm chồi [12, 13]. Tương tự, Gangopadhyay và cộng sự cũng chỉ ra rằng, bổ sung BA (4,95 mg/L) vào môi trường nuôi cấy cho phép nhân nhanh chóng chồi cây *Philodendron 'Xanadu'*, nhưng việc giảm dần nồng độ của BA là điều cần thiết để có được cây con khỏe mạnh, nếu không BA sẽ ngăn cản sự tăng trưởng và phát triển của chồi [9].

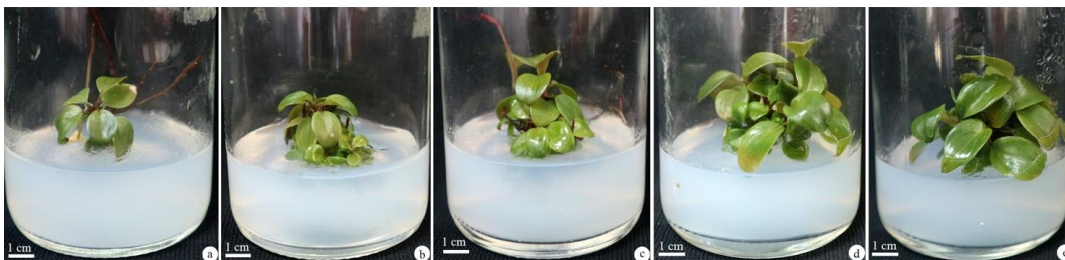
BA là một chất điều hoà sinh trưởng thực vật thuộc nhóm cytokinin có tác động đến sự phân chia tế bào [14], vì vậy ở thí nghiệm này, khi nồng độ BA bổ sung vào môi trường nuôi cấy càng gia tăng (từ 0,5-2,0 mg/L) thì chiều cao của chồi cũng tăng theo. Quan sát hình thái nhận thấy, đường kính của lá thu nhận được ở các nghiệm thức cũng gia tăng dần cùng với sự gia tăng nồng độ BA (Hình 1).

Bảng 1. Kết quả ảnh hưởng của BA lên khả năng tạo chồi cây trà bả đế vương đỏ sau 6 tuần nuôi cấy

Nồng độ BA (mg/L)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)
0	-	-	-
0,5	100	2,92 ^c ± 0,16	1,37 ^{d*} ± 0,04
1,0	100	4,75 ^b ± 0,16	2,13 ^c ± 0,02
1,5	100	6,50 ^a ± 0,22 ^a	3,14 ^b ± 0,03
2,0	100	5,17 ^b ± 0,21	3,45 ^a ± 0,08

*: Các chữ cái a, b,... trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy chiều cao chồi thu nhận được ở nghiệm thức 1,5 mg/L BA (3,14 cm) thấp hơn 2,0 mg/L BA (3,45 cm); tuy nhiên, sự chênh lệch về chiều cao giữa hai nghiệm thức này không quá lớn. Số lượng chồi tạo thành đạt cao nhất là 6,50 chồi/mẫu ghi nhận được ở nghiệm thức 1,5 mg/L BA. Số lượng chồi tạo thành có ý nghĩa rất quan trọng vì nó giúp nâng cao hiệu quả vi nhân giống, vì vậy ở nghiên cứu này nồng độ BA thích hợp để bổ sung vào môi trường nuôi cấy trong giai đoạn nhân nhanh chồi là 1,5 mg/L.



Hình 1. Ảnh hưởng của BA lên khả năng nhân nhanh chồi của cây trà bả đế vương đỏ sau 6 tuần nuôi cấy. (a): 0,0 mg/L BA; (b): 0,5 mg/L BA; (c): 1 mg/L BA; (d): 1,5 mg/L BA; (e): 2 mg/L BA

3.2. Ảnh hưởng của IBA lên khả năng ra rễ *in vitro* của chồi và đánh giá sự thích nghi của cây con khi trồng ở vườn ươm

*Khả năng ra rễ *in vitro* của chồi:*

Tạo rễ cho chồi là giai đoạn cuối cùng của quá trình nhân giống *in vitro*. Trong nghiên cứu này, các chồi thu nhận được từ giai đoạn nhân nhanh được chuyển sang môi trường có bổ

sung IBA để cảm ứng ra rễ. Kết quả thu được sau 8 tuần nuôi cấy cho thấy, 100% số chồi đều ra rễ ở tất cả các nghiệm thức. Ở nghiệm thức không bổ sung IBA cây con thu nhận được có số lượng rễ trung bình đạt 4,50 rễ với chiều dài rễ 2,45 cm và số lá trung bình là 4,83; kết quả này cho thấy cây trầu bà đế vương đỏ là đối tượng dễ tái sinh rễ *in vitro*. Kết quả tương tự cũng được ghi nhận trong một nghiên cứu khác của Chen và cộng sự chồi của 3 giống *Philodendron* ('Imperial Red', 'Imperial Green' và 'Imperial Rainbow') đều tái sinh rễ *in vitro* trong môi trường có hoặc không có bổ sung IBA [2].

Ở các nghiệm thức bổ sung IBA, các chỉ tiêu như số lượng rễ, chiều cao cây và số lá đều cao hơn nghiệm thức đối chứng. Trong đó, nghiệm thức bổ sung 0,5 mg/L IBA cho kết quả tốt nhất với trung bình số rễ là 14,56, chiều cao cây là 4,38 cm và số lá là 6,83. Khi tăng nồng độ IBA lên từ 1,0-2,0 mg/L số lượng rễ giảm dần. Số lượng rễ giảm, dẫn tới khả năng hấp thụ các chất dinh dưỡng cung cấp cho cây qua rễ giảm, kết quả là chiều cao cây cũng giảm dần ở các nghiệm thức bổ sung IBA từ 1,0-2,0 mg/L. Trong khi đó, số lá/cây thu nhận được không có sự khác biệt thống kê giữa các nghiệm thức có bổ sung IBA (Bảng 1, Hình 2a). Như vậy, bổ sung IBA vào môi trường nuôi cấy không chỉ kích thích sự hình thành rễ mà còn ảnh hưởng đến chiều cao trung bình của cây, còn số lá thì ít bị ảnh hưởng bởi nồng độ IBA. Kết quả tương tự cũng được báo cáo trong nghiên cứu của Phạm Thị Thu Hằng và cộng sự ở đối tượng cây trầu bà cánh phượng (*P. xanadu*) [11].

Bảng 2. Ảnh hưởng của IBA lên khả năng tạo rễ của chồi sau 8 tuần nuôi cấy ở điều kiện *in vitro*

Nồng độ IBA (mg/L)	Số rễ/cây	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây
0	4,50 ^e ± 0,29	2,45 ^d ± 0,03	4,83 ^{b*} ± 0,17
0,5	14,56 ^a ± 0,30	4,38 ^a ± 0,06	6,83 ^a ± 0,44
1,0	12,47 ^b ± 0,29 ^b	4,06 ^b ± 0,02	6,67 ^a ± 0,33
1,5	8,33 ^c ± 0,33 ^c	3,96 ^b ± 0,02	6,67 ^a ± 0,17
2,0	5,67 ^d ± 0,33 ^d	2,81 ^c ± 0,10	6,00 ^a ± 0,29

*: Các chữ cái a, b, ... trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Khi quan sát hình thái, kết quả thu được cho thấy cây có lá màu xanh đậm, phát triển khoẻ mạnh, riêng ở nghiệm thức không bổ sung IBA thì lá có màu xanh nhạt hơn; thân cây có màu hơi đỏ tím. Phần rễ nằm ở trong môi trường kéo dài và mọc sâu xuống đáy bình, còn các rễ được tái sinh ở phần thân nằm trên hoặc gần bề mặt môi trường nuôi cấy thì có xu hướng mọc ngược lên trên bề mặt thoáng. Trên rễ có nhiều lông tơ, phần đầu chóp rễ thường có màu đỏ (Hình 2a, 3a₀).

Đánh giá sự thích nghi của cây con khi trồng ở vườn ươm:

Để đánh giá tỷ lệ sống sót và khả năng thích nghi của cây con khi được chuyển ra trồng ở điều kiện vườn ươm, tất cả các cây con thu nhận được từ các nghiệm thức môi trường nuôi cấy có bổ sung IBA và đối chứng sẽ được đem ra trồng và theo dõi ở điều kiện vườn ươm trong 4 tuần.

Quá trình chuyển cây con ra vườn ươm và khả năng thích nghi của cây ngoài vườn ươm là một giai đoạn quan trọng có ảnh hưởng đến sự thành công của vi nhân giống. Cây *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường thạch có độ ẩm bão hoà, và điều kiện nhiệt độ phòng nuôi lý tưởng; do vậy khi cây được chuyển ra trồng trong giá thể mới ở vườn ươm, có sự thay đổi mạnh mẽ về nhiệt độ và độ ẩm, cây chưa thích nghi kịp thời và thường bị chết, kết quả là tỷ lệ sống sót của cây nuôi cấy *in vitro* khi được chuyển ra trồng ở vườn ươm thường không cao. Trong nghiên cứu này, để giúp cây con có tỉ lệ sống sót cao và sinh trưởng tốt, cây con sẽ được trải qua một giai đoạn huấn luyện để tập thích nghi dần với điều kiện ở vườn ươm theo quy trình ở đã nêu ở phần phương pháp (quy trình đưa cây con ra vườn ươm). Sau 4 tuần theo dõi

ngoài vườn ươm, kết quả thu được rất khả quan về khả năng thích nghi của cây con, cụ thể cây con ở tất cả các môi trường nuôi cấy khi được đưa ra trồng ở vườn ươm đều đạt tỷ lệ sống sót là 100%, và các cây con đều sinh trưởng khoẻ mạnh (Bảng 3, Hình 2b). Điều này chứng minh khả năng sinh trưởng mạnh mẽ của loài cây này. Sự sinh trưởng mạnh mẽ của trâu bà đế vương đỏ cũng đã được báo cáo trong nghiên cứu trước đó của Hoàng Thị Loan và cộng sự [15].

Mặc dù, tỷ lệ sống sót của cây con đều đạt 100%, nhưng có sự khác biệt thống kê về các chỉ tiêu sinh trưởng như chiều cao cây, chiều dài và chiều rộng lá giữa các nghiệm thức với nhau. Trong đó, các cây con thu nhận từ nghiệm thức môi trường nuôi cấy có bổ sung 0,5 mg/L IBA cho các chỉ tiêu sinh trưởng đạt cao nhất. Sau đó, sự sinh trưởng của các cây con thu nhận được từ các nghiệm thức môi trường nuôi cấy bổ sung IBA từ 1,0-2,0 mg/L giảm dần. Chỉ số SPAD phản ánh hàm lượng chlorophyll trong lá, có vai trò rất quan trọng đối với quá trình quang hợp ở thực vật. Kết quả thu được ở nghiên cứu này cho thấy, chỉ số SPAD ghi nhận được tương quan thuận với các chỉ tiêu sinh trưởng của cây. Tại nghiệm thức 0,5 mg/L IBA cây có chiều dài và chiều rộng lá đạt cao nhất nên chỉ số SPAD ghi nhận được tại nghiệm thức này cũng đạt cao nhất (Bảng 3).

Bảng 3. Kết quả theo dõi sự sinh trưởng cây con ở điều kiện vườn ươm sau 4 tuần nuôi trồng

Nồng độ IBA (mg/L)	Tỷ lệ cây sống sót (%)	Chiều cao cây (cm)	Chiều dài lá (cm)	Chiều rộng lá (cm)	Chỉ số SPAD
0,0	100	3,87 ^d ± 0,09	4,10 ^c ± 0,06	1,73 ^c ± 0,03	5,51 ^{e*} ± 0,11
0,5	100	6,80 ^a ± 0,06	5,27 ^a ± 0,28	2,90 ^a ± 0,06	11,68 ^a ± 0,34
1,0	100	5,13 ^b ± 0,03	4,67 ^b ± 0,09	2,73 ^{ab} ± 0,09	8,92 ^b ± 0,07
1,5	100	4,27 ^c ± 0,09	4,33 ^c ± 0,09b	2,67 ^b ± 0,03	7,86 ^c ± 0,13
2,0	100	4,30 ^c ± 0,06	3,53 ^d ± 0,03	2,57 ^b ± 0,03	6,03 ^d ± 0,09

*: Các chữ cái a, b, ... trong cùng một cột thể hiện sự sai khác có nghĩa thống kê với $p < 0,05$.



Hình 2: Ảnh hưởng của IBA lên khả năng ra rễ của cây trâu bà đế vương đỏ. (a): Cây con ra rễ sau 8 tuần nuôi cấy ở điều kiện *in vitro* (cây trước khi được đem đi trồng ở vườn ươm); (b): Cây con sinh trưởng sau 4 tuần nuôi trồng ở vườn ươm; (0,0-2,0): tương ứng với các nồng độ của IBA (0-2,0 mg/L) bổ sung vào môi trường nuôi cấy.

Các kết quả trên cũng chỉ ra rằng, giai đoạn ra rễ *in vitro* không chỉ ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của cây con khi nuôi cấy ở điều kiện *in vitro*, mà còn ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của cây ở giai đoạn vườn ươm. Trên môi trường nuôi cấy có bổ sung 0,5 mg/L IBA, các cây con ở giai đoạn nuôi cấy *in vitro* có số rễ, chiều cao và số lá đạt cao nhất (Bảng 2, Hình 2a), nên khi được chuyển ra vườn ươm, khả năng thích nghi của cây ở nghiệm thức này cũng đạt cao nhất, kết quả là sự sinh trưởng của chúng sau 4 tuần trồng ở vườn ươm là tốt nhất (Bảng 3, Hình 2b).

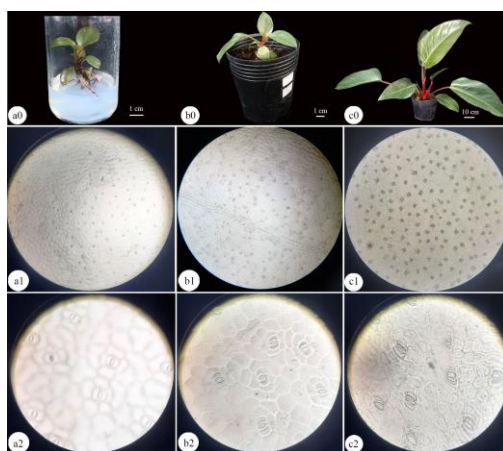
Như vậy, 0,5 mg/L IBA là nồng độ thích hợp để bổ sung vào môi trường nuôi cấy cho quá trình ra rễ ở cây trầu bà đế vương đỏ, với tỷ lệ sống sót của cây con đạt 100% và cây sinh trưởng tốt ngoài vườn ươm.

Trong nghiên cứu này, số lượng và hình thái khí khổng, chỉ số SPAD của cây trầu bà đế vương đỏ nuôi trồng ở các giai đoạn khác nhau cũng được ghi nhận. Kết quả cho thấy, không có sự khác biệt đáng kể về hình thái khí khổng giữa ba giai đoạn, nhưng số lượng và kích thước khí khổng gia tăng dần theo thứ tự: cây nuôi cấy ở giai đoạn *in vitro* (8 tuần tuổi), cây trồng ở vườn ươm (4 tuần), và cây được trồng ở điều kiện tự nhiên (cây thành thực) (Bảng 4, Hình 3). Chỉ số SPAD cũng có sự khác nhau giữa các giai đoạn khác nhau (Bảng 4). Ở cây tự nhiên, do cây đã cây sinh trưởng khoẻ mạnh, tán lá phát triển nên chỉ số SPAD của cây ghi nhận đạt cao nhất. Ở giai đoạn vườn ươm, chỉ số SPAD ghi nhận đạt thấp nhất. Nguyên nhân là do ở giai đoạn này cây được chuyển từ điều kiện *in vitro* ra điều kiện *ex vitro* nên cây đang cần thích nghi dần với điều kiện mới. Chỉ số SPAD của các cây ở giai đoạn *in vitro* cao hơn các cây ở giai đoạn vườn ươm có thể giải thích là do ở giai đoạn *in vitro* các cây nuôi cấy được đặt dưới ánh sáng nhân tạo có cường độ cao hơn (2.500 ± 300 lux) ở giai đoạn vườn ươm (1.200 ± 200 lux) do vườn ươm có che phủ lưới đen.

Bảng 4. Đánh giá số lượng khí khổng và chỉ số SPAD của cây trầu bà đế vương đỏ ở các giai đoạn nuôi trồng khác nhau

Giai đoạn sinh trưởng	Số lượng khí khổng ^(*)	Chỉ số SPAD
Cây con nuôi cấy <i>in vitro</i> 8 tuần (tại nồng độ 0,5 mg/L BA)	85	23,97
Cây con trồng vườn ươm 4 tuần tuổi (tại nồng độ 0,5 mg/L BA)	101	11,07
Cây trồng ở điều kiện tự nhiên	181	64,69

*: giá trị trung bình của 3 lần đếm số lượng khí khổng trong một trường kính hiển vi ở vật kính 10X.



Hình 4. Hình thái cây và khí khổng của cây trầu bà đế vương đỏ ở các giai đoạn nuôi trồng khác nhau. (a₀): cây ở giai đoạn nuôi cấy *in vitro* 8 tuần tuổi; (b₀): cây ở giai đoạn vườn ươm sau 4 tuần; (c₀): cây thành thực ở điều kiện tự nhiên. (a₁-c₁): hình thái khí khổng quan sát dưới vật kính x10; (a₂-c₂): hình thái khí khổng quan sát dưới vật kính 40X.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đưa ra được một quy trình nhân giống cây trầu bà đế vương hiệu quả. Trong đó, môi trường thích hợp để nhân nhanh chồi là MS + 1,5 mg/L BA với số chồi mới tạo thành đạt 6,5 chồi/mẫu, chiều cao trung bình là 3,14 cm sau 6 tuần nuôi cấy. Đối với giai đoạn ra rễ, môi trường thích hợp là MS + 0,5 mg/L IBA + 30 g/L đường + 8,0 g/L agar, cây con ra rễ nhiều, sinh trưởng tốt khi được trồng ở điều kiện vườn ươm với tỷ lệ sống sót đạt 100%. Các kết quả cũng chỉ ra rằng, chỉ số SPAD, số lượng và kích thước khí khổng của cây trầu bà đế vương do nuôi trồng ở các giai đoạn khác nhau (*in vitro*, vườn ươm, trong tự nhiên) là khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Llewellyn D. and Dixon M. A. - Can plant really improve indoor air quality. In: Grodzinski B., King W. A., Yada R. (Eds.). *Comprehensive biotechnology*. In: Young M. M., (Ed.), *Agricultural and related biotechnologies*, second ed., Elsevier, Oxford **4** (2011) 331-338.
2. Chen F.C., Wang C.Y. and Fang J.Y. - Micropropagation of self-heading *Philodendron* via direct shoot regeneration. *Scientia Horticulturae* **141** (2012) 23-29.
3. Jambor B.E. and Marta R.A. - *In vitro* propagation of *Philodendron tuxtlanum* Bunting with benzylaminopurine. *Acta Agronomica Hungaria* **39** (1990) 341-348.
4. Zhang P., Huang X., Xu X. and Ling D. - Plant regeneration from *in vitro* culture of *Philodendron erubescens*. *Journal of Tropical and Subtropical Botany* **5** (1997) 78-80.
5. Kumar D., Tiwari J.P. and Singh R. - *In vitro* clonal propagation of *Philodendron pertusum*. *Indian Journal of Horticulture* **55** (1998) 340-343.
6. Koriesh E.M. and Al-Manie F.A. - Growth and root formation of *Philodendron oxycardium* grown *in vitro* as affected by benzyladenine and indole acetic acid. *Egyptian Journal of Horticulture* **27** (2000) 1-11.
7. Vardja R. and Vardja T. - The effect of cytokinin type and concentration and the number of subcultures on the multiplication rate of some decorative plants. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences, Biology and Ecology* **50** (2001) 22-32.
8. Sreekumar S., Mukunthakumar S. and Seeni S. - Morphogenetic responses of six *Philodendron* cultivars *in vitro*. *Indian Journal of Experimental Biology* **39** (2001) 1280-1287.
9. Gangopadhyay G., Bandyopadhyay T., Gangopadhyay S.B. and Mukherjee K.K. - Luffa sponge - a unique matrix for tissue culture of *Philodendron*. *Current Science* **86** (2004) 315-319.
10. Murashige T. and Skoog F. - A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* **15** (1962) 473-497.
11. Phạm Thị Thu Hằng, Nguyễn Thanh Hải, Nguyễn Thị Thùy Linh, Nguyễn Thị Thủy, Đặng Thị Thanh Tâm, Nguyễn Thị Phương Thảo - Nhân nhanh *in vitro* cây trầu bà cánh phượng (*Philodendron xanadu*). *Tạp chí Khoa học và Phát triển* **11** (6) (2013) 826-832.
12. Rayle D.L, Ross C.W. and Robinson N. - Estimation of osmotic parameters accompanying zeatininduced growth of detached cucumber cotyledons. *Plant Physiology* **70** (1982) 1634 - 1636.

13. Babu K.N., Sajina A., Mino D., John C.Z., Mini P.M., Tushar K.V., Rema J. and Ravindran P.N. - Micropropagation of camphor tree (*Cinnamomum camphora*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture **74** (2003) 179-183.
14. Sakakibara H. - Cytokinins: Activity, biosynthesis, and translocation. Annual Review of Plant Biology **57** (2006) 431-449.
15. Hoàng Thị Loan, Vũ Thị Hải Yến, Nguyễn Quang Thạch - Nghiên cứu kỹ thuật trồng cây trầu bà đế vương đỏ (*Philodendron imperial red*) bằng phương pháp thủy canh tĩnh. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn **2** (2018) 70-79.

ABSTRACT

MICROPROPAGATION OF *Philodendron* 'Imperial Red'

Trinh Thi Huong¹, Nguyen Thi Van Anh¹, Pham Ngoc Tram¹,
Tran Kim Chi¹, Lai Dinh Bien¹, Tran Trong Tuan^{2*}

¹*Ho Chi Minh City University of Food Industry*

²*Institute of Tropical Biology*

*Email: trantrongtuan.itb@gmail.com

This study performed the micropropagation procedure of *Philodendron* 'Imperial Red' derived from *in vitro* shoot. The results showed that MS medium supplemented with 1.5 mg/L benzyl adenine (BA) was suitable for the shoot multiplication stage; the number of newly formed shoots reached 6.50 shoots/explant after six weeks of culture. In the next stage, *in vitro* shoots were transferred to MS medium supplemented with 0.5 mg/L indole-3-butyric acids (IBA) for rooting. After eight weeks of culture in *in vitro* conditions, 100% of plantlets were rooted, with the average number of roots reaching 14.55, the length reaching 4.38 cm and the number of leaves reaching 6.83. The plantlets then adapted well when planted in nursery conditions, with a survival rate of 100%, average plant height of 6.80 cm, leaf length of 5.27 cm, leaf width of 2.90 cm and SPAD index of 11.68 after four weeks of planting. The number of stomata and SPAD index of plants at different growing stages were also collected in this study. The number of stomata increases gradually in the order of stages: plants grown *in vitro*, plants grown in nursery, and plants grown under natural conditions (mature plants). The SPAD index also changed, in increasing order: plants grown in the nursery, plants grown *in vitro*, and plants grown under natural conditions (mature plants). The obtained results of the study contribute to the development of a micropropagation process for this plant with high propagation coefficient and good quality seedlings, providing seedlings for the floricultural trade in Vietnam.

Keywords: Benzyl adenine (BA), Indole-3-butyric acid (IBA), micropropagation, *Philodendron* 'Imperial Red', stomata.