

Nhanh giống sen Mặt Bằng (*Nelumbo nucifera*)

bằng hệ thống nuôi cấy mô và vi thủy canh

Bùi Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Bích Lưu, Đỗ Thị Xuân, Nguyễn Hữu Cường, Đông Huy Giới\*  
Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Rapid propagation of Mat Bang lotus (*Nelumbo nucifera*)

by *in vitro* and micro hydroponic systems

Bui Thi Thu Huong, Nguyen Thi Bich Luu, Do Thi Xuan, Nguyen Huu Cuong, Dong Huy Gioi\*  
Vietnam National University of Agriculture

\*Corresponding author: dhgioi@vnua.edu.vn

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.12.5.2023.051-060>

**TÓM TẮT**

Nghiên cứu này sử dụng phương pháp nuôi cấy *in vitro* và vi thủy canh để nhân nhanh giống cây sen Mặt Bằng (tên khoa học), có nguồn gốc từ xã Sơn Đà, huyện Ba Vì, thành phố Hà Nội. Kết quả cho thấy, môi trường MS có 7,5 g/l agar, 30 g/l saccharose, 0,5 mg/l BAP là phù hợp nhất cho sự nảy mầm của phôi hạt sen với tỉ lệ phôi nảy mầm đạt 95%, chiều cao trung bình chồi 3,08 (cm) và số lá trung bình đạt 2,31 lá/chồi sau 7 ngày. Việc bổ sung kinetin hay BAP đều kích thích nhân chồi *in vitro* và vi thủy canh; đặc biệt môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP khiến 100% chồi tạo chồi mới, hệ số nhân 3,35 và 2,78 ở hệ thống nuôi cấy *in vitro* và vi thủy canh. Sự ra rễ của chồi sen đều tốt ở cả *in vitro* và vi thủy canh; và trong môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l  $\alpha$ -NAA thì 100% chồi ở hai hệ thống đều tạo rễ, với số rễ trung bình 11,63 rễ/cây, chiều dài rễ trung bình 3,10 cm ở hệ thống *in vitro*; và 9,78 rễ/cây, chiều dài rễ trung bình 2,08 cm ở hệ thống vi thủy canh. Giai đoạn thích ứng tự nhiên, cây có nguồn gốc vi thủy canh có tỉ lệ sống và số lá trung bình cao hơn cây *in vitro* ở các giá thể với tỷ lệ bùn và nước khác nhau. Giá thể 20 ml bùn: 40 ml nước thích hợp nhất cho cây sen nguồn gốc vi thủy canh giai đoạn thích nghi với tỷ lệ cây sống là 36,67% và số lá trung bình là 7,42 lá.

**Thông tin chung:**

Ngày nhận bài: 23/06/2023

Ngày phản biện: 06/09/2023

Ngày quyết định đăng: 05/10/2023

**Từ khóa:**

*in vitro*, phôi hạt, sen Mặt Bằng, vi thủy canh.

**ABSTRACT**

This research used tissue culture and micro-hydroponics for plant propagation of the Mat Bang lotus. The result showed that (i) the embryos separated from the lotus seeds cultured on the MS medium with 7.5 g. L<sup>-1</sup> agar + 30 g. L<sup>-1</sup> saccharose and 0.5 mg/l BAP *in vitro* system was the best with an embryo germination rate of 64.4%, shoot height of 3.08 cm, and 2.31 leaves after 7 days of culture. (ii) During the shoot multiplication stage, the MS medium with Kinetin or BAP stimulated the lotus shoot multiplying in both *in vitro* and microponic systems. In particular, the MS added 1.5 mg. L<sup>-1</sup> BAP made 100% of the shoots produce new shoots with a coefficient of 3.35 and 2.78 *in vitro* and microponic systems, respectively. (iii) The rooting of the shoots was available in the two systems. Specially, in the MS medium supplemented with 1.5 mg. L<sup>-1</sup>  $\alpha$ -NAA, 100% of samples produced roots, in which the average number of roots was 11.63 and root length averaged 3.10 cm in the *in vitro* system; and 9.78 roots/plant, the average root length was 2.08 cm in the microponic system. (iv) In the nursery, the microponic plantlets had higher survival rates and the average number of leaves was higher than those of *in vitro* plantlets in all substrates with different ratios of sludge and water. The substrate with the ratio of 20 ml of sludge and 40 ml of water was the most suitable for micro-hydroponic plantlets in the nursery with a survival rate of 36.67% and an average number of leaves of 7.42.

**Keywords:**

embryo, *in vitro*, Mat Bang lotus, micro-hydroponics.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa Sen (*Nelumbo nucifera*) là một trong những loài thực vật có giá trị không những về kinh tế, dược liệu mà còn có giá trị về mặt văn hoá, được con người trồng và sử dụng từ rất lâu đời trên thế giới, và được chọn làm quốc hoa của Việt Nam. Các nghiên cứu về sen với các đặc điểm thực vật, sinh hóa và giá trị của các bộ phận của cây sen đã được một số tác giả nghiên cứu như Nguyen & Hicks (2001) [1]. Phiến lá, cuống lá, nụ, hoa, hạt đến ngó sen, củ sen đều có thể dùng để chế biến các món ăn, thức uống ngon và bổ dưỡng. Hạt sen và củ sen là những thực phẩm quý, giàu dinh dưỡng, chứa nhiều nguyên tố vi lượng, các vitamin, chất xơ... giúp tăng cường sức khỏe cho con người [2]. Dịch chiết các bộ phận khác nhau của cây sen có nhiều dược chất có giá trị chống oxy hóa, chống ung thư, chống virus, chống béo phì, trầm cảm, tiêu chảy, tim mạch, tăng huyết áp và mất ngủ [3-6]. Riêng hoa sen còn được sử dụng trong nhiều lễ hội ở các nước là biểu tượng của sự tinh khiết, thanh liêng và bất tử của nhiều nền văn hóa trong nhiều thế kỷ [7-8]. Tuy nhiên, hiện nay các giống sen có các đặc tính quý đang suy giảm một cách nghiêm trọng và đứng trước nguy cơ mất dần theo thời gian, đặc biệt ở Việt Nam. Hiện trạng trên do nhiều nguyên nhân như tác động của thời tiết khắc nghiệt, ô nhiễm môi trường nước cùng với phương thức tự đẻ giống, lõi canh tác theo kinh nghiệm dân gian, tự phát của người dân. Chính vì vậy, bảo tồn, phát triển các giống sen quý và mở rộng nhân giống vô tính phục vụ quy mô sản xuất là việc rất cần thiết.

Theo Nguyễn Phước Tuyên (2007) [9], phương pháp nhân giống truyền thống bằng hạt và củ có đặc điểm là dễ tiến hành, tuy nhiên một năm chỉ thu hoạch được hạt và củ một lần vì mỗi năm có một vụ nên hệ số nhân không cao. Ngày nay, phương pháp nuôi cấy mô đã đóng góp những kết quả to lớn để nhân giống cây trồng nói chung cũng như cây sen [10-13]. Phương pháp nuôi cấy mô *in vitro* vừa có hệ số nhân cao, lại thu được các cây giống có kích cỡ đồng đều về kiểu gen lẫn kiểu hình nên rất có triển vọng trong sản xuất ở quy mô công nghiệp. Do đó, việc tiến hành nghiên cứu nhân giống *in vitro* cần được

tiến hành nghiên cứu trên cây Sen hồng, một loại Sen có giá trị của Việt Nam [14].

Bên cạnh đó, cây hoa sen là loài cây thủy sinh nên việc kết hợp nhân giống vi thủy canh với *in vitro* là một hướng nghiên cứu triển vọng, góp phần giảm một số tác động tiêu cực của nuôi cấy mô đến mẫu *in vitro* như hiện tượng thủy tinh thể, khả năng ra cây yếu của cây *in vitro* giai đoạn vườn ươm, đặc biệt với cây thủy sinh như cây hoa Sen. Như Mahmud và cộng sự (2014) [15] cũng đã bước đầu nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây sen từ hạt chưa trưởng thành - chồi mầm sen Yellow Plumule ở gương sen trong các điều kiện môi trường lỏng rắn khác nhau. Chính vì vậy, nghiên cứu vi thủy canh và *in vitro* trong nhân giống cây sen hồng (*Nelumbo nucifera gaertn*) nhằm khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình nhân chồi, quá trình ra rễ, giá thể ra cây ngoài vườn ươm của cây trong điều kiện *in vitro* và vi thủy canh nhằm góp phần vào công tác bảo tồn và phát triển loài hoa quý hiếm của Việt Nam cũng như hướng đến việc nhân nhanh cây con phục vụ cho thương mại hóa loài hoa đẹp và có giá trị kinh tế cao này.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Hạt sen hồng Mặt Bằng khô, là một giống địa phương của xã Sơn Đà, huyện Ba Vì, thành phố Hà Nội.

Môi trường dinh dưỡng MS (Murashige & Skoog, 1962) [16] có pH = 5,8.

### 2.2. Tạo nguồn vật liệu ban đầu

#### 2.2.1. Ảnh hưởng của cách xử lý hạt khác nhau đến khả năng tạo vật liệu khởi đầu.

Khử trùng vật liệu ban đầu: Phá vỡ lớp vỏ đầu hạt sen sau đó rửa sạch rồi ngâm với xà phòng trong vòng 15 phút. Tiếp theo, đưa hạt vào tủ cấy vô trùng, lắc trong cồn 70° trong 5 phút, cuối cùng ngâm trong dung dịch Javen 30% trong 10 phút và rửa lại 3 lần với nước cất vô trùng [14].



Hình 1. Hạt sen Mặt Bằng khô

Sau khử trùng, hạt được xử lý và nuôi cấy theo các cách khác nhau như tách lấy phôi hạt và cấy vào hệ thống *in vitro* 1 (MS+ 30 g/l saccharose + 7,5 g/l agar); hệ thống *in vitro* 2 (MS + 0 g/l saccharose + 7,5 g/l agar); hệ thống *in vitro* 3 (nước RO + 30 g/l saccharose + 7,5 g/l agar) hay cấy cả hạt đã khử trùng trong hệ thống vi thủy canh 1 (MS lỏng + 0 g/l saccharose); hệ thống vi thủy canh 2 (nước RO + 30 g/l saccharose hay trong hệ thống vi thủy canh 3 (nước RO + 30 g/l saccharose) trong giá thể xốp trong bình thủy tinh. Đánh giá mẫu sau một tuần với các chỉ tiêu tỉ lệ phôi sống sạch, tỉ lệ phôi nảy mầm, chiều cao chồi, số lá.

### 2.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến sự nảy mầm của phôi hạt hoa sen hồng

Các mẫu phôi có tỷ lệ nảy mầm tốt nhất ở thí nghiệm trên được chọn làm công thức khử trùng và được nuôi cấy trên các môi trường khác nhau như môi trường *in vitro* là MS + 30 g/l saccharose + 7,5g/l agar + 0 mg/l BAP (CT1); MS + 30 g/l saccharose + 7,5g/l agar + 0,5 mg/l BAP (CT2) và môi trường vi thủy canh là MS và 30 g/l saccharose không bổ sung BAP (CT3) hoặc 0,5 mg/l BAP (CT4). Sau một tuần, các chỉ tiêu theo dõi gồm tỉ lệ phôi sống sạch, tỉ lệ phôi hạt nảy mầm, chiều cao chồi và số lượng lá.

### 2.3. Nhân nhanh chồi sen *in vitro* và vi thủy canh

Các chồi sen 2 tuần tuổi thu được trên công thức tốt nhất của thí nghiệm ảnh hưởng của BAP đến sự nảy mầm của phôi hạt thu được nuôi cấy trên môi trường khác nhau là môi trường *in vitro* MS + 30 g/l saccharose + 7,5 g/l agar và môi trường vi thủy canh là MS; có bổ sung kinetin ở các nồng độ khác nhau là 0,0; 0,5; 0,75; 1,0 mg/l. Sau 2 tuần nuôi cấy, theo dõi gồm tỉ lệ mẫu tạo chồi mới, hệ số nhân chồi, đặc điểm chồi.

### 2.4. Ra rễ cho chồi sen *in vitro* và vi thủy canh

Đồng Huy Giới và cộng sự (2021) [14] đã xác định được môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/l  $\alpha$ -NAA là môi trường thích hợp nhất cho sự tạo rễ *in vitro* cây hoa sen Hồ Tây. Vì vậy các

chồi sen được nuôi cấy trong môi trường MS + 30 g/l saccharose + 7,5 g/l agar + 1,5 mg/l  $\alpha$ -NAA và MS + 1,5 mg/l  $\alpha$ -NAA. Theo dõi mẫu sau 3 tuần với các chỉ tiêu gồm tỉ lệ mẫu ra rễ, số rễ trung bình, chiều dài rễ trung bình.

### 2.5. Huấn luyện cây từ *in vitro* và vi thủy canh thích nghi với điều kiện tự nhiên

Mẫu chồi sen sau khi được tạo rễ (cây hoàn chỉnh) *in vitro* và vi thủy canh được đưa ra môi trường ánh sáng ngoài tự nhiên trong giá thể bùn ao và nước với các tỉ lệ khác nhau (20:20; 40:20; 20:40). Theo dõi cây trồng sau 2 tuần với các chỉ tiêu gồm tỉ lệ cây sống, số lá, đặc điểm cây.

### 2.6. Phương pháp bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

Các thí nghiệm trong phòng được bố trí trên các giá có chế độ chiếu sáng 16 h/ngày, cường độ 2000 lux ở điều kiện nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , độ ẩm 70 - 80%. Ở hệ thống *in vitro*, các mẫu được nuôi cấy trong bình nuôi cấy môi trường trước khi sử dụng để nuôi cấy được hấp khử trùng ở  $121^\circ\text{C}$ , 1 atm trong 20 phút. Ở hệ thống vi thủy canh, các mẫu được cấy trong giá thể bọt xốp, đặt trong bình nuôi chứa môi trường dinh dưỡng không hấp khử trùng.

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên, mỗi công thức lặp lại 3 lần, mỗi công thức 20 hoặc 30 mẫu tùy thí nghiệm. Các số liệu về các chỉ tiêu theo dõi được tính toán bằng phần mềm Excel và theo chương trình IRRISTAT 5.0. Các công thức so sánh được tiến hành theo phương pháp kiểm tra sự sai khác giữa các giá trị trung bình bằng phép ước lượng và sử dụng tiêu chuẩn LSD (độ tin cậy là 95%). Kiểm tra độ biến động của thí nghiệm được biểu hiện qua chỉ số tiêu chuẩn CV (%).

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

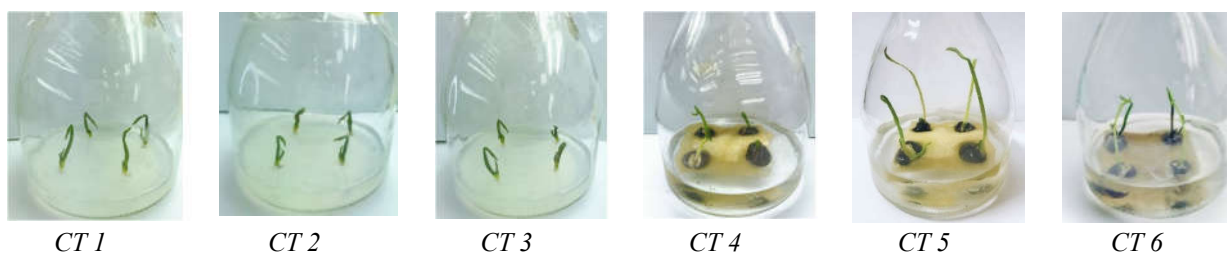
### 3.1. Tạo vật liệu khởi đầu

Các hạt sen được xử lý khác nhau như phôi được tách từ hạt hay nguyên hạt được nuôi cấy vào hệ thống khác nhau ứng các công thức từ CT1 đến CT6. Sau 7 ngày, kết quả thể hiện ở Bảng 1 và Hình 2.

**Bảng 1. Khả năng nảy mầm của phôi và hạt sen khô sau 7 ngày nuôi cấy**

Công thức	Mẫu cây	Điều kiện nuôi cấy	Tỷ lệ phôi sống sạch (%)	Tỷ lệ phôi sống sạch nảy mầm (%)	Chiều cao phôi (cm)	Số lá (lá)
CT1	Phôi	<i>In vitro</i> 1	81,1	<b>60,0</b>	<b>2,26 ± 0,13<sup>c</sup></b>	2,0 <sup>a</sup>
CT2		<i>In vitro</i> 2	86,7	40,0	1,69 ± 0,29 <sup>c</sup>	2,0 <sup>a</sup>
CT3		<i>In vitro</i> 3	83,3	46,7	1,89 ± 0,14 <sup>c</sup>	2,0 <sup>a</sup>
CT4	Hạt	VTC1	<b>68,9</b>	43,3	1,21 ± 0,01 <sup>d</sup>	2,0 <sup>a</sup>
CT5		VTC2	51,1	<b>50,0</b>	<b>7,94 ± 0,13<sup>a</sup></b>	2,0 <sup>a</sup>
CT6		VTC3	54,4	48,9	6,93 ± 0,52 <sup>b</sup>	2,0 <sup>a</sup>
LSD <sub>0,05</sub>					0,45	0,0
CV%					6,7	0,0

Ghi chú: VTC - Vi thủy canh; So sánh các giá trị trong cùng một cột, các giá trị mang các chữ cái a, b, c, d khác nhau thì biểu diễn sự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $\alpha = 0,05$ .



**Hình 2. Các chồi sen sau 7 ngày nuôi cấy phôi, hạt**

Ghi chú:

- CT 1: Tách phôi hạt và cấy vào hệ thống *in vitro* 1 (MS+ 7,5 g/l agar+ 30 g/l saccharose);
- CT 2: Tách phôi hạt và cấy vào hệ thống *in vitro* 2 (MS + 7,5 g/l agar + 0 g/l saccharose);
- CT 3: Tách phôi hạt và cấy vào hệ thống *in vitro* 3 (nước RO + 7,5 g/l agar + 30 g/l saccharose);
- CT 4: Cấy hạt trong hệ thống vi thủy canh 1 (nước RO + 0 g/l saccharose) trong giá thể xốp;
- CT 5: Cấy hạt trong hệ thống vi thủy canh 2 (MS + 30 g/l saccharose) trong giá thể xốp;
- CT 6: Cấy hạt trong hệ thống vi thủy canh 3 (nước RO + 30 g/l saccharose) trong giá thể xốp.

Kết quả Bảng 1 cho thấy, cách xử lý hạt khác nhau có ảnh hưởng đến sức sống và sinh trưởng của phôi hạt sen hồng khô. Ở CT1, phôi hạt được tách ra khỏi hạt và cấy vào hệ thống *in vitro* 1 (MS+ 7,5 g/l agar + 30 g/l saccharose) có tỷ lệ phôi sống sạch (81,1%) và phôi sống sạch nảy mầm (60%) cao nhất. Tuy nhiên, ở điều kiện CT6, hạt được cấy trong hệ thống vi thủy canh 2 (MS + 30 g/l saccharose) trong giá thể xốp trong bình thủy tinh có chiều cao phôi cao nhất (7,94 cm). Như vậy, sử dụng cách lấy mẫu và khử trùng mẫu cũng như môi trường thủy canh để nuôi cấy phôi bước đầu cho thấy chúng có thể áp dụng vào mẫu cho cây nuôi cấy vi thủy canh, với tỷ lệ mẫu sống sạch trên 50%, thấp hơn các mẫu được khử trùng và nuôi trên môi trường *in vitro*, tỷ lệ là trên 80%. Kết quả này có sự khác biệt so với công bố của tác giả Đồng Huy Giới và cộng sự (2021) [14] khi nhóm tác giả tiến hành khử trùng hạt sen hồng

Hồ Tây tươi bằng còn 70% và Javen 30% đạt tỷ lệ sống sạch là 95%. Tuy nhiên, công bố của Hoàng Thị Kim Hồng và cộng sự (2017) [17] khi xử lý hạt sen Huế tươi bằng nước xà phòng loãng, còn 70% và HgCl<sub>2</sub> 0,1% trong thời gian 6 phút, cũng chỉ thu được tỷ lệ phôi sống sạch là 75%.

Ngoài ra, môi trường nuôi cấy vi thủy canh VTC2 này có lẽ có đủ các yếu tố cần thiết giúp phôi sen nảy mầm và phát triển như giá thể để bám; các chất khoáng trong môi trường dinh dưỡng MS, nước và năng lượng từ đường saccharose, nên chồi sen sinh trưởng và phát triển vượt trội.

Tiếp theo đó, các phôi hạt được tách ra và nuôi cấy trong môi trường *in vitro* 1 và vi thủy canh 2 có bổ sung BAP với nồng độ khác nhau để nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến phôi hạt ở cả hai hệ thống. Kết quả ở Bảng 2 và Hình 3 cho thấy, BAP có ảnh hưởng tích cực đến sự nảy mầm của phôi hạt hoa sen trong cả hai điều

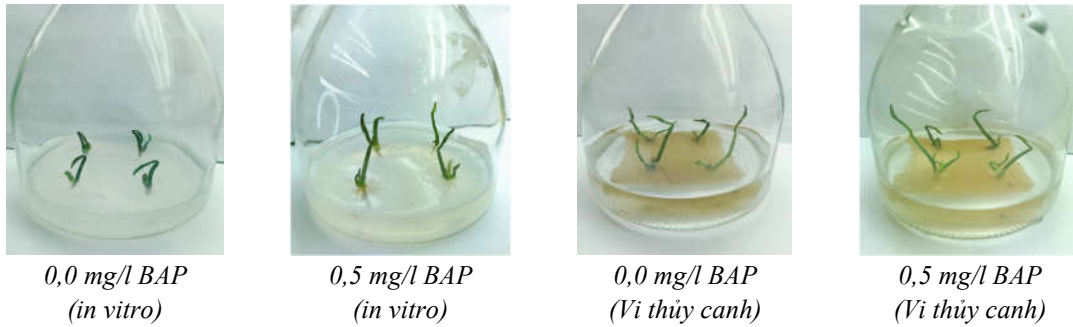
kiện nuôi cấy. Trong môi trường MS có 0,5 mg/l BAP với tỉ lệ phôi sống sạch nảy mầm là 64,4% (*in vitro*), 53,3% (vi thủy canh) và số lá mầm cao nhất là 2,31 ở điều kiện *in vitro*. Chiều cao chồi đạt giá trị cao nhất ở điều kiện

*in vitro* có BAP và ở điều kiện vi thủy canh (khoảng 3 cm). Phạm Văn Lộc và cộng sự (2007) [18] cũng đã sử dụng môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BAP để kích thích sự sinh trưởng của phôi hạt sen.

**Bảng 2. Ảnh hưởng BAP đến sự nảy mầm của phôi hạt sen sau 7 ngày nuôi cấy**

Công thức	Nồng độ BAP (mg/l)	Điều kiện nuôi cấy	Tỷ lệ phôi sống sạch (%)	Tỷ lệ phôi sống sạch nảy mầm (%)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá
CT1	0,0	<i>In vitro</i> 1	80,0	58,9	2,86 ± 0,28 <sup>b</sup>	2,00 ± 0,00 <sup>b</sup>
CT2	0,5	<i>In vitro</i> 1	78,9	<b>64,4</b>	<b>3,08 ± 0,41<sup>a</sup></b>	<b>2,31 ± 0,14<sup>a</sup></b>
CT3	0,0	Vi thủy canh 2	52,2	51,1	<b>3,47 ± 0,21<sup>a</sup></b>	2,00 ± 0,00 <sup>b</sup>
CT4	0,5	Vi thủy canh 2	53,3	53,3	<b>3,86 ± 0,34<sup>a</sup></b>	2,08 ± 0,09 <sup>b</sup>
LSD <sub>0,05</sub>					0,50	0,14
CV%					8,2	3,3

Ghi chú: Môi trường nền *in vitro* MS + 30 g/l saccharose + 7,5 g/l agar, môi trường vi thủy canh là MS + 30 g/l saccharose; So sánh các giá trị trong cùng một cột, các giá trị mang các chữ cái a, b, c, d khác nhau thì biểu diễn sự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $\alpha = 0,05$ .



**Hình 3. Chồi sen trong các môi trường bổ sung BAP sau 7 ngày nuôi cấy phôi hạt**

**3.2. Nhân nhanh chồi sen *in vitro* và vi thủy canh.**

Các chồi sen *in vitro* 2 tuần tuổi được nuôi

cây điều kiện *in vitro* hoặc vi thủy canh có bổ sung Kinetin (Ki) hoặc không. Sau 2 tuần, kết quả được thể hiện ở Bảng 3 và Hình 4.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của Kinetin (Ki) đến sự nhân nhanh chồi hoa sen**

Công thức	Nồng độ Ki (mg/l)	Điều kiện nuôi cấy	Tỉ lệ mẫu tạo chồi mới (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Đặc điểm chồi
CT1 (ĐC1)	0,00	<i>In vitro</i>	18,33	1,1 ± 0,03 <sup>e</sup>	Chồi vàng
CT2	<b>0,50</b>		<b>83,33</b>	<b>2,73 ± 0,16<sup>a</sup></b>	<b>Chồi xanh</b>
CT3	0,75		75,00	2,33 ± 0,08 <sup>c</sup>	Chồi xanh
CT4	1,00		71,67	2,17 ± 0,03 <sup>d</sup>	Chồi xanh
CT5 (ĐC2)	0,00	Vi thủy canh	13,33	1,13 ± 0,03 <sup>e</sup>	Chồi xanh, có rễ
CT6	<b>0,50</b>		<b>81,67</b>	<b>2,45 ± 0,05<sup>b</sup></b>	Chồi xanh, có rễ
CT7	0,75		75,00	2,13 ± 0,03 <sup>d</sup>	Chồi xanh, có rễ
CT8	1,00		70,00	2,05 ± 0,04 <sup>d</sup>	Chồi xanh, có rễ
LSD <sub>0,05</sub>				0,11	
CV%				3,2	

Ghi chú: Môi trường nền *in vitro* MS + 30 g/l saccharose + 7,5 g/l agar, môi trường vi thủy canh là MS + 30 g/l saccharose; so sánh các giá trị trong cùng một cột, các giá trị mang các chữ cái a, b, c, d khác nhau thì biểu diễn sự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $\alpha = 0,05$ .

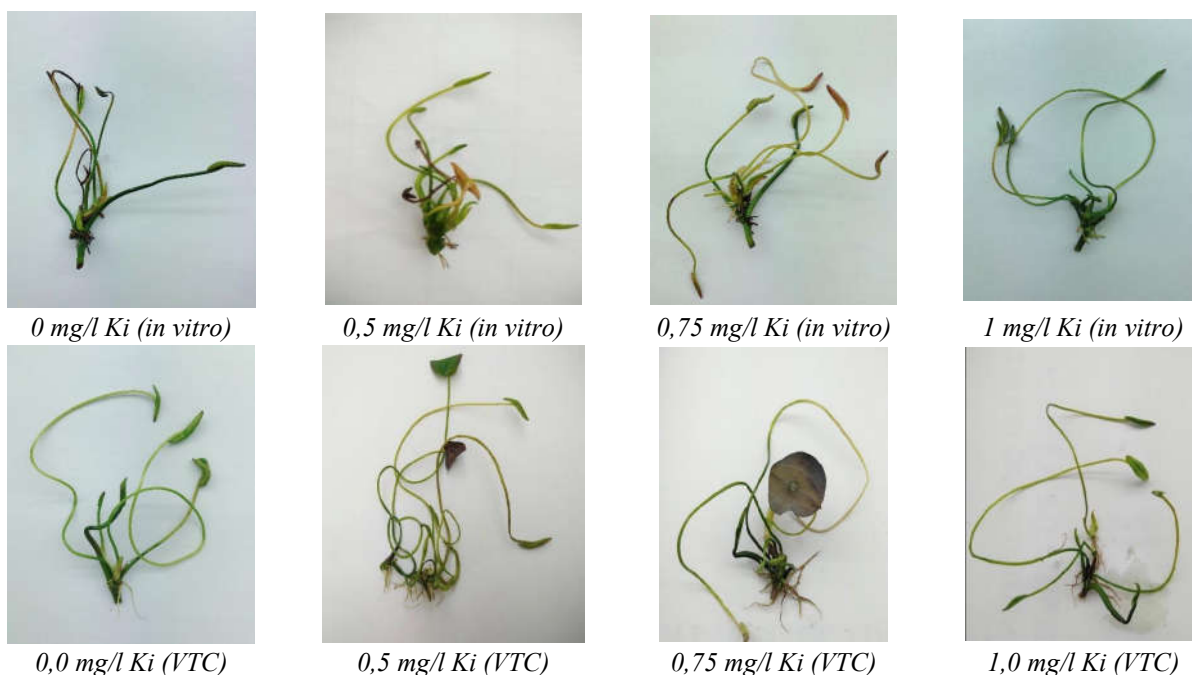
Bảng 3 cho thấy, ở môi trường bổ sung 0,5 Kinetin có tác động tích cực đến sự nhân nhanh

chồi sen hồng *in vitro*. Nghiên cứu của Nguyễn Thị Quỳnh Trang (2020)[19] cũng cho thấy, số

chồi tăng lên ở môi trường bổ sung 0,5 mg/l Kinetin, sau đó giảm dần xuống khi nồng độ tăng từ 1,0-2,0 mg/L với cả giống sen trắng Trệt Lồm và giống sen Đỏ Ớt.

Ngoài ra, ở thí nghiệm này với sen hồng, các chỉ tiêu của chồi sen ở điều kiện *in vitro* trội hơn một ít so với môi trường nuôi cấy vi thủy canh. Cụ thể, tỉ lệ mẫu tạo chồi, về hệ số nhân chồi ở môi trường nuôi cấy có bổ sung 0,5 mg/l ở điều

kiện *in vitro* đạt cao nhất là 83,33% và 2,73; ở điều kiện vi thủy canh đứng vị trí số 2 là 81,67% và 2,45. Các chỉ tiêu này của chồi ở môi trường nuôi cấy điều kiện *in vitro* cũng nhỉnh hơn so môi trường vi thủy canh, ở các nồng độ Kinetin khác. Như vậy, với cây hoa sen hồng, có thể sử dụng phương pháp nuôi cấy vi thủy canh để nhân nhanh chồi sen.



Hình 4. Chồi sen *in vitro* và vi thủy canh (VTC) ở các môi trường có Kinetin

Các chồi sen *in vitro* 2 tuần tuổi cũng được nuôi cấy trong môi trường bổ sung BAP ở điều kiện *in vitro* và vi thủy canh. Sau 2 tuần nuôi

cây và kết quả thu được thể hiện ở Bảng 4 và Hình 5.

Bảng 4. Ảnh hưởng của BAP đến chồi sen sau 2 tuần nuôi cấy

Công thức	Nồng độ BA	Điều kiện nuôi cấy	Tỉ lệ mẫu tạo chồi mới (%)	Hệ số nhân chồi	Đặc điểm chồi
CT1 (ĐC1)	0,0	<i>In vitro</i>	18,33	1,17 ± 0,03 <sup>c</sup>	Chồi vàng
CT2	1,5	<i>In vitro</i>	<b>100,0</b>	<b>3,35 ± 0,23<sup>a</sup></b>	Chồi xanh
CT3 (ĐC2)	0,0	Vi thủy canh	13,33	1,13 ± 0,03 <sup>c</sup>	Chồi xanh
CT4	1,5	Vi thủy canh	<b>100,0</b>	<b>2,78 ± 0,10<sup>b</sup></b>	Chồi xanh
	LSD <sub>0,05</sub>			0,21	
	CV%			5,0	

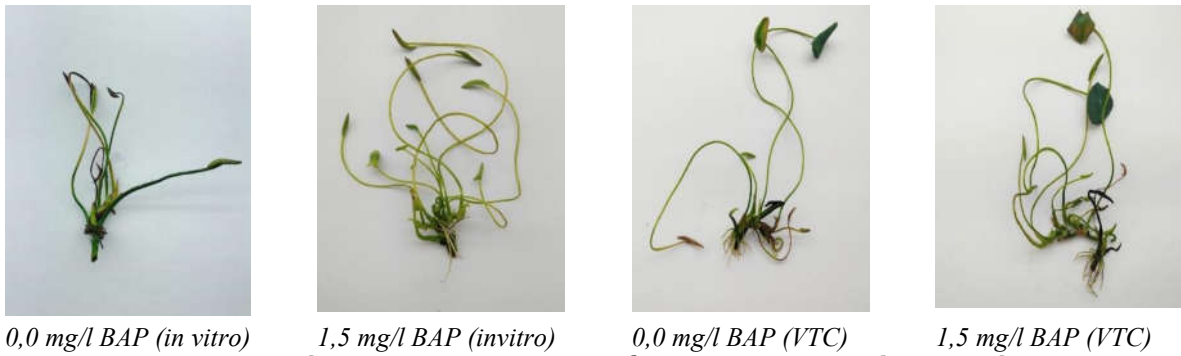
Ghi chú: Môi trường nền *in vitro* MS + 30 g/l saccharose + 7,5 g/l agar, môi trường vi thủy canh là MS + 30 g/l saccharose; các giá trị mang các chữ cái a, b, c, d khác nhau thì biểu diễn sự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $\alpha = 0,05$ .

Bảng 4 cho thấy, BAP có ảnh hưởng tích cực đến sự nhân nhanh chồi sen hồng ở cả hai điều kiện *in vitro* và vi thủy canh. Cụ thể là, khi bổ

sung BAP ở nồng độ 1,5 mg/l ở hai điều kiện đều cho kết quả cao hơn so với công thức đối chứng. Các công thức bổ sung BAP (1,5 mg/l)

cho 100% tỉ lệ mẫu tạo chồi mới ở cả hai điều kiện. Ở môi trường bổ sung 1,5 mg/l BA, hệ số nhân chồi cao nhất đạt 3,35 điều kiện *in vitro*, và hệ số này thấp hơn một chút (2,78) ở điều kiện vi thủy canh. Kết quả này khá tương đồng với công bố của Đồng Huy Giới và cộng sự (2021) [14], khi nuôi cấy chồi sen Hồ Tây trong môi trường lỏng MS bổ sung 1,5 mg/l BAP cho

hệ số nhân chồi là 2,95 và môi trường rắn MS bổ sung 1,5 mg/l BAP cho hệ số nhân chồi là 3,69 lần sau 4 tuần nuôi cấy. Kết quả này có sự sai khác so với tác giả Shou và cộng sự (2008) [10], cho rằng từ đỉnh sinh trưởng của chồi sen *N. nucifera* Gaertn.cv Purple Red *in vitro*, sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường MS rắn chỉ bổ sung BAP 1 mg/l cho hệ số nhân chồi đạt 3,5 chồi.



Hình 4. Chồi sen trong môi trường bổ sung BAP sau 2 tuần nuôi cấy

### 3.3. Ảnh hưởng của $\alpha$ - NAA đến sự tạo rễ của chồi sen trong hệ thống *in vitro* và hệ thống vi thủy canh.

Các chồi sen có nguồn gốc *in vitro* và vi thủy canh được ra rễ trong điều kiện vi thủy canh. Kết quả thể hiện ở Bảng 5 và Hình 6 sau 3 tuần nuôi cấy.

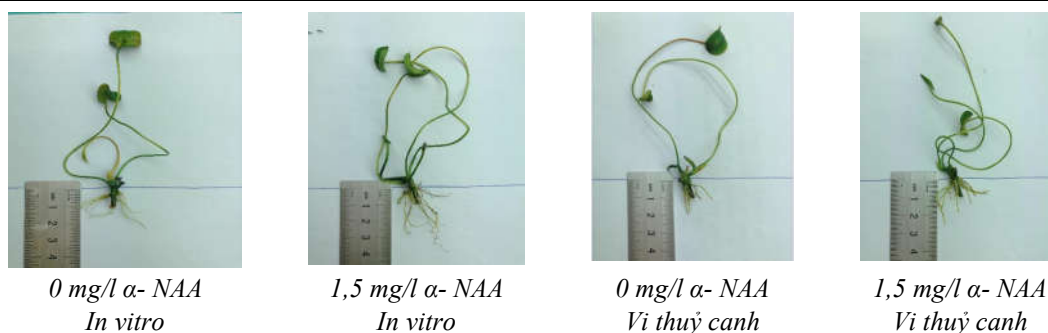
Bảng 5. Ảnh hưởng của  $\alpha$ - NAA đến sự tạo rễ của chồi sen trong điều kiện vi thủy canh và *in vitro*

Công thức	Nồng độ $\alpha$ -NAA	Nguồn gốc chồi	Tỉ lệ mẫu tạo rễ (%)	Số rễ trung bình	Chiều dài rễ trung bình (cm)
CT1 (ĐC1)	0	<i>In vitro</i>	100	7,25 ± 0,33 <sup>c</sup>	2,06 ± 0,07 <sup>b</sup>
CT2	1,5	<i>In vitro</i>	100	11,63 ± 0,52 <sup>a</sup>	3,10 ± 0,10 <sup>a</sup>
CT3 (ĐC2)	0	Vi thủy canh	100	6,32 ± 0,34 <sup>d</sup>	1,07 ± 0,04 <sup>c</sup>
CT4	1,5	Vi thủy canh	100	9,78 ± 0,76 <sup>b</sup>	2,08 ± 0,16 <sup>b</sup>
	LSD <sub>0,05</sub>			0,97	0,15
	CV%			5,6	3,6

Ghi chú: Môi trường nền *in vitro* MS + 30 g/l saccharose + 7,5 g/l agar, môi trường vi thủy canh là MS + 30 g/l saccharose; so sánh các giá trị trong cùng một cột, các giá trị mang cùng một chữ cái thì khác nhau không có ý nghĩa, các giá trị mang các chữ cái a, b, c, d khác nhau thì biểu diễn sự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $\alpha=0,05$ .

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy, tỉ lệ mẫu ra rễ ở điều kiện bổ sung hay không bổ sung  $\alpha$ - NAA vẫn là 100%, tuy nhiên ở điều kiện bổ sung 1,5 mg/l có số rễ trung bình và chiều dài rễ ở điều kiện *in vitro* và vi thủy canh cao hơn so với không bổ sung  $\alpha$ - NAA. Bên cạnh đó, khi bổ sung  $\alpha$ - NAA ở nồng độ 1,5 mg/l ở cho nuôi cấy chồi có nguồn gốc *in vitro* đạt giá trị cao nhất về sự ra rễ với số rễ là 11,63 và chiều dài rễ 3,10 cm. Theo công bố của tác giả Guo và cộng sự

(2008), cho rằng môi trường tốt nhất để tạo rễ từ chồi sen *in vitro* là môi trường MS bổ sung 1 mg/l NAA, số rễ chỉ đạt được là 9,5 rễ/chồi. Tuy nhiên, kết quả thí nghiệm này tương đương với công bố của Đồng Huy Giới và cộng sự (2021) [14] (môi trường *in vitro* MS có bổ sung 1,5 mg/l  $\alpha$ -NAA cho chồi sen Hồ Tây số rễ trung bình đạt 12,07 rễ/chồi và chiều dài rễ trung bình 11,18 mm sau 3 tuần nuôi cấy)



Hình 6. Chồi sen in vitro và vi thủy canh ở các nồng độ  $\alpha$ - NAA khác nhau

### 3.4. Huấn luyện cây in vitro và cây vi thủy canh thích nghi với điều kiện tự nhiên

Đây là giai đoạn cuối cùng của quá trình nhân giống in vitro và vi thủy canh, giai đoạn này có tính chất quyết định đến khả năng ứng dụng kỹ thuật nhân giống vô tính in vitro và hệ thống vi thủy canh trong nhân giống cây trồng. Cây nuôi cấy in vitro và vi thủy canh đang sống trong môi trường thuận lợi cho sự sinh trưởng và phát triển nên khi đưa chúng ra ngoài vườn ươm cần phải

có kỹ thuật chăm sóc cẩn thận. Mẫu sen in vitro và vi thủy canh sau khi được tạo rễ (cây hoàn chỉnh) đưa ra môi trường ánh sáng ngoài tự nhiên. Các cây con này được chuyển ra điều kiện tự nhiên sẽ được tiếp xúc với các bất lợi phi sinh học (nhiệt độ, cường độ ánh sáng, độ ẩm thay đổi) và sinh học như nấm đất. Vì vậy, huấn luyện quyết định đến sự thành công của cả quy trình. Kết quả sau 2 tuần ra cây ngoài vườn ươm được biểu thị ở Bảng 6 và Hình 7.

Bảng 6. Khả năng sống sót và sinh trưởng của cây con trong giá thể

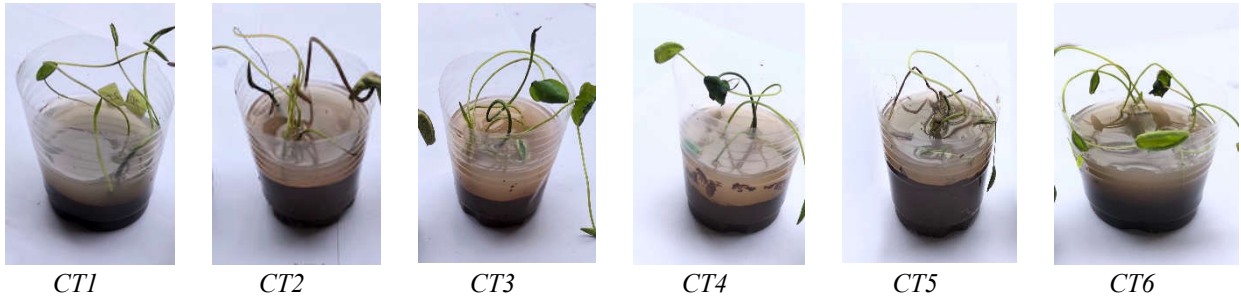
Công thức	Nguồn gốc cây	Giá thể		Tỉ lệ cây sống (%)	Số lá/cây	Đặc điểm lá
		Bùn (ml)	Nước (ml)			
CT1	In vitro	20	20	20,00	6,11 <sup>b</sup>	Lá nhỏ, xanh vàng
CT2		40	20	16,67	5,33 <sup>c</sup>	Lá nhỏ, xanh vàng
CT3		20	40	<b>26,67</b>	<b>6,67<sup>b</sup></b>	<b>Lá to, xanh</b>
CT4	Vi thủy canh	20	20	23,33	5,28 <sup>c</sup>	Lá nhỏ, xanh vàng
CT5		40	20	20,00	4,57 <sup>c</sup>	Lá nhỏ, xanh vàng
CT6		20	40	<b>36,67</b>	<b>7,42<sup>a</sup></b>	<b>Lá to, xanh</b>
LSD <sub>0,05</sub>					0,61	
CV%					8,0	

Ghi chú: So sánh các giá trị trong cùng một cột, các giá trị mang cùng một chữ cái thì khác nhau không có ý nghĩa, các giá trị mang các chữ cái a, b, c, d khác nhau thì biểu diễn sự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $\alpha=0,05$ .

Từ số liệu Bảng 6 cho thấy giống hoa sen hồng sau thời gian trồng 2 tuần ngoài vườn ươm trên giá thể bùn và nước thì cây có nguồn gốc vi thủy canh cho kết quả cao hơn cây in vitro. Cây in vitro đạt giá trị cao nhất ở CT3 (giá thể 20 ml bùn: 40 ml nước) cho tỉ lệ sống là 26,67%, đồng thời số lá trung bình đạt 6,67 lá. Giá thể 20 ml bùn: 20 ml nước (CT1) là thích hợp thứ hai cho cây sen với tỉ sống là 20% và số lá trung bình là 6,11 lá. Giá thể cho kết quả thấp nhất là 40 ml bùn: 20 ml nước đạt tỉ lệ sống 16,67% và số lá trung bình là 5,33 lá.

Cây vi thủy canh ở CT6 (giá thể 20 ml bùn: 40 ml nước) có tỉ lệ sống là 36,67%, đồng thời số lá trung bình đạt 7,42 lá, lá to và xanh. Giá thể 20 ml bùn: 20 ml nước (CT1) là thích hợp thứ hai cho cây sen với tỉ sống là 23,33% và số lá trung bình là 5,28 lá. Giá thể cho kết quả thấp nhất là 40 ml bùn: 20 ml nước đạt tỉ lệ sống 16,67% và số lá trung bình là 4,57 lá. Như vậy, cây vi thủy canh đạt tỉ lệ sống cao hơn cây in vitro và giá thể 20 ml bùn: 40 ml nước thích hợp nhất cho cây sen hồng nguồn gốc in vitro và vi thủy canh khi đưa ra vườn ươm.





Hình 6. Cây sen 2 tuần trồng trên giá thể bùn nước ngoài điều kiện tự nhiên

Ghi chú:

CT1: Cây in vitro giá thể 20 ml bùn: 20 ml nước;

CT2: Cây in vitro giá thể 40 ml bùn: 20 ml nước;

CT3: Cây in vitro giá thể 20 ml bùn: 40 ml nước;

CT4: Cây vi thủy canh giá thể 20 ml bùn: 20 ml nước;

CT5: Cây vi thủy canh giá thể 40 ml bùn: 20 ml nước;

CT6: Cây vi thủy canh giá thể 20 ml bùn: 40 ml nước.

#### 4. KẾT LUẬN

Phôi tách từ hạt sen khô được nuôi cấy *in vitro* trong môi trường MS + 7,5 g/l agar + 30 g/l saccharose sau 7 ngày nuôi cấy với tỉ lệ phôi sống sạch và nảy mầm đạt 65%, 60%. Ngoài ra, môi trường MS + 7,5 g/l + 30g/l saccharose có bổ sung 0,5 mg/l BAP trong hệ thống *in vitro* là điều kiện tốt nhất cho sự nảy mầm của phôi hạt sen hồng (với tỉ lệ phôi nảy mầm 95%, chiều cao chồi 3,08 cm và 2,31 lá).

Bổ sung 0,5 mg/l Kinetin vào hệ thống *in vitro* và vi thủy canh đều có tác dụng kích thích sự nhân nhanh chồi sen hồng (tỉ lệ mẫu tạo chồi mới tương ứng 83,33% và 81,67%, hệ số nhân chồi 2,73 và 2,45). Bên cạnh đó, việc bổ sung BAP 1,5 mg/l vào hệ thống *in vitro* và vi thủy canh đều khiến 100% chồi tạo chồi mới của chồi sen, hệ số nhân chồi 3,35 và 2,78 tương ứng với hệ thống nuôi cấy *in vitro* và vi thủy canh.

Bổ sung 1,5 mg/l  $\alpha$ -NAA vào môi trường nuôi chồi sen đều khiến 100% mẫu ra rễ với số rễ trung bình 11,63 rễ/cây, chiều dài rễ trung bình 3,10 cm ở hệ thống *in vitro*; và 9,78 rễ/cây, chiều dài rễ trung bình 2,08 cm ở hệ thống vi thủy canh.

Cây hoàn chỉnh vi thủy canh có tỉ lệ sống và số lá trung bình ngoài vườn ươm cao hơn cây *in vitro* ở các giá thể với tỷ lệ bùn và nước khác nhau. Giá thể 20 ml bùn: 40 ml nước thích hợp nhất cho cây sen hồng nguồn gốc vi thủy canh khi đưa ra vườn ươm với tỷ lệ cây sống là 36,67% và số lá trung bình là 7,42 lá.

#### Lời cảm ơn

Nghiên cứu này nhận được sự tài trợ kinh phí

từ Đề tài cấp Học viện Nông nghiệp Việt Nam mã số T2021-12-77.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Nguyen Q.V. & Hicks D. (2001). Exporting lotus to Asia: An agronomic and physiological study: a report for the Rural Industries Research and Development Corporation. in RIRDC publication. Barton. A.C.T.: RIRDC.

<http://www.rirdc.gov.au/reports/AFO/01-032.pdf>

[2]. Hicks D. J. (2005). Development and evaluation of a system for the study of mineral nutrition of sacred lotus (*Nelumbo nucifera*). B.Hort. Sci. (Hons.) University of Western Sydney, Hawkesbury, Australia. <https://researchdirect.westernsydney.edu.au/islandora/object/uws%3A3579>.

[3]. Lee H. K., Choi Y. M., Noh D. O. & Suh H. J., (2005). Antioxidant effect of Korean traditional lotus liquor (Yunyupju). International Journal of Food Science and Technology. 40(7): 709–715.

DOI: 10.1111/j.1365-2621.2005.00990. x

[4]. Ono Y., Hattori E., Fukaya Y., Imai S. & Ohizumi Y. (2006). Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rat. J Ethnopharmacol. 106(2): 238–244.

DOI: 10.1016/j.jep.2005.12.036.

[5]. Mukherjee P. K., Mukherjee D., Maji A. K., Rai S., & Heinrich M. (2009). The sacred lotus (*Nelumbo nucifera*) - phytochemical and therapeutic profile. J Pharm Pharmacol. 61(4):407–422.

DOI: 10.1211/jpp/61.04.0001.

[6]. Yoo J.H., Park E. J., Kim S. H., & Lee H.J. (2020). Gastroprotective Effects of Fermented Lotus Root against Ethanol/HCl-Induced Gastric Mucosal Acute Toxicity in Rats, Nutrients. 12(3): 808.

DOI: 10.3390/nu12030808.

[7]. Sheikh S. (2014). Ethno-medicinal uses and pharmacological activities of lotus (*Nelumbo nucifera*). J. Med. Plants Stud. 2: 42–46.

[8]. Pal I. & Dey P. (2015) A Review on Lotus (*Nelumbo nucifera*) Seed. International Journal of Science and Research 4(7): 1659- 1665.

- [9]. Nguyễn Phước Tuyên (2008). Kỹ Thuật Trồng Sen. NXB Nông nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh. <https://vietbooks.info//threads/ky-thuat-trong-sen-nxb-nong-nghiep-2008-nguyen-phuoc-tuyen-45-trang.19610/>
- [10]. Shou S. Y., Miao L. X., Zai W. S., Huang X. Z., & Guo D. P. (2008). Factors influencing shoot multiplication of lotus (*Nelumbo nucifera*). Biol Plant. 52 (3): 529–532. DOI: 10.1007/s10535-008-0103-7.
- [11]. Tian D. (2008). Container production and post-harvest handling of lotus (*Nelumbo*) and micropropagation of herbaceous peony (*Paeonia*), Ph. D. Dissertation, Auburn University, Department of Horticulture. [auburn.edu](http://auburn.edu)
- [12]. Buathong R., Saetiew K., Phansiri S., Parinthatong N., & Arunyanart S. (2013). Tissue culture and transformation of the antisense DFR gene into lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) through particle bombardment. Scientia Horticulturae. 161:216–222, DOI: 10.1016/j.scienta.2013.06.040.
- [13]. Xia Yu, Jiajing Sheng, Lingling Zhao, Ying Diao, Xingwen Zheng, Keqiang Xie, Mingquan Zhou & Zhongli Hu (2015). In vitro plant regeneration of lotus (*Nelumbo nucifera*). Open Life Sciences. 10. DOI: 10.1515/biol-2015-0016.
- [14]. Đồng Huy Giới, Tô Hoàng Anh Minh, Ngô Thị Vân Anh, Vũ Ngọc Hương, Nguyễn Thị Bích Lưu & Bùi Thị Thu Hương (2021). Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng nhân giống *in vitro* cây hoa sen Hồ Tây (*Nelumbo nucifera* Gaertn.). Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp. 4: 1–9.
- [15]. Mahmad N., Taha R. Mat, Othman R., Saleh A., Hasbullah N. A., & Elias H. (2014). Effects of NAA and BAP, Double-Layered Media, and Light Distance on In Vitro Regeneration of *Nelumbo nucifera* Gaertn. (Lotus), an Aquatic Edible Plant. The Scientific World Journal. vol. 2014, e745148. DOI: 10.1155/2014/745148.
- [16]. Murashige T. & Skoog F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. Physiologia Plantarum. 15(3): 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
- [17]. Hoàng Thị Kim Hồng, Phan Thế Nhật Minh, Trần Nguyễn Minh Hiếu, Nguyễn Hoàng Anh Thư & Nguyễn Thị Quỳnh Trang (2017). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* sen trắng huế từ hạt. Tạp chí Khoa học Lạc Hồng. Số đặc biệt: 132-137.
- [18]. Phạm Văn Lộc, Nguyễn Vương Vũ & Trần Bảo Quốc (2017). Khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố đến sự tăng sinh chồi và tạo rễ *in vitro* cây sen *Nelumbo nucifera* Gaertn. Kỷ yếu kỷ niệm 35 năm thành lập Trường Đại học Công nghiệp thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh: 24–29.
- [19]. Nguyễn Thị Quỳnh Trang (2020). Nghiên cứu đặc điểm thực vật học, sinh lý, hóa sinh và nhân giống *in vitro* một số giống sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) trồng ở Thừa Thiên Huế. Luận án Tiến sĩ Sinh học. <https://hueuni.edu.vn/portal/vi/index.php/News/nghien-cuu-dac-diem-thuc-vat-hoc-sinh-ly-hoa-sinh-va-nhan-giong-in-vitro-mot-so-giong-sen-nelumbo-nucifera-gaertn-trong-o-thua-thien-hue.html>