

Ảnh hưởng của các hạt nano cobalt, đồng và molybden trioxide lên giai đoạn ra rễ *in vitro* của cây Dâu tây (*Fragaria × ananassa* Duch.)

Đỗ Mạnh Cường¹, Hồ Cẩm Khánh Hoà¹, Phan Lê Hà Nguyễn^{1,2}, Nguyễn Thị Thanh Thúy¹, Nguyễn Thị Như Mai¹, Hoàng Thanh Tùng³, Hoàng Đức Khải¹, Vũ Quốc Luận¹, Hoàng Thị Như Phương³, Nguyễn Hoài Châu⁴, Ngô Quốc Bưu⁴, Dương Tấn Nhựt^{1*}

¹Viện Khoa học Sự sống, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 9/621 Võ Nguyên Giáp, phường Linh Xuân, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Đà Lạt, 1 Phù Đổng Thiên Vương, phường Lâm Viên, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

⁴Viện Công nghệ Môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 21/5/2024; ngày chuyển phản biện 28/5/2024; ngày nhận phản biện 5/6/2024; ngày chấp nhận đăng 10/6/2024

Tóm tắt:

Nghiên cứu này đã chứng minh được tác động tích cực của CoNPs, CuNPs và MoO₃NPs lên khả năng ra rễ *in vitro* của cây Dâu tây (*Fragaria × ananassa* Duch.). Kết quả cho thấy, cây Dâu tây được nuôi cấy trên môi trường Murashige và Skoog (MS) thay thế muối CoCl₂.6H₂O bằng 6,2 µl/l CoNPs (tỷ lệ 1:1) sau 30 ngày nuôi cấy cho chiều cao cây, số lá, số rễ, chiều dài rễ, trọng lượng tươi, trọng lượng khô và SPAD cao nhất (tương ứng là: 4,80 cm, 13 lá/cây, 15,67 rễ/cây, 1,97 cm, 248,33 mg, 25,56 mg, 48,70) so với môi trường MS cơ bản (không có CoNPs) và các nghiệm thức còn lại. Ngoài ra, môi trường MS thay thế muối CuSO₄.5H₂O bằng 6,4 µl/l CuNPs (tỷ lệ 1:1) là tối ưu nhất về số lá (15 lá/cây), số rễ (16,67 rễ/cây), chiều dài rễ (2,5 cm), trọng lượng tươi (224,60 mg), trọng lượng khô (22,86 mg) so với các nghiệm thức còn lại sau 30 ngày nuôi cấy. Những phát hiện từ nghiên cứu này về việc thay thế các muối vô cơ (CoCl₂.6H₂O, CuSO₄.5H₂O và Na₂MoO₄.2H₂O) trong môi trường MS bằng CoNPs, CuNPs và MoO₃NPs giúp mở ra các hướng nghiên cứu mới và cải thiện quá trình vi nhân giống của cây Dâu tây.

Từ khóa: cây Dâu tây, nano cobalt, nano đồng, nano molybden trioxide, ra rễ.

Chỉ số phân loại: 4.1, 4.6

Effect of cobalt, copper and molybdenum trioxide nanoparticles on *in vitro* rooting stage efficiency of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.)

Manh Cuong Do¹, Cam Khanh Hoa Ho¹, Le Ha Nguyen Phan^{1,2}, Thi Thanh Thuy Nguyen¹, Thi Nhu Mai Nguyen¹, Thanh Tung Hoang³, Duc Khai Hoang¹, Quoc Luan Vu¹, Thi Nhu Phuong Hoang³, Hoai Chau Nguyen⁴, Quoc Bui Ngo⁴, Tan Nhut Duong^{1*}

¹Institute of Life Sciences, Vietnam Academy of Science and Technology, 9/621 Vo Nguyen Giap Street, Linh Xuan Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Hanoi, Vietnam

³Da Lat University, 1 Phu Dong Thien Vuong Street, Lam Vien Ward, Lam Dong Province, Vietnam

⁴Institute of Environmental Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Hanoi, Vietnam

Received 21 May 2024; revised 5 June 2024; accepted 10 June 2024

Abstract:

This study has demonstrated the positive effects of CoNPs, CuNPs and MoO₃NPs on the *in vitro* rooting ability of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.). The results indicated that strawberry plants cultured on Murashige and Skoog (MS) medium, in which COCl₂.6H₂O was replaced with 6.2 µl/l CoNPs (1:1 ratio), resulted in the best growth indicators of plant height, number of leaves, number of roots, root length, fresh weight, dry weight and soil plant analysis development (SPAD) after 30 days of culture (4.80 cm; 13 leaves/plantlet; 15.67 roots/plantlet; 1.97 cm; 248.33 mg; 25.56 mg; 48.70; respectively), which were higher than those observed in plants cultured on the basal MS medium (without CoNPs) and the other treatments. In addition, MS medium supplemented with 6.4 µl/l CuNPs replacing CuSO₄.5H₂O salt (ratio 1:1) gave optimal results in terms of number of leaves (15 leaves/plantlet), number of roots (16.67 roots/plantlet), root length (2.5 cm), fresh weight (224.60 mg), dry weight (22.86 mg) compared to the remaining treatments after 30 days of culture. These findings are promising and open up exciting possibilities for further research and advancements in Strawberry micropropagation.

Keywords: cobalt nanoparticles, copper nanoparticles, *Fragaria × ananassa* Duch., molybdenum trioxide, rooting stage.

Classification numbers: 4.1, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: duongtannhut@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Cây Dâu tây (*Fragaria x ananassa* Duch.) thuộc họ Hoa hồng (Rosaceae), là một trong những loại cây ăn quả phổ biến và được trồng rộng rãi trên toàn cầu. Nó được biết đến với hương vị thơm ngon và ngọt ngào, màu đỏ rực rỡ và mùi thơm. Chính vì tầm quan trọng về kinh tế nên nhu cầu cây Dâu tây chất lượng cao trong ngành nông nghiệp ngày càng tăng, tuy nhiên, các phương pháp nhân giống Dâu tây thông thường như chia nhánh và ươm hạt bị hạn chế do tỷ lệ nhân giống chậm và dễ nhiễm bệnh. Bên cạnh đó, sự phụ thuộc vào mùa vụ và điều kiện sinh trưởng cũng là một số yếu tố hạn chế khác trong quá trình nhân giống [1].

Ngày nay, vi nhân giống đã trở thành một kỹ thuật quan trọng trong nhân giống thương mại nhiều loài thực vật vì những ưu điểm như: tạo ra một số lượng lớn các cây đồng nhất trong thời gian ngắn, đặc biệt đây là một trong những kỹ thuật có thể tạo ra cây con sạch virus thông qua nuôi cấy mô phân sinh [2-4]. Tuy nhiên, trong quá trình vi nhân giống, vẫn ghi nhận một số hiện tượng bất thường ở thực vật như hoại tử đầu chồi, lá bị vàng và rụng, khí khổng bị rối loạn chức năng, làm giảm chất lượng chồi, cây con và tỷ lệ sống trong điều kiện vườn ươm [5]. Một trong những vấn đề thường gặp trong nhân giống *in vitro* cây Dâu tây là hiện tượng thủy tinh thể, cây sinh trưởng và phát triển chậm dần đến làm giảm tỷ lệ sống sót của cây con khi chuyển ra điều kiện vườn ươm do chất lượng cây con giảm [6].

Môi trường Murashige và Skoog (MS) là một trong những môi trường nuôi cấy nổi tiếng và được sử dụng rộng rãi nhất trong nuôi cấy mô tế bào thực vật. Cobalt (Co), đồng (Cu) và molybden (Mo) là những vi lượng thiết yếu, đóng vai trò quan trọng trong quá trình sinh trưởng, phát triển và trao đổi chất của thực vật [7, 8]. Trong quá trình vi nhân giống thực vật, các nguyên tố này thường được thêm vào môi trường nuôi cấy để tăng cường khả năng hấp thụ chất dinh dưỡng của thực vật và hỗ trợ các quá trình sinh lý khác nhau, bao gồm hạt nảy mầm, tái sinh chồi và sự phát triển của mẫu cấy. Sự hiện diện của chúng trong môi trường nuôi cấy có thể làm tăng hàm lượng chất dinh dưỡng và ảnh hưởng đến các chỉ số sinh hóa khác nhau trong quá trình sinh trưởng và phát triển của cây trồng. Giống như nhiều chất dinh dưỡng thiết yếu khác, Co, Cu, Mo thường được cung cấp ở dạng muối vô cơ trong môi trường nuôi cấy mô thực vật. Mặc dù các muối vô cơ này có thể cung cấp các chất dinh dưỡng vi lượng cần thiết cho sự phát triển của thực vật, nhưng việc hấp thụ và sử dụng chúng của thực vật trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* đôi khi có thể gặp khó khăn do chúng thường tồn tại ở dạng muối vô cơ với kích thước hạt lớn [9].

Để khắc phục vấn đề này, nhiều nghiên cứu đã ứng dụng công nghệ nano trong vi nhân giống cây trồng nhằm cải thiện môi trường nuôi cấy cũng như tăng khả năng sinh trưởng và phát triển chất lượng cây con. Công nghệ nano là một lĩnh vực khoa học, kỹ thuật và công nghệ đa ngành liên quan đến vật liệu, cấu trúc và thiết bị ở cấp độ nano. Các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng, các hạt nano cobalt và đồng (CoNPs, CuNPs) có thể là nguồn vi chất dinh dưỡng tiềm năng để thay thế muối vô cơ trong môi trường nuôi cấy [10-12]. Việc thay thế $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ bằng CoNPs trong môi trường MS đã cho thấy những kết quả tích cực trong việc cải thiện khả năng ra rễ, cũng như khắc phục các hiện tượng bất thường trong quá trình nhân giống *in vitro* cây hoa đồng tiền [13]. Tuy nhiên, nghiên cứu về việc thay thế các muối vô cơ bằng CuNPs và molybdenum trioxide (MoO_3NPs) trong môi trường nuôi cấy còn hạn chế. Đặc biệt, việc thay thế 3 loại nano (CuNPs, CoNPs và MoO_3NPs) trong môi trường ra rễ *in vitro* ở cây Dâu tây vẫn chưa được thực hiện. Chính vì vậy trong nghiên cứu này, tác động đơn lẻ của 3 loại nano kim loại (CoNPs, CuNPs, MoO_3NPs) trong việc thay thế 3 loại muối vô cơ ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, MoO_3NPs) trong môi trường tạo rễ *in vitro* lên khả năng ra rễ, sinh trưởng và phát triển của cây Dâu tây đã được thực hiện.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Chồi cây Dâu tây *in vitro* một tháng tuổi (*Fragaria x ananassa* Duch.) có chiều cao 3 cm và chất lượng tốt tại Phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo giống cây trồng, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên được sử dụng làm vật liệu ban đầu.

2.2. Dung dịch nano kim loại

Nano CoNPs, CuNPs và MoO_3NPs (500 ppm) với kích thước trung bình 20-60 nm được cung cấp bởi Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3. Môi trường nuôi cấy

Môi trường nuôi cấy với nguyên liệu ban đầu là môi trường MS [14] (Sigma-Aldrich, Mỹ) có bổ sung 30 g/l sucrose (Đông Nai), 8 g/l agar (Việt Xô, Công ty Phan Trần, TP Hồ Chí Minh).

MS1: Môi trường ra rễ (môi trường MS cải biên - CoNPs) là môi trường MS đã loại bỏ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ và bổ sung CoNPs ở các nồng độ khác nhau (1,55; 3,10; 6,20; 9,30; 12,4 $\mu\text{l/l}$, tương ứng với 1/4, 1/2, 1, 3/2 và 2 lần nồng độ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ có trong môi trường MS cơ bản) và 0,2 mg/l NAA (1-Naphthaleneacetic acid; Sigma-Aldrich, Mỹ).

MS2: Môi trường ra rễ (môi trường MS cải biên - CuNPs) là môi trường MS đã loại bỏ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ và bổ sung CuNPs ở các nồng độ khác nhau (1,60; 3,20; 6,40; 9,60; 12,8 $\mu\text{l/l}$, tương ứng với 1/4, 1/2, 1, 3/2 và 2 lần nồng độ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ có trong môi trường MS cơ bản) và 0,2 mg/l NAA.

MS3: Môi trường ra rễ (môi trường MS cải biên - MoO_3NPs) là môi trường MS đã loại bỏ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ và bổ sung MoO_3NPs ở các nồng độ khác nhau (37,25; 74,50; 149; 223,5; 298 $\mu\text{l/l}$, tương ứng với 1/4, 1/2, 1, 3/2 và 2 lần nồng độ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ có trong môi trường MS cơ bản) và 0,2 mg/l NAA.

Tất cả các môi trường nuôi cấy được điều chỉnh về pH 5,8 trước khi hấp khử trùng ở 121°C , 1 atm trong 30 phút.

2.4. Ảnh hưởng của CoNPs đến khả năng ra rễ của cây Dâu tây nuôi cấy *in vitro*

Chồi cây Dâu tây *in vitro* (3 cm) được nuôi cấy trên môi trường ra rễ MS1. Đối chứng là môi trường MS cơ bản có bổ sung 0,2 mg/l NAA. Số lá, số rễ, chiều cao cây (cm) (được đo từ đỉnh lá cao nhất đến gốc chồi), chiều dài rễ (cm), hàm lượng diệp lục tổng số (SPAD) (được đo bằng máy SPAD 502 cầm tay), khối lượng tươi (mg), khối lượng khô (mg). Kết quả được ghi nhận sau 30 ngày nuôi cấy.

2.5. Ảnh hưởng của CuNPs đến khả năng ra rễ của cây Dâu tây nuôi cấy *in vitro*

Chồi cây Dâu tây *in vitro* (3 cm) được nuôi cấy trên môi trường ra rễ MS2. Đối chứng là môi trường MS cơ bản có bổ sung 0,2 mg/l NAA. Sau 30 ngày nuôi cấy, các chỉ tiêu như số lá, số rễ, chiều cao cây (cm), chiều dài rễ (cm), SPAD, khối lượng tươi (mg), khối lượng khô (mg) được ghi nhận.

2.6. Ảnh hưởng của MoO_3NPs đến khả năng ra rễ của cây Dâu tây nuôi cấy *in vitro*

Chồi cây Dâu tây *in vitro* (3 cm) được nuôi cấy trên môi trường ra rễ MS3. Đối chứng là môi trường MS cơ bản có bổ sung 0,2 mg/l NAA. Sau 30 ngày nuôi cấy, các chỉ tiêu như số lá, số rễ, chiều cao cây (cm), chiều dài rễ (cm), SPAD, khối lượng tươi (mg), khối lượng khô (mg) được ghi nhận.

2.7. Phân tích thống kê

Tất cả các thí nghiệm trong nghiên cứu này được lặp lại 3 lần với 10 mẫu/nghiệm thức và 3 mẫu/bình. Tất cả số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2021 và phần mềm phân tích thống kê SPSS 26.0 theo phương pháp Duncan's test với $p < 0,05$ [15].

3. Kết quả và bàn luận

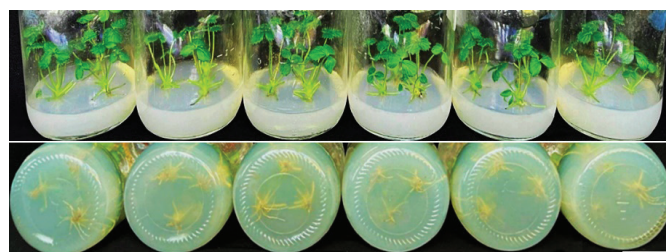
3.1. Ảnh hưởng của CoNPs đến khả năng ra rễ của cây Dâu tây nuôi cấy *in vitro*

Sau 30 ngày nuôi cấy, quá trình sinh trưởng và ra rễ *in vitro* của cây Dâu tây trên môi trường ra rễ (MS cải biên - CoNPs) được ghi nhận và trình bày trong bảng 1, hình 1. Tỷ lệ ra rễ đạt 100% ở tất cả các nghiệm thức có/không có CoNPs.

Bảng 1. Ảnh hưởng của các nồng độ CoNPs thay thế muối $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ đến sự sinh trưởng *in vitro* và ra rễ của cây Dâu tây sau 30 ngày nuôi cấy.

CoNPs ($\mu\text{l/l}$)	Chiều cao cây (cm)	Số lá	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)	SPAD	Trọng lượng tươi (mg)	Trọng lượng khô (mg)
ĐC *	4,63 $\pm$ 0,18 ^{ab**}	10,00 $\pm$ 1,00 ^b	10,66 $\pm$ 1,20 ^{cd}	1,49 $\pm$ 0,04 ^b	41,57 $\pm$ 1,08 ^b	210,66 $\pm$ 2,03 ^c	21,67 $\pm$ 0,20 ^c
1,55	4,37 $\pm$ 0,15 ^{ab}	10,67 $\pm$ 0,88 ^{ab}	12,33 $\pm$ 0,88 ^{bc}	1,63 $\pm$ 0,03 ^b	42,20 $\pm$ 1,40 ^b	224,00 $\pm$ 2,89 ^b	23,06 $\pm$ 0,32 ^b
3,10	4,67 $\pm$ 0,15 ^{ab}	12,00 $\pm$ 1,73 ^{ab}	13,67 $\pm$ 1,20 ^{bc}	1,89 $\pm$ 0,08 ^b	46,10 $\pm$ 0,60 ^a	236,00 $\pm$ 5,13 ^b	24,26 $\pm$ 0,55 ^{ab}
6,20	4,80 $\pm$ 0,15 ^a	13,00 $\pm$ 1,00 ^a	15,67 $\pm$ 0,88 ^a	1,97 $\pm$ 0,03 ^a	48,70 $\pm$ 0,55 ^a	248,33 $\pm$ 4,67 ^a	25,56 $\pm$ 0,50 ^a
9,30	4,13 $\pm$ 0,15 ^{bc}	9,00 $\pm$ 0,00 ^b	9,33 $\pm$ 1,33 ^{cd}	1,14 $\pm$ 0,06 ^c	39,77 $\pm$ 0,61 ^{bc}	198,00 $\pm$ 5,89 ^{cd}	20,40 $\pm$ 0,57 ^{cd}
12,40	3,73 $\pm$ 0,15 ^c	11,00 $\pm$ 1,73 ^{ab}	7,33 $\pm$ 1,20 ^d	1,07 $\pm$ 0,04 ^c	37,16 $\pm$ 0,32 ^c	185,33 $\pm$ 2,96 ^d	19,10 $\pm$ 0,32 ^d

*Đối chứng: Môi trường MS không có nano cobalt, trung bình $\pm$ SE (Sai số chuẩn) và các chữ cái khác nhau (a, b,...) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (thử nghiệm Duncan, $n=30$).



Hình 1. Ảnh hưởng của các nồng độ CoNPs thay thế muối $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ đến sự sinh trưởng *in vitro* và ra rễ của cây Dâu tây sau 30 ngày nuôi cấy. Đối chứng: 3,10; 6,20; 9,30; và 12,40 $\mu\text{l/l}$; trái sang phải. Bar: 2,0 cm. Đối chứng: Môi trường MS không có nano cobalt.

Kết quả cho thấy, việc bổ sung CoNPs thay thế $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ trong môi trường đã cải thiện đáng kể khả năng sinh trưởng và ra rễ của cây Dâu tây *in vitro*. Các chỉ tiêu sinh trưởng như chiều cao cây, số lá, số rễ, chiều dài rễ, chỉ số SPAD, khối lượng tươi, khối lượng khô tăng tỷ lệ thuận với nồng độ CoNPs từ 1,55 đến 6,2 $\mu\text{l/l}$ (bảng 1, hình 1). Cây con nuôi cấy trên môi trường bổ sung 6,2 $\mu\text{l/l}$ CoNPs thể hiện khả năng sinh trưởng và ra rễ tốt nhất; điều này thể hiện qua số lượng rễ (15,67 rễ/cây con) và chiều dài rễ (1,97 cm) cao nhất so với các nghiệm thức còn lại. Bên cạnh đó, các chỉ tiêu sinh trưởng như chiều cao cây (5,13 cm), số lá (13 lá/cây), khối lượng tươi (260,33 mg), khối lượng khô (52,06 mg) của cây con ở nghiệm thức này đều cao hơn so

với đối chứng và được tối ưu so với các nghiệm thức còn lại. Ngoài ra, CoNPs còn kích thích quá trình sinh tổng hợp sắc tố quang hợp. Cụ thể, ở nồng độ 6,2 $\mu\text{l/l}$ CoNPs hàm lượng chlorophyll tổng số trong lá đạt cao nhất (48,70).

Ngược lại, nồng độ cao của CoNPs (9,3 $\mu\text{l/l}$) làm giảm rõ rệt chất lượng cây con. Sự tăng trưởng của cây con *in vitro* trong nghiệm thức này giảm đáng kể, bao gồm chiều cao cây (3,73 cm), số lá (11 lá/cây), chỉ số SPAD (37,16), khối lượng tươi (185,33 mg) và khối lượng khô (19,10 mg).

Trong các nghiên cứu trước đây, CoNPs trong môi trường nuôi cấy cho thấy khả năng giúp cải thiện chất lượng cây con *in vitro*, từ đó tăng tỷ lệ sống sót trong vườn ươm [9]. Ngoài ra, 4,65 $\mu\text{l/l}$ CoNPs được sử dụng thay cho $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ có hiệu quả đối với sự ra rễ *in vitro* của hoa đồng tiền cũng như giảm hiện tượng thủy tinh hóa, vàng lá và hóa nâu của mẫu cây cũng như khả năng thích nghi, tăng trưởng của chúng và giai đoạn ra hoa [13].

Tất cả những kết quả này chỉ ra rằng, CoNPs có thể kích thích hoặc ức chế sự phát triển của cây con tùy thuộc vào các nồng độ khác nhau được sử dụng. Kết quả cho thấy, môi trường MS bổ sung 6,2 $\mu\text{l/l}$ CoNPs thay thế $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ là môi trường tối ưu cho sự sinh trưởng và ra rễ *in vitro* của cây Dâu tây.

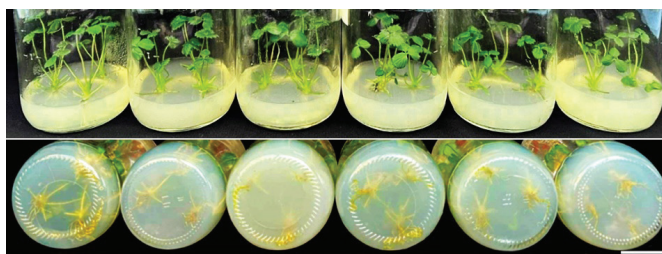
3.2. Ảnh hưởng của CuNPs đến khả năng ra rễ của cây Dâu tây nuôi cấy *in vitro*

Sau 30 ngày nuôi cấy, quá trình sinh trưởng và ra rễ *in vitro* của cây Dâu tây trên môi trường ra rễ (MS cải biên - CuNPs) được ghi nhận và trình bày trong bảng 2, hình 2. Tỷ lệ ra rễ đạt 100% ở tất cả các nghiệm thức có/không có CuNPs.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các nồng độ CuNPs thay thế muối $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ đến sự sinh trưởng *in vitro* và ra rễ của cây Dâu tây sau 30 ngày nuôi cấy.

CuNPs ($\mu\text{l/l}$)	Chiều cao cây (cm)	Số lá	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)	SPAD	Trọng lượng tươi (mg)	Trọng lượng khô (mg)
ĐC*	4,63 $\pm$ 0,36 ^{ac}	10,00 $\pm$ 1,00 ^b	10,66 $\pm$ 1,15 ^d	1,49 $\pm$ 0,16 ^{bc}	41,57 $\pm$ 0,61 ^a	210,66 $\pm$ 4,37 ^c	21,67 $\pm$ 0,44 ^c
1,6	3,53 $\pm$ 0,23 ^c	12,00 $\pm$ 0,73 ^{ab}	11,67 $\pm$ 1,20 ^c	1,75 $\pm$ 0,05 ^b	34,23 $\pm$ 1,27 ^d	189,33 $\pm$ 2,85 ^d	19,30 $\pm$ 0,28 ^d
3,2	3,60 $\pm$ 0,19 ^{bc}	11,67 $\pm$ 1,73 ^{ab}	12,00 $\pm$ 1,73 ^b	1,52 $\pm$ 0,17 ^{bc}	36,23 $\pm$ 0,95 ^c	215,33 $\pm$ 3,38 ^b	21,93 $\pm$ 0,34 ^b
6,4	4,13 $\pm$ 0,12 ^{ab}	15,00 $\pm$ 0,33 ^a	16,67 $\pm$ 0,88 ^a	2,50 $\pm$ 0,17 ^a	40,40 $\pm$ 1,36 ^b	224,60 $\pm$ 3,18 ^b	22,86 $\pm$ 0,35 ^a
9,6	3,30 $\pm$ 0,09 ^c	10,67 $\pm$ 0,88 ^b	8,00 $\pm$ 0,58 ^d	1,17 $\pm$ 0,05 ^c	34,16 $\pm$ 1,30 ^d	170,33 $\pm$ 2,96 ^d	18,30 $\pm$ 0,32 ^c
12,8	2,13 $\pm$ 0,52 ^d	13,00 $\pm$ 1,00 ^{ab}	8,67 $\pm$ 1,02 ^c	0,95 $\pm$ 0,25 ^d	33,73 $\pm$ 0,38 ^c	179,66 $\pm$ 1,45 ^c	17,33 $\pm$ 0,16 ^c

*Đối chứng: Môi trường MS không có nano đồng, trung bình $\pm$ SE (Sai số chuẩn) và các chữ cái khác nhau (a, b...) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (thử nghiệm Duncan, $n=30$).



Hình 2. Ảnh hưởng của các nồng độ CuNPs thay thế muối $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ đến sự sinh trưởng *in vitro* và ra rễ của cây Dâu tây sau 30 ngày nuôi cấy. Đối chứng; 1,6; 3,2; 6,4; 9,6 và 12,8 $\mu\text{l/l}$; trái sang phải. Bar: 2,0 cm. Đối chứng: Môi trường MS không có nano đồng.

Kết quả cho thấy, CuNPs ở nồng độ thích hợp không chỉ cải thiện đáng kể sự phát triển của cây con mà còn cải thiện khả năng ra rễ so với nghiệm thức đối chứng. Các chỉ tiêu sinh trưởng như chiều cao cây, chiều dài lá, SPAD, trọng lượng tươi và trọng lượng khô tăng tỷ lệ thuận với nồng độ CuNPs từ 1,6 đến 6,4 $\mu\text{l/l}$. Cây con được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 6,4 $\mu\text{l/l}$ CuNPs là tối ưu nhất cho khả năng ra rễ. Số lượng rễ và chiều dài rễ (16,67 rễ và 2,5 cm) cao nhất so với các nghiệm thức còn lại, kể cả đối chứng không sử dụng CuNPs. Tuy nhiên, các chỉ tiêu sinh trưởng như chiều cao cây (3,53 cm) và SPAD (40,40) lại thấp hơn đối chứng, nhưng cây Dâu tây ở nghiệm thức đối chứng có lá nhỏ, thân mảnh và dễ gãy khi lấy ra bình nuôi cấy (hình 2). Đồng thời, khi sử dụng nồng độ CuNPs ở mức cao hơn 6,4 $\mu\text{l/l}$ sẽ ức chế quá trình sinh trưởng của cây Dâu tây, làm cho tất cả các chỉ tiêu sinh trưởng giảm rõ rệt. Theo F. Perreault và cs (2013) [16], nồng độ CuNPs cao hơn tác động tiêu cực đến hàm lượng chất diệp lục trong lá cây, dẫn đến giá trị chỉ số SPAD thấp hơn. Mối quan hệ này chỉ ra rằng, CuNPs có thể có tác động bất lợi đến quá trình tổng hợp hoặc hoạt động của chất diệp lục, dẫn đến giảm hoạt động quang hợp và khả năng gây hại cho sức khỏe thực vật. Tất cả những kết quả này cho thấy CuNPs có thể kích thích hoặc ức chế sự phát triển của cây con tùy thuộc vào các nồng độ khác nhau được sử dụng, môi trường MS bổ sung 6,4 $\mu\text{l/l}$ CuNPs thay thế $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ là tối ưu cho sự ra rễ *in vitro* của cây Dâu tây.

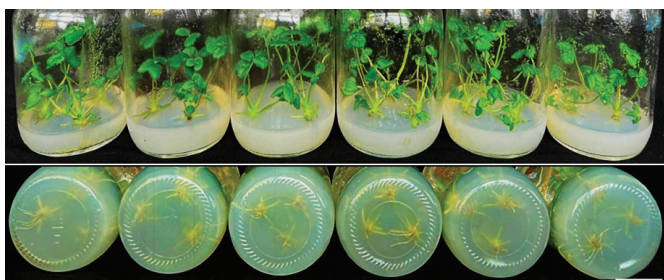
3.3. Ảnh hưởng của MoO_3NPs đến khả năng ra rễ của cây Dâu tây nuôi cấy *in vitro*

Ảnh hưởng của các nồng độ khác nhau của MoO_3NPs thay thế $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (MS biến đổi - MoO_3NPs) đến sinh trưởng và ra rễ *in vitro* của cây Dâu tây sau 30 ngày nuôi cấy được ghi nhận ở bảng 3 và hình 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của các nồng độ MoO_3NPs thay thế muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ đến sự sinh trưởng *in vitro* và ra rễ của cây Đậu tây sau 30 ngày nuôi cấy.

MoO_3NPs ($\mu\text{l/l}$)	Chiều cao cây (cm)	Số lá	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)	SPAD	Trọng lượng tươi (mg)	Trọng lượng khô (mg)
ĐC*	4,63 $\pm$ 0,36 ^{ac}	10,00 $\pm$ 1,00 ^c	10,66 $\pm$ 1,15 ^c	1,49 $\pm$ 0,16 ^f	41,57 $\pm$ 0,97 ^d	210,66 $\pm$ 5,36 ^c	21,67 $\pm$ 1,19 ^c
37,25	5,73 $\pm$ 0,09 ^c	15,00 $\pm$ 1,73 ^d	13,67 $\pm$ 1,76 ^d	1,92 $\pm$ 0,05 ^e	40,83 $\pm$ 0,50 ^d	383,33 $\pm$ 6,96 ^c	40,26 $\pm$ 0,69 ^c
74,50	6,16 $\pm$ 0,15 ^{ab}	20,67 $\pm$ 1,45 ^a	18,67 $\pm$ 1,20 ^b	2,75 $\pm$ 0,29 ^b	43,56 $\pm$ 0,48 ^b	433,67 $\pm$ 4,09 ^b	45,53 $\pm$ 1,04 ^{ab}
149,00	6,36 $\pm$ 0,09 ^a	21,33 $\pm$ 2,03 ^a	20,33 $\pm$ 1,03 ^a	3,01 $\pm$ 0,03 ^a	45,23 $\pm$ 1,09 ^a	452,33 $\pm$ 5,12 ^a	47,49 $\pm$ 1,26 ^a
223,50	6,03 $\pm$ 0,09 ^b	18,33 $\pm$ 1,18 ^c	16,00 $\pm$ 1,00 ^c	2,51 $\pm$ 0,23 ^c	42,23 $\pm$ 1,25 ^c	421,00 $\pm$ 5,81 ^b	44,11 $\pm$ 1,12 ^b
298,00	5,46 $\pm$ 0,12 ^d	14,33 $\pm$ 1,00 ^d	11,33 $\pm$ 0,88 ^e	1,77 $\pm$ 0,03 ^e	39,23 $\pm$ 0,88 ^e	360,67 $\pm$ 4,48 ^d	37,87 $\pm$ 1,08 ^d

*Đối chứng: Môi trường MS không có nano molybden trioxide, trung bình $\pm$ SE (sai số chuẩn) và các chữ cái khác nhau (a, b...) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (thử nghiệm Duncan, $n=30$).



Hình 3. Ảnh hưởng của các nồng độ MoO_3NPs thay thế muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ đến sự sinh trưởng *in vitro* và ra rễ của cây Đậu tây sau 30 ngày nuôi cấy. Đối chứng: 37,25; 74,5; 149; 223,5; và 298 $\mu\text{l/l}$; trái sang phải. Bar: 2,0 cm. Đối chứng: Môi trường MS không có nano molybden trioxide.

Tỷ lệ ra rễ đạt 100% ở tất cả các nghiệm thức có/không có MoO_3NPs . Kết quả cho thấy, ở tất cả các nghiệm thức có MoO_3NPs , các chỉ tiêu sinh trưởng của cây Đậu tây đều tốt hơn so với nghiệm thức đối chứng (bảng 3). Tương ứng với sinh trưởng *in vitro*, các cây con nuôi cấy trên môi trường bổ sung 149 $\mu\text{l/l}$ MoO_3NPs có sinh trưởng và phát triển tốt hơn so với các nghiệm thức còn lại (bảng 3, hình 3). Chiều cao cây cao nhất (6,36 cm) được ghi nhận ở nồng độ 149 $\mu\text{l/l}$ MoO_3NPs . Ngoài ra, trong nghiên cứu này cũng ghi nhận rằng cây con *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường chứa 149 $\mu\text{l/l}$ MoO_3NPs cho số lượng rễ tối đa (20,33 rễ/cây con) với chiều dài rễ (3,01 cm) cao nhất so với đối chứng sau 30 ngày nuôi cấy. Hơn nữa, những cây con này cho thấy sự phát triển tốt, lá màu xanh đậm, nhiều rễ và kích thước đồng đều (hình 3). Tuy nhiên, khi tăng nồng độ MoO_3NPs lên 298 $\mu\text{l/l}$ thì chiều cao cây (5,46 cm), số lượng rễ (11,33 rễ/cây con) và chiều dài rễ (1,77 cm) giảm mạnh (bảng 3). Ngoài ra, hình thái bất thường của lá đã được quan sát thấy

ở các nghiệm thức 37,25 và 74,5 $\mu\text{l/l}$ MoO_3NPs . Hiện tượng này lần đầu tiên được mô tả bởi D.I. Arnon và cs (1939) [17], cây thiếu Mo phát triển một kiểu hình đặc trưng bao gồm các tổn thương và thay đổi hình thái của lá (được gọi là ‘đuôi roi’) và sau đó được phân tích chi tiết bởi nhóm của R.J. Fido và cs (1977) [18].

Tất cả những kết quả này chỉ ra rằng, các MoO_3NPs có thể kích thích hoặc ức chế sự phát triển của cây con tùy thuộc vào các nồng độ khác nhau được sử dụng. Kết quả cho thấy, môi trường MS bổ sung 149 $\mu\text{l/l}$ NP MoO_3NPs thay thế $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ là tối ưu cho sự sinh trưởng và ra rễ *in vitro* của cây Đậu tây.

4. Kết luận

Môi trường MS bổ sung 6,2 $\mu\text{l/l}$ CoNPs thay thế $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ là môi trường tối ưu cho sự phát triển và ra rễ *in vitro* của cây Đậu tây.

Môi trường MS bổ sung 6,4 $\mu\text{l/l}$ CuNPs thay thế $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ là môi trường tối ưu cho sự sinh trưởng và ra rễ *in vitro* của cây Đậu tây.

Môi trường MS bổ sung 149 $\mu\text{l/l}$ MoO_3NPs thay thế $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ là môi trường tối ưu cho sự phát triển và ra rễ *in vitro* của cây Đậu tây.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí bởi Chương trình phát triển nhóm nghiên cứu xuất sắc hạng I về “Nghiên cứu ảnh hưởng của một số hạt nano kim loại lên sự phát sinh hình thái, sinh trưởng - phát triển, sinh lý - sinh hóa và tích lũy hợp chất thứ cấp của một số cây trồng có giá trị kinh tế nuôi cấy *in vitro*”, mã số đề tài NCXS01.03/22-24 của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D.I. Arnon, P.R. Stout (1939) “The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper”, *Plant Physiology*, **14**(2), pp.371-375, DOI: 10.1104/pp.14.2.371.
- [2] I. Iliev, A. Gajdosova, G. Libiakova, et al. (2010), *Plant Micropropagation. Plant Cell Culture: Essential Methods*, UK: John Wiley and Sons, Publications International Ltd, pp.1-23.
- [3] J.I. Mir, N. Ahmed, R. Rashid, et al. (2010) “Micropropagation of strawberry (*Fragaria × ananassa*)”, *Crop Improvement*, **37**(2), pp.153-156.

- [4] A.A. Mozafari, M. Gerdakaneh (2012), "Influence of media and growth regulators on regeneration and morphological characteristics of strawberry cvs Kurdistan and Merck (*Fragaria × ananassa* Duch.)", *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, **4(5)**, pp.99-104, DOI: 10.5897/IJPPB11.008.
- [5] M.N.T. Ha, T.T. Hoang, V.L. Bui, et al. (2020), "Some unusual phenomena in plant micropropagation and solutions to overcome them", *Journal of Biotechnology*, **18(2)**, pp.23-39.
- [6] S. Palei, G.R. Rout, A.K. Das, et al. (2017), "Callus induction and indirect regeneration of Strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch. cv. Chandler)", *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **6(11)**, pp.1311-1318, DOI: 10.20546/ijemas.2017.611.157.
- [7] D.H. Kim, J. Gopal, I. Sivanesan (2017), "Nanomaterials in plant tissue culture: The disclosed and undisclosed", *The Royal Society of Chemistry*, **7**, pp.36492-36505, DOI: 10.1039/C7RA07025J.
- [8] T.E.T. Sereda, K.V. Liapina, E.A. Shkopinskij, et al. (2016), "The Influence of Cu и Co nanoparticles on growth characteristics and biochemical structure of *Mentha longifolia* in vitro", *Nanophysics, Nanophotonics, Surface Studies, and Applications: Selected Proceedings of The 3rd International Conference Nanotechnology and Nanomaterials*, pp.427-436, DOI: 10.1007/978-3-319-30737-4_36.
- [9] N.T.M. Ha, C.M. Do, T.T. Hoang, et al. (2020), "The effect of cobalt and silver nanoparticles on overcoming leaf abscission and enhanced growth of rose (*Rosa hybrida* L. "Baby Love") plantlets cultured in vitro", *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **141**, pp.393-405, DOI: 10.1007/s11240-020-01796-4.
- [10] A.S. Fouad, R.M. Hafez (2018), "Effect of cobalt nanoparticles and cobalt ions on alkaloids production and expression of *CrMPK3* gene in *Catharanthus roseus* suspension cultures", *Cellular and Molecular Biology*, **64(12)**, pp.62-69, DOI: 10.14715/cmb/2018.64.12.13.
- [11] E.A. Shkopinskij, T.E. Talankova-Sereda, K.V. Liapina (2018), "Effect of Cu and Co nanoparticles-based complex on stratification of grape grafts", *International Journal of Biosensors and Bioelectronics*, **4(2)**, pp.45-47, DOI: 10.15406/ijbsbe.2018.04.00094.
- [12] S.A. Osman, D.M. Salama, M.E. A.E. Aziz, et al. (2020), "The influence of MoO₃-NPs on agro-morphological criteria, genomic stability of DNA, biochemical assay, and production of common dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.)", *Plant Physiology and Biochemistry*, **15**, pp.77-87, DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.03.009.
- [13] H.T. Tung, P.L.H. Nguyen, T.V. Lich, et al. (2022), "Enhanced shoot and plantlet quality of Gerbera (*Gerbera jamesonii* Revolution Yellow) cultivar on medium containing silver and cobalt nanoparticles", *Scientia Horticulturae*, **306**, DOI: 10.1016/j.scienta.2022.111445.
- [14] T. Murashige, F. Skoog (1962), "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures", *Physiologia Plantarum*, **15(3)**, pp.473-497, DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
- [15] D.B. Duncan (1955), "Multiple range and multiple F tests", *Biometrics*, **11(1)**, pp.1-42, DOI: 10.2307/3001478.
- [16] F. Perreault, M. Samadani, D. Dewez (2013), "Effect of soluble copper released from copper oxide nanoparticles solubilisation on growth and photosynthetic processes of *Lemna gibba* L.", *Nanotoxicology*, **8(4)**, pp.374-382, DOI: 10.3109/17435390.2013.789936.
- [17] D.I. Arnon, P.R. Stout (1939), "The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper", *Plant Physiology*, **14(2)**, DOI: 10.1104/pp.14.2.371.
- [18] R.J. Fido, C.S. Gundry, E.J. Hewitt, et al. (1977), "Ultrastructural features of molybdenum deficiency and whiptail of cauliflower leaves: Effects of nitrogen source and tungsten substitution for molybdenum", *Functional Plant Biology*, **4(4)**, pp.675-689, DOI: 10.1071/PP9770675.