

Refinement of the *in vitro* propagation process of Petunia (*Petunia hybrida*) plants

Duyen T. T. Nguyen*, & Hao N. Hy

Department of Plant Genetics and Breeding, Faculty of Agronomy, Nong Lam University,
Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: January 15, 2024

Revised: March 08, 2024

Accepted: March 12, 2024

Keywords

Growth media

Growth regulator

In vitro propagation

Petunia hybrida

*Corresponding author

Nguyen Thi Thanh Duyen

Email:

ntthanhduyen@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

Petunia (Petunia hybrida) is currently one of the most favored ornamental potted flowers. Tissue culture-based propagation has proven to be effective in terms of multiplication rates and consistent seedling quality, meeting the demand for Purple *Petunia* varieties. In this study, Sodium hypochlorite (NaOCl) with various culture media [Murashige and Skoog (MS), ½ MS, and Knudson C] and growth regulators [6-benzyladenine (BA), Indole 3-butyric acid (IBA), and Naphthaleneacetic acid (NAA)] were utilized to determine the appropriate concentrations and durations for sample sterilization, shoot multiplication, and root induction processes of Purple *Petunia*. Evaluation criteria for *in vitro* Purple *Petunia* included parameters, such as survival rate, contamination rate, dead samples, number of shoots, shoot height, number of roots, and root length. The results indicated that stem sample sterilization at a 5% NaOCl concentration for 10 min yielded the highest survival rate (70.7%) at 14 days post-culture initiation. Purple *Petunia* stem samples, when cultured in MS medium supplemented with 0.5 mg/L BA combined with 0.1 mg/L IBA, demonstrated the most efficient shoot multiplication with a multiplication rate of 26.9, a shoot weight of 3.6 g, a leaf/shoot ratio of 4.6, and a shoot height of 3.0 cm. The MS medium supplemented with 0.1 mg/L NAA was found to be optimal for root induction, resulting in the highest number of roots at 32.1 roots/plant and a root length of 7.0 cm. Briefly, this research provided fundamental insights into the *in vitro* propagation process of disease-free Purple *Petunia* multiplication.

Cited as: Nguyen, D. T. T., & Hy, H. N. (2024). Refinement of the *in vitro* propagation process of *Petunia (Petunia hybrida)* plants. *The Journal of Agriculture and Development* 23(5), 1-11.

Hoàn thiện quy trình nhân giống in vitro cây hoa Dạ yến thảo (*Petunia hybrida*)

Nguyễn Thị Thanh Duyên* & Hỷ Nhật Hào

Bộ Môn Di Truyền Chọn Giống Cây Trồng, Khoa Nông Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM,
TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 15/01/2024

Ngày chỉnh sửa: 08/03/2024

Ngày chấp nhận: 12/03/2024

Từ khóa

Chất điều hoà sinh trưởng

Dạ yến thảo

In vitro

Môi trường nuôi cấy

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Thị Thanh Duyên

Email:

ntthanhduyen@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Hoa Dạ yến thảo (*Petunia hybrida*) là một trong những loại hoa trồng chậu trang trí đang được ưa chuộng hiện nay. Nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô mang lại hiệu quả về hệ số nhân giống và chất lượng cây giống đồng đều, đáp ứng được nhu cầu giống hoa Dạ yến thảo. Trong nghiên cứu này, Natri hypoclorit (NaOCl) với các nồng độ khác nhau và chất điều hoà sinh trưởng [6-benzyladenine (BA), Indole 3-butyric acid (IBA), and Naphthaleneacetic acid (NAA)] đã được sử dụng để xác định được nồng độ và thời gian phù hợp cho quá trình vào mẫu, nhân chồi và tạo rễ cây hoa Dạ yến thảo. Các chỉ tiêu về tỷ lệ mẫu sống, mẫu nhiễm, mẫu chết, số chồi, chiều cao chồi, số rễ và chiều dài rễ của cây hoa Dạ yến thảo *in vitro* đã được đánh giá. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khử trùng mẫu thân ở nồng độ 5% NaOCl và thời gian 10 phút đã cho tỉ lệ mẫu sống cao nhất (70,7%) ở 14 ngày sau cấy và mẫu thân cây hoa Dạ yến thảo khi được cấy vào môi trường MS (Murashige and Skoog) có bổ sung 0,5 mg/L BA kết hợp với 0,1 mg/L IBA cho kết quả nhân nhanh tốt nhất với hệ số nhân chồi đạt 26,9 lần, trọng lượng chồi đạt 3,6 g, số lá/chồi đạt 4,6 lá, chiều cao chồi đạt 3,0 cm. Môi trường MS có bổ sung 0,1 mg/L NAA cho kết quả hình thành rễ tốt nhất với số rễ đạt 32,1 rễ/cây, chiều dài rễ đạt 7,0 cm.

1. Đặt Vấn Đề

Hoa Dạ yến thảo (*Petunia hybrida*) còn có tên gọi khác là dã yên, là loài thực vật thuộc họ cà (Solanaceae), có nguồn gốc từ các nước miền Nam châu Mỹ. Hoa có màu sắc đa dạng như trắng, hồng, đỏ, tím và dáng cây phong phú. Hiện nay, cây hoa Dạ yến thảo được trồng từ hạt hoặc được nhân giống bằng phương pháp giâm cành. Tuy nhiên giá hạt giống đắt và việc nhân giống bằng phương pháp giâm cành thường cho hệ số nhân giống thấp, cây con sinh trưởng kém và dễ

nh nhiễm các loại bệnh (Bui & ctv., 2017). Trong khi đó, việc sử dụng phương pháp nuôi cấy mô có ưu thế hệ số nhân giống (Tran, 2005), cây giống tạo ra với số lượng lớn và đồng nhất (Thorpe, 2007). Vì vậy, việc thiết lập được quy trình nhân giống hoa Dạ yến thảo bằng phương pháp nuôi cấy mô thông qua việc xác định được nồng độ và thời gian chất khử trùng, môi trường nền và chất điều hoà sinh trưởng phù hợp cho quá trình vào mẫu, nhân chồi và tạo cây con hoa Dạ yến thảo hoàn chỉnh là rất cần thiết. Hiện nay phần lớn chất khử trùng được sử dụng là HgCl₂ - chất

độc gây ra những ảnh hưởng tiêu cực cho sức khỏe người sử dụng (WHO, 2000). Do đó, việc nghiên cứu và tìm ra chất khử trùng an toàn cho sức khỏe con người là mối quan tâm lớn của các nhà vi nhân giống. Đồng thời, ngoài sự tác động riêng lẻ của nhóm chất điều hòa sinh trưởng cytokinin đến quá trình nhân chồi thì sự kết hợp giữa nhóm cytokinin và auxin mang lại hiệu quả cao cho giai đoạn nhân chồi trong nuôi cấy mô (Moubayidin, 2013). Vì vậy việc xác định được nồng độ NaOCl, thời gian khử trùng mẫu thân cây Dạ yến thảo, cùng với việc xác định nồng độ thích hợp của sự kết hợp giữa 6-benzyladenine (BA) và Indole 3-butyric acid (IBA) đến quá trình

nhân nhanh chồi và nồng độ Naphthaleneacetic acid (NAA) thích hợp cho giai đoạn tạo rễ là cần thiết để hoàn thiện quy trình nhân giống cây hoa Dạ yến thảo *in vitro*.

2. Vật Liệu và Phương Pháp

Cây Dạ yến thảo (*Petunia hybrida*) đã phân cành dài 15 - 20 cm và chưa ra hoa có xuất xứ từ Mỹ do công ty TNHH Hạt giống hoa Việt Nam cung cấp.

Vật liệu nuôi cấy khởi đầu là đoạn thân mang mắt ngủ của cây giống khỏe mạnh, không bị sâu bệnh (Hình 1).



Hình 1. Cây và đoạn thân mang mắt ngủ của cây Dạ yến thảo.

Các chất khử trùng và điều hòa sinh trưởng thực vật được sử dụng:

- Javel công nghiệp (NaOCl: 12%).
- BA độ tinh khiết $\geq 99\%$ (hãng BioBasic - Canada).
- IBA độ tinh khiết $\geq 98\%$ (hãng BioBasic - Canada).
- NAA độ tinh khiết $\geq 99\%$ (hãng BioBasic - Canada).
- Tween 20 (Polysorbate 20) (hãng Fisher - Mỹ).

Môi trường nền được sử dụng trong các thí nghiệm là môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962) bổ sung 8 g agar/L + 30 g đường/L.

Nội dung nghiên cứu bao gồm 3 thí nghiệm tương ứng với các giai đoạn trong quy trình nhân giống *in vitro* bao gồm thí nghiệm khử trùng mẫu, thí nghiệm về nhân chồi và thí nghiệm tạo rễ.

2.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng lên mẫu cây Dạ yến thảo

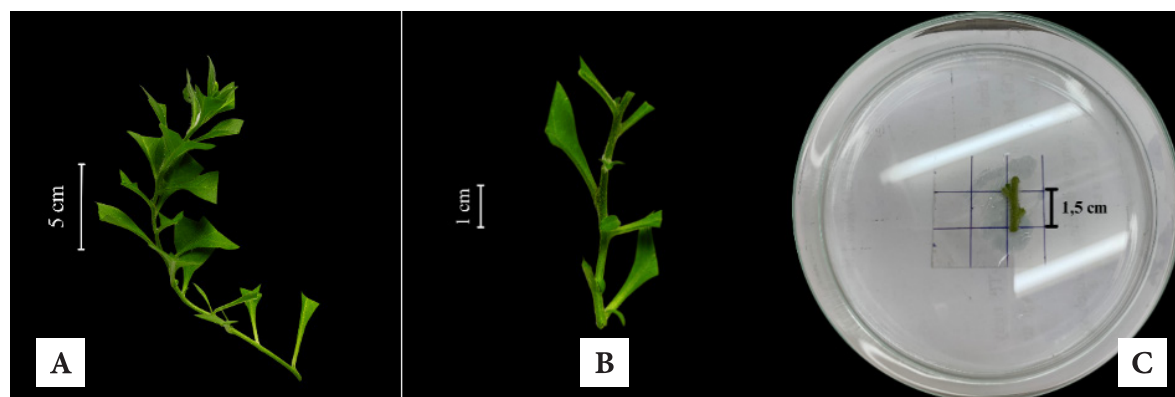
Thí nghiệm nhằm đánh giá ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu, từ

đó xác định được nồng độ NaOCl và thời gian thích hợp để vào mẫu thân cây hoa Dạ yến thảo. Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), gồm 9 nghiệm thức với 3 lần lặp lại. Số ô cơ sở $9 \times 3 = 27$ ô, mỗi ô có 25 chai, mỗi chai 1 mẫu. Tổng số lượng mẫu là 675 mẫu.

Yếu tố A gồm 3 nồng độ NaOCl (A1: 5%; A2: 7%; A3: 9%)

Yếu tố B gồm 3 khoảng thời gian (B1: 5 phút; B2: 10 phút; B3: 15 phút).

Quy trình khử trùng: Rửa sạch thân dưới vòi nước sạch, ngâm trong dung dịch xà phòng trong 5 phút, rửa sạch thân cây hoa Dạ yến thảo bằng nước cất, ngâm cồn 70° trong 1 phút, rửa lại bằng nước cất và ngâm mẫu trong NaOCl, có bổ sung Tween 20 theo nồng độ và thời gian của các nghiệm thức. Sau đó cắt chồi với kích thước 1,5 cm (Hình 2) để cấy vào chai có chứa môi trường nền MS. Theo dõi toàn bộ số mẫu cấy với các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ mẫu chết (%) và tỷ lệ mẫu sống (%) tại thời điểm 21 ngày sau khi vào mẫu.



Hình 2. Chồi cây Dạ yến thảo được xử lý để làm vật liệu khởi đầu cho thí nghiệm 1.

A: Mẫu ban đầu; B: Mẫu được khử trùng; C: Mẫu được cấy vào chai môi trường.

2.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của BA và IBA đến khả năng nhân chồi cây Dạ yến thảo *in vitro*

Thí nghiệm được thực hiện nhằm xác định các nồng độ BA và IBA thích hợp cho giai đoạn nhân chồi *in vitro*. Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), gồm 9 nghiệm thức với 3 lần lặp lại. Số ô cơ sở $9 \times 3 = 27$ ô, mỗi ô có 13 chai, mỗi chai 1 mẫu. Tổng số lượng mẫu là 351 mẫu.

Yếu tố A gồm 3 mức nồng độ BA (A1: 0,5 mg/L; A2: 0,7 mg/L; A3: 0,9 mg/L).

Yếu tố B gồm 3 mức nồng độ IBA (B1: 0,1 mg/L; B2: 0,2 mg/L; B3: 0,3 mg/L).

Các bước tiến hành: Sử dụng nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu được xác định ở thí nghiệm 1 để khử trùng và chuẩn bị mẫu để làm vật liệu cho thí nghiệm 2. Cắt mẫu cấy với kích thước 1,5 cm có mang mắt mầm, cấy vào chai với các môi trường của từng nghiệm thức tương ứng.

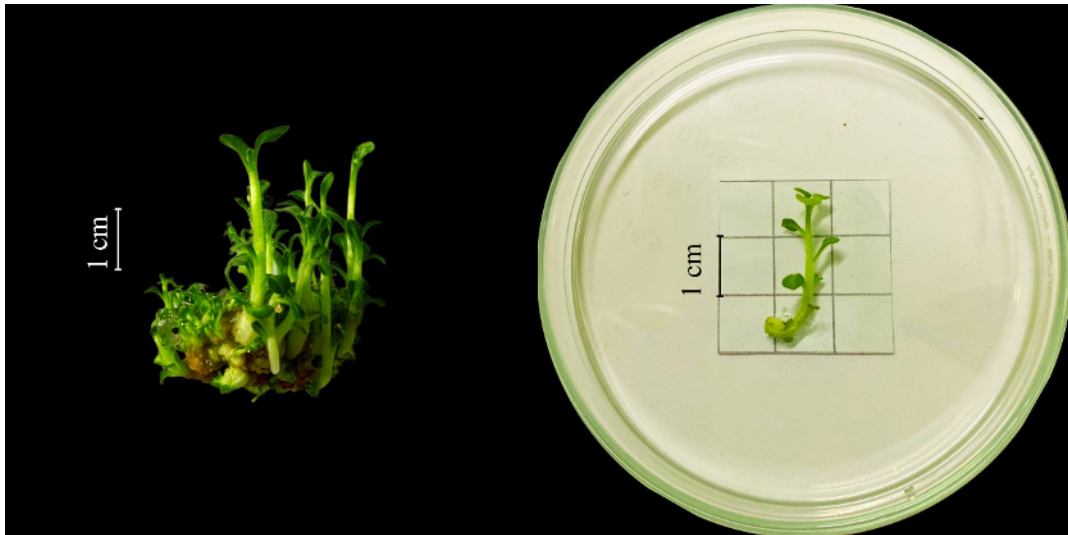
Chỉ tiêu theo dõi: Hệ số nhân chồi, số chồi/mẫu (chồi), chiều cao chồi (cm) và số lá/chồi (lá), khối lượng chồi (g), theo dõi ở 42 ngày sau cấy (NSC).

2.3. Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng của nồng độ NAA lên khả năng tạo rễ của cây hoa Dạ yến thảo

Thí nghiệm được thực hiện nhằm xác định được nồng độ NAA thích hợp cho giai đoạn tạo

rễ *in vitro*. Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), gồm 5 nghiệm thức với các mức nồng độ NAA (0 mg/L (Đối chứng), 0,1 mg/L, 0,2 mg/L, 0,3 mg/L, 0,4 mg/L)

với 3 lần lặp lại. Số ô cơ sở $5 \times 3 = 15$ ô, mỗi ô có 15 chai, mỗi chai 2 mẫu. Số lượng mẫu là 450 mẫu.



Hình 3. Chồi cây Dạ yến thảo được xử lý để làm vật liệu cho thí nghiệm 3.

Cách tiến hành: Sử dụng chồi được tạo ra từ thí nghiệm 1 và 2 (cao 1,5 cm, có 4 - 5 lá) cấy vào các môi trường có bổ sung NAA tương ứng với từng nghiệm thức (Hình 3).

Chỉ tiêu theo dõi: Chọn 10 mẫu/lần lặp lại của từng nghiệm thức để theo dõi chỉ tiêu số rễ (rễ/cây) với chiều dài rễ (cm), theo dõi ở thời điểm 21 ngày sau cấy.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập, tổng hợp tính toán bằng phần mềm Microsoft Excel; phân tích phương sai “ANOVA” và trắc nghiệm phân hạng LSD bằng phần mềm R 4.2.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu thân Dạ yến thảo *in vitro*

Số liệu Bảng 1 cho thấy: Ở thời điểm 21 NSC, khi khử trùng mẫu thân của hoa Dạ yến thảo bằng NaOCl với nồng độ khác nhau cho kết quả về tỷ lệ mẫu sống khác biệt có ý nghĩa trong thống kê. Trong đó, khi khử trùng mẫu với nồng độ 10% cho kết quả tỷ lệ mẫu sống cao nhất đạt 52,4%. Khử trùng mẫu trong thời gian càng dài thì tỷ lệ mẫu sống càng giảm, sự khác biệt có ý nghĩa trong thống kê, tỷ lệ mẫu sống cao nhất khi được khử trùng trong thời gian là 5 phút đạt 49,3%.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu đến tỷ lệ mẫu sống, mẫu nhiễm và mẫu chết của mẫu thân Dạ yến thảo *in vitro* ở thời điểm 21 ngày sau cấy

Chỉ tiêu	Thời gian (phút) (A)	Nồng độ NaOCl (%) (B)			TB NaOCl
		5	7	9	
Tỷ lệ mẫu sống (%)	5	50,7 ^{bc}	52,0 ^{bc}	48,0 ^c	50,2 ^A
	10	70,7 ^a	57,3 ^a	29,3 ^d	52,4 ^A
	15	26,7 ^d	34,7 ^d	12,0 ^c	24,4 ^B
	TB	49,3 ^A	48,0 ^A	29,8 ^B	
	CV (%) = 4,9	F _A = 108,9**	F _B = 213,7**	F _{AB} = 31,1**	
Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	5	49,3 ^a	41,3 ^{ab}	36,0 ^{bc}	42,2 ^A
	10	25,3 ^{dc}	29,3 ^{cd}	28,0 ^{cdc}	27,6 ^B
	15	18,7 ^c	6,7 ^f	22,7 ^{dc}	16,0 ^C
	TB	31,1 ^A	25,8 ^{AB}	28,9 ^{AB}	
	CV (%) = 7,0	F _A = 9,1**	F _B = 141,1**	F _{AB} = 16,4**	
Tỷ lệ mẫu chết (%)	5	0,0 ^f	6,7 ^{cf}	16,0 ^d	7,6 ^C
	10	4,0 ^f	13,3 ^{dc}	42,6 ^c	20,0 ^B
	15	54,7 ^b	58,7 ^{ab}	65,3 ^a	59,6 ^A
	TB	19,6 ^C	26,2 ^B	41,3 ^A	
	CV (%) = 7,4	F _A = 182,2**	F _B = 710,8**	F _{AB} = 25,7**	

Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng kí tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, **: khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,01$), ns: không có khác biệt thống kê; TB: trung bình; Số liệu được chuyển đổi bằng công thức $\arcsin\sqrt{x}$ để phân tích thống kê.

Khi mẫu được khử trùng với nồng độ NaOCl 10% trong thời gian 5 phút cho tỷ lệ mẫu sống cao nhất (70,7%), tỷ lệ mẫu nhiễm và tỷ lệ mẫu chết thấp (25,3% và 4%). Sự tương tác giữa hai yếu tố nồng độ và thời gian khử trùng mẫu cũng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở tỷ lệ mẫu nhiễm và tỷ lệ mẫu chết. Nhìn chung, khi tăng nồng độ NaOCl và kéo dài thời gian khử mẫu thì tỷ lệ mẫu nhiễm giảm nhưng tỷ lệ mẫu chết tăng. Kết quả này phù hợp với nghiên

cứu của Nguyen (2015) khi sử dụng nồng độ NaOCl 5% và thời gian 10 phút vẫn cho hiệu quả khử trùng nhưng chưa cao với tỉ lệ sống (30%), tỉ lệ mẫu chết (24%), tỉ lệ mẫu nhiễm (46%). Vì vậy, việc sử dụng nồng độ NaOCl 10% trong thời gian 5 phút là thích hợp để khử trùng mẫu chồi của cây hoa Dạ yến thảo.

3.2. Ảnh hưởng của BA và IBA đến khả năng nhân cụm chồi mẫu thân Dạ yến thảo

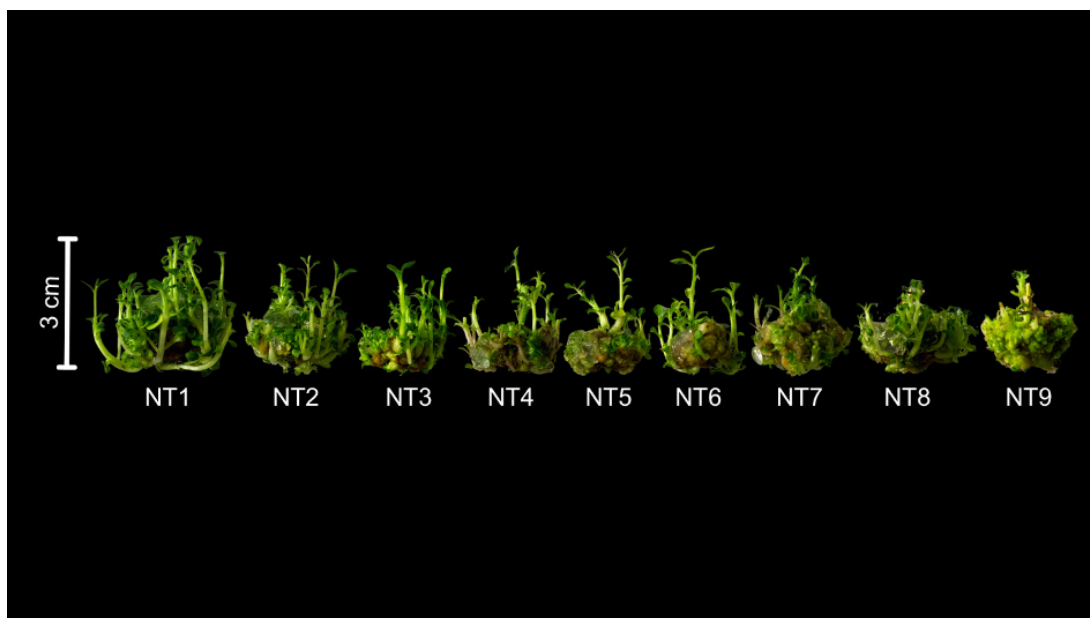
Bảng 2. Ảnh hưởng của môi trường nền và nồng độ BA đến hệ số nhân chồi, chiều cao chồi số lá và trọng lượng chồi của cây hoa Dạ yến thảo ở thời điểm 42 ngày sau cấy

Chỉ tiêu theo dõi	Nồng độ BA (mg/L) (A)	Nồng độ IBA (mg/L) (B)			TB
		0,1	0,2	0,3	
Hệ số nhân chồi (lần)	0,5	26,9 ^a	20,3 ^b	20,8 ^b	22,7 ^A
	0,7	19,5 ^b	17,5 ^c	11,3 ^d	16,1 ^B
	0,9	12,0 ^d	16,6 ^c	9,4 ^e	12,6 ^C
	TB	19,4 ^A	18,1 ^A	13,8 ^B	
	CV (%) = 4,9	F _A = 599,0 ^{**}	F _B = 197,9 ^{**}	F _{AB} = 73,1 ^{**}	
Chiều cao chồi (cm)	0,5	3,0 ^a	2,7 ^{bc}	2,4 ^{bc}	2,7 ^A
	0,7	2,9 ^{ab}	2,6 ^{bc}	1,7 ^e	2,4 ^B
	0,9	2,5 ^c	2,0 ^d	1,6 ^e	2,0 ^C
	TB	2,8 ^A	2,4 ^B	1,9 ^C	
	CV (%) = 3,9	F _A = 119,1 ^{**}	F _B = 197,5 ^{**}	F _{AB} = 12,7 ^{**}	
Số lá/chồi (lá)	0,5	4,6 ^a	3,6 ^b	3,5 ^{bc}	3,9 ^A
	0,7	3,2 ^{cd}	3,1 ^{cd}	2,8 ^{de}	3,0 ^B
	0,9	2,4 ^{ef}	2,1 ^{fg}	1,7 ^g	2,0 ^C
	TB	3,4 ^A	2,9 ^B	2,7 ^C	
	CV (%) = 4,5	F _A = 403,1 ^{**}	F _B = 69,0 ^{**}	F _{AB} = 10,0 ^{**}	
Trọng lượng chồi (g)	0,5	3,6 ^a	3,2 ^{ab}	3,0 ^{bc}	3,3 ^A
	0,7	2,9 ^{bc}	2,9 ^{bc}	2,7 ^{bcd}	2,9 ^B
	0,9	2,6 ^{cd}	3,3 ^{ab}	2,2 ^d	2,7 ^B
	TB	3,0 ^A	3,3 ^A	2,7 ^B	
	CV (%) = 6,6	F _A = 21,4 ^{**}	F _B = 14,6 ^{**}	F _{AB} = 0,7 ^{**}	

Ghi chú: Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng kí tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê; **: khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,01$), ns: không có khác biệt thống kê; MT: môi trường; TB: trung bình.

Theo Sakakibara & ctv. (2006), việc kết hợp giữa cytokinin (BA) và auxin (IBA) ở nồng độ và tỉ lệ thích hợp có thể nâng cao hệ số nhân chồi và chất lượng chồi. Qua Bảng 2 và Hình 4 cho thấy yếu tố BA và IBA cũng như sự tương tác của hai yếu tố này đã ảnh hưởng đến sự nhân chồi của cây hoa Dạ yến thảo in vitro và sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nồng độ khác nhau.

Khi bổ sung vào môi trường MS cùng với 0,5 mg/L BA + 0,1 mg/L IBA cho kết quả tốt nhất về hệ số nhân chồi (26,9 lần), chiều cao chồi (3,0 cm), số lá/chồi (4,6 lá) và trọng lượng chồi (3,6 g). Điều này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyen & ctv. (2021) với tỷ lệ cytokinin/auxin tương tự khi bổ sung 1 mg BA/L kết hợp với 0,2 mg IBA/L cho kết quả tốt nhất, thể hiện ở số chồi được tạo ra nhiều nhất là 19,5 chồi/mẫu.



Hình 4. Ảnh hưởng của 6-benzyladenine và Indole 3-butyric acid đến sự phát triển của cụm chồi mẫu cây Dạ yến thảo thời điểm 42 ngày sau cấy.

3.3. Ảnh hưởng của NAA đến quá trình hình thành rễ của mẫu cây Dạ yến thảo

Qua kết quả ở Bảng 3 cho thấy chồi Dạ yến thảo có thể ra rễ ngay trên môi trường MS không

bổ sung NAA với tỷ lệ ra rễ đạt 100% sau 21 ngày nuôi cấy, tuy nhiên rễ nhỏ và yếu, có màu nhạt và kết quả khác biệt không có ý nghĩa trong thống kê so với các nồng độ khác.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ Naphthaleneacetic acid (NAA) đến tỷ lệ ra rễ, số rễ, chiều dài rễ của cây hoa Dạ yến thảo ở thời điểm 21 ngày sau cấy

Nồng độ NAA (mg/L)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ (rễ/chồi)	Chiều dài rễ (cm)
0 (Đối chứng)	100,0	18,9 ^c	5,4 ^c
0,1	97,3	32,1 ^a	7,0 ^a
0,2	98,7	23,8 ^b	5,8 ^b
0,3	94,7	14,1 ^d	3,3 ^d
0,4	93,3	10,0 ^e	2,6 ^e
CV (%)	8,9	3,4	2,7
F _{tính}	1,4 ^{ns}	500,7 ^{**}	610,0 ^{**}

Ghi chú: Trong cùng một cột giá trị trung bình, các số có cùng kí tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, **: khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê.

Khi bổ sung chất điều hòa sinh trưởng NAA theo chiều tăng nồng độ, chiều dài rễ và số rễ đều có xu hướng giảm, cụ thể ở nồng độ 0,2 mg/L cho chiều dài rễ là 5,4 cm, số rễ đạt 23,8 rễ/chồi, rễ dài nhưng nhỏ và yếu. Nồng độ 0,3 mg/L cho chiều dài rễ đạt 3,3 cm, số rễ đạt 14,1 rễ/chồi, rễ ngắn, xoắn, gốc bắt đầu có hiện tượng hình thành ít mô sẹo. Ở nồng độ 0,4 mg/L cho chiều dài rễ ngắn nhất là 2,6 cm và số rễ thấp nhất là 10,0 rễ/chồi, rễ ở nghiệm thức này rễ phát triển ngang mà không đi theo hướng xuống môi trường nuôi cấy, sau 21 ngày nuôi cấy, gốc hình thành nhiều mô sẹo, rễ phát triển không đáng kể, cây sinh trưởng yếu.

Sử dụng chất điều hòa sinh trưởng NAA ở nồng độ thích hợp (0,1 mg/L NAA) giúp kích thích sự tạo rễ của chồi *in vitro* cây Dạ yến thảo, nhưng khi tăng nồng độ, NAA đã ức chế quá trình hình thành rễ, kích thích tạo mô sẹo ở gốc rễ cây Dạ yến thảo *in vitro* (Hình 5). Điều này có thể giải thích do chồi của cây Dạ yến thảo ban đầu khi không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng NAA đã có một lượng auxin nội sinh vừa đủ để tạo rễ nên chỉ cần bổ sung nồng độ 0,1 mg/L NAA là thích hợp cho quá trình hình thành và phát triển rễ cây Dạ yến thảo. Chadwick & Burg (1967) cũng cho rằng, sự tăng cường auxin sẽ kích thích sự phát triển rễ, tuy nhiên nồng độ auxin quá cao sẽ là làm ức chế sự phát triển của tế bào rễ và sự phát triển tổng thể của rễ.



Hình 5. Ảnh hưởng của Naphthaleneacetic acid đến sự phát triển của mẫu cây Dạ yến thảo thời điểm 21 ngày sau cấy.

4. Kết Luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy sử dụng NaOCl nồng độ 5% và thời gian 10 phút là mức nồng độ và thời gian thích hợp nhất cho khử trùng mẫu cây Dạ yến thảo với tỉ lệ sống đạt 70,7%. Môi trường MS bổ sung 0,5 mg/L BA và 0,1 mg/L IBA cho kết quả tốt nhất với hệ số nhân chồi (26,9 lần), trọng lượng chồi (3,6 g), số lá/chồi đạt (4,6 lá/chồi), chiều cao chồi (2,3 cm). Môi trường MS bổ sung 0,1 mg/L NAA cho kết quả tốt nhất về chiều dài rễ (7,0 cm), số rễ/cây (32,1 rễ/cây).

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Bui, C. T., Dong, G. H., & Bui, H. T. T. (2017). *In vitro* propagation of *Petunia hybrida*. *Journal of Forestry Science and Technology* 7, 3-10.
- Chadwick, A. V., & Burg, S. P. (1967). An explanation of the inhibition of root growth caused by indole-3-acetic acid. *Plant Physiology* 42(3), 415-420. <https://doi.org/10.1104%2Fpp.42.3.415>.
- Moubayidin, L., Mambro, R. D., Sozzani, R., Pacifici, E., Salvi, E., Terpstra, I., & Benfey, P. N. (2013). Spatial coordination between stem cell activity and cell differentiation in the root meristem. *Developmental Cell* 26(4), 405-415. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.06.025>.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Journal of Physiology Plantarum* 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- Nguyen, L. T., La, H. T. T., Tran, H. T. T., Duong, T. T., & Le, C. N. (2021). A study on the primary materials for *in vitro* propagation of *Petunia hybrida* L. *Vietnam Science and Technology Journal* 63(7), 53-56. <https://doi.org/10.31276/vjst.63%287%29.53-56>.
- Nguyen, V. T. (2015). *Multiplication of Petunia hybrida flowers using plant tissue culture techniques* (Unpublished bachelor's thesis). Ha Noi National University of Education, Ha Noi, Vietnam.

- Sakakibara, H., Takei, K., & Hirose, N. (2006). Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. *Trends in Plant Science* 11(9), 440-448. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.07.004>.
- Thorpe, T. A. (2007). History of plant tissue culture. In Vasil, I. K., & Thorpe, T. A. (Eds.). *Plant cell and tissue culture* (7-55). Dordrecht, Netherlands: Springer.
- Tran, M. V. (2005). *Plant cell biotechnology textbook*. Institute of Tropical Biology, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- WHO (World Health Organization) (2000). *Air quality guidelines for Europe* (2nd ed.). Copenhagen, Denmark: World Health Organization Regional Office for Europe.