

## ẢNH HƯỞNG CỦA THAN HOẠT TÍNH LÊN KHẢ NĂNG ĐỊNH HƯỚNG RỄ Ở CÂY HỒNG MÔN VÀ CÂY CÚC NUÔI CÂY *IN VITRO*

Nguyễn Thị Nhật Linh, Nguyễn Bá Nam, Nguyễn Thị Kim Yến,  
Lê Kim Cương, Nguyễn Phúc Huy, Dương Tấn Nhựt\*

Viện Sinh học Tây Nguyên, (\*)duongtannhut@gmail.com

**TÓM TẮT:** Than hoạt tính (Activated charcoal-AC) thường được bổ sung vào môi trường nuôi cấy để tăng cường sự sinh trưởng và phát triển của cây nuôi cấy *in vitro*. Tuy nhiên, những nghiên cứu về hiệu quả định hướng rễ của chúng trong nuôi cấy mô thực vật còn rất hạn chế. Để bước đầu khảo sát khả năng này của AC, chúng tôi tiến hành cấy các chồi vào môi trường được phân thành 2 phần, một phần không có AC và phần còn lại bổ sung các nồng độ AC tối ưu đã khảo sát ở hai đối tượng cây Cúc (3 g/l AC) và Hồng môn (2 g/l AC) bằng cách thay đổi vị trí lớp AC trong môi trường nuôi cấy (trên, giữa hoặc dưới). Kết quả cho thấy, hầu hết các rễ phát sinh trong lớp môi trường có AC (trên 80% rễ). Ngoài ra, các kết quả cũng cho thấy sự định hướng rễ của cây Hồng môn phụ thuộc vào vị trí lớp AC nhiều hơn ở cây Cúc. Vị trí lớp môi trường có AC ở dưới là tối ưu cho sự phát triển của cây và rễ *in vitro* của cả cây Cúc và cây Hồng môn. Mặt khác, những cây sinh trưởng và phát triển tốt trong điều kiện *in vitro* cũng sinh trưởng và phát triển tốt ở điều kiện *ex vitro*; điều này có ý nghĩa rất lớn trong nghiên cứu nhân giống vô tính cây trồng.

*Từ khóa:* *Anthurium andraeanum*, *Chrysanthemum morifolium*, định hướng rễ, nuôi cấy mô thực vật, than hoạt tính.

### MỞ ĐẦU

Trước đây, than hoạt tính (Activated charcoal-AC) thường được sử dụng để phòng độc, lọc không khí và các chất lỏng. Hiện nay, AC đã được tinh chế và sản xuất rộng rãi như một chất có tính hấp thụ cao và được sử dụng phổ biến trong nuôi cấy mô nhờ có tác động lên sự phát sinh hình thái và phát sinh cơ quan của thực vật [17]. Vai trò của AC trong nuôi cấy mô tế bào thực vật chủ yếu là tạo điều kiện “tối” cho môi trường nuôi cấy, hấp thụ các chất độc và các chất ức chế sinh trưởng thực vật như các phenolic, dịch rỉ nâu sinh ra từ mẫu môi trường nuôi cấy [1, 17]. Ngoài ra, than hoạt tính cũng có thể hấp thụ các vitamin, cytokinin và auxin [7, 9], làm thay đổi tỉ lệ thành phần các chất có trong môi trường nuôi cấy cũng như pH môi trường [21].

Từ khi AC được ứng dụng trong nuôi cấy mô, các nhà khoa học chủ yếu tập trung nghiên cứu và công bố về ảnh hưởng của nó trong việc cải tiến môi trường nuôi cấy [2, 21], tăng cường khả năng tái sinh cây [13], phát sinh phôi [11, 15], tăng sinh tế bào trần [14], ngăn cản sự phát triển bất thường của cây con [22], kích thích

quá trình hình thành và phát triển chồi [12], thúc đẩy hay ức chế sự tăng trưởng và hình thành rễ [3, 5, 19]; ngoài ra, AC còn có khả năng làm giảm hiện tượng thủy tinh thể ở một số loài thực vật [4]. Trong khi đó, các nghiên cứu về khả năng định hướng rễ *in vitro* dưới tác động của AC lại rất hạn chế và hầu như chưa có công bố nào về vấn đề này. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng tiền đề cho việc tìm hiểu khả năng định hướng rễ *in vitro* do tác động của AC ở cây Hồng môn và cây Cúc. Từ đó, xác định sự đáp ứng của hai đối tượng này khi có bổ sung nồng độ và vị trí của AC trong môi trường nuôi cấy và khả năng sinh trưởng và phát triển tiếp theo của chúng ở điều kiện *ex vitro*.

### PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### Vật liệu

Các chồi cây Cúc (*Chrysanthemum morifolium* ‘Jimba’) *in vitro* 30 ngày tuổi gồm một đốt đầu tiên với ba lá nhỏ, có chiều dài khoảng 1 cm được nuôi cấy trên môi trường MS [16] có bổ sung 30 g/l sucrose và 8 g/l agar.

Các chồi cây Hồng môn (*Anthurium*

*andraeanum* ‘Tropical’) có kích thước khoảng 2 cm, gồm 2 lá nhỏ được tách ra từ cụm chồi có nguồn gốc từ mô sẹo sau 5 tháng nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 0,3 mg/l BA, 0,5 mg/l NAA, 30 g/l sucrose và 8 g/l agar.

Than hoạt tính (công ty TNHH Guangdong Guanghua Sci-Tech Co, Ltd. (JHD), Trung Quốc) được bổ sung vào môi trường nuôi cấy theo những nồng độ và vị trí khác nhau tùy thuộc vào mục đích thí nghiệm.

**Phương pháp**

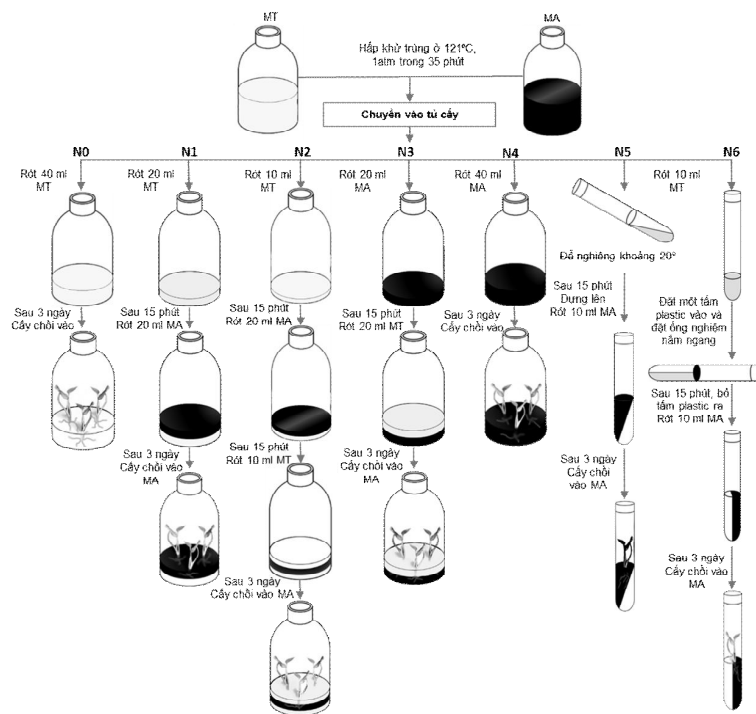
**Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ AC lên sự sinh trưởng, phát triển của chồi Hồng môn và Cúc in vitro**

Các chồi Cúc và Hồng môn *in vitro* được cấy vào bình thủy tinh 250 ml chứa 30 ml môi trường MS không có chất điều hòa sinh trưởng, bổ sung AC với nồng độ khác nhau (0, 1, 2, 3, 4, 5 g/l AC), 30 g/l sucrose và 8,5 g/l agar. pH môi

trường được điều chỉnh đến 5,8 trước khi hấp khử trùng ở 121°C tại 1 atm trong 35 phút.

**Khảo sát ảnh hưởng của vị trí lớp AC trong môi trường nuôi cấy lên khả năng định hướng rễ cây Hồng môn và Cúc in vitro**

Để bước đầu nghiên cứu khả năng định hướng rễ của AC, môi trường được phân ra thành hai phần, một phần có bổ sung AC và phần còn lại không chứa AC; sau đó tiến hành thay đổi vị trí của phần môi trường có bổ sung AC (hình 1, từ N0-N4) để xác định hướng rễ phát sinh và tăng trưởng trong các lớp môi trường khác nhau cũng như khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Hồng môn và cây Cúc. Để minh họa rõ hơn khả năng định hướng rễ dưới tác động của AC, chúng tôi tiến hành cấy các chồi này vào hệ thống ống nghiệm có kích thước 2 × 20 cm, có thiết kế môi trường như hình 1 (N5, N6).



Hình 1. Sơ đồ thiết kế thí nghiệm định hướng rễ do tác động của AC

MT. môi trường MS không có bổ sung AC; MA. môi trường MS có bổ sung các nồng độ AC tối ưu cho cây Hồng môn và Cúc, 30 g/l sucrose và 8,5 g/l agar; N0. môi trường không có AC; N1. lớp môi trường có bổ sung AC nằm trên; N2. lớp môi trường có bổ sung AC nằm giữa; N3. lớp môi trường có bổ sung AC nằm dưới; N4. toàn bộ môi trường đều được bổ sung AC; N5. lớp AC nằm nghiêng trong ống nghiệm; N6. lớp AC nằm thẳng đứng trong ống nghiệm.

### **Khảo sát sự sinh trưởng, phát triển của các cây con ở điều kiện vườn ươm**

Các cây con *in vitro* trong các thí nghiệm trên được lấy ra khỏi bình nuôi cấy và rửa sạch agar trong nước máy. Sau đó, các cây Cúc được trồng vào chậu chứa đất đỏ và xơ dừa với tỉ lệ 3:1 và các cây Hồng môn được trồng trong dớn. Sau khoảng 15 ngày, các cây này được chuyển sang chậu lớn hơn với cùng một loại giá thể trên nhưng bổ sung thêm phân hữu cơ.

#### **Điều kiện thí nghiệm**

Tất cả các thí nghiệm *in vitro* được giữ ở điều kiện nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày với cường độ  $45 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  và ẩm độ trung bình 75-80%.

Các thí nghiệm *ex vitro* được tiến hành ở nhiệt độ khoảng  $17-25^\circ\text{C}$ , độ ẩm trung bình 85-90% và sử dụng ánh sáng tự nhiên.

#### **Chỉ tiêu theo dõi**

##### **Đối với các cây con *in vitro***

Tiến hành xác định khối lượng tươi (mg), khối lượng khô (mg), chiều cao cây (cm), số lá/cây, số lượng rễ/cây và chiều dài rễ (cm), tỉ lệ hình thành rễ (%) sau 21 ngày nuôi cấy đối với Cúc và sau 60 ngày nuôi cấy đối với Hồng môn.

##### **Giải phẫu quan sát hình thái**

**Hình thái rễ của các cây trong nghiên cứu định hướng rễ:** hình thái rễ được quan sát bằng cách cắt mỏng dọc theo rễ và tiến hành nhuộm với thuốc nhuộm 2 màu Iodine-carmin (Merk KgaA-Germany) như sau: mẫu sau khi giải phẫu được ngâm trong Javel 10% khoảng 15 phút, khi đó toàn bộ mẫu sẽ chuyển sang màu trắng. Tiếp đó, mẫu được rửa sạch bằng nước cất vô trùng và ngâm khoảng 15 phút trong dung dịch acid acetic 45% để cố định mẫu. Sau đó, lấy mẫu ra và rửa sạch bằng nước cất cho đến khi mất mùi acid và ngâm vào thuốc nhuộm 5 phút. Cuối cùng, rửa lại mẫu bằng nước cất vô trùng, đặt mẫu lên lam, đặt lam kính lên và tiến hành quan sát, chụp ảnh dưới kính hiển vi quang học ở vật kính  $\times 40$ .

**Cấu trúc khí khổng của lá trong điều kiện có và không có AC:** khí khổng được quan sát từ các lá thứ ba hoặc lá thứ tư (từ trên xuống) của các cây Cúc và Hồng môn nuôi cấy trong môi

trường có bổ sung nồng độ AC tối ưu và môi trường không có AC. Lớp biểu bì được lấy từ mặt dưới lá dọc theo trục gân chính, sau đó được quan sát và chụp ảnh dưới kính hiển vi quang học ở vật kính  $\times 40$  và  $\times 100$ .

##### **Đối với các cây *ex vitro***

Các cây Cúc (sau 30 ngày) và Hồng môn (sau 60 ngày) trồng ngoài vườn ươm được đo chiều dài (cm), chiều rộng lá (cm), số lá/cây, chiều cao cây (cm) (tính từ mặt đất lên) và tỉ lệ sống sót (%).

##### **Xử lý thống kê**

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, mỗi thí nghiệm tiến hành trên 10 bình, mỗi bình cấy 3 mẫu. Dữ liệu được xử lý bằng phần mềm phân tích thống kê SPSS 16.0 theo phương pháp Duncan với  $p = 0,05$  (SPSS Inc. Headquarters, United States) [6].

### **KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

#### **Ảnh hưởng của nồng độ AC lên sự sinh trưởng, phát triển của chồi Hồng môn và Cúc *in vitro***

Các kết quả thu được cho thấy, so với môi trường không có AC, các cây sinh trưởng và phát triển trên môi trường có AC cho các chỉ tiêu về khối lượng chồi, chiều cao chồi, khối lượng rễ, chiều dài rễ và số rễ đều vượt trội hơn khi môi trường không bổ sung AC (bảng 1, 2, hình 2a, 2b). Đặc biệt ở thí nghiệm này, AC tác động rất lớn lên khả năng hình thành rễ Hồng môn và Cúc.

Đối với chồi Hồng môn sau 60 ngày nuôi cấy ở điều kiện *in vitro*, đa số các cây sinh trưởng và phát triển tốt ở nồng độ AC từ 1-3 g/l, trong đó, sự hình thành rễ phát triển tốt ở nghiệm thức bổ sung 2-3 g/l AC (bảng 1). Ở nghiệm thức bổ sung 2 g/l AC thì chồi và rễ phát triển tốt nhất với tất cả các chỉ tiêu như chiều cao chồi (3,1 cm), khối lượng tươi chồi (96,7 mg), chiều dài rễ (1,5 cm), khối lượng khô của chồi (13,5 mg), khối lượng khô của rễ (5,3 mg), số lượng rễ (3,5 rễ) và số lá (4,3 lá) đạt cao nhất (bảng 1). Kết quả thu được cho thấy AC chủ yếu tác động làm gia tăng khối lượng khô chồi gấp 3,2 lần, khối lượng khô rễ gấp 11 lần, chiều dài và số rễ gấp 3 lần so với môi trường

không bổ sung AC. Điều này cũng tương tự kết quả nghiên cứu trên cây Hồng môn (*Anthurium andreaenum*) với nồng độ 2 g/l là tối ưu cho sự phát triển chồi và tạo rễ của cây [10]. Ngoài ra, các kết quả thu được cũng chỉ ra rằng ở nồng độ 4 và 5 g/l AC sẽ làm giảm khả năng sinh trưởng

của các cây Hồng môn với số rễ, khối lượng rễ thấp hơn một nửa so với 2 g/l AC (bảng 1). Như vậy, AC ảnh hưởng rất lớn đến khả năng phát sinh và tăng trưởng của rễ, đồng thời giúp cây tăng trưởng tốt hơn.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của nồng độ AC lên sự sinh trưởng, phát triển của chồi Hồng môn *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy

| Chi tiêu theo dõi |                         | AC (g/l)           |                    |                   |                    |                   |                   |
|-------------------|-------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
|                   |                         | 0                  | 1                  | 2                 | 3                  | 4                 | 5                 |
| Chồi              | Khối lượng tươi (mg)    | 39,7 <sup>d*</sup> | 55,7 <sup>c</sup>  | 96,7 <sup>a</sup> | 91,0 <sup>a</sup>  | 85,0 <sup>a</sup> | 71,7 <sup>b</sup> |
|                   | Khối lượng khô (mg)     | 4,2 <sup>d</sup>   | 8,2 <sup>c</sup>   | 13,5 <sup>a</sup> | 12,5 <sup>a</sup>  | 10,2 <sup>b</sup> | 10,1 <sup>b</sup> |
|                   | Số lá                   | 2,3 <sup>c</sup>   | 4,6 <sup>a</sup>   | 4,3 <sup>a</sup>  | 4,0 <sup>ab</sup>  | 4,0 <sup>ab</sup> | 3,3 <sup>bc</sup> |
|                   | Chiều cao (cm)          | 2,13 <sup>d</sup>  | 2,70 <sup>bc</sup> | 3,10 <sup>a</sup> | 3,07 <sup>ab</sup> | 2,60 <sup>c</sup> | 2,53 <sup>c</sup> |
| Rễ                | Khối lượng tươi (mg)    | 33,3 <sup>d</sup>  | 51,0 <sup>b</sup>  | 65,3 <sup>a</sup> | 61,5 <sup>a</sup>  | 35,0 <sup>c</sup> | 36,0 <sup>c</sup> |
|                   | Khối lượng khô (mg)     | 0,5 <sup>d</sup>   | 3,3 <sup>c</sup>   | 5,3 <sup>a</sup>  | 4,3 <sup>b</sup>   | 2,8 <sup>c</sup>  | 2,6 <sup>c</sup>  |
|                   | Chiều dài (cm)          | 0,5 <sup>d</sup>   | 1,2 <sup>c</sup>   | 1,5 <sup>ab</sup> | 1,6 <sup>a</sup>   | 1,4 <sup>bc</sup> | 1,4 <sup>bc</sup> |
|                   | Số rễ                   | 1,1 <sup>d</sup>   | 2,3 <sup>bc</sup>  | 3,5 <sup>a</sup>  | 2,6 <sup>b</sup>   | 2,7 <sup>b</sup>  | 2,3 <sup>bc</sup> |
|                   | Tỉ lệ hình thành rễ (%) | 33 <sup>c</sup>    | 95 <sup>b</sup>    | 100 <sup>a</sup>  | 100 <sup>a</sup>   | 99 <sup>a</sup>   | 95 <sup>b</sup>   |

\*Các chữ cái a, b, c thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy p = 0,05 trong phép thử Duncan.

Đối với cây Cúc, kết quả thu được sau 21 ngày nuôi cấy cho thấy AC không ảnh hưởng nhiều lên quá trình phát sinh rễ, 100% chồi Cúc đều có thể ra rễ trên cả hai phần của môi trường và AC tác động mạnh lên sự sinh trưởng và phát triển của cây Cúc. Ở công thức bổ sung 3 g/l AC cho kết quả về sự hình thành rễ cũng như sự tăng trưởng của cây Cúc là tốt nhất trên hầu hết

các chi tiêu về khối lượng tươi chồi (553,3 mg), khối lượng tươi rễ (193,3 mg), khối lượng khô chồi (18,3 mg), khối lượng khô rễ (7,0 mg), chiều cao cây (5,6 cm), số lá (9), chiều dài rễ (6,2 cm) và số rễ (17) (bảng 2). Ở các công thức bổ sung AC ở các nồng độ 1 g/l và trên 3 g/l, khả năng phát triển của chồi kém (hình 2b, bảng 2).

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của nồng độ AC lên sự sinh trưởng, phát triển của chồi Cúc *in vitro* sau 21 ngày nuôi cấy

| Chi tiêu theo dõi |                         | AC (g/l)            |                    |                    |                    |                    |                    |
|-------------------|-------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                   |                         | 0                   | 1                  | 2                  | 3                  | 4                  | 5                  |
| Chồi              | Khối lượng tươi (mg)    | 316,7 <sup>c*</sup> | 340,0 <sup>c</sup> | 430,0 <sup>b</sup> | 553,3 <sup>a</sup> | 476,7 <sup>b</sup> | 345,0 <sup>c</sup> |
|                   | Khối lượng khô (mg)     | 10,7 <sup>c</sup>   | 13,2 <sup>c</sup>  | 16,5 <sup>b</sup>  | 18,3 <sup>a</sup>  | 17,2 <sup>ab</sup> | 16,8 <sup>b</sup>  |
|                   | Số lá                   | 8,1 <sup>d</sup>    | 8,7 <sup>bc</sup>  | 8,9 <sup>ab</sup>  | 9,0 <sup>a</sup>   | 8,5 <sup>c</sup>   | 8,0 <sup>d</sup>   |
|                   | Chiều cao (cm)          | 4,3 <sup>d</sup>    | 4,9 <sup>c</sup>   | 5,3 <sup>b</sup>   | 5,6 <sup>a</sup>   | 5,5 <sup>a</sup>   | 5,5 <sup>a</sup>   |
| Rễ                | Khối lượng tươi (mg)    | 68,3 <sup>d</sup>   | 95,0 <sup>c</sup>  | 140,0 <sup>b</sup> | 193,3 <sup>a</sup> | 153,0 <sup>b</sup> | 98,0 <sup>c</sup>  |
|                   | Khối lượng khô (mg)     | 3,0 <sup>c</sup>    | 5,7 <sup>b</sup>   | 6,1 <sup>b</sup>   | 7,0 <sup>a</sup>   | 5,4 <sup>b</sup>   | 4,1 <sup>c</sup>   |
|                   | Chiều dài (cm)          | 3,2 <sup>c</sup>    | 5,4 <sup>b</sup>   | 5,5 <sup>b</sup>   | 6,2 <sup>a</sup>   | 6,5 <sup>a</sup>   | 6,6 <sup>a</sup>   |
|                   | Số rễ                   | 16,0 <sup>b</sup>   | 16,5 <sup>b</sup>  | 16,3 <sup>b</sup>  | 17,0 <sup>a</sup>  | 13,9 <sup>c</sup>  | 12,7 <sup>c</sup>  |
|                   | Tỉ lệ hình thành rễ (%) | 100 <sup>a</sup>    | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>   |

\*Các chữ cái a,b,... thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy p = 0,05 trong phép thử Duncan.

Qua kết quả nghiên cứu này cho thấy, mức độ ảnh hưởng của AC đến khả năng phát triển

của các cây Cúc và cây Hồng môn là không giống nhau và nó có tác dụng gần như là một

chất kích thích sự phát sinh và hình thành rễ. Khi nồng độ AC bổ sung vào môi trường tăng thì khối lượng khô, số lượng rễ tăng lên đáng kể, cây sinh trưởng và phát triển tốt hơn ở cả Hồng môn và Cúc (bảng 1, 2, hình 2a, 2b). Tương tự với các nghiên cứu trước đây cũng cho thấy khi bổ sung AC vào môi trường nuôi cấy giúp tăng cường sự phát sinh cơ quan, cũng như khả năng phát triển của chồi [12, 13] và gia tăng đáng kể tỉ lệ hình thành và khả năng phát triển của rễ trên một số loài cây thân thảo cũng như thân gỗ [3, 5, 19]. Ngoài ra, trong nghiên cứu của Pan & Staden (1998) [17] cũng ghi nhận AC có lợi cho sự tăng trưởng *in vitro* nhưng cũng có thể tác dụng ngược lại. Trong đó, các tác dụng có lợi của AC là do các đặc tính sẵn có của nó như màu đen sẽ làm môi trường “tối” nên tạo điều kiện nuôi cấy tương tự như trong đất giúp rễ dễ dàng phát triển và hấp thu được các chất dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy. Bên cạnh đó, Sánchez et al. (1996) [18] cũng đã chứng minh việc làm tối môi trường khi nuôi cấy các chồi cây *Quercus robur* và *Q. rubra* với một tấm bạc vào giai đoạn ra rễ giúp tăng tỉ lệ tạo rễ nhưng không hiệu quả bằng việc sử dụng AC. Bởi vì, AC gồm một cấu trúc mạng lưới các lỗ xơ rỗng với vùng chuyên biệt lớn từ 600-2000  $\text{m}^2\text{g}^{-1}$  và các lỗ này phân bố từ 10-500  $\mu\text{M}$  cho nên có tính hấp thụ rất lớn, hấp thụ được các độc tố kìm hãm sự phát triển của cây như các phenolic và các oxidase của chất này hay dịch rỉ nâu do môi trường hay mẫu sinh ra. Ngoài ra, Debergh et al. (1981) [4] cũng cho thấy AC có khả năng hấp thụ các khí không cần thiết như ethylene, oxygen, hơi nước... trong môi trường nuôi cấy nên làm giảm hiện tượng thủy tinh thể phát sinh trong quá trình nuôi cấy *in vitro*, từ đó, các chồi nuôi cấy trên môi trường có AC sẽ sinh trưởng và phát triển tốt hơn. Tuy nhiên, Pan & Staden (1998) [17] cho rằng AC có tác động hấp thụ không chọn lọc nên có thể sẽ tạo ra các tác động không tốt lên mẫu nuôi cấy do chúng hấp thụ cả các chất dinh dưỡng và vitamin thiết yếu cho mẫu cây như thiamine, nicotinic acid, pyridoxine, folic acid, các chất điều hòa sinh trưởng, kẽm, sắt, kẽm và điều này sẽ tiếp tục cho đến khi có sự cân bằng giữa các phân tử bị hấp thụ và không bị hấp thụ. Hơn nữa, khả năng hấp thụ của AC tùy thuộc vào nhiều nhân tố như

mật độ, độ tinh sạch và pH của AC. Ở nghiên cứu này khi bổ sung AC ở nồng độ vượt quá 3 g/l mới làm giảm khả năng phát triển của chồi Hồng môn lẫn Cúc, nhất là ở các chồi Cúc có hiện tượng thân giòn, lá dày rất dễ rụng.

#### **Ảnh hưởng của vị trí phần môi trường có bổ sung AC lên khả năng định hướng rễ của cây Hồng môn và cây Cúc *in vitro***

Các kết quả thu được cho thấy, sự phát sinh và hình thành rễ Hồng môn phụ thuộc rất lớn vào vị trí của phần môi trường có AC. Khi nuôi cấy trên các môi trường không bổ sung AC, các rễ Hồng môn hình thành rất kém, hơn nữa, rễ có khuynh hướng hướng lên trên, chỉ phát triển trên bề mặt môi trường nuôi cấy và không hướng xuống có thể do những rễ này thuộc dạng rễ khí sinh thường có đặc điểm mọc trong không khí và hướng sáng để quang hợp (hình 2c). Nhưng khi nuôi cấy trên các môi trường có bổ sung AC, tất cả các rễ Hồng môn hình thành lại đều hướng theo lớp AC và đâm sâu vào môi trường nuôi cấy nhờ đó hấp thu tốt nguồn dinh dưỡng có trong môi trường (95% rễ phát sinh hay tăng trưởng theo phần môi trường có AC) (bảng 3, hình 2c). Đặc biệt khi nuôi cấy Hồng môn ở các ống nghiệm có vị trí môi trường AC nằm nghiêng và thẳng thì 100% rễ hình thành và phát triển về phía có AC (hình 2j, 2k). Theo dõi sự phát triển của rễ Hồng môn trong suốt quá trình nuôi cấy, kết quả cho thấy các chóp rễ luôn hướng vào trong lớp AC và không có bất kỳ rễ nào kéo dài hay phát triển xuống phần môi trường không có AC (hình 2c). Ngoài ra, khi phần môi trường có bổ sung AC nằm dưới thì 100% rễ Hồng môn tăng trưởng và bám sát lên phần môi trường đó với chiều dài rễ (2,1 cm), số lượng rễ (4,7 rễ) là tối ưu (hình 2c, bảng 3).

Ở cây Cúc, các kết quả quan sát cho thấy, có 83% rễ Cúc phát triển trong lớp môi trường có bổ sung AC ở trên, 75% rễ phát triển ở phần AC nằm giữa, 95% rễ phát triển ở phần AC nằm dưới nhưng hầu hết các rễ hình thành đều có thể kéo dài qua lớp AC và phát triển trong môi trường không có AC (bảng 4, hình 2e). Tuy vậy, trước khi các rễ này phát triển xuống lớp môi trường không có AC thì một số rễ vẫn kéo dài và phát triển trong phần môi trường có AC tạo nên một lớp rễ giữa hai phần môi trường bên

trên có chứa AC và bên dưới không có AC (hình 2e). Bên cạnh đó, khi cấy các chồi Cúc vào giữa hai lớp môi trường có bổ sung AC và không bổ sung AC trong các ống nghiệm có môi trường thạch nằm nghiêng hay thẳng đứng thì gần như 99% rễ là phát triển trong phần môi trường có AC (hình 2g, 2h). Tuy nhiên, ở cây Cúc rễ vẫn kéo dài, tăng

trường và hướng xuống dưới tốt trong môi trường không có AC, như vậy, hướng rễ ít chịu tác động bởi việc phân bố vị trí phần môi trường có bổ sung AC như ở rễ cây Hồng môn nhưng chúng cũng có khuynh hướng mọc trong phần môi trường tối của AC với tỉ lệ rễ phụ thuộc vào lớp AC khá cao trong tất cả các công thức (bảng 4).

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của vị trí phần môi trường có bổ sung AC lên sự định hướng rễ của cây Hồng môn *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy

| Công thức | Khối lượng tươi (mg) |                   | Chiều cao chồi (cm) | Chiều dài rễ (cm) | Số lá            | Số rễ             | Rễ ở lớp AC (%)  |
|-----------|----------------------|-------------------|---------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|
|           | Chồi                 | Rễ                |                     |                   |                  |                   |                  |
| N0        | 48,2 <sup>*</sup>    | 10,3 <sup>d</sup> | 2,00 <sup>d</sup>   | 0,2 <sup>d</sup>  | 2,0 <sup>b</sup> | 1,0 <sup>d</sup>  | -                |
| N1        | 129,2 <sup>c</sup>   | 53,0 <sup>c</sup> | 3,26 <sup>c</sup>   | 0,7 <sup>c</sup>  | 4,5 <sup>a</sup> | 3,8 <sup>b</sup>  | 95 <sup>c</sup>  |
| N2        | 146,4 <sup>b</sup>   | 58,7 <sup>b</sup> | 3,75 <sup>b</sup>   | 1,0 <sup>b</sup>  | 4,8 <sup>a</sup> | 4,0 <sup>ab</sup> | 97 <sup>b</sup>  |
| N3        | 192,2 <sup>a</sup>   | 70,7 <sup>a</sup> | 4,00 <sup>a</sup>   | 2,1 <sup>a</sup>  | 4,8 <sup>a</sup> | 4,7 <sup>a</sup>  | 100 <sup>a</sup> |
| N4        | 153,1 <sup>b</sup>   | 72,1 <sup>a</sup> | 3,80 <sup>b</sup>   | 1,9 <sup>a</sup>  | 5,0 <sup>a</sup> | 4,2 <sup>ab</sup> | 100 <sup>a</sup> |

\*Các chữ cái a, b, c thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy p = 0,05 trong phép thử Duncan.

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của vị trí các lớp môi trường có bổ sung AC lên sự định hướng rễ của cây Cúc *in vitro* sau 21 ngày nuôi cấy

| Công thức | Khối lượng tươi (mg) |                    | Chiều cao chồi (cm) | Chiều dài rễ (cm) | Số lá            | Số rễ              | Rễ ở lớp AC (%)  |
|-----------|----------------------|--------------------|---------------------|-------------------|------------------|--------------------|------------------|
|           | Chồi                 | Rễ                 |                     |                   |                  |                    |                  |
| N0        | 449,6 <sup>c*</sup>  | 156,7 <sup>b</sup> | 4,6 <sup>d</sup>    | 4,2 <sup>c</sup>  | 7,7 <sup>b</sup> | 16,7 <sup>d</sup>  | -                |
| N1        | 505,0 <sup>bc</sup>  | 185,0 <sup>b</sup> | 5,0 <sup>c</sup>    | 5,8 <sup>ab</sup> | 9,3 <sup>a</sup> | 20,7 <sup>bc</sup> | 83 <sup>d</sup>  |
| N2        | 507,3 <sup>bc</sup>  | 192,3 <sup>b</sup> | 5,6 <sup>b</sup>    | 6,5 <sup>ab</sup> | 9,3 <sup>a</sup> | 22,2 <sup>b</sup>  | 75 <sup>c</sup>  |
| N3        | 572,3 <sup>ab</sup>  | 226,7 <sup>a</sup> | 6,0 <sup>a</sup>    | 6,9 <sup>a</sup>  | 9,7 <sup>a</sup> | 25,5 <sup>a</sup>  | 96 <sup>b</sup>  |
| N4        | 632,0 <sup>a</sup>   | 229,7 <sup>a</sup> | 6,1 <sup>a</sup>    | 6,6 <sup>ab</sup> | 9,7 <sup>a</sup> | 25,8 <sup>a</sup>  | 100 <sup>a</sup> |

\*Các chữ cái a, b, c thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy p = 0,05 trong phép thử Duncan.

Ngoài ra, khi bổ sung AC vào môi trường nuôi cấy và vị trí khác nhau của phần môi trường có bổ sung AC này cũng có ảnh hưởng nhất định lên khả năng phát triển của cây Hồng môn và cây Cúc (bảng 3, 4). Đối với cây Hồng môn, vị trí lớp AC nằm dưới giúp cho cây phát triển tốt nhất với khối lượng chồi (192,2 mg), khối lượng rễ (70,7 mg), chiều dài rễ (2,1 cm), số lá (4,8 lá), số rễ (4,7 rễ). Điều này có thể là do hướng rễ Hồng môn mọc thẳng xuống vị trí có AC cho nên đa số các rễ mọc ra đều nằm trong môi trường nuôi cấy, cây có thể hấp thu các chất dinh dưỡng tốt hơn (hình 2c). Đối với cây Cúc, lớp môi trường chứa AC nằm dưới cũng cho kết quả về sự sinh trưởng, phát triển

của cây là tối ưu với khối lượng rễ (226,7 mg), chiều dài rễ (6,9 cm), số lá (9,7), số rễ (5,5), nhưng khối lượng chồi lại không cao bằng nghiệm thức toàn bộ môi trường đều bổ sung AC (hình 2e, 2f, bảng 4).

**Kết quả quan sát hình thái giải phẫu học**

*Hình thái rễ của cây Hồng môn và Cúc trong thí nghiệm định hướng rễ*

Đối với cây Hồng môn, kết quả quan sát cho thấy, rễ Hồng môn phát triển trong môi trường nuôi cấy hầu như không quan sát thấy các lông hút, đặc biệt ở phần gần chóp rễ. Mạch dẫn ở giữa và chóp rễ tại lớp môi trường có AC nằm dưới là lớn nhất cho nên khả năng tăng trưởng

rễ là tốt nhất (bảng 3) và rễ ở môi trường bổ sung toàn bộ AC có lớp biểu bì bên ngoài dày hơn có thể do phải chịu sự cọ sát nhiều với toàn bộ AC trong môi trường nuôi cấy (hình 2d).

Đối với cây Cúc, rễ phát sinh từ các chồi nuôi cấy trên môi trường không có AC có số lượng lông hút nhiều nhất và số lượng này thấp nhất khi toàn bộ môi trường có AC (số liệu không nêu ra, hình 2f). Cấu tạo của phần rễ bên trong hầu như không có sự khác biệt nhiều với kích thước lớp biểu bì như nhau, phần chóp rễ tương tự ở các công thức có AC, mạch dẫn của rễ Cúc ở nghiệm thức có lớp AC nằm dưới tuy lớn hơn nhưng không đáng kể, chỉ có phần mạch dẫn của rễ Cúc trên môi trường không có AC là nhỏ nhất, chính vì thế khả năng phát triển rễ từ các nghiệm thức có bổ sung AC hầu như chênh lệch không quá lớn (hình 2f, bảng 3).

Khi so sánh giữa cây Cúc và Hồng môn thì rễ Hồng môn có đường kính lớn hơn nhiều. Tuy nhiên, nhìn chung phần chóp rễ Cúc dày và dài hơn rễ Hồng môn, hơn nữa, chóp rễ Cúc còn có phần bao đầu rễ dày và nhọn hơn, chiều dài rễ cũng dài hơn. Với thời gian sinh trưởng ngắn hơn nhiều so với Hồng môn và phần mô phân sinh ở chóp rễ dày hơn nên tốc độ tăng trưởng rễ Cúc sẽ nhanh hơn Hồng môn rất nhiều (bảng 3, 4). Bên cạnh đó, có thể quan sát thấy lông hút ở rễ Cúc khi phát triển trong môi trường nhưng ở Hồng môn chỉ quan sát thấy lông hút ở những rễ phát triển trên bề mặt môi trường. Điều này có thể do đặc tính của dạng rễ khí sinh ở Hồng môn khác dạng rễ chùm ở Cúc (hình 2d, 2f). Hình 2d, 2f cũng cho thấy tác động của AC lên hình thái rễ phụ thuộc vào đặc điểm của từng loài. Các cây có dạng rễ như Hồng môn sẽ có kích thước các mạch dẫn thay đổi khi vị trí môi trường bổ sung AC thay đổi, còn các cây có dạng rễ như Cúc, vị trí lớp môi trường có AC chủ yếu ảnh hưởng đến số lượng lông hút (hình 2c, 2d).

*Cấu trúc khí khổng của lá trong điều kiện có và không có AC*

Khi so sánh khí khổng của lá từ mẫu cây trên môi trường không có AC với mẫu cây trên môi trường có nồng độ AC tối ưu cho thấy mật

độ khí khổng ở nghiệm thức bổ sung AC dày hơn nhưng độ mở khí khổng không quá lớn và giảm một nửa so với đối chứng (hình 2a1, 2a2, 2b1, 2b2). Đặc điểm khí khổng của mỗi cây có sự khác biệt nhất định, theo mô tả của Vũ Văn Vụ và nnk. (2007) [20] và Esau (1967) [8] cho thấy khí khổng Cúc sắp xếp theo kiểu dị bào, Hồng môn theo kiểu song bào cho nên phản ứng của chúng với các điều kiện có AC là khác nhau.

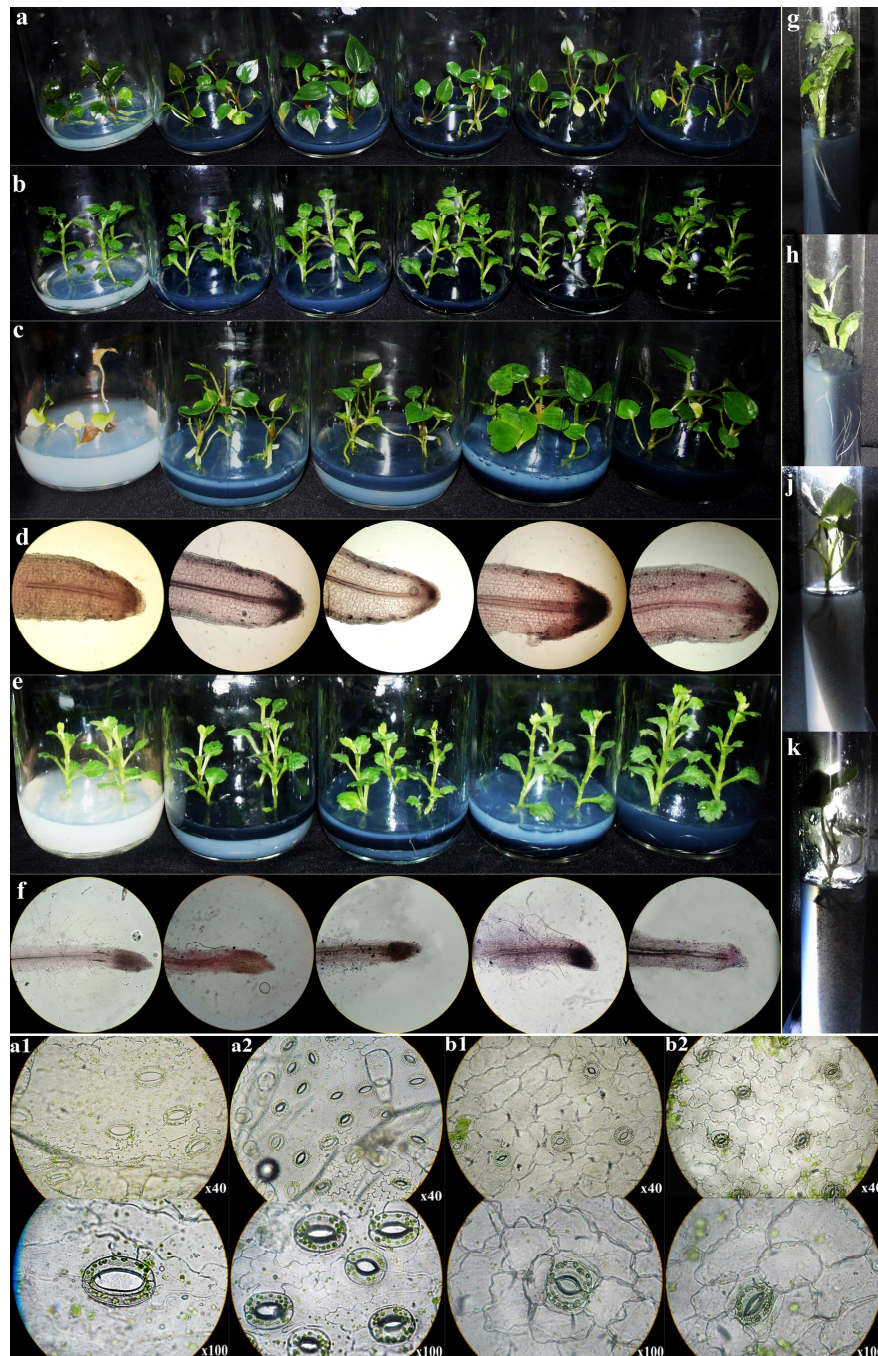
Ở Cúc, AC chủ yếu giúp tăng mật độ khí khổng lên gấp 3 lần và làm giảm đáng kể kích thước khí khổng với kích thước giảm gần một nửa so với môi trường không có AC nhưng không gây biến dạng khí khổng (số liệu không nêu ra, hình 2b1, 2b2).

Ở Hồng môn, tác động của AC cũng không làm biến dạng khí khổng hay thay đổi kích thước khí khổng mà chỉ làm gia tăng đáng kể mật độ khí khổng gấp hai lần so với mẫu nuôi cấy trên môi trường không có bổ sung AC, tuy nhiên không dày đặc như ở cây Cúc (số liệu không nêu ra, hình 2a1, 2a2).

#### **Khảo sát sự sinh trưởng, phát triển của các cây con ở điều kiện *ex vitro***

Thích nghi ngoài vườn ươm là giai đoạn cuối cùng và quan trọng nhất trong toàn bộ quá trình vi nhân giống. Chất lượng của cây giống *in vitro* quyết định đến khả năng sống sót của cây con trong điều kiện *ex vitro*. Các cây Hồng môn, Cúc sinh trưởng phát triển tốt trong điều kiện *in vitro* từ môi trường có bổ sung 2 g/l AC (Hồng môn), 3 g/l AC (Cúc) và chỉ cần một lớp môi trường này nằm ở dưới (với khoảng 20 ml môi trường) sẽ tiếp tục tăng trưởng tốt trong điều kiện *ex vitro* (Bảng 5, 6, Hình 3). Cây con tăng sinh rất nhanh, chiều dài lá [4,9 cm (Hồng môn), 6 cm (Cúc)], chiều rộng lá [2,97 cm (Hồng môn), 3 cm (Cúc)], số lá [4 lá (Hồng môn), 18 lá (Cúc)], chiều cao cây [4,17 cm (Hồng môn), 18,7 cm (Cúc)], tỉ lệ sống (100% cả Hồng môn và Cúc) (bảng 6, hình 3). Chỉ sau một tuần đầu tiên ở điều kiện *ex vitro*, hầu hết cả Hồng môn và Cúc đều bắt đầu hình thành lá mới, đặc biệt, cây Cúc tăng trưởng rất nhanh, chỉ sau khoảng 120 ngày cây đã bắt đầu nở hoa.





Hình 2. Ảnh hưởng của AC lên khả năng sinh trưởng, phát triển và định hướng rễ ở cây Hồng môn và cây Cúc

Sự sinh trưởng và phát triển của cây Hồng môn (a) và Cúc (b) với nồng độ AC từ 0-5 g/l (từ trái sang phải). Khả năng định hướng rễ của AC ở cây Hồng môn (c, d, j, k), cây Cúc (e, f, g, h). d, f: hình thái giải phẫu rễ Hồng môn và Cúc ở vật kính  $\times 40$ . Hình thái khí khổng ở vật kính  $\times 40$  và  $\times 100$ : (a1) khí khổng lá Cúc từ mẫu trên môi trường không có AC, (a2) khí khổng lá Cúc từ mẫu trên môi trường có AC, (b1) khí khổng lá Hồng môn từ mẫu trên môi trường không có AC, (b2) khí khổng lá Hồng môn trên môi trường có AC.





Hình 3. Ảnh hưởng của AC lên khả năng sinh trưởng và phát triển của cây Hồng môn và Cúc *in vitro* khi chuyển ra vườn ươm

Cây Hồng môn *ex vitro* 60 ngày tuổi (a) và cây Cúc *ex vitro* 30 ngày tuổi (b) từ thí nghiệm khảo sát nồng độ của AC từ 0-5 g/l (từ trái sang phải) lên sự sinh trưởng và phát triển của chúng; cây Hồng môn *ex vitro* 60 ngày tuổi (c) và cây Cúc *ex vitro* 30 ngày tuổi (d) từ thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của vị trí lớp AC trong môi trường nuôi cây lên khả năng định hướng rễ của chúng.

**Bảng 5.** Ảnh hưởng của nồng độ AC lên sự sinh trưởng, phát triển của cây Hồng môn sau 60 ngày và cây Cúc sau 30 ngày ở điều kiện ngoài vườn ươm

| Chỉ tiêu theo dõi |                    | AC (g/l)           |                    |                    |                    |                    |                    |
|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                   |                    | 0                  | 1                  | 2                  | 3                  | 4                  | 5                  |
| Hồng môn          | Chiều dài lá (cm)  | 0,60 <sup>c*</sup> | 3,33 <sup>ab</sup> | 4,07 <sup>a</sup>  | 3,13 <sup>ab</sup> | 2,33 <sup>b</sup>  | 2,20 <sup>b</sup>  |
|                   | Chiều rộng lá (cm) | 0,40 <sup>c</sup>  | 2,33 <sup>b</sup>  | 4,67 <sup>a</sup>  | 2,53 <sup>b</sup>  | 2,33 <sup>b</sup>  | 1,80 <sup>bc</sup> |
|                   | Chiều cao cây (cm) | 2,5 <sup>c</sup>   | 3,27 <sup>bc</sup> | 4,03 <sup>a</sup>  | 3,83 <sup>a</sup>  | 3,50 <sup>b</sup>  | 3,33 <sup>b</sup>  |
|                   | Số lá              | 0,67 <sup>c</sup>  | 3,33 <sup>ab</sup> | 4,67 <sup>a</sup>  | 4,33 <sup>ab</sup> | 3,00 <sup>ab</sup> | 2,33 <sup>bc</sup> |
|                   | Tỉ lệ sống (%)     | 35 <sup>c</sup>    | 95 <sup>ab</sup>   | 100 <sup>a</sup>   | 90 <sup>b</sup>    | 90 <sup>b</sup>    | 90 <sup>b</sup>    |
| Cúc               | Chiều dài lá (cm)  | 3,5 <sup>ab</sup>  | 5,0 <sup>a</sup>   | 4,9 <sup>a</sup>   | 4,5 <sup>ab</sup>  | 3,1 <sup>b</sup>   | 3,2 <sup>b</sup>   |
|                   | Chiều rộng lá (cm) | 1,6 <sup>c</sup>   | 1,3 <sup>b</sup>   | 3,4 <sup>a</sup>   | 3,0 <sup>a</sup>   | 2,0 <sup>bc</sup>  | 2,1 <sup>bc</sup>  |
|                   | Chiều cao cây (cm) | 6,9 <sup>c</sup>   | 7,7 <sup>c</sup>   | 12,8 <sup>ab</sup> | 14,5 <sup>a</sup>  | 10,3 <sup>bc</sup> | 8,2 <sup>c</sup>   |
|                   | Số lá              | 13,0 <sup>d</sup>  | 15,7 <sup>ab</sup> | 15,3 <sup>bc</sup> | 17,7 <sup>a</sup>  | 13,0 <sup>d</sup>  | 13,3 <sup>cd</sup> |
|                   | Tỉ lệ sống (%)     | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>   |

\*Các chữ cái a, b, c thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy p = 0,05 trong phép thử Duncan.

**Bảng 6.** Ảnh hưởng của vị trí phần môi trường bổ sung AC lên sự sinh trưởng, phát triển của cây Hồng môn sau 60 ngày và cây Cúc sau 30 ngày ra vườn ươm

| Chỉ tiêu theo dõi |                    | Công thức         |                    |                    |                    |                   |
|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
|                   |                    | N0                | N1                 | N2                 | N3                 | N4                |
| Hồng môn          | Chiều dài lá (cm)  | 0,5 <sup>c*</sup> | 3,8 <sup>ab</sup>  | 2,9 <sup>b</sup>   | 4,9 <sup>a</sup>   | 4,4 <sup>ab</sup> |
|                   | Chiều rộng lá (cm) | 0,38 <sup>c</sup> | 2,97 <sup>b</sup>  | 2,03 <sup>c</sup>  | 2,97 <sup>b</sup>  | 4,07 <sup>a</sup> |
|                   | Chiều cao cây (cm) | 2,4 <sup>c</sup>  | 4,20 <sup>a</sup>  | 3,43 <sup>b</sup>  | 4,17 <sup>a</sup>  | 3,43 <sup>b</sup> |
|                   | Số lá              | 2,1 <sup>c</sup>  | 2,7 <sup>b</sup>   | 2,6 <sup>b</sup>   | 4,1 <sup>a</sup>   | 4,0 <sup>a</sup>  |
|                   | Tỉ lệ sống (%)     | 34 <sup>c</sup>   | 95 <sup>b</sup>    | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>  |
| Cúc               | Chiều dài lá (cm)  | 4,3 <sup>ab</sup> | 4,0 <sup>b</sup>   | 5,3 <sup>ab</sup>  | 6,0 <sup>a</sup>   | 5,9 <sup>a</sup>  |
|                   | Chiều rộng lá (cm) | 2,6 <sup>c</sup>  | 4,4 <sup>a</sup>   | 4,0 <sup>a</sup>   | 3,0 <sup>bc</sup>  | 3,1 <sup>bc</sup> |
|                   | Chiều cao cây (cm) | 13,2 <sup>c</sup> | 15,9 <sup>bc</sup> | 16,6 <sup>bc</sup> | 18,7 <sup>ab</sup> | 21,3 <sup>a</sup> |
|                   | Số lá              | 12,7 <sup>d</sup> | 17,5 <sup>bc</sup> | 17,7 <sup>bc</sup> | 18,2 <sup>b</sup>  | 19,7 <sup>a</sup> |
|                   | Tỉ lệ sống (%)     | 100 <sup>a</sup>  | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>   | 100 <sup>a</sup>  |

\*Các chữ cái a, b, c thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy p = 0,05 trong phép thử Duncan.

## KẾT LUẬN

Đối với sự sinh trưởng và phát triển cây *in vitro*, nồng độ AC thích hợp nhất bổ sung vào môi trường MS cho sự sinh trưởng phát triển chồi với mật độ khí khổng gia tăng đáng kể và sự hình thành rễ của chồi Hồng môn là 2 g/l và Cúc là 3 g/l. Vị trí lớp AC nằm dưới với thể tích 20 ml là tối ưu cho sự sinh trưởng, phát triển của cây Hồng môn và Cúc nuôi cấy *in vitro*.

Đối với sự định hướng rễ *in vitro*, sự phát triển và kéo dài của đa số các rễ đều phụ thuộc vào vị trí lớp AC và hầu hết các rễ của hai loại cây trồng này đều chỉ tăng trưởng trong lớp AC [Hồng môn (trên 95%), Cúc (trên 80%)]. Ngoài

ra, ở Hồng môn thì vị trí lớp AC nằm dưới cho thấy hệ thống mạch dẫn tăng kích thước rõ ràng hơn Cúc. Hơn nữa, ở rễ Cúc khi thay đổi vị trí lớp AC sẽ ảnh hưởng đáng kể đến sự phát triển của lông hút và tại vị trí lớp môi trường nằm dưới cho thấy số lượng lông hút hầu như không giảm so với ở môi trường không có AC.

Đối với cây *ex vitro*, những cây Hồng môn và cây Cúc có nguồn gốc từ AC sinh trưởng và phát triển tốt hơn những cây không có nguồn gốc từ AC ở giai đoạn vườn thông qua một số các chỉ tiêu thu được như chiều dài lá, chiều rộng lá, số lá, chiều cao cây và tỉ lệ sống. Như vậy, AC có vai trò rất quan trọng đối với chất lượng cây con *in vitro* và *ex vitro*.

**Lời cảm ơn:** Các tác giả xin chân thành cảm ơn Viện Sinh học Tây Nguyên đã tạo điều kiện để thực hiện tốt đề tài này.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Biniak S., Kazmierczak J. and Swiatkowski A., 1990. Adsorption of phenol from aqueous solutions on activated carbons with different oxygen contents. *Polish J. Chem.*, 64: 182-191.
2. Buter B., Pescitelli S. M., Berger K., Schmid J. E. and Stamp P., 1993. Autoclaved and filter sterilised liquid media in maize anther culture: significance of activated charcoal. *Plant Cell Rep.*, 13: 79-82.
3. Christopher J. C., Veronica A. H. and Roberto G. L., 2012. Growth, morphology, and quality of rooted cuttings of several herbaceous annual bedding plants are influenced by photosynthetic daily light integral during root development. *Hort. Sci.*, 47(1): 25-30.
4. Debergh P., Harbaoui Y. and Lemeur L., 1981. Mass propagation of globe artichoke (*Cynara scolymus*): evaluation of different hypotheses to overcome vitrification with special reference to water potential. *Physiol. Plant*, 53: 181-287.
5. Dumas E. and Monteouis O., 1995. *In vitro* rooting of micropropagated shoots from Juvenile and mature *Pinus pinaster* explants—influence of activated charcoal. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 40: 231-235.
6. Duncan D. B., 1955. Multiple ranges and multiple F test. *Biometrics*, 11: 1-42.
7. Ebert A. and Taylor H. F., 1990. Assessment of the changes of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid concentrations in plant tissue culture media in the presence of activated charcoal. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 20: 165-172.
8. Esau K., 1967. *Plant anatomy*, 2<sup>nd</sup> (ed). John Wiley and Sons, New York, 767.
9. Fridborg G., Pederson M., Landstrom L. E. and Eriksson T., 1978. The effect of activated charcoal on tissue cultures: adsorption of metabolites inhibiting morphogenesis. *Physiol. Plant*, 43: 194-106.
10. Gantait S., Mandal N., Bhattacharyya S. and Das P. K., 2008. *In vitro* mass multiplication with pure genetic identity in *Anthurium andreanum* Lind. *Plant Tiss. Cult. Biotech.*, 18(2): 113-122.
11. Johansson L. and Eriksson T., 1977. Induced embryo formation in anther culture of several *Anemone* species. *Physiol. Plant*, 40: 172-174.
12. Kee-Yoeup P. and Eun-Joo H., 2000. Cytokinins, auxins and activated charcoal affect organogenesis and anatomical characteristics of shoot-tip cultures of *Lisianthus* [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn]. *In Vitro Cell Dev. Bio. Plant*, 36(2): 128-132.
13. Krajňáková J., Gömöry D. and Häggman H., 2009. Effect of sucrose concentration, polyethylene glycol and activated charcoal on maturation and regeneration of *Abies cephalonica* somatic embryos. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 96: 251-262.
14. Kunitake H., Nakashima T., Mori K., Tanaka M. and Mii M., 1995. Plant regeneration from mesophyll protoplasts of *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum*) by adding activated charcoal into protoplast culture medium. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 43: 59-65.
15. Mathews H., Schopke C., Carcamo R., Chavarriaga P., Fauquet C. and Beachy R. N., 1993. Improvement of somatic embryogenesis and plant recovery in cassava. *Plant Cell Rep.*, 12: 328-333.
16. Murashige T. and Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, 15: 473-479.
17. Pan M. J. and Staden V. J., 1998. The use of charcoal in *in vitro* culture: review. *J. Plant Grow. Reg.*, 26: 155-163.
18. Sánchez M. C., San-josé M. C., Ballester A. and Vieitez A. M., 1996. Requirements for *in vitro* rooting of *Quercus robur* and *Q. rubra* shoots derived from mature trees.

- Tree Physiol., 16: 673-680.
19. Takayama S. and Misawa M., 1980. Differentiation in *Lilium* bulb scales *in vitro*. Effect of activated charcoal, physiological age of bulbs and sucrose concentration on differentiation and scale leaf formation *in vitro*. *Physiol. Plant*, 48: 121-125.
20. Vũ Văn Vụ, Vũ Thanh Tâm và Hoàng Minh Tấn, 2007. Sinh lý thực vật, 7<sup>th</sup>, Nxb. Giáo dục, Hà Nội, 312.
21. Wann S. R., Veazey R. L. and Kaphammer J., 1997. Activated charcoal does not catalyze sucrose hydrolysis in tissue culture media during autoclaving. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 50: 221-224.
22. Ziv M. and Gadasi G., 1986. Enhanced embryogenesis and plant regeneration from cucumber (*Cucumis sativus* L.) callus by activated charcoal in solid/liquid double layer cultures. *Plant Sci.*, 47: 115-122.

### **EFFECTS OF ACTIVATED CHARCOAL ON THE ROOT ORIENTATION OF *Anthurium andraeanum* AND *Chrysanthemum morifolium* CULTURED *IN VITRO***

**Nguyen Thi Nhat Linh, Nguyen Ba Nam, Nguyen Thi Kim Yen,  
Le Kim Cuong, Nguyen Phuc Huy, Duong Tan Nhut**

Tay Nguyen Institute of Biology, VAST

#### **SUMMARY**

Activated charcoal (AC) is usually used in culture media to enhance the growth and development of *in vitro* plants, however, the effectiveness of root orientation of AC has not yet been investigated. Therefore, the precursor of root orientation designs was carried out by dividing media into two parts, AC-free part and AC part with the optimal investigated concentrations, 2 g/l AC for *Anthurium andraeanum* and 3 g/l AC for *Chrysanthemum morifolium* and then examining effects of positions of AC part (top, center or bottom). The results showed that most of the developing roots occurred in the AC parts (over 80%). Moreover, the root orientation of *A. andraeanum* was more considerable than that of *C. morifolium*. In addition, position of AC part in the bottom was the best for the growth and development of *in vitro* roots and shoots of *A. andraeanum* and *C. morifolium*. Besides, plantlets were grown and developed well *in vitro* conditions also have good growth and development in *ex vitro* conditions. The results have a great significance in plant micropropagation.

*Keywords:* *Anthurium andraeanum*, *Chrysanthemum morifolium*, activated charcoal, root orientation, plant tissue culture.

*Ngày nhận bài:* 3-7-2012