

## SỬ DỤNG HỆ THỐNG VI THỦY CANH TRONG NHÂN GIỐNG CÂY GIỌT BĂNG (*MESEMBRYANTHEMUM CRYSTALLINUM* L.)

Trương Thị Bích Phượng<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Sương<sup>1</sup>,  
Nguyễn Đức Tuấn<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Duy Khoa<sup>2</sup>, Hoàng Thị Kim Hồng<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

<sup>2</sup>Trường Cao đẳng Lương thực - Thực phẩm, Đà Nẵng

Cây Giọt băng (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) có tên tiếng Anh là Ice plant, là loài cây thân thảo, mọng nước, thuộc nhóm thực vật có sử dụng cơ chế CAM (Crassulacean Acid Metabolism). Cây Giọt băng có nguồn gốc ở Nam và Đông Phi, sau đó loài cây này được đưa vào Tây Úc, quanh Địa Trung Hải, dọc bờ biển phía Tây Hoa Kỳ, Mexico, Chile và vịnh Caribe (Adams et al., 1998).

Lá cây Giọt băng rất giàu dinh dưỡng với các thành phần: nước, muối khoáng (magnesium), acid trái cây, rượu đường, amino acid (proline), flavonoid, betaine. Vì vậy, cây Giọt băng được sử dụng như một loài rau xanh dùng làm thức ăn ở một số nước châu Âu. Trong những năm gần đây, Nhật Bản đã thiết lập một hệ thống nhà máy chuyên canh tác và sản xuất sản phẩm cây Giọt băng như một loại rau và đã được đăng ký nhãn hiệu là “Crystal leaf” hoặc “Barafu” (Agarie et al., 2007). Ở Việt Nam, loài cây này là đối tượng mới, chưa được trồng và khai thác.

Hệ thống vi thủy canh là sự kết hợp giữa vi nhân giống và thủy canh. Phương pháp này có thể cải thiện khả năng nảy mầm ở hạt cũng như tăng tỉ lệ sống sót và sinh trưởng tốt ở cây. Bên cạnh đó, nhân giống bằng vi thủy canh mang lại lợi ích kinh tế nhờ tiết kiệm chi phí nhân công, hóa chất, vận chuyển (Hoàng Thanh Tùng và cs, 2012).

Trong bài báo này, chúng tôi khảo sát một số điều kiện nuôi cấy cây Giọt băng trong hệ thống vi thủy canh.

### I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 1. Vật liệu

Vật liệu nghiên cứu là hạt cây Giọt băng (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) tự nhiên do phòng thí nghiệm của Trường Đại học Nevada (Mỹ) cung cấp.

#### 2. Phương pháp nghiên cứu

##### Khử trùng mẫu vật

Hạt cây Giọt băng được khử trùng bằng  $HgCl_2$  0,1 % trong thời gian 1 phút và 2 phút; nuôi cấy trên môi trường MS (Murashige- Skoog, 1962). Hiệu quả của thời gian khử trùng được đánh giá thông qua tỉ lệ mẫu nhiễm, tỉ lệ mẫu chết, tỉ lệ mẫu sống không nhiễm sau một tuần theo dõi.

##### Nhân chồi in vitro

Đoạn thân của chồi Giọt băng dài khoảng 1 cm được nuôi cấy trên môi trường MS cơ bản bổ sung 3 % sucrose, 0,8 % agar, 0,1 g than hoạt tính; bổ sung riêng lẻ BAP (6-benzyl amino purine) hoặc KIN (kinetin), phối hợp BAP, KIN với IBA (Indole butyric acid) hoặc NAA (naphthaleneacetic acid) ở các nồng độ khác nhau. Theo dõi tỉ lệ tạo chồi, số lá trên chồi, chiều cao chồi sau 4 tuần nuôi cấy.

### **Tạo rễ *in vitro***

Đoạn chồi cây Giọt băng (2 cm) được tạo rễ bằng cách:

- Nuôi cấy chồi *in vitro* trên môi trường MS cơ bản bổ sung 3% sucrose, 0,8% agar; bổ sung NAA 0,5 mg/l hoặc IBA 0,5 mg/l.

- Tiền xử lí ra rễ cho chồi *in vitro* bằng IBA 0,5 mg/l hoặc NAA 0,5 mg/l trong 20 phút

- Bổ sung trực tiếp IBA 0,5 mg/l hoặc NAA 0,5 mg/l vào môi trường thủy canh để tạo rễ cho chồi *in vitro*

Theo dõi tỉ lệ ra rễ, số rễ trên chồi, chiều dài rễ, chiều cao cây, thời gian ra rễ và hình thái rễ sau 4 tuần nuôi cấy.

### **Nuôi cấy thủy canh**

Chồi cây Giọt băng sau khi xử lí ra rễ được nuôi cấy trong môi trường MS với các nồng độ khác nhau: 1/2 MS, 1/3 MS, 1/4 MS, 1/5 MS. Giá thể sử dụng là các ống nhựa (cao 1,5 cm, đường kính 1 cm). Các chồi cây Giọt băng được nuôi cấy thủy canh trong bình tam giác 250 ml có nắp đậy là màng milipore với kích thước lỗ màng 0,2  $\mu$ m (Hoàng Thanh Tùng, 2012), mật độ 3 cây/bình. Theo dõi chiều cao cây, số lá/cây, chất lượng cây sau 4 tuần nuôi cấy.

### **Ra đất**

Cây Giọt băng *in vitro* và thủy canh được đưa ra trồng ở chậu trên các giá thể đất tribat. Theo dõi các chỉ số sinh trưởng như: tỉ lệ sống, số lá trên cây, chiều cao cây, số rễ, khả năng sinh trưởng. Cây đối chứng từ hạt được cho nảy mầm trong môi trường MS có bổ sung 3% đường, 0,8% agar sau đó đưa ra đất trồng.

### **Điều kiện nuôi cấy**

Các thí nghiệm được tiến hành ở điều kiện nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ$  C, cường độ ánh sáng 2000 - 3000 lux, thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày.

### **Xử lí số liệu**

Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp quan sát trên 30 mẫu.

Kết quả thí nghiệm được xử lí để thu giá trị trung bình và phân tích Ducant's test ( $p < 0,05$ ) bằng Microsoft Excel 2007, Statistic 9.0.

## **II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

Mẫu hạt cây Giọt băng được khử trùng bằng  $HgCl_2$  trong thời gian 1 và 2 phút. Mẫu sau khi khử trùng được cấy trên môi trường MS cơ bản có bổ sung 3% đường, 0,8% agar; pH 5,8. Kết quả cho thấy, khử trùng  $HgCl_2$  0,1% trong 1 phút cho tỉ lệ nảy mầm cao nhất là 54,50%. Khi tăng thời gian khử trùng lên 2 phút, tỉ lệ mẫu chết cao (63,70%).

### **1. Khả năng nhân chồi *in vitro***

Các chồi cây Giọt băng từ hạt (khoảng 1cm) được cấy vào môi trường MS cơ bản có bổ sung 3% đường, 0,8% agar và chất kích thích sinh trưởng (KTST) BAP, KIN riêng lẻ hoặc phối hợp với NAA, IBA. Kết quả ảnh hưởng của chất KTST đến khả năng nhân chồi cây Giọt băng được thể hiện ở các bảng từ 1 đến 6.

Bảng 1

**Ảnh hưởng của BAP lên khả năng nhân chồi sau 4 tuần nuôi cấy**

BAP (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi
0,0	2,80 <sup>c*</sup>	0,83 <sup>c</sup>	3,71 <sup>c</sup>
0,1	4,09 <sup>ab</sup>	1,14 <sup>bc</sup>	4,84 <sup>ab</sup>
0,2	4,31 <sup>ab</sup>	1,42 <sup>b</sup>	4,09 <sup>bc</sup>
0,3	<b>4,75<sup>a</sup></b>	2,27 <sup>a</sup>	5,26 <sup>a</sup>
0,4	4,25 <sup>ab</sup>	1,46 <sup>b</sup>	4,18 <sup>bc</sup>
0,5	4,00 <sup>b</sup>	1,12 <sup>bc</sup>	3,54 <sup>c</sup>

**Chú thích:** được áp dụng từ bảng 1 đến bảng 8: \*Trong cùng một cột số liệu, các giá trị mang cùng chữ cái thể hiện sự khác nhau không ý nghĩa, các giá trị mang chữ cái khác nhau thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa với độ tin cậy 95% (Duncan's test)

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, khi bổ sung BAP nồng độ 0,3 mg/l cho kết quả tốt nhất với 4,75 chồi/mẫu, chồi cao 2,27 cm và có 5,26 lá. Khi giảm hoặc tăng nồng độ BAP, kết quả số chồi/mẫu giảm. Mẫu đối chứng cấy trên môi trường MS cơ bản, bổ sung 3% đường và 0,8% agar, không bổ sung chất KTST có tỉ lệ nhân chồi thấp nhất (2,8 chồi/mẫu), chiều cao chồi 0,83 cm; với 3,71 lá.

Bảng 2

**Ảnh hưởng của KIN lên khả năng nhân chồi sau 4 tuần nuôi cấy**

KIN (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi
0,0	2,80 <sup>c</sup>	0,83 <sup>c</sup>	3,71 <sup>b</sup>
0,1	4,03 <sup>abc</sup>	0,92 <sup>b</sup>	3,70 <sup>b</sup>
0,2	4,37 <sup>ab</sup>	1,04 <sup>b</sup>	3,99 <sup>b</sup>
0,3	<b>4,77<sup>a</sup></b>	1,23 <sup>b</sup>	4,63 <sup>ab</sup>
0,4	3,20 <sup>bc</sup>	1,89 <sup>a</sup>	5,15 <sup>ab</sup>
0,5	2,63 <sup>c</sup>	2,09 <sup>a</sup>	6,19 <sup>a</sup>

Kết quả ở bảng 2 cho thấy khi bổ sung KIN 0,3 mg/l cho kết quả tốt nhất về hệ số nhân chồi (4,77 chồi/mẫu), chiều cao chồi (1,89 cm), số lá trên chồi (5,15), chồi xanh đậm, thân cành mập, cứng. Khi tăng nồng độ KIN lên 0,5 mg/l, tỉ lệ nhân chồi thấp nhất (2,63 chồi/mẫu), nhưng chiều cao chồi tốt nhất (2,09 cm). Các chồi cây Giọt băng trên môi trường có bổ sung KIN với nồng độ 0,4 mg/l hoặc 0,5 mg/l có chiều cao hơn hẳn các chồi nuôi cấy trên môi trường bổ sung KIN ở nồng độ thấp hơn, lá có kích thước lớn hơn và dài hơn. Ảnh hưởng của nồng độ KIN đến tỉ lệ nhân chồi sai khác không nhiều. Điều này có thể là do tác dụng của KIN đối với cây chủ yếu là kéo dài chồi (Vũ Quang Sáng, 2010).

Sau khi chọn được nồng độ BAP tốt nhất cho ra chồi là 0,3 mg/l, chúng tôi tiến hành nghiên cứu bổ sung phối hợp BAP 0,3 mg/l với IBA hoặc NAA ở các nồng độ khác nhau để khảo sát khả năng nhân chồi cây Giọt băng.

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, khi kết hợp BAP 0,3 mg/l với IBA 0,7 mg/l, tỉ lệ nhân chồi cao nhất (5,92 chồi/mẫu), tuy nhiên chiều cao chồi thấp chỉ đạt 1,14 cm và số lá/chồi (4,64) thấp hơn những nồng độ khác. Kết quả này tốt hơn so với công thức chỉ bổ sung BAP, do khi bổ sung IBA kích thích chồi cây Giọt băng ra rễ nên khả năng hấp thu dinh dưỡng tốt hơn, làm cây nhân chồi nhiều hơn.

Bảng 3

**Ảnh hưởng của BAP 0,3 mg/l và IBA lên khả năng nhân chồi sau 4 tuần nuôi cấy**

Chất KTST (mg/l)		Số chồi/ mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/ chồi
BAP	IBA			
0,3	0,5	4,80 <sup>ab</sup>	1,62 <sup>a</sup>	4,74 <sup>c</sup>
0,3	0,6	4,39 <sup>b</sup>	1,16 <sup>b</sup>	4,83 <sup>bc</sup>
0,3	0,7	<b>5,92<sup>a</sup></b>	1,14 <sup>b</sup>	4,64 <sup>c</sup>
0,3	0,8	5,18 <sup>ab</sup>	1,10 <sup>b</sup>	5,26 <sup>ab</sup>
0,3	0,9	4,47 <sup>b</sup>	1,08 <sup>b</sup>	5,51 <sup>a</sup>
0,3	1,0	4,56 <sup>ab</sup>	1,06 <sup>b</sup>	4,49 <sup>c</sup>

Bảng 4

**Ảnh hưởng của BAP 0,3 mg/l và NAA lên khả năng nhân chồi sau 4 tuần nuôi cấy**

Chất KTST (mg/l)		Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi
BAP	NAA			
0,3	0,5	4,76 <sup>b</sup>	1,51 <sup>a</sup>	5,59 <sup>ab</sup>
0,3	0,6	4,94 <sup>b</sup>	1,35 <sup>ab</sup>	5,83 <sup>a</sup>
0,3	0,7	4,89 <sup>b</sup>	1,36 <sup>ab</sup>	5,38 <sup>b</sup>
0,3	0,8	<b>5,95<sup>a</sup></b>	<b>1,39<sup>ab</sup></b>	<b>5,32<sup>b</sup></b>
0,3	0,9	5,21 <sup>b</sup>	1,21 <sup>b</sup>	4,83 <sup>c</sup>
0,3	1,0	5,17 <sup>b</sup>	1,25 <sup>b</sup>	4,75 <sup>c</sup>

Kết quả bảng 4 cho thấy, khi bổ sung NAA 0,8 mg/l và BAP 0,3 mg/l cho tỉ lệ nhân chồi tốt nhất nhưng chiều cao chồi chỉ đạt 1,39 cm và số lá trên chồi là 5,32. Sự sai khác về chiều cao chồi là không đáng kể.

Sau khi chọn được nồng độ KIN tốt nhất cho ra chồi là 0,3 mg/l, chúng tôi tiến hành bổ sung phối hợp KIN 0,3 mg/l với IBA hoặc NAA ở các nồng độ khác nhau để khảo sát khả năng nhân chồi cây Giọt băng sau 4 tuần nuôi cấy.

Bảng 5

**Ảnh hưởng của KIN 0,3 mg/l và NAA lên khả năng nhân chồi sau 4 tuần nuôi cấy**

Chất KTST (mg/l)		Số chồi/ mẫu	Chiều cao chồi	Số lá/chồi
KIN	IBA			
0,3	0,5	4,61 <sup>b</sup>	1,29 <sup>b</sup>	5,54 <sup>ab</sup>
0,3	0,6	4,94 <sup>ab</sup>	1,27 <sup>b</sup>	5,83 <sup>a</sup>
0,3	0,7	5,07 <sup>ab</sup>	1,26 <sup>b</sup>	5,38 <sup>b</sup>
0,3	0,8	<b>5,45<sup>a</sup></b>	<b>1,61<sup>a</sup></b>	<b>5,37<sup>b</sup></b>
0,3	0,9	5,36 <sup>ab</sup>	1,21 <sup>b</sup>	4,83 <sup>c</sup>
0,3	1,0	5,29 <sup>ab</sup>	1,15 <sup>b</sup>	4,79 <sup>c</sup>

Sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường bổ sung IBA 0,8 mg/l kết hợp KIN 0,3 mg/l (Bảng 5) thu được kết quả tốt nhất với tỉ lệ nhân chồi là 5,45, chiều cao chồi đạt 1,61 cm, số lá/chồi là 5,37. So với môi trường chỉ bổ sung KIN, hệ số nhân chồi trong môi trường kết hợp KIN và IBA cao hơn hẳn, do IBA là chất kích thích ra rễ giúp chồi cây Giọt băng hấp thu dinh dưỡng từ môi trường tốt hơn, tuy nhiên kích thước chồi nhỏ hơn, chiều cao chồi cũng thấp hơn. Nguyên nhân có thể là do sự tập trung dinh dưỡng cho việc phát sinh chồi, dẫn đến giảm kích thước chồi.

Bảng 6

**Ảnh hưởng của KIN 0,3 mg/l và NAA lên khả năng nhân chồi sau 4 tuần nuôi cấy**

Chất KTST (mg/l)		Số chồi/ mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi
NAA	KIN			
0,5	0,3	4,85 <sup>c</sup>	1,59 <sup>a</sup>	4,47 <sup>c</sup>
0,6	0,3	5,07 <sup>c</sup>	1,48 <sup>ab</sup>	4,78 <sup>bc</sup>
0,7	0,3	5,67 <sup>b</sup>	1,51 <sup>ab</sup>	4,95 <sup>abc</sup>
0,8	0,3	5,78 <sup>b</sup>	1,62 <sup>a</sup>	5,03 <sup>ab</sup>
0,9	0,3	<b>6,26<sup>a</sup></b>	<b>1,60<sup>a</sup></b>	<b>5,33<sup>a</sup></b>
1,0	0,3	5,96 <sup>ab</sup>	1,43 <sup>b</sup>	4,58 <sup>bc</sup>

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, khi bổ sung NAA 0,9 mg/l và KIN 0,3 mg/l cho hệ số nhân chồi tốt nhất (6,26 chồi/ mẫu) chiều cao chồi 1,60 cm và số lá trên chồi 5,33.

**2. Khả năng tạo rễ in vitro**

Chồi cây Giọt băng (2 cm) được xử lí ra rễ bằng cách a) nuôi cấy *in vitro* trong môi trường MS có bổ sung 3% đường, 0,8% agar, chất kích thích ra rễ IBA hoặc NAA 0,5 mg/l; b) tiền xử lí bằng IBA hoặc NAA 0,5 mg/l trước khi nuôi cấy thủy canh hoặc c) bổ sung trực tiếp IBA hoặc NAA 0,5 mg/l vào môi trường thủy canh. Kết quả ảnh hưởng của phương pháp xử lí ra rễ và chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng ra rễ của cây Giọt băng được trình bày ở bảng 7.

Bảng 7

**Xử lí ra rễ cây Giọt băng**

Công thức xử lí	Tỉ lệ tạo rễ (%)	Số rễ trên chồi	Chiều dài rễ (cm)	Chiều cao cây (cm)	Thời gian (ngày)	Hình thái rễ
Bổ sung IBA vào MT thạch	80,33	<b>13,61<sup>a</sup></b>	<b>5,22<sup>a</sup></b>	4,28 <sup>d</sup>	17,00 <sup>f</sup>	Dài, mảnh, lông hút
Bổ sung NAA vào MT thạch	80,00	12,12 <sup>b</sup>	4,70 <sup>b</sup>	5,21 <sup>b</sup>	14,11 <sup>d</sup>	Dài, mảnh, lông hút
Bổ sung NAA vào MT thủy canh	63,63	7,00 <sup>c</sup>	1,35 <sup>d</sup>	3,08 <sup>e</sup>	12,80 <sup>c</sup>	Ngắn, dày, dễ gãy
Bổ sung IBA vào MT thủy canh	72,73	7,87 <sup>c</sup>	1,41 <sup>cd</sup>	3,16 <sup>e</sup>	11,90 <sup>bc</sup>	Ngắn, dày, dễ gãy

Tiền xử lí IBA	<b>81,82</b>	12,20 <sup>b</sup>	1,68 <sup>c</sup>	4,54 <sup>c</sup>	10,20 <sup>a</sup>	Ngắn, dày
Tiền xử lí NAA	72,73	8,00 <sup>c</sup>	1,35 <sup>d</sup>	5,58 <sup>a</sup>	11,20 <sup>ab</sup>	Ngắn, dày
Nước cất	20,00	7,5 <sup>d</sup>	1,27 <sup>d</sup>	3,10 <sup>e</sup>	15,70 <sup>e</sup>	Ngắn, trong, dễ gãy

**Chú thích:** MT: môi trường

Kết quả ở bảng 7 cho thấy, tỉ lệ ra rễ tốt nhất khi tiền xử lí IBA 0,5 mg/l trước khi nuôi cấy thủy canh. Các chỉ tiêu số rễ trên chồi (13,61) và chiều dài rễ (5,22 cm) đạt kết quả tốt nhất khi bổ sung IBA 0,5 mg/l vào môi trường MS có 3% đường, 0,8% agar.

Chiều dài rễ cây Giọt băng khi nuôi cấy *in vitro* vượt trội hơn hẳn so với nuôi cấy thủy canh, tuy nhiên về mặt hình thái, rễ cây Giọt băng *in vitro* dài, màu trắng và có nhiều lông hút nhưng lại rất mảnh và dễ đứt gãy trong khi rễ cây tiền xử lí ngắn nhưng dày, khỏe.

Hiệu quả xử lí ra rễ cây Giọt băng của IBA cao hơn NAA ở trong tất cả các phương pháp xử lí ra rễ: bổ sung vào môi trường thạch, môi trường thủy canh và tiền xử lí.

Để auxin đạt hiệu quả cao nhất thì phải sử dụng auxin ở giai đoạn đầu tiên vì auxin chỉ cần thiết để phân phân hóa tế bào và xuất hiện mầm rễ trong giai đoạn đầu của sự hình thành rễ, cơ quan và phôi vô tính; khi chuyển sang giai đoạn kéo dài rễ, auxin ngăn cản sự phát triển (Davies, 1987). Điều này giải thích vì sao khi tiền xử lí IBA hoặc NAA 0,5 mg/l cho tỉ lệ ra rễ cao hơn (81,82% và 72,73%) so với bổ sung trực tiếp IBA và NAA 0,5 mg/l vào môi trường thủy canh (72,73% và 63,63%).

Mẫu đối chứng xử lí bằng nước cất vẫn cho ra rễ với tỉ lệ 20%, điều này là do auxin nội sinh trong cây Giọt băng cùng với môi trường dinh dưỡng đầy đủ nên chồi cây Giọt băng vẫn có thể tái sinh rễ. Tuy nhiên, các chỉ số sinh trưởng khác như chiều dài rễ, chiều cao cây, số rễ rất thấp, thời gian ra rễ cũng dài hơn.

### 3. Sinh trưởng cây Giọt băng *in vitro* trong môi trường thủy canh

Chồi cây Giọt băng sau khi xử lí ra rễ được nuôi cấy trong môi trường thủy canh. Dịch thủy canh là môi trường MS cơ bản ở các nồng độ 1/2 MS, 1/3 MS, 1/4 MS, 1/5 MS. Theo dõi sinh trưởng của cây Giọt băng sau 4 tuần nuôi cấy. Kết quả ảnh hưởng của nồng độ dịch thủy canh đến sinh trưởng cây Giọt băng được trình bày ở bảng 8.

Bảng 8

#### Ảnh hưởng của nồng độ môi trường thủy canh đến sinh trưởng cây sau 4 tuần nuôi cấy

Môi trường	Chiều cao cây (cm)	Số rễ/cây	Số lá/cây	Chất lượng cây
Nước cất	2,72 <sup>e</sup>	3,40 <sup>e</sup>	4,40 <sup>d</sup>	+
MS	4,75 <sup>b</sup>	8,60 <sup>c</sup>	6,40 <sup>c</sup>	+
1/2 MS	5,58 <sup>a</sup>	12,20 <sup>a</sup>	9,00 <sup>a</sup>	++++
1/3 MS	4,18 <sup>b</sup>	9,20 <sup>b</sup>	7,80 <sup>b</sup>	+++
1/4 MS	3,62 <sup>d</sup>	9,00 <sup>b</sup>	7,60 <sup>b</sup>	++
1/5 MS	3,44 <sup>d</sup>	7,60 <sup>d</sup>	6,60 <sup>c</sup>	+

**Chú thích:** +: Lá màu nhạt, ngả vàng, thân nhỏ; ++: Lá màu xanh non, thân mảnh, mọc vóng  
 +++: Lá xanh đậm, phát sinh chồi mới chậm, thân mập, đậm màu  
 ++++: Lá xanh đậm, phát sinh chồi mới nhanh, thân mập, đậm màu

Kết quả bảng 8 cho thấy, cây Giọt băng sinh trưởng tốt nhất ở nồng độ ½ MS đạt chiều cao cây 5,58 cm, với 12,20 rễ và 9,00 lá. Chồi màu xanh đậm, thân mập, cứng, phát sinh chồi mới nhanh.

Kozai và cs (1992) nhận thấy rằng khi nuôi cấy cây *Solanum tuberosum* trên môi trường lỏng MS, 1/2 MS, 1/4 MS trong bình thủy tinh thì khối lượng tươi, khối lượng khô, chiều dài chồi, số lá, diện tích lá, khối lượng khô của lá và tốc độ tăng trưởng tương đối của cây trong một ngày được nâng cao trong khi đó không có sự gia tăng phần trăm chất khô khi gia tăng thể tích và nồng độ môi trường ban đầu.

Thành phần khoáng có ảnh hưởng rất lớn lên khả năng tái sinh cơ quan trong nuôi cấy *in vitro* cũng như sinh lý của cây ngoài tự nhiên, mỗi loài cây khác nhau lại có nhu cầu khoáng khác nhau. Trong số các muối đa lượng, muối nitrogen có ý nghĩa quyết định đến sự tái sinh chồi. Theo Welander (1985), khi nồng độ NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> và KNO<sub>3</sub> trong MS giảm đi 1/2, đỉnh sinh trưởng của dâu tây phát triển khá hơn, rễ tái sinh mạnh hơn. Giảm muối khoáng trong một số trường hợp có tác dụng tốt đối với sự ra rễ ở một số loài như trường hợp chồi hoa hồng ra rễ tốt hơn khi nồng độ nitrogen tổng số giảm (Hyndman et al., 1982). Khi giảm nồng độ khoáng đa lượng xuống 1/4 và 1/5 thì cho kết quả sinh trưởng thấp hơn do dinh dưỡng khoáng không đủ cung cấp cho cây phát triển. Do đó việc tìm ra môi trường khoáng thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của cây là rất cần thiết.

#### 4. Sinh trưởng của cây Giọt băng sau khi ra đất

Các cây Giọt băng được tạo ra bằng phương pháp *in vitro* và vi thủy canh được đưa ra trồng trên giá thể đất dinh dưỡng Tribat. Các chỉ tiêu sinh trưởng được đánh giá sau 2 tuần ra đất. Kết quả được thể hiện ở bảng 9.

Bảng 9

Sinh trưởng của cây Giọt băng *in vitro* và vi thủy canh sau 2 tuần ra đất

Đặc điểm	Vi nhân giống	Cây từ hạt	Vi thủy canh
Chiều cao cây (cm)	3,50	3,56	4,54
Tỉ lệ sống sót (%)	25	80	30
Sinh trưởng	+	+++	+

**Chú thích:** + : Kém; ++: Trung bình; +++: Khá; ++++: Tốt

Nuôi cấy chồi hay cây con trong hệ thống *in vitro* dẫn đến sự bão hòa hơi nước trong bình nuôi cấy. Sự phát sinh những hình thái không bình thường của cây như thiếu sự hình thành lớp lông sừng (epicuticular wax) là do độ ẩm tương đối cao (> 95%). Chính việc thiếu lớp lông sừng dẫn đến sự mất nước quá mức rồi bị khô và chết khi chuyển cây con ra điều kiện vườn ươm. Chồi hay cây con được nuôi cấy dưới điều kiện giảm độ ẩm tương đối có thể hình thành và phát triển bình thường lớp lông sừng, do vậy giảm được sự mất nước từ lá và chống lại các bất lợi do mất nước khi chuyển trực tiếp chúng từ ống nghiệm ra điều kiện *ex vitro*. Nhờ đó, không cần phải mất nhiều thời gian để cây thích nghi trong vườn ươm hay đồng ruộng (Hoàng Thanh Tùng và cs, 2012). Trong nghiên cứu này, chồi cây Giọt băng được nuôi cấy trong hệ thống vi thủy canh có màng thoáng khí Millipore nên giảm được độ ẩm bên trong hộp nuôi cấy, hơi nước có thể thoát ra ngoài môi trường cũng như trao đổi khí bên trong hộp nuôi cấy và điều kiện bên ngoài. Do vậy, khi chuyển cây ra đất, cây Giọt băng vi thủy canh có tỉ lệ sống sót cao hơn cây Giọt băng *in vitro* (30 % so với 25%). Tuy nhiên, cây Giọt băng vi thủy canh được trồng trong dung dịch loãng nên hàm lượng nước trong cây cao, dễ bị tấn công bởi vi sinh vật gây bệnh, đặc biệt là nấm mốc. Do vậy, tỉ lệ sống tương đối thấp.



Hình 1: Chồi cây Giọt băng sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường

**Cây Giọt băng sau 2 tuần trồng ra đất:**

- a. BAP 0,3 mg/l và NAA 0,8 mg/l      b. BAP 0,3 mg/l và IBA 0,7 mg/l  
 c. BAP 0,3 mg/l và IBA 0,7 mg/l      d. KIN 0,3 mg/l NAA 0,9 mg/l  
 e. Tiền xử lí ra rễ bằng IBA 0,5 mg/l và tạo rễ  
 f. Cây Giọt băng trên môi trường 1/2 MS vi thủy canh  
 g. Từ hạt                      h. Từ cây in vitro                      i. Từ cây in vitro vi thủy canh

**Lời cảm ơn:** Để hoàn thành nghiên cứu này, nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự tài trợ kinh phí của Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài “Phân tích sự biến động và mối liên hệ giữa hệ protein của ty thể với quá trình sinh tổng hợp amino acid ở cây *Mesembryanthemum crystallinum* và *Medicago truncatula* trong điều kiện bất lợi của môi trường”. Mã số: “106-NN.02-2014.13”.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Adams P., D. E. Nelson, S. Yamada, W. Chimara, R. G. Jensen, H. J. Bohnert & H. Griffiths, 1998. Growth and Development of *Mesembryanthemum crystallinum* (Aizoaceae). *New phytol*, 138: 171-190.
2. Agarie, S., Shimoda, T., Shimizu, Y., Baumann, K., Sunagawa, H., Kondo, A., Ueno, O., Nakahara, T., Nose, A., Cushman, J.C., 2007. Salt tolerance, salt accumulation, and ionic homeostasis in an epidermal bladder-cell-less mutant of the common ice plant *Mesembryanthemum crystallinum*. *Journal of Experimental Botany* 58: 1957–1967.



3. **Davies P. J.**, 1987. The plant hormones: Their nature, occurrence and functions. In Davies PJ, ed. Plant hormones and their role in plant growth and development. *Martinus Nijhoff Publishers, the Netherlands*, 1-12.
4. **Duncan D. B.**, 1995. Multiple ranges and multiple F test. *Biometrics*, 11: 1-42.
5. **Hyndman S. E., Hasegawa P. M., Bressan R. A.**, 1982. The role of sucrose and nitrogen in adventitious root formation on cultured rose shoots. *PlantCell, Tissue and Organ Culture* 1: 229-238.
6. **Kozai T, Fujiwara K., Hayashi M., Aitken-Christie J.**, 1992. *The in vitro environment and its control in micropropagation*. In Kurata K, Kozai T, eds. *Transplant production systems*. K. A. Pub., Dordrecht, the Netherlands, 247-282.
7. **Murashige T., Skoog F.**, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *PlantPhysiol* 15: 473-479.
8. **Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Bá Nam, Nguyễn Phúc Huy, Dương Tấn Nhựt**, 2012. Thiết lập hệ thống vi thủy canh trong nhân giống cây cúc (*Chrysanthemum* sp.). *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 10(4A): 969-976.
9. **Vũ Quang Sáng**, 2010. *Giáo trình sinh lý thực vật ứng dụng*. Nxb. Đại học Nông nghiệp I, Hà Nội.
10. **Welander M.**, 1985. *In vitro* culture of raspberry (*Rubus ideaus*) for mass propagation. *Hort Sci.*, 62: 211-220.

## USING MICROPONIC SYSTEM IN MICROPROPAGATION OF ICE PLANT

**Truong Thi Bich Phuong, Nguyen Thi Suong, Nguyen Duc Tuan,  
Nguyen Thi Duy Khoa, Hoang Thi Kim Hong**

### SUMMARY

This paper presented the results of using microponic technique for micropropagation of ice plant. Seeds from wild ice plants were sterilized with  $\text{HgCl}_2$  0.1% for 1 minutes was found to be effective to increase survival rate to as high as 54.5%.

Nodal stem segments (about 1 cm in height) of *in vitro* shoots induced multiple shoots on MS medium supplemented with kinetin 0.3 mg/l and NAA 0.9 mg/l and an average of 6.26 adventitious buds formed from each explants. Ice plant shoots with 2 cm in length were pretreated with IBA 0.5 mg/l or NAA 0.5 mg/l for 20 minutes, or pretreated with distilled water, or supplement IBA 0.5 mg/l or NAA 0.5 mg/l direct in medium to evaluate the rooting ability of *in vitro* shoot in microponic system. After 4 weeks of cultured, the results showed that shoots pretreated with IBA 0.5 mg/l for 20 minutes gave the highest rooting (81.82%), root is short and thick. In comparison with *in vitro* culture, the growth of plantlets from microponic system were better, reaching 5.58 cm in height with 12.2 roots and 9.0 leaves. The plantlets in microponic system were acclimatized and transplanted to soil; the survival rate was 30 % higher the survival rate of the plantlets from *in vitro* culture was 25%.