

# Nhân giống *in vitro* cây Trầu bà vàng chanh (*Philodendron hederaceum* “Lemon Lime”)

Ninh Thị Thảo, Nguyễn Hồng Thương, Đinh Trường Sơn, Phạm Thị Dung, Nông Thị Huệ\*

Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, thị trấn Trâu Quỳ, huyện Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 29/11/2022; ngày chuyển phân biện 2/12/2022; ngày nhận phân biện 27/12/2022; ngày chấp nhận đăng 29/12/2022

## Tóm tắt:

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm khảo sát khả năng nhân giống *in vitro* cây Trầu bà vàng chanh (*Philodendron hederaceum* “Lemon Lime”). Kết quả thu được cho thấy, môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l BA là thích hợp cho giai đoạn nhân nhanh với hệ số nhân chồi đạt 2,73 lần, chiều cao chồi đạt 5,38 cm và số lá/chồi đạt 4,33 lá sau 6 tuần nuôi cấy. Trong giai đoạn tiếp theo, chồi được chuyển sang môi trường MS + 0,25 mg/l IBA để tạo rễ. Sau 5 tuần nuôi cấy, tỷ lệ chồi ra rễ đạt 100%, 3,9 rễ/cây và chiều dài rễ trung bình đạt 11,04 cm, cây sinh trưởng phát triển tốt. Ở giai đoạn vườn ươm, tỷ lệ cây sống đạt 100%, chiều cao chồi và số lá tăng thêm đạt lần lượt 2,19 cm và 1,96 lá sau 4 tuần trên giá thể peatmoss:đất:xơ dừa với tỷ lệ 1:1:1. Các kết quả đạt được của nghiên cứu góp phần thiết lập quy trình vi nhân giống loài cây này với hệ số nhân giống và chất lượng cây giống tốt làm cơ sở cho việc cung cấp nguồn giống chất lượng cho thị trường cây cảnh ở Việt Nam.

**Từ khoá:** BA, IBA, nhân nhanh *in vitro*, peatmoss, Trầu bà vàng chanh.

**Chỉ số phân loại:** 4.6

## 1. Đặt vấn đề

Sở hữu những chiếc lá hình trái tim rực rỡ nổi bật bởi màu vàng, cây Trầu bà vàng chanh hay còn gọi là Trầu bà vàng (*Philodendron hederaceum* “Lemon Lime”) rất được ưa chuộng để làm cây trồng trang trí trong nhà. Bên cạnh đó, cây Trầu bà vàng chanh còn có tác dụng lọc khí rất tốt, giúp hấp thu lượng khí thải độc hại, loại bỏ các chất bụi bẩn, mang đến không gian trong lành. Mặt khác, Trầu bà vàng chanh là cây dược liệu được sử dụng khá nhiều đối với bệnh thận [1]. Vì những lợi ích này, nhu cầu sử dụng cây Trầu bà vàng chanh ngày một tăng.

Cây Trầu bà nói chung và cây Trầu bà vàng chanh nói riêng thường được nhân giống từ nhánh hoặc mắt lá. Theo đó, các đoạn nhánh hoặc mắt lá sau khi cắt khỏi cây mẹ được giâm vào giá thể hoặc nước để kích thích đọt thân mọc rễ. Phương pháp nhân giống này khá đơn giản và rất dễ thực hiện nhưng lại có nhược điểm là hệ số nhân thấp, cây dễ thoái hoá và khó kiểm soát được phẩm chất của cây con [2]. Hơn nữa, do nhựa cây Trầu bà vàng chanh có chứa các chất gây dị ứng như alkylresorcinol và alkenylresorcinol nên phương pháp nhân giống truyền thống với loài cây này có thể gây ảnh hưởng đến sức khoẻ người thao tác [3]. Để khắc phục các hạn chế này, phương pháp nhân giống *in vitro* là một giải pháp hiệu quả vì cho hệ số nhân giống cao, cây giống tạo ra hoàn toàn sạch bệnh, đồng nhất về kiểu hình và có thể sản xuất được ở quy mô lớn [4].

Kể từ công bố đầu tiên về nhân giống *in vitro* cây Trầu bà *P. tuxlanum* vào năm 1990 [5], đã có khá nhiều báo cáo sử dụng các nguồn vật liệu ban đầu khác nhau để thiết lập

quy trình nhân giống *in vitro* một số giống cây Trầu bà như Trầu bà đế vương *P. imperial* [2], Trầu bà cánh phượng *P. xanadu* [4, 6-8], Trầu bà tay phật *P. bipinnatifidum* [9, 10]. Tuy nhiên cho đến nay, chúng tôi chưa thấy có nghiên cứu nào sử dụng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào để nhân giống cây Trầu bà vàng chanh trên thế giới và ở Việt Nam được chính thức công bố. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát khả năng nhân giống *in vitro* cây Trầu bà vàng chanh, góp phần thiết lập quy trình vi nhân giống loài cây này cho hệ số nhân giống và chất lượng cây giống tốt, làm cơ sở cho việc cung cấp cây giống cho thị trường cây cảnh ở Việt Nam.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

Vật liệu sử dụng cho các thí nghiệm là chồi cây Trầu bà vàng chanh *in vitro* sinh trưởng phát triển tốt, có chiều cao 1,0-1,5 cm, 1-2 lá.

### 2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 10/2021 đến tháng 7/2022 tại Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

*Khảo sát ảnh hưởng của chất điều tiết sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh của chồi in vitro cây Trầu bà vàng chanh:* Các chồi Trầu bà vàng chanh có chiều cao 1,0-1,5 cm, 1-2 lá được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 30 g/l đường sucrose, 7,0 g/l agar và chất điều tiết sinh trưởng

\*Tác giả liên hệ: Email: nthue@vnua.edu.vn

# *In vitro* propagation of *Philodendron hederaceum* “Lemon Lime”

Thi Thao Ninh, Hong Thuong Nguyen,  
Truong Son Dinh, Thi Dung Pham, Thi Hue Nong\*

Faculty of Biotechnology, Vietnam National University of Agriculture,  
Trau Quy Town, Gia Lam District, Hanoi, Vietnam

Received 29 November 2022; revised 27 December 2022; accepted 29 December 2022

## **Abstract:**

This study aims to examine the *in vitro* propagation of *Philodendron hederaceum* “Lemon Lime”. The results showed that MS medium supplemented with 1.0 mg/l BA was suitable for the rapid multiplication stage, with the rate of shoot proliferation being 2.73 times, the shoots being 5.38 cm in height and the number of leaves/shoot was 4.33 after 6 weeks of culture. In the next stage, *in vitro* shoots were transferred to MS medium containing 0.25 mg/l IBA for rooting. Within five weeks of culture, 100% of shoots induced roots with a mean of 3.9 roots/plant and the root length was 11.04 cm. In the acclimatisation phase, plantlets achieved 100% *ex vitro* survival, increased by 2.19 cm in height and 1.96 leaves after four-week acclimatisation in a substrate composed of peatmoss:soil:coconut husk (1:1:1). These research results could be used to cultivate this plant with high proliferation rate and good commercial quality providing seedlings for the floriculture market in Vietnam.

**Keywords:** BA, IBA, *in vitro* rapid propagation, peatmoss, *Philodendron hederaceum* “Lemon Lime”.

**Classification number:** 4.6

BA (0,0, 0,1, 0,5, 1,0 và 2,0 mg/l) hoặc TDZ (0,0, 0,05, 0,1, 0,5 và 1,0 mg/l) riêng rẽ hoặc kết hợp BA với  $\alpha$ -NAA (0,0, 0,05, 0,1, 0,15 và 0,2 mg/l); TDZ với  $\alpha$ -NAA (0,0, 0,01, 0,025, 0,05 và 0,1 mg/l). Đánh giá thí nghiệm sau 6 tuần. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm hệ số nhân chồi (lần), chiều cao chồi (cm), số lá/chồi (lá).

**Khảo sát ảnh hưởng của auxin đến khả năng ra rễ của chồi *in vitro* cây Trầu bà vàng chanh:** Các chồi Trầu bà vàng chanh có chiều cao 4,0-5,0 cm, 3-4 lá được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 30 g/l đường sucrose, 7,0 g/l agar và chất điều tiết sinh trưởng  $\alpha$ -NAA hoặc IBA với 5 công thức nồng độ khác nhau gồm: 0,0, 0,1, 0,25, 0,5 và 1,0 mg/l. Đánh giá thí nghiệm sau 5 tuần. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm tỷ lệ chồi tạo rễ (%), số rễ/cây (rễ), chiều dài rễ (cm).

**Khảo sát ảnh hưởng của giá thể đến khả năng sinh trưởng của cây Trầu bà vàng chanh *in vitro*:** Cây giống Trầu

bà vàng chanh *in vitro* có chiều cao  $\geq 5$  cm, 4-5 lá được rửa sạch agar dưới vòi nước chảy, loại bỏ lá già và trồng vào khay ươm cây kích thước 5×25×40 cm (cao×rộng×dài), có 28 lỗ. Bốn công thức giá thể khác nhau gồm rêu than mùn (peatmoss); peatmoss: đất tỷ lệ 1:1; peatmoss: đất: xơ dừa tỷ lệ 1:1:1 và xơ dừa. Ngay sau khi trồng, khay trồng cây được che phủ nilon trong 5 ngày để tránh mất nước cho cây. Cây con được tưới phun sương 2 lần/ngày để giữ ẩm. Đánh giá thí nghiệm sau 4 tuần trồng. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm: tỷ lệ cây sống (%), chiều cao cây gia tăng (cm), số lá mới (lá).

**Môi trường và điều kiện nuôi cấy:** Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH 5,8 trước khi hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong 20 phút, 1,1 atm. Điều kiện nuôi cấy *in vitro*: 16h sáng/8h tối, cường độ ánh sáng 2000-2500 lux, nhiệt độ 25±2°C.

**Bố trí thí nghiệm:** Các thí nghiệm được bố trí nhắc lại 3 lần, mỗi lần 30 mẫu với thí nghiệm nhân nhanh và tạo rễ cho chồi *in vitro*, 28 mẫu đối chứng với thí nghiệm thích nghi cây ngoài điều kiện tự nhiên.

## **2.4. Phương pháp xử lý số liệu**

Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel và Infostat.

## **3. Kết quả và bàn luận**

### **3.1. Ảnh hưởng của chất điều tiết sinh trưởng BA và TDZ đến khả năng nhân nhanh chồi Trầu bà vàng chanh**

Tạo một số lượng lớn các cây giống khỏe mạnh, đồng nhất về mặt di truyền và mang những đặc điểm giống với cây mẹ là mục đích của nhân giống vô tính *in vitro*. Ở giai đoạn nhân nhanh, các cytokinin là nhóm chất kích thích sự phân chia tế bào và phân hóa chồi nên thường được bổ sung vào môi trường nuôi cấy [11]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát ảnh hưởng của chất điều tiết sinh trưởng cytokinin gồm BA và TDZ đến khả năng nhân nhanh chồi Trầu bà vàng chanh *in vitro*.

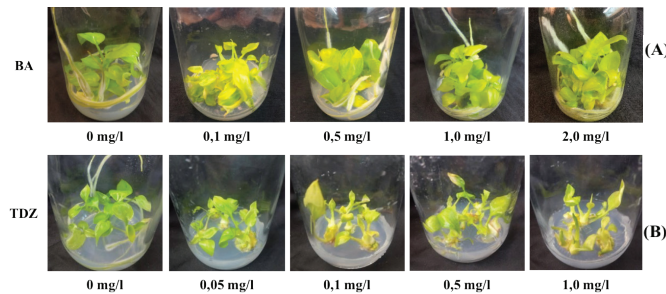
Kết quả bảng 1 cho thấy, bổ sung BA có ảnh hưởng tích cực đến hệ số nhân chồi Trầu bà vàng chanh. Cụ thể, môi trường không bổ sung BA cho hệ số nhân chồi đạt 1,45 lần sau 6 tuần nuôi cấy. Trong khi đó hệ số nhân chồi đạt 1,85-3,00 lần trên môi trường bổ sung 0,1-2,0 mg/l BA. Hệ số nhân chồi tăng tỷ lệ thuận với nồng độ BA bổ sung vào môi trường và đạt cao nhất (2,40-3,00 lần) trên môi trường chứa 1,0-2,0 mg/l BA. Bổ sung BA vào môi trường ở nồng độ 0,1-2,0 mg/l làm tăng chiều cao chồi (3,97-5,8 cm) so với môi trường đối chứng (3,32 cm). Bổ sung BA ở nồng độ thấp (0,1 mg/l) cho chiều cao chồi là tương đương với công thức đối chứng và sự khác biệt về chiều cao ở công thức bổ sung 1,0 và 2,0 mg/l BA là không có ý nghĩa thống kê. Bổ sung BA không ảnh hưởng tới số lá/chồi (bảng 1).

**Bảng 1. Ảnh hưởng của BA và TDZ đến khả năng nhân nhanh chồi Trầu bà vàng chanh sau 6 tuần nuôi cấy.**

Cytokinin	Nồng độ (mg/l)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi trung bình (cm)	Số lá/chồi (lá)
BA	0,0	1,45 <sup>a</sup>	3,32 <sup>a</sup>	3,95 <sup>a</sup>
	0,1	1,85 <sup>ab</sup>	3,97 <sup>ab</sup>	4,61 <sup>a</sup>
	0,5	1,97 <sup>ab</sup>	4,60 <sup>bc</sup>	4,37 <sup>a</sup>
	1,0	2,40 <sup>bc</sup>	4,98 <sup>cd</sup>	3,90 <sup>a</sup>
	2,0	3,00 <sup>c</sup>	5,80 <sup>d</sup>	3,92 <sup>a</sup>
TDZ	0,0	1,28 <sup>a</sup>	3,10 <sup>a</sup>	4,01 <sup>b</sup>
	0,05	1,90 <sup>b</sup>	3,39 <sup>a</sup>	2,60 <sup>a</sup>
	0,1	2,03 <sup>b</sup>	3,13 <sup>a</sup>	2,19 <sup>a</sup>
	0,5	2,78 <sup>c</sup>	3,06 <sup>a</sup>	2,11 <sup>a</sup>
	1,0	2,67 <sup>c</sup>	3,19 <sup>a</sup>	2,15 <sup>a</sup>

Trong cùng một chỉ tiêu theo dõi của một chất điều tiết sinh trưởng, các giá trị trung bình theo sau bởi cùng một chữ cái là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% (LSD, p=0,05).

Quan sát trong quá trình theo dõi thí nghiệm cho thấy, chồi cây Trầu bà vàng chanh trên môi trường nuôi cấy không bổ sung BA xuất hiện chồi mới sau 5-6 ngày nuôi cấy, các chồi phát triển đồng đều và khỏe (hình 1A). Trong khi đó, các chồi trên môi trường có bổ sung BA xuất hiện chồi mới muộn hơn, sau khoảng 8-10 ngày nuôi cấy, chất lượng chồi tốt, bộ lá phát triển đều và khỏe. Một số chồi Trầu bà vàng chanh trên môi trường tạo rễ sau khoảng 1 tuần nuôi cấy rễ dài và phát triển mạnh (hình 1A).



**Hình 1. Chồi Trầu bà vàng chanh trên môi trường bổ sung BA (A) hoặc TDZ (B) sau 6 tuần nuôi cấy.**

Tương tự với BA, bổ sung TDZ vào môi trường nuôi cấy cũng có ảnh hưởng tích cực đến hệ số nhân chồi cây Trầu bà vàng chanh. Các công thức có bổ sung TDZ cho hệ số nhân chồi đạt 1,90-2,78 lần, cao hơn so với công thức đối chứng (1,28 lần). Môi trường bổ sung 0,5 hoặc 1,0 mg/l TDZ cho hệ số nhân chồi cao nhất, đạt lần lượt 2,78 và 2,67 lần. Tuy nhiên, các chồi nuôi cấy trên môi trường chứa TDZ có số lá ít hơn mặc dù chiều cao đạt tương đương so với các chồi

trên môi trường đối chứng (bảng 1). Về mặt hình thái, so với các chồi trên môi trường đối chứng, các chồi Trầu bà vàng chanh trên môi trường bổ sung TDZ nhỏ hơn, lá có màu vàng biểu hiện của hiện tượng thiếu diệp lục, chất lượng chồi kém. Mặt khác, các chồi trên môi trường chứa TDZ hoàn toàn không tạo rễ nhưng tạo callus ở phần gốc chồi, tại vị trí tiếp xúc với môi trường (hình 1B).

Kết quả thí nghiệm cho thấy, BA cho hiệu quả nhân nhanh và chất lượng chồi Trầu bà vàng chanh cao hơn so với TDZ. Kết luận này cũng phù hợp với nghiên cứu của B.H. Han (2008) [9], khi nhóm tác giả kết luận BA cho hiệu quả nhân nhanh chồi cây Trầu bà tay phật cao hơn so với TDZ, đồng thời các chồi trên môi trường chứa TDZ có hiện tượng vàng úa và tạo callus ở gốc chồi. Tương tự, theo nghiên cứu của F.C. Chen và cs (2012) [2], các chồi Trầu bà để vương khi nuôi cấy trên môi trường bổ sung TDZ có xu hướng tạo cấu trúc giống lá (leaf-like structure) thay vì tạo chồi. Các bất thường do TDZ gây ra trong quá trình nhân chồi Trầu bà được Y.H. Dewir và cs (2018) [12] lý giải có thể là do nồng độ sử dụng quá cao hoặc thời gian tiếp xúc của mẫu cây liên tục với TDZ quá dài. Hiệu quả BA cao hơn các cytokinin khác trong nhân nhanh cây Trầu bà cũng đã được báo cáo ở nhiều nghiên cứu tiến hành bởi E.J Benczur và cs (1990) [5], S. Sreekumar và cs (2001) [13], G. Gangopadhyay và cs (2004) [6], B.H. Han và cs (2008) [9], P.T.T Hang và cs (2013) [8], A.A. Alawaadh và cs (2020) [10]. Tác động khác nhau của các cytokinin trong nuôi cấy *in vitro* có thể liên quan đến sự khác biệt về khả năng hấp thu của tế bào thực vật, tỷ lệ chất được chuyển đến các vùng phân sinh và sự chuyển hoá của chất đó [11].

Công thức bổ sung 1,0 và 2,0 mg/l BA và công thức bổ sung 0,5 và 1,0 mg/l TDZ cho hệ số nhân chồi và chất lượng chồi đạt cao nhất, do vậy sau khi cân nhắc yếu tố kinh tế, chúng tôi sử dụng nồng độ 1,0 mg/l BA và 0,5 mg/l TDZ để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

### 3.2. Ảnh hưởng của tổ hợp chất điều tiết sinh trưởng BA/TDZ và $\alpha$ -NAA đến khả năng nhân nhanh chồi Trầu bà vàng chanh

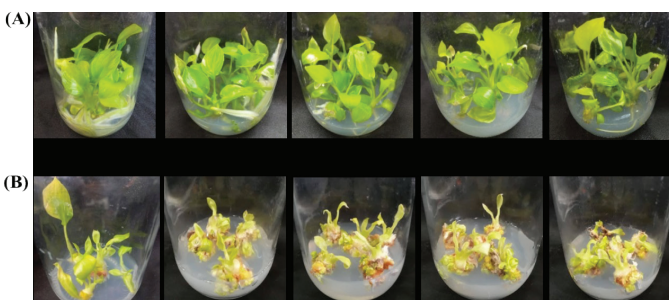
Trong nhân giống *in vitro*, bổ sung kết hợp cytokinin và auxin ở nồng độ và tỷ lệ thích hợp trong một số trường hợp không những có thể cải thiện hệ số nhân chồi mà còn nâng cao chất lượng của chồi [14]. Vì vậy trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát ảnh hưởng kết hợp của BA/TDZ và  $\alpha$ -NAA đến hiệu quả nhân nhanh chồi Trầu bà vàng, sử dụng nồng độ BA và TDZ tối ưu từ thí nghiệm trước, tương ứng 1,0 và 0,5 mg/l.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của tổ hợp BA/TDZ và  $\alpha$ -NAA đến khả năng nhân nhanh chồi Trầu bà vàng chanh sau 6 tuần nuôi cấy.

Cytokinin (mg/l)	$\alpha$ -NAA (mg/l)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi trung bình (cm)	Số lá/chồi (lá)
BA 1,0 mg/l	0,0	2,73 <sup>a</sup>	5,38 <sup>a</sup>	4,33 <sup>a</sup>
	0,05	2,73 <sup>a</sup>	5,0 <sup>a</sup>	3,65 <sup>a</sup>
	0,1	3,40 <sup>a</sup>	4,31 <sup>a</sup>	3,42 <sup>a</sup>
	0,15	2,70 <sup>a</sup>	4,37 <sup>a</sup>	3,65 <sup>a</sup>
	0,2	2,95 <sup>a</sup>	5,10 <sup>a</sup>	4,96 <sup>a</sup>
TDZ 0,5 mg/l	0,0	2,65 <sup>a</sup>	3,46 <sup>a</sup>	3,53 <sup>a</sup>
	0,01	4,13 <sup>a</sup>	2,92 <sup>a</sup>	3,24 <sup>a</sup>
	0,025	4,08 <sup>a</sup>	2,74 <sup>a</sup>	3,56 <sup>a</sup>
	0,05	3,73 <sup>a</sup>	2,20 <sup>a</sup>	3,38 <sup>a</sup>
	0,1	3,95 <sup>a</sup>	2,15 <sup>a</sup>	3,64 <sup>a</sup>

Trong cùng một chỉ tiêu theo dõi của một tổ hợp chất điều tiết sinh trưởng, các giá trị trung bình theo sau bởi cùng một chữ cái là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% (LSD, p=0,05).

Bổ sung kết hợp  $\alpha$ -NAA (0,05-0,2 mg/l) và 1,0 mg/l BA cho hệ số nhân chồi đạt 2,70-3,40 lần, chiều cao chồi dao động 4,31-5,10 cm và số lá/chồi đạt 3,65-4,96 lá. Tuy nhiên, các chỉ tiêu này có sự sai khác không có ý nghĩa thống kê so với hệ số nhân, chiều cao và số lá của các chồi trên môi trường đối chứng chỉ bổ sung 1,0 mg/l BA, tương ứng đạt lần lượt 2,73 lần, 5,38 cm và 4,33 lá/chồi (bảng 2). Quan sát trong quá trình theo dõi thí nghiệm chúng tôi nhận thấy, chồi Trầu bà vàng chanh trên môi trường đối chứng xuất hiện chồi mới và một số chồi tạo rễ sau khoảng 7-8 ngày nuôi cấy. Trong khi đó, các chồi trên môi trường bổ sung kết hợp  $\alpha$ -NAA và 1,0 mg/l BA xuất hiện chồi mới muộn hơn, sau 8-10 ngày và tạo rễ sớm hơn, sau 5-6 ngày nuôi cấy. Chất lượng chồi trên tất cả các công thức môi trường khá đồng đều, chồi phát triển tốt, chồi khoẻ mạnh, lá to, có màu xanh vàng đặc trưng (hình 2A).



**Hình 2.** Chồi Trầu bà vàng chanh trên môi trường bổ sung kết hợp 1,0 mg/l BA với  $\alpha$ -NAA (A), 0,5 mg/l TDZ với  $\alpha$ -NAA (B) sau 6 tuần nuôi cấy.

Tương tự như khi kết hợp với BA,  $\alpha$ -NAA bổ sung kết hợp với 0,5 mg/l TDZ cho hệ số nhân chồi, chiều cao chồi và số lá/chồi có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với môi trường chỉ chứa 0,5 mg/l TDZ (bảng 2). Tuy nhiên về mặt hình thái, các chồi Trầu bà trên môi trường bổ

sung TDZ và  $\alpha$ -NAA tạo nhiều callus, hình thành cụm chồi không phân hoá rõ và các cấu trúc giống lá sau khoảng 10-12 ngày nuôi cấy, chồi có chất lượng kém, lá nhỏ và xoắn, rất khó để tách riêng từng chồi để tiếp tục nhân nhanh. Trên môi trường đối chứng chứa 0,5 mg/l TDZ, chồi và lá mới xuất hiện sau 1 tuần nuôi cấy, chồi thấp, nhỏ nhưng vẫn có thể tách thành các chồi đơn. Mặt khác, trên môi trường chứa TDZ +  $\alpha$ -NAA, các chồi có hiện tượng hoại tử và rụng lá sau khoảng 3 tuần nuôi cấy. Ở thí nghiệm bổ sung kết hợp TDZ và  $\alpha$ -NAA, chồi hoàn toàn không tạo rễ trên tất cả các công thức môi trường (hình 2B).

Như vậy, kết hợp giữa BA hoặc TDZ với  $\alpha$ -NAA là không thích hợp để nhân nhanh chồi cây Trầu bà vàng chanh. Trên thực tế, một số nghiên cứu trước đây cho thấy sự kết hợp giữa nhóm chất điều tiết sinh trưởng cytokinin và auxin không có ảnh hưởng tích cực đến hiệu quả nhân nhanh chồi cây Trầu bà. Nghiên cứu của P.T.T. Hang và cs (2013) [8] cho thấy, bổ sung kết hợp BA và IAA hoặc BA và IBA cho hệ số nhân chồi cây Trầu bà cánh phượng tương đương hoặc thấp hơn so với môi trường bổ sung BA đơn lẻ [8]. Cây Trầu bà *P. bipinnatifidum* Schott ex Endl. trên môi trường kết hợp BA/kinetin/2ip/TDZ và IBA/ $\alpha$ -NAA cho hệ số nhân chồi không có sự sai khác với môi trường chứa các cytokinin riêng rẽ [10]. Mặc dù vậy, theo H.M.S. Hassan và cs (2016) [15], hệ số nhân nhanh cây Trầu bà *P. selloum* trên môi trường chứa tổ hợp BA và IBA đạt cao hơn so với môi trường chỉ bổ sung BA. Như vậy có thể thấy, phản ứng với các chất điều tiết sinh trưởng trong quá trình nhân nhanh giữa các loài cây Trầu bà khác nhau là khác nhau.

### 3.3. Ảnh hưởng của $\alpha$ -NAA và IBA đến khả năng ra rễ của chồi *in vitro* cây Trầu bà vàng chanh

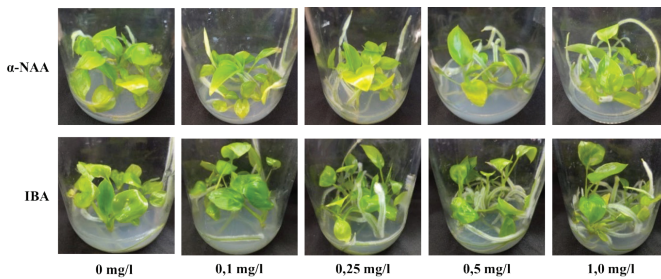
Tạo rễ cho chồi là giai đoạn cuối cùng trong quá trình nhân giống *in vitro* trong phòng thí nghiệm trước khi đưa cây ra thích nghi ở điều kiện tự nhiên. Các chồi Trầu bà vàng chanh sau giai đoạn nhân nhanh được chuyển sang môi trường nuôi cấy có bổ sung auxin  $\alpha$ -NAA hoặc IBA nhằm kích thích ra rễ. Kết quả bảng 3 cho thấy, chồi Trầu bà vàng chanh có thể tạo rễ trên môi trường nền MS với tỷ lệ 63,3%, số rễ/chồi đạt 2,41 rễ và chiều dài rễ đạt 10,34 cm. Bổ sung  $\alpha$ -NAA hoặc IBA vào môi trường nuôi cấy đã kích thích chồi tạo rễ với tỷ lệ 100%. Số rễ/chồi tăng tỷ lệ thuận với nồng độ  $\alpha$ -NAA bổ sung vào môi trường và đạt cao nhất ở công thức chứa 0,5 và 1,0 mg/l, tương ứng đạt 3,18 và 3,78 rễ. Tương tự, trong trường hợp bổ sung IBA, số rễ/chồi tăng dần và đạt cao nhất (5,14 rễ) trên môi trường chứa 1,0 mg/l IBA. Tuy nhiên xét ở mức ý nghĩa LSD 5%, số rễ/chồi ở công thức bổ sung 1,0 mg/l IBA không có sự khác biệt so với công thức chứa 0,25 mg/l IBA (3,90 rễ) và 0,5 mg/l IBA (4,97 rễ). Sự khác biệt về chiều dài rễ của các chồi Trầu bà trên môi trường chứa  $\alpha$ -NAA/IBA so với môi trường đối chứng là không có ý nghĩa thống kê (bảng 3).

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của  $\alpha$ -NAA và IBA đến khả năng ra rễ của chồi *in vitro* cây Trầu bà vàng chanh sau 5 tuần nuôi cấy.

Nồng độ (mg/l)	Tỷ lệ ra rễ (%)		Số rễ/cây (rễ)		Chiều dài rễ (cm)	
	$\alpha$ -NAA	IBA	$\alpha$ -NAA	IBA	$\alpha$ -NAA	IBA
0	63,3	63,3	2,41 <sup>a</sup>	2,41 <sup>a</sup>	10,34 <sup>a</sup>	10,34 <sup>a</sup>
0,1	100	100	2,49 <sup>a</sup>	2,45 <sup>a</sup>	11,50 <sup>a</sup>	10,07 <sup>a</sup>
0,25	100	100	2,64 <sup>a</sup>	3,90 <sup>b</sup>	10,53 <sup>a</sup>	11,04 <sup>a</sup>
0,5	100	100	3,18 <sup>ab</sup>	4,97 <sup>b</sup>	10,97 <sup>a</sup>	10,85 <sup>a</sup>
1,0	100	100	3,78 <sup>b</sup>	5,14 <sup>b</sup>	9,33 <sup>a</sup>	10,93 <sup>a</sup>

Trong cùng một chỉ tiêu theo dõi, các giá trị trung bình theo sau bởi cùng một chữ cái là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% (LSD, p=0,05).

Chồi cây Trầu bà vàng chanh trên môi trường nền MS sinh trưởng phát triển tốt, lá to và dày, thân mập. Một số chồi cảm ứng tạo rễ sau 7-10 ngày nuôi cấy. Các rễ phát triển trên bề mặt và ăn sâu vào môi trường nuôi cấy (hình 3). Trong khi đó, tất cả các chồi trên môi trường bổ sung  $\alpha$ -NAA hoặc IBA đều tạo rễ chỉ sau khoảng 5-7 ngày nuôi cấy, rễ phát triển mạnh, nhiều lông hút và có xu hướng phát triển hướng lên phía trên môi trường. So với các chồi trên môi trường đối chứng và môi trường chứa IBA, chồi Trầu bà trên môi trường chứa  $\alpha$ -NAA có ít lá và lá nhỏ hơn, có màu vàng nhạt. Tuy nhiên nhìn chung các chồi đều phát triển tốt, khoẻ mạnh (hình 3).



**Hình 3.** Chồi cây Trầu bà vàng chanh tạo rễ trên môi trường bổ sung  $\alpha$ -NAA và IBA sau 5 tuần nuôi cấy.

Như vậy so với  $\alpha$ -NAA, IBA có hiệu quả hơn trong cảm ứng tạo rễ cho chồi Trầu bà vàng chanh khi cho số rễ trung bình cao hơn và chất lượng chồi tốt hơn. Để tối ưu giá thành sản xuất cây Trầu bà vàng chanh, chúng tôi lựa chọn sử dụng môi trường MS + 0,25 mg/l IBA cho giai đoạn toan cây *in vitro* hoàn chỉnh do đây là môi trường cho tỷ lệ cây ra rễ đạt 100%, cây sinh trưởng phát triển mạnh, đồng thời cho các chỉ tiêu số rễ/chồi và chiều dài rễ cao tương đương với môi trường bổ sung 0,5-1,0 mg/l IBA. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu nhân giống *in vitro* 3 giống cây Trầu bà để vương bao gồm ‘Imperial Green’, ‘Imperial Red’ và ‘Imperial Rainbow’ thực hiện bởi F.C. Chen và cs (2012) [2] khi nhóm tác giả xác định môi trường tạo rễ thích hợp là MS + 0,1-1,0 mg/l IBA.

### 3.4. Ảnh hưởng của giá thể đến tỷ lệ sống và sự phát triển của cây Trầu bà vàng chanh *in vitro*

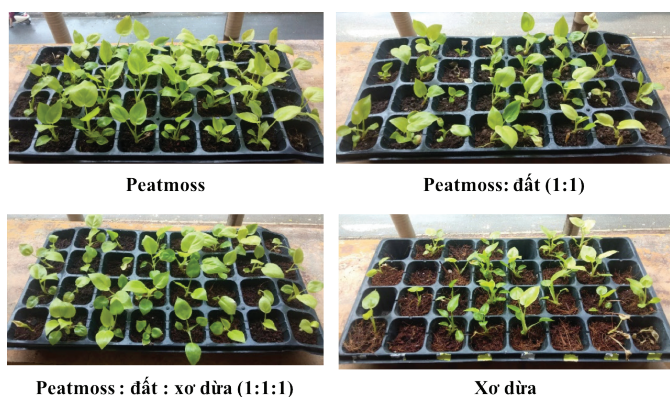
Giá thể không chỉ giúp cây đứng vững mà còn cung cấp nước và dinh dưỡng nên có ảnh hưởng trực tiếp đến tỷ lệ sống và tăng trưởng của cây. Do vậy, xác định được giá thể tiếp nhận cây thích hợp có ý nghĩa quyết định đến thành công của quy trình nhân giống *in vitro* [16]. Trong thí nghiệm này, chúng tôi khảo sát ảnh hưởng của một số giá thể đến tỷ lệ sống và sự phát triển của cây Trầu bà vàng chanh *in vitro*. Các công thức giá thể được lựa chọn khảo sát thoả mãn các tiêu chí vừa đảm bảo độ thông thoáng, cho tỷ lệ cây sống cao, cây sinh trưởng tốt đồng thời có giá thành rẻ để tối ưu hiệu quả kinh tế.

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của giá thể đến tỷ lệ sống và sự phát triển của cây Trầu bà vàng chanh sau 4 tuần.

Giá thể	Tỷ lệ cây sống (%)	Chiều cao cây gia tăng (cm)	Số lá mới (lá)
Peatmoss	100	2,92 <sup>c</sup>	2,37 <sup>c</sup>
Peatmoss: đất (1:1)	89,6	1,86 <sup>ab</sup>	1,40 <sup>ab</sup>
Peatmoss: đất: xơ dừa (1:1:1)	100	2,19 <sup>b</sup>	1,96 <sup>bc</sup>
Xơ dừa	70,4	1,44 <sup>a</sup>	1,30 <sup>a</sup>

Trong cùng một chỉ tiêu theo dõi, các giá trị trung bình theo sau bởi cùng một chữ cái là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% (LSD, p=0,05).

Kết quả bảng 4 cho thấy, khi sử dụng giá thể với thành phần 100% xơ dừa cho tỷ lệ cây Trầu bà vàng *in vitro* sống (70,4%) cũng như các chỉ tiêu về sinh trưởng của cây là thấp nhất. Cây trồng trên giá thể xơ dừa tăng trưởng chậm, cây nhỏ, còi cọc, lá nhỏ và mỏng (hình 4). Nguyên nhân có thể là do giá thể xơ dừa không giữ nước tốt nên không phù hợp với các cây có nhu cầu nước lớn thuộc họ ráy. Sử dụng giá thể 100% peatmoss hay phối trộn peatmoss:đất theo tỷ lệ 1:1, peatmoss:đất:xơ dừa tỷ lệ 1:1:1 đã làm tăng tỷ lệ sống (89,6-100%) của cây Trầu bà vàng chanh *in vitro*, đồng thời sự gia tăng về chiều cao, số lá cũng cao hơn. Trong đó, giá thể peatmoss cho tỷ lệ cây sống (100%), chiều cao cây gia tăng (2,92 cm) và số lá mới (2,37 lá) đạt cao nhất (bảng 4). Mặt khác, các cây trồng trên giá thể này phát triển rất tốt, cây cao, thân mập, lá to và dày (hình 4). Điều này có thể giải thích là do peatmoss là giá thể giàu dinh dưỡng và khoáng chất, có khả năng thấm hút và giữ nước tốt nên thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của cây Trầu bà vàng chanh. So với giá thể 100% peatmoss, việc phối trộn peatmoss và đất (1:1) cho tỷ lệ cây sống (89,6%), chiều cao cây tăng thêm (1,86 cm) và số lá mới (1,4 lá) đạt được thấp hơn. Có thể do đất chiếm tỷ lệ 50% ở công thức giá thể này làm cho giá thể bị bí chặt, giảm khả năng hút nước và dinh dưỡng của cây. Ở công thức giá thể peatmoss:đất:xơ dừa (1:1:1), mặc dù chỉ tiêu chiều cao cây gia tăng (2,19 cm) thấp hơn so với công thức giá thể 100% peatmoss, nhưng tỷ lệ cây sống và số lá mới đạt tương đương, tương ứng 100% và 1,96 lá (bảng 4). Cây trồng trên giá thể này phát triển tốt và đồng đều, cây cao và bộ lá khoẻ mạnh (hình 4).



Hình 4. Cây tràu bà vàng chanh *in vitro* trên các giá thể sau 4 tuần.

Đã có một số nghiên cứu khảo sát loại giá thể phù hợp để trồng cây tràu bà *in vitro*. A.A. Alawaadh và cs (2020) [10] sử dụng giá thể peatmoss phối trộn với đá trân châu perlite theo tỷ lệ 1:1 để trồng cây Tràu bà *P. bipinnatifidum* Schott ex Endl cho tỷ lệ cây sống đạt 100% sau 30 ngày trồng. B.H. Han và cs (2008) [9] xác định được giá thể tối ưu để trồng cây Tràu bà *P. cannifolium* là đất:perlite:vermiculite tỷ lệ 1:1:1. Trong khi đó, theo nghiên cứu của P.T.T. Hang và cs (2013) [8], giá thể thích hợp nhất để tiếp nhận cây Tràu bà cánh phượng là xơ dừa:trấu hun (1:1), với tỷ lệ cây sống sót ghi nhận sau 4 tuần là 100%. Ở nghiên cứu này, trong 4 loại giá thể khảo sát, giá thể gồm 100% peatmoss và peatmoss:đất:xơ dừa tỷ lệ 1:1:1 là phù hợp để trồng cây Tràu bà vàng chanh *in vitro* trong điều kiện tự nhiên. Tuy nhiên, do peatmoss có giá khá cao nên chúng tôi lựa chọn giá thể peatmoss:đất:xơ dừa (1:1:1) để tiếp nhận cây Tràu bà vàng chanh nhằm giảm chi phí khi đưa loại cây này vào sản xuất thương mại.

#### 4. Kết luận

Từ các kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi đưa ra một số kết luận như sau về quá trình nhân giống *in vitro* cây Tràu bà vàng chanh: Môi trường thích hợp để nhân nhanh *in vitro* chồi cây Tràu bà vàng chanh là MS + 1,0 mg/l BA, cho hệ số nhân chồi đạt 2,73 lần, chiều cao chồi trung bình đạt 5,38 cm và số lá/chồi đạt 4,33 lá sau 6 tuần nuôi cấy. Môi trường thích hợp để tạo rễ cho chồi Tràu bà vàng chanh là MS + 0,25 mg/l IBA cho tỷ lệ chồi tạo rễ đạt 100%, số rễ/cây đạt 3,90 rễ, chiều dài rễ đạt 11,04 cm sau 5 tuần nuôi cấy. Giá thể tiếp nhận cây Tràu bà vàng chanh *in vitro* thích hợp nhất là giá thể peatmoss:đất:xơ dừa (1:1:1), cho tỷ lệ cây sống đạt 100%, cây cao thêm 2,19 cm và gia tăng 1,96 lá sau 4 tuần, cây sinh trưởng và phát triển tốt.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] E.P. Michael, P.A. Talcott (2013), *Small Animal Toxicology*, Elsevier, 928pp.

[2] F.C. Chen, C.Y. Wang, J.Y. Fang (2012), “Micropropagation of self-heading *Philodendron* via direct shoot regeneration”, *Scientia Horticulturae*, **141**, pp.23-29, DOI: 10.1016/j.scienta.2012.04.011.

[3] T. Reffstrup, P.M. Boll (1985), “Allergenic 5-alkoxy and 5-alkenyl-resorcinols from *Philodendron* species”, *Horticultural Reviews*, **24(11)**, pp.2563-2565, DOI: 10.1016/S0031-9422(00)80668-8.

[4] M.L. Ascencio, M.A Rodríguez, D.G. Sánchez, et al. (2021), “Establishment of *in vitro* aseptic culture of *Philodendron xanadu* Croat”, *Revista Ciencia Agronomica*, **52(2)**, DOI: 10.5935/1806-6690.20210024.

[5] E.J. Benczúr, A.M. Riffer (1990), “*In vitro* propagation of *Philodendron tuxlanum* bunting with benzylaminopurine”, *Acta Agronomica Hungarica*, **39(3-4)**, pp.341-348, DOI: 10.3390/horticulturae9060688.

[6] G. Gangopadhyay, T. Bandyopadhyay, S.B. Gangopadhyay, et al. (2004), “Luffa sponge - A unique matrix for tissue culture of *Philodendron*”, *Current Science*, **86(2)**, pp.315-319.

[7] Y. Jirakiattikul, P. Limpraditthanont (2006), “Shoot multiplication and rooting of *Philodendron xanadu* cultured *in vitro*”, *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, **28(1)**, pp.79-86.

[8] P.T.T. Hang, N.T. Hai, N.T.T. Linh, et al. (2013), “*In vitro* micropropagation of *Philodendron xanadu*”, *Journal of Science and Development*, **11(6)**, pp.826-832 (in Vietnamese).

[9] B.H. Han, B.M. Park. (2008), “*In vitro* micropropagation of *Philodendron cannifolium*”, *Journal of Plant Biotechnology*, **35**, pp.203-208, DOI: 10.5010/JPB.2008.35.3.203.

[10] A.A. Alawaadh, Y.H. Dewir, M.S. Alwihibi, et al. (2020), “Micropropagation of lacy tree *Philodendron (Philodendron bipinnatifidum* Schott ex Endl.)”, *HortScience*, **55(3)**, pp.294-299, DOI: 10.21273/HORTSCI14612-19.

[11] H. Sakakibara (2010), “Cytokinin biosynthesis and metabolism”, *Plant Hormones*, pp.95-114.

[12] Y.H. Dewir, Nurmansyah, Y. Naidoo, et al. (2018), “Thidiazuron-induced abnormalities in plant tissue cultures”, *Plant Cell Reports*, **37(11)**, pp.1451-1470, DOI: 10.1007/s00299-018-2326-1.

[13] S. Sree Kumar, S. Mukunthakumar, S. Seeni (2001), “Morphogenetic responses of six *Philodendron* cultivars *in vitro*”, *Indian Journal of Experimental Biology*, **39(12)**, pp.1280-1287.

[14] N.T. Thao, N.T.P. Thao, H. Fathi, et al. (2013), “*In vitro* propagation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)”, *Journal of Science and Development*, **11(6)**, pp.868-876 (in Vietnamese).

[15] H.M.S. Hassan, M.A.M. Ali, D.A. Soliman (2016), “Effect of low cost gelling agents and some growth regulators on micropropagation of *Philodendron selloum*”, *Journal of Plant Production*, **7(2)**, pp.169-176, DOI: 10.21608/jpp.2016.45250.

[16] L.T. Vinh, N.T. Thao, L.H. Anh, et al. (2014), “*In vitro* propagation of *Salvia miltiorrhiza* Bunge”, *Journal of Science and Development*, **12(5)**, pp.744-752 (in Vietnamese).