

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ ĐẾN KHẢ NĂNG NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY HOA SEN HỒ TÂY (*Nelumbo nucifera* Gaertn.)

Đông Huy Giới¹, Tô Hoàng Anh Minh¹, Ngô Thị Vân Anh¹, Nguyễn Hoàng Hải¹, Vũ Ngọc Hương¹, Nguyễn Thị Bích Lưu¹, Bùi Thị Thu Hương^{1*}

¹Học viện Nông nghiệp Việt Nam

TÓM TẮT

Hoa sen Hồ Tây (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) là một giống hoa đẹp có giá trị không những về làm cảnh, dược liệu mà còn có giá trị về văn hóa. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng Javel 30%, kiểu môi trường và các nồng độ khác nhau của BA, α -NAA đến quá trình nhân giống *in vitro* cây sen Hồ Tây. Kết quả thu được cho thấy, hạt sen được xử lý bằng Javel 30% trong 10 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất, với tỉ lệ mẫu sạch và tái sinh chồi đạt 95,00% sau 10 ngày nuôi cấy. Ở thí nghiệm nhân nhanh chồi, môi trường lỏng (MS bổ sung 30 g/l sucrose, 1,5 mg/l BA) cho hệ số nhân chồi là 2,95 lần, môi trường rắn (MS bổ sung 30 g/l sucrose, 8 g/l agar, 1,5 mg/l BA) cho hệ số nhân chồi là 3,69 lần, trong khi đó ở môi trường kết hợp hai lớp rắn, lỏng (lớp dưới rắn, lớp trên lỏng, tỉ lệ hai lớp là 1:1) cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 5,56 lần sau 4 tuần nuôi cấy. Ở thí nghiệm ra rễ, môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/l α -NAA là môi trường thích hợp nhất cho sự tạo rễ *in vitro* cây hoa sen Hồ Tây, với số rễ trung bình đạt 12,07 rễ/chồi và chiều dài rễ trung bình là 11,18 mm sau 3 tuần nuôi cấy.

Từ khóa: BA (Benzyl adenine), môi trường hai lớp rắn lỏng, nhân giống *in vitro*, sen Hồ Tây, α -NAA (α -naphthyl acetic acid).

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) là một loại thực vật thủy sinh được phân bố chủ yếu ở châu Á và châu Phi, đặc biệt là vùng Đông Á, Trung Quốc (Liu *et al.*, 2014). Sen có giá trị quan trọng không những về dinh dưỡng, cảnh quan, dược liệu mà còn có giá trị đặc biệt về tâm linh và tôn giáo.

Về mặt dinh dưỡng, cây sen chứa nhiều thành phần dinh dưỡng như đường, protein, chất béo, vitamin, khoáng chất (Hicks, 2005). Về mặt dược liệu, hạt sen và lá sen có vai trò lợi tiểu, chữa bệnh mất ngủ, dị mộng tinh, nôn ra máu (Đỗ Tất Lợi, 2004). Hoạt chất nuciferin chiết từ lá sen đã được chứng minh là có một số đặc tính dược lý, bao gồm kích thích tiết insulin, chống virus, bảo vệ gan và chống ung thư. Ngoài ra lá sen còn có tác dụng giúp đông máu, chữa kiết lỵ, chóng mặt (Liu *et al.*, 2015). Về mặt cảnh quan và văn hóa, hoa sen được coi là quốc hoa của Việt Nam, được trồng rất nhiều ở các ao hồ để lấy hoa trang trí, đồng thời làm điểm du lịch sinh thái đem lại lợi nhuận kinh tế cho nhiều vùng trồng sen.

*Corresponding author: btthuonghp@gmail.com

Sen Hồ Tây còn được gọi là sen Bách Diệp có đặc trưng là cánh hoa kép, màu hồng, hương thơm đặc biệt và được coi là đặc sản, một phần của văn hóa của Thủ đô Hà Nội. Theo quyết định số 4924/QĐ-UBND ban hành ngày 24 tháng 9 năm 2014 của Ủy ban Nhân dân thành phố Hà Nội, sen Hồ Tây được xếp vào nhóm nguồn gen đặc sản, quý hiếm cần được bảo tồn. Năm 2017, các nhà khoa học của Trung tâm tài nguyên thực vật đã nghiên cứu và đưa ra một số đặc điểm hình thái đặc trưng để nhận biết giống sen Hồ Tây là lá màu xanh đậm, cuống lá và cuống hoa xanh nhạt, có 20 - 22 gân/lá, phiến lá ráp, nụ hoa bầu dục dài chóp tù màu hồng nhạt, hoa cánh kép có màu hồng, gương sen mặt phẳng, hạt sen hình bầu dục dài, mỗi bông sen Hồ Tây có trung bình khoảng 100 cánh, hạt sen sắp xếp thành 3 vòng tròn đồng tâm trên gương sen, vòng thứ nhất gồm từ 1 đến 5 hạt, vòng thứ hai gồm 5 đến 12 hạt và vòng thứ 3 gồm từ 10 đến 17 hạt (Hoàng Thị Nga, 2017).

Theo Nguyễn Phước Tuyên (2007), 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. Phương pháp nuôi cấy *in vitro* vừa có hệ số nhân cao, lại thu được cây giống đồng đều về kiểu gen lẫn kiểu hình nên rất có triển vọng trong sản xuất ở quy mô công nghiệp.

Nhân giống hoa sen bằng phương pháp *in vitro* đã được một số tác giả nghiên cứu và thu được kết quả tốt như Yu và cộng sự (2015) đã nhân giống *in vitro* hoa sen Tai-Kong 36 từ đỉnh sinh trưởng và từ cây con *in vitro*; Hoàng Thị Kim Hồng và cộng sự (2017) nghiên cứu nhân giống *in vitro* hoa sen trắng Huế. Tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào thực hiện nhân giống *in*

vitro sen Hồ Tây. Chính vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm góp phần bảo tồn, phát triển giống hoa sen quý hiếm này của Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, thời gian và địa điểm nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là hạt của giống sen Hồ tây (*Nelumbo Nucifera* Gaertn) có độ tuổi từ 22 đến 25 ngày tuổi được thu tập tại Hồ Tây, Hà Nội, năm 2020. Các thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm hoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam từ tháng 3/2020 đến tháng 12/2020.



a



b

Hình 1. Hạt sen, phôi hạt sen (a) và hoa sen Hồ Tây (b)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

*** Tạo nguồn vật liệu khởi đầu *in vitro***

Hạt sen sau khi tách khỏi gương sen được ngâm vào nước xà phòng loãng trong 15 phút. Sau đó đưa vào tủ cấy vô trùng, tách bỏ vỏ hạt và lắc trong cồn 70° trong 5 phút, cuối cùng ngâm trong dung dịch Javel 30% trong 5, 10, 15 hoặc 20 phút, rửa lại 3 lần với nước cất vô trùng. Dùng panh, dao và giấy cấy vô trùng tách lấy phôi hạt và cấy vào môi trường MS (Murashige và Skoog, 1962) bổ sung thêm 30 g/l sucrose và 8 g/l agar (Hoàng Thị Kim Hồng và cộng sự, 2017). Đánh giá mẫu sau 10 ngày nuôi cấy với các chỉ tiêu: tỉ lệ phôi sống, tỉ lệ phôi sống sạch, chiều cao chồi và số lá/chồi.

*** Nhân chồi *in vitro***

- Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BA đến khả năng nhân chồi *in vitro* cây hoa sen Hồ Tây: Theo kết quả nghiên cứu của Guo và cộng sự (2008), môi trường MS có bổ sung 1mg/l BA

cho hệ số nhân chồi hoa sen cao nhất. Vì vậy, trong thí nghiệm này các chồi sen *in vitro* có từ 3 đến 4 lá được nuôi cấy trên môi trường nền (MS bổ sung 30 g/l sucrose, 8 g/l agar) có bổ sung BA với các nồng độ khác nhau là 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 và 2,0 mg/l. Tỉ lệ mẫu tạo chồi và hệ số nhân chồi được đánh giá sau 4 tuần nuôi cấy.

- Nghiên cứu ảnh hưởng của kiểu môi trường đến khả năng nhân chồi *in vitro* cây hoa sen Hồ Tây: theo Mahmad và cộng sự (2014), sự nhân chồi một loại sen thu thập ở hồ tự nhiên (hồ Chini) của Malaysia trong các loại môi trường khác nhau có sự kết hợp hai trạng thái lỏng rắn với tỉ lệ khác nhau cho kết quả khác nhau. Vì vậy, chồi sen Hồ Tây được nuôi cấy trên 3 loại môi trường khác nhau là môi trường rắn (Môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose, 8g/l agar), môi trường lỏng (không bổ sung agar) và môi trường kết hợp (lớp dưới rắn, lớp trên lỏng, tỉ lệ 2 lớp là 1:1). Tỉ lệ mẫu tạo chồi và hệ số nhân chồi được đánh giá sau 4 tuần nuôi cấy.

*** Tạo cây hoàn chỉnh**

Theo một số tác giả như Guo và cộng sự (2008), Yu và cộng sự (2015) và Phạm Văn Lộc và cộng sự (2017) cho thấy, môi trường để tạo rễ từ chồi *in vitro* cây hoa sen là môi trường MS bổ sung α -NAA 0,5 mg/l đến 1,0 mg/l. Vì vậy, các chồi sen Hồ Tây *in vitro* thu được ở giai đoạn nhân chồi được cấy chuyển sang môi trường MS có bổ sung α -NAA với các nồng độ khác nhau là 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 và 2,0 mg/l α -NAA để thăm dò khả năng ra rễ tạo cây con hoàn chỉnh. Kết quả được đánh giá sau 3 tuần nuôi cấy với các chỉ tiêu tỉ lệ chồi ra rễ, số rễ trung bình và chiều dài rễ trung bình.

2.2.2. Điều kiện thí nghiệm

Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH là 5,7 và hấp khử trùng ở 121°C, áp suất 1,1 atm trong 20 phút. Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 20 mẫu. Điều kiện phòng nuôi là 25°C - 27°C, cường độ ánh sáng là 2400 lux - 2600 lux, độ ẩm 70%, thời gian chiếu sáng là

16h chiếu sáng/ngày.

2.2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý thống kê bằng phân tích ANOVA một nhân tố theo chương trình Microsoft Excel 2010. 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 (Least Significant Difference) ở độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của thời gian xử lý Javel đến phôi hạt sen Hồ Tây (*Nelumbo Nucifera Gaertn*) trong điều kiện *in vitro*

Trong thí nghiệm này, hạt sen Hồ Tây sau khi tách khỏi gương sen được xử lý với nước xà phòng, cồn 70% và dung dịch Javel 30% theo quy trình đã được mô tả ở phần phương pháp. Sau đó, phôi hạt được tách và cấy vào môi trường MS có bổ sung thêm 30 g/l sucrose và 8 g/l agar. Kết quả theo dõi sau ngày nuôi cấy được trình bày trong bảng 1 và hình 2.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian xử lý Javel đến phôi hạt sen sau 10 ngày nuôi cấy

Thời gian xử lý Javel (phút)	Tỉ lệ mẫu sống (%)	Tỉ lệ mẫu sống sạch (%)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi
5 (CT1)	100,00	80,00 ± 2,89 ^c	5,52 ± 0,29 ^a	3,22 ± 0,15 ^a
10 (CT2)	100,00	95,00 ± 3,5 ^a	5,48 ± 0,36 ^a	3,37 ± 0,15 ^a
15 (CT3)	85,00	85,00 ± 3,5 ^b	4,11 ± 0,15 ^b	2,87 ± 0,3 ^b
20 (CT4)	81,67	81,67 ± 2,89 ^c	3,52 ± 0,08 ^c	2,90 ± 0,3 ^b
LSD _{0,05}		2,45	0,46	0,35
CV%		3,9	5,0	5,8

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0, 05$.

Kết quả bảng 1 cho thấy, tỉ lệ sống của phôi hạt sen Hồ Tây tương đối cao, dao động từ 81,67% (CT4) đến 100% (CT1 và CT2). Kết quả cho thấy, khi xử lý Javel trong thời gian 5 phút, tỉ lệ sống của phôi hạt đạt 100% và tỉ lệ mẫu sống sạch đạt 80% (20% mẫu bị nhiễm), khi tăng thời gian xử lý lên 10 phút, tỉ lệ mẫu sống sạch tăng lên 95%. Tuy nhiên, khi tăng thời gian xử lý lên 15 phút và 20 phút đã làm ảnh hưởng đến khả năng sống của phôi hạt, làm cho tỉ lệ phôi sống và sống sạch giảm xuống tương ứng là 85% và 81,67%.

Xét về chỉ tiêu chiều cao chồi và số lá/chồi, ở CT1 và CT2 cho kết quả tốt hơn có ý nghĩa thống kê so với CT3 và CT4. Cụ thể, ở công thức xử lý Javel 5 phút và 10 phút (CT1 và CT2), chiều cao chồi trung bình và số lá trung bình/chồi đạt lần lượt là 5,52cm và 3,22 lá/chồi ở CT1, 5,48cm và 3,37 lá/chồi ở CT2. Tuy nhiên, khi tăng thời gian xử lý lên 15 phút và 20 phút thì chiều cao chồi và số lá/chồi giảm xuống đáng kể, lần lượt là 4,11cm và 2,87 lá/chồi ở CT3, 3,52cm và 2,90 lá/chồi ở CT4.



CT1 CT2 CT3 CT4
Hình 2. Sự sinh trưởng của phôi hạt hoa sen Hồ Tây sau 10 ngày nuôi cấy

Như vậy có thể thấy, xử lý hạt sen Hồ Tây bằng Javel 30% trong thời gian 10 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất với tỉ lệ phôi sống sạch đạt 95% cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tất cả các công thức còn lại, chiều cao trung bình chồi đạt 5,48 cm, mỗi chồi trung bình có 3,37 lá. Kết quả này cho tỉ lệ phôi sống sạch cao hơn so với kết quả của Hoàng Thị Kim Hồng và cộng sự (2017) khi xử lý hạt sen Huế theo quy trình gồm nước xà phòng loãng, cồn 70% và dung dịch HgCl₂ 0,1% trong thời gian 6 phút, với tỉ lệ phôi sống sạch đạt 75%.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ BA đến khả năng nhân chồi *in vitro* của cây hoa sen

Nhân nhanh là một trong những giai đoạn rất quan trọng trong nuôi cấy *in vitro*. Việc xác định được môi trường thích hợp cho giai đoạn này sẽ tăng được hệ số nhân, giúp nâng cao số lượng và chất lượng của cây *in vitro*. Trong thí nghiệm này, các chồi *in vitro* của cây hoa sen Hồ Tây có kích thước đồng đều (thu được từ thí nghiệm 1) được chuyển vào môi trường MS bổ sung 8 g/l agar, 30 g/l sucrose và BA với 4 nồng độ khác nhau (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l) để xác định nồng độ BA thích hợp nhất cho việc nhân nhanh chồi sen Hồ Tây. Kết quả thí nghiệm sau 4 tuần nuôi cấy được trình bày ở bảng 2 và hình 3.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ BA đến sự nhân chồi *in vitro* sen sau 4 tuần nuôi cấy

Nồng độ BA (mg/l)	Tỉ lệ mẫu tạo chồi (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Đặc điểm chồi
0,0 (CT1-ĐC)	15,6	1,18 ± 0,08 ^c	Chồi khỏe, xanh đậm
0,5 (CT2)	82,2	1,89 ± 0,14 ^d	Chồi khỏe, xanh đậm
1,0 (CT3)	100,0	2,82 ± 0,08 ^c	Chồi khỏe, xanh đậm
1,5 (CT4)	100,0	3,69 ± 0,04 ^a	Chồi khỏe, xanh đậm
2,0 (CT5)	100,0	3,09 ± 0,10 ^b	Chồi yếu, xanh đậm
LSD _{0,05}		0,147	
CV%		3,1	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

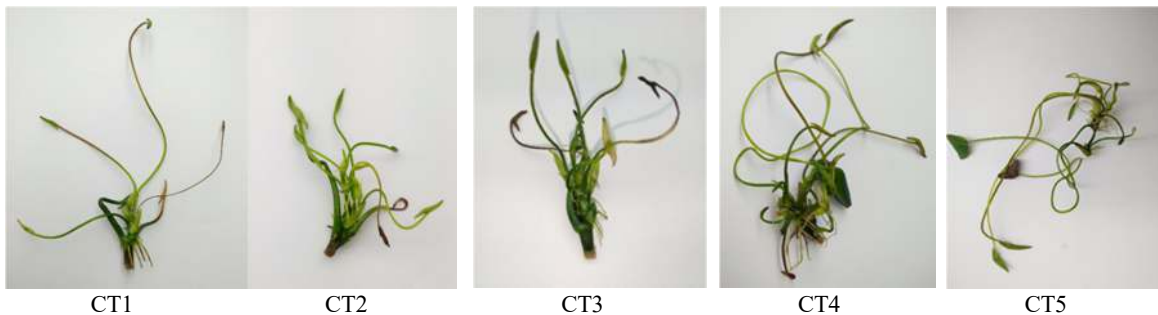
Kết quả thí nghiệm thu được ở bảng 2 cho thấy, BA có ảnh hưởng tích cực đến khả năng nhân nhanh chồi sen Hồ Tây trong điều kiện *in vitro*. Khi bổ sung BA ở các nồng độ khác nhau từ 0,5 đến 2 mg/l thì đều cho tỉ lệ mẫu tạo chồi và hệ số nhân chồi cao hơn có ý nghĩa thống kê so với công thức đối chứng (ĐC). Cụ thể, tỉ lệ

mẫu tạo chồi ở công thức không bổ sung BA chỉ đạt 15,6%, trong khi đó tỉ lệ này đạt 82,2% ở công thức bổ sung 0,5mg/l BA và đạt 100% ở các công thức còn lại. Đối với chỉ tiêu hệ số nhân chồi, ở công thức không bổ sung BA, hệ số nhân chồi đạt 1,18 lần. Khi bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy, hệ số nhân chồi tăng lên

lần lượt là 1,89 lần (với nồng độ 0,5 mg/l BA), 2,82 lần (với nồng độ 1,0mg/l BA) và 3,69 lần (với nồng độ 1,5 mg/l BA). Tuy nhiên, khi tăng nồng độ BA lên 2,0 mg/l thì hệ số nhân chồi lại giảm xuống còn 3,09 lần và chồi sen ở công thức này cũng yếu hơn so với các công thức còn lại (hình 3). Như vậy có thể thấy, trong các công thức thí nghiệm, công thức bổ sung 1,5 mg/l BA vào môi trường cho hiệu quả tốt nhất đối với việc nhân nhanh chồi *in vitro* sen Hồ Tây.

Guo và cộng sự (2008) nuôi cấy đỉnh sinh

trưởng có kích thước 1mm, kết quả cho thấy môi trường MS có bổ sung 1mg/l BA cho hệ số nhân chồi cao nhất với số chồi trung bình đạt 3,5 chồi/mẫu sau 4 tuần nuôi cấy. Trang *et al.* (2020) cũng đã bổ sung BA vào môi trường nhân nhanh chồi sen đỏ, kết quả đạt tốt nhất khi bổ sung 0,5 mg/l BA với hệ số nhân đạt 5,6 lần. Như vậy có thể thấy, với mỗi loài sen khác nhau, thì nồng độ BA thích hợp để nhân nhanh chồi cũng khác nhau.



Hình 3. Chồi hoa sen nuôi cấy trong môi trường bổ sung BA với các nồng độ khác nhau sau 4 tuần nuôi cấy

3.3. Ảnh hưởng của kiểu môi trường đến khả năng nhân chồi *in vitro* hoa sen Hồ Tây

Kết quả thí nghiệm sau 4 tuần nuôi cấy được trình bày trong bảng 3 và hình 4 cho thấy, tỉ lệ mẫu tạo chồi ở cả 3 loại môi trường đều đạt 100%. Tuy nhiên, có sự sai khác đáng kể về chỉ tiêu hệ số nhân chồi. Môi trường lỏng có hệ số nhân chồi thấp nhất (2,95 lần), môi trường kết

hợp 2 lớp rắn lỏng cho hệ số nhân chồi cao nhất đạt 5,56 lần, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với hai loại môi trường còn lại. Kết quả này có thể được giải thích là do, kiểu môi trường kết hợp 2 lớp rắn lỏng đã mô phỏng đúng môi trường sống tự nhiên của cây hoa sen, nhờ đó chúng sinh trưởng, phát triển tốt.

Bảng 3. Ảnh hưởng của kiểu môi trường đến sự nhân chồi *in vitro* sen Hồ Tây sau 4 tuần nuôi cấy

Kiểu môi trường	Tỉ lệ mẫu tạo chồi (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Màu sắc chồi
Rắn	100%	3,64 ± 0,10 ^b	Xanh đậm
Lỏng	100%	2,95 ± 0,11 ^c	Xanh nhạt
Lớp dưới rắn, lớp trên lỏng	100%	5,56 ± 0,32 ^a	Xanh nhạt
LSD _{0,05}	0,44		
CV%	4,8		

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Cũng trên đối tượng là cây hoa sen, Mahmad và cộng sự (2014) đã tiến hành nhân nhanh một loại sen thu thập ở hồ tự nhiên Chini của Malaysia. Kết quả cho thấy, trong 4 loại môi trường (môi trường rắn, môi trường 2 lớp lỏng rắn với tỉ lệ 1:1, môi trường 2 lớp lỏng rắn với tỉ lệ 2:1 và môi trường 2 lớp lỏng rắn với tỉ lệ

3:1), môi trường kết hợp 2 lớp lỏng rắn với tỉ lệ 2:1 cho kết quả nhân chồi tốt nhất. Phạm Văn Lộc và cộng sự (2017) cũng đã xác định thành phần môi trường hai lớp rắn lỏng với tỉ lệ 1:2 phù hợp cho tăng sinh chồi sen với 4,33 chồi/mẫu sau 3 tuần nuôi cấy.



Môi trường rắn

Môi trường lỏng

Môi trường kết hợp

Hình 4. Chồi sen trong các kiểu môi trường khác nhau sau 4 tuần nuôi cấy

3.4. Ảnh hưởng của nồng độ α -NAA đến khả năng tạo rễ *in vitro* của chồi sen Hồ Tây

Các chồi sen *in vitro* có kích thước đồng đều được cấy chuyển vào môi trường MS có bổ sung

α -NAA với 5 công thức (0,0; 0,5; 1; 1,5; 2,0 mg/l). Sau 3 tuần nuôi cấy thu được kết quả ở bảng 4, hình 5.

Bảng 4. Ảnh hưởng của α -NAA đến sự ra rễ chồi sen Hồ Tây sau 3 tuần nuôi cấy

Nồng độ α -NAA (mg/l)	Tỉ lệ mẫu ra rễ (%)	Số rễ trung bình (rễ/chồi)	Chiều dài rễ trung bình (mm)
0 (CT1)	100	3,91 \pm 0,20 ^d	8,00 \pm 0,81 ^c
0,5 (CT2)	100	7,04 \pm 0,04 ^c	9,48 \pm 0,39 ^b
1,0 (CT3)	100	9,96 \pm 0,10 ^b	10,13 \pm 0,18 ^b
1,5 (CT4)	100	12,07 \pm 0,27 ^a	11,18 \pm 0,15 ^a
2,0 (CT5)	100	9,58 \pm 0,41 ^b	10,09 \pm 0,11 ^b
LSD _{0,05}		0,45	0,83
CV%		2,8	4,5

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Kết quả thu được cho thấy, tất cả các thức bổ sung α -NAA trong thí nghiệm đều có ảnh hưởng tích cực đến khả năng ra rễ của chồi sen Hồ Tây. Cụ thể, ở chỉ tiêu số rễ/chồi, công thức không bổ sung α -NAA (CT1) đạt 3,91 rễ/chồi sau 3 tuần nuôi cấy, trong khi đó, chỉ số này ở các công thức bổ sung α -NAA dao động từ 7,04 rễ/chồi (CT2) đến 12,07 rễ/chồi (CT4). Trong các công thức thí nghiệm, công thức bổ sung 1,5 mg/l α -NAA (CT4) cho kết quả tốt nhất với số rễ trung bình đạt 12,07 rễ/chồi cao hơn gấp 3 lần so với công thức không bổ sung α -NAA và cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tất cả các công thức còn lại. Đối với chỉ tiêu chiều dài trung bình rễ, công thức bổ sung 1,5 mg/l α -NAA cũng cho kết quả tốt nhất với chiều dài rễ trung bình đạt 11,18 mm sau 3 tuần nuôi cấy. Như

vậy, công thức bổ sung 1,5 mg/l α -NAA cho kết quả tạo rễ tốt nhất.

Kết quả này cũng khá tương đồng với một số kết quả đã nghiên cứu trên đối tượng cây hoa sen. Kết quả nghiên cứu của Guo và cộng sự (2008) cho thấy, môi trường tốt nhất để tạo rễ từ chồi *in vitro* cây hoa sen là môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l α -NAA, số rễ đạt được là 9,5 rễ/chồi. Kết quả nghiên cứu của Yu và cộng sự (2015) trên cây sen Tai-Kong 36 cũng chỉ ra rằng, môi trường MS bổ sung 0,54 μ M (tương ứng 1,0 mg/l) α -NAA phù hợp nhất cho sự tạo rễ từ chồi *in vitro* với tỉ lệ tạo rễ đạt 100%, số rễ trung bình là 18,23 rễ/chồi. Phạm Văn Lộc và cộng sự (2017) cũng đã sử dụng 0,5 mg/l α -NAA để tạo rễ từ chồi sen *in vitro*, tỉ lệ ra rễ đạt 100% và số rễ trung bình đạt 7,5 rễ/chồi.



Hình 5. Chồi sen Hồ Tây ra rễ trong môi trường bổ sung nồng độ α -NAA khác nhau sau 3 tuần nuôi cấy

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã xác định được công thức khử trùng tốt nhất tạo nguồn vật liệu khởi đầu *in vitro* sen Hồ Tây là nước xà phòng loãng 15 phút, cồn 70° trong 5 phút, Javel 30% trong 10 phút với tỉ lệ mẫu sạch đạt 100%, mẫu sạch và tái sinh chồi đạt 95%, chiều cao trung bình chồi đạt 5,52 cm sau 10 ngày nuôi cấy. Môi trường kết hợp 2 lớp rắn lỏng (lớp rắn là MS có bổ sung 30 g/l sucrose, 8 g/l agar và 1,5 mg/l BA; lớp lỏng là MS có bổ sung 30 g/l sucrose, 1,5 mg/l BA và không bổ sung agar; tỉ lệ 2 lớp là 1:1) là thích hợp nhất cho sự nhân chồi *in vitro* hoa sen Hồ Tây, với tỉ lệ mẫu tạo chồi đạt 100%, hệ số nhân chồi đạt 5,56 lần sau 4 tuần nuôi cấy. Môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/l α -NAA là môi trường thích hợp nhất cho sự tạo rễ *in vitro* của chồi hoa sen Hồ Tây. Số rễ trung bình đạt 12,07 rễ/chồi và chiều dài rễ trung bình là 11,18 mm sau 3 tuần nuôi cấy.

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 T2020-12-73.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Tất Lợi (2004). Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB Y học, 2750 trang.
- Hoàng Thị Nga (2017). Kết quả nghiên cứu một số đặc điểm nông sinh học của giống hoa sen Tây Hồ. Trung tâm tài nguyên thực vật. Ngân hàng gen cây trồng quốc gia Việt Nam. <http://prc.org.vn/?p=423>. Trích dẫn 27/2/2021.
- Nguyễn Phước Tuyên (2007). Kỹ thuật trồng sen. NXB Nông nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh, 45 trang.
- 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, trang 24-29.

- Hoàng Thị Kim Hồng, Trần Nguyễn Minh Hiếu, Phan Thế Nhật Minh, 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 (11/2017), trang 132-137.

- Hicks D.J. (2005). Development and evaluation of a system for the study of mineral nutrition of sacred lotus (*Nelumbo nucifera*). Thesis of Doctor of Philosophy, Centre for Horticulture and Plant Sciences, University of Western Sydney, Hawkesbury, Australia: 65-72.

- Guo D.P., Shou S.Y., Miao L.X., Zai W.S. (2008). Factors influencing shoot multiplication of lotus (*Nelumbo nucifera*). *Biologia Plantarum*. 52 (3): 529-532.

- Mahmad N., Taha R.M., 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*: 1-8.

- Murashige T. and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15: 473-497.

- Nikolić R., Mitić N., Miletić R., & Nešković M. (2006). Effects of cytokinins on *in vitro* seed germination and early seedling morphogenesis in *Lotus corniculatus* L. *Journal of plant growth Regulation*. 25(3): 187.

- Liu C.M., Kao C.L., Wu H.M., Li W.J., Huang C.T., Li H.T., and Chen C.Y., (2014). Antioxidant and Anticancer Aporphine Alkaloids from the Leaves of *Nelumbo nucifera* Gaertn. cv. Rosa-plena. *Molecules* 19 (11): 17829-17838.

- Liu W., Yi D. D., Guo J. L., Xiang Z. X., Deng L. F., He L. (2015) "Nuciferine, extracted from *Nelumbo nucifera* Gaertn, inhibits tumor-promoting effect of nicotine involving Wnt/ β -catenin signaling in non-small cell lung cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 165, 83-93. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.02.015>.

- Trang, N. T. Q., Hong, H. T. K., Huong, V. T. M., & Long, D. T. (2020). *In vitro* Propagation of Red Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) An Aquatic Edible Plant in Vietnam. *Agricultural Science Digest*, 41, 129-136. <https://doi.org/10.18805/ag.D-257>.

- Yu X., Sheng J., Zhao L., Diao Y., Zheng X., Xie K., Zhou M., Hu Z. (2015). *In vitro* plant regeneration of lotus (*Nelumbo nucifera*). *Open Life Sciences*. 10: 142-146.

STUDY ON THE EFFECTS OF SOME FACTORS FOR MICROPROPAGATION OF HO TAY LOTUS (*Nelumbo nucifera* Gaertn.)

Dong Huy Gioi¹, To Hoang Anh Minh¹, Ngo Thi Van Anh¹, Nguyen Hoang Hai,
Vu Ngoc Huong¹, Nguyen Thi Bich Luu¹, Bui Thi Thu Huong^{1*}

¹Vietnam National University of Agriculture

SUMMARY

Ho Tay Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) is a beautiful flower that has ornamental, medicinal, and cultural value. This study was carried out to investigate the effect of sterilization time, media types, and different concentrations of BA, α -NAA on *in vitro* propagation of Ho Tay lotus plant. The results show that lotus seeds disinfected with Javel 30% for 10 minutes gave the best sterilization efficiency, with 100% of samples clean, survival, and the shoot regeneration reaching 95.00% after 10 days of culturing. In the shoot multiplication experiment, the liquid medium, MS medium supplemented with 30 g/l sucrose, 1.5 mg/l BA gave the shoot multiplier coefficient of 2.95 times; in the solid medium, MS medium supplemented with 30 g/l sucrose, 8 g/l agar, 1.5 mg/l BA, the shoot multiplier coefficient was 3.69 times. Optimum results were found in the liquid-solid double-layer medium (solid in the bottom layer and liquid in the upper layer in a 1: 1 ratio) supplemented with 1.5 mg/l BA with a coefficient of 5.56 times after 4 weeks of culturing. In the rooting experiment, the MS medium supplemented with 1.5 mg/l α -NAA was the most suitable for rooting of Ho Tay lotus shoots, with an average number of roots of 12.07 roots/shoot and average root length were 11.18 cm after 3 weeks.

Keywords: BA (Benzyl Adenine), *in vitro* propagation, Ho Tay lotus, liquid-solid double-layer medium, α -NAA (α -naphthyl acetic acid).

Ngày nhận bài : 15/5/2021

Ngày phản biện : 24/6/2021

Ngày quyết định đăng : 06/7/2021