

VAI TRÒ CỦA CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG THỰC VẬT TRONG NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY TIÊU THẢO LÁ NHẪN (*Cryptocoryne wendtii*)

Nguyễn Thị Dược^{*}, Đinh Bá Duy, Đỗ Đức Thăng, Trần Trọng Tuấn, Đặng Thị Kim Thúy, Nguyễn Thị Huyền Trang, Đỗ Đăng Giáp

Viện Sinh học nhiệt đới - Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

Cây tiêu thảo (*Cryptocoryne*) là một trong những loài thủy sinh rất được ưa chuộng, với màu sắc và hình dáng đa dạng, hiện nay trên 20 loài cây tiêu thảo được đưa vào hồ thủy sinh khắp nơi trên thế giới. Mặc dù cây tiêu thảo đã được quan tâm nghiên cứu và nhân giống mạnh mẽ ở một số nước trên thế giới, tuy nhiên ở nước ta cây thủy sinh nói chung và cây tiêu thảo nói riêng vẫn còn chưa được quan tâm nghiên cứu một cách nghiêm túc. Trong nghiên cứu này, cây tiêu thảo lá nhẵn (*Cryptocoryne wendtii*) được nuôi cấy trong điều kiện *in vitro* với các khảo sát sự phát sinh hình thái trong môi trường MS bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng thực vật như: BA, KIN, NAA và IBA nhằm xác định ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật lên sự phát sinh hình thái của loài cây này. Từ kết quả của nghiên cứu cho thấy, chế độ khử trùng tốt nhất đối với mẫu thân rễ là sử dụng HgCl₂ 0,1% với thời gian khử trùng 10 phút. Môi trường MS bổ sung 2,0 mg/l BA là môi trường thích hợp nhất để nhân chồi với số lượng chồi trung bình đạt 3,8 chồi/mẫu sau 8 tuần nuôi cấy. Môi trường MS bổ sung IBA với nồng độ từ 0,5 là thích hợp nhất cho sự hình thành rễ của cây tiêu thảo với số rễ hình thành 5,9 rễ/mẫu (sau 6 tuần nuôi cấy).

Từ khóa: Chất điều hòa sinh trưởng thực vật, *Cryptocoryne wendtii*, nuôi cấy *in vitro*.

MỞ ĐẦU

Tiêu thảo (*Cryptocoryne*) là một loài thực vật thủy sinh thuộc họ Araceae có nguồn gốc từ đảo Sri Lanka có hơn 50 loài khác nhau phân bố khắp Đông Nam Á, trong đó trên 20 loài được sử dụng trong hồ thủy sinh trên toàn thế giới (Wijesundara and Shantha Siri., 2004). Cũng như những loài cây thủy sinh khác, cây tiêu thảo được mang vào hồ cá nhằm tăng vẻ đẹp, mang lại giá trị cũng như sức sống mới cho hồ cá. Hiện nay, với nhu cầu sử dụng cây thủy sinh ngày càng cao ở các nước phát triển đã thúc đẩy tạo nên nền nông nghiệp công nghệ cao trên cây thủy sinh ở các nước như Trung Quốc, Indonesia, Thái Lan, Hà Lan, Singapore...

Cùng với xu hướng thế giới, nước ta đã nhanh chóng tiếp cận và phát triển về lĩnh vực cá cảnh đặc biệt tại thành phố Hồ Chí Minh, cụ thể năm 2018 tổng diện tích canh tác cá cảnh trên đạt 88,9 ha với 292 cơ sở thị trường xuất khẩu 55% châu Âu, 45% châu Á, châu Mỹ và châu Phi đem lại giá trị kim ngạch 22,39 triệu USD. Cây cảnh thủy sinh là một trong những mặt hàng phụ trợ gắn liền với cá cảnh, vì vậy nhằm đẩy mạnh phát triển ngành cá cảnh cũng như nâng cao giá trị ngành thủy sản thì việc phát triển cây thủy sinh thật sự cần thiết. Tuy nhiên, ở nước ta hiện nay cây cảnh thủy sinh chưa được quan tâm nghiên cứu mạnh mẽ. Do đó, nhằm tăng cường khả năng cạnh tranh của ngành thủy sinh phục vụ thị trường trong và ngoài nước, chúng ta cần có phương pháp nhân giống quy mô công nghiệp với chất lượng cao và giá thành cạnh tranh.

Nhân giống *in vitro* là một trong những lựa chọn hữu hiệu, ngoài tạo ra nguồn giống đồng nhất di truyền, sạch bệnh không chứa côn trùng hay kí sinh trùng. Nhân giống *in vitro* còn giúp tạo ra số lượng lớn cây giống với chất lượng đồng đều, hệ số nhân giống cao. Từ đó, tạo nguồn cung cho thị trường trong và ngoài nước đồng thời giảm áp lực khai thác tự nhiên giúp bảo vệ môi trường thiên nhiên. Cây tiêu thảo lá nhẵn (*Cryptocoryne wendtii*) là một trong những loài cây tiêu thảo được ưa chuộng với màu sắc và hình dáng đa dạng, thích hợp bố trí ở trung cảnh cho hồ thủy sinh, nơi cây có thể tăng thêm sự thú vị, màu sắc và kết cấu trong hồ. Trên thế giới đã có một số công bố nghiên cứu chủ yếu về hướng vi nhân giống của loài cây này thông qua chồi đỉnh (Kane *et al.*, 1999; Standly *et al.*, 2011). Dissanayake và đồng tác giả (2007) cũng tiến hành trên đối tượng này có nguồn gốc từ vùng Sri Lanka với mẫu cấy là thân rễ. Công bố gần nhất là nghiên cứu của Sundus và đồng tác giả (2019) về nhân giống *C. wendtii* và sự thích nghi của nó trong hồ cá *Puntius tetrazona*. Tuy nhiên, ở Việt Nam đến nay vẫn chưa có công bố chính thức nào trên đối tượng này. Trong nghiên cứu này, sự ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật lên sự phát sinh hình thái của cây *Cryptocoryne wendtii* được khảo sát nhằm tìm ra môi trường nhân giống thích hợp trong điều kiện *in vitro*, tạo cơ sở cho các nghiên cứu nhân giống sản xuất loài cây này.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu nghiên cứu

Cây tiêu thảo lá nhẵn được thu thập trên thị trường cây cảnh thành phố Hồ Chí Minh.

Môi trường nuôi cấy *in vitro*

Môi trường nuôi cấy được sử dụng là môi trường MS (Murashige, Skoog, 1962), bổ sung thêm 30 g/l sucrose, 8 g/l agar, các chất điều hòa sinh trưởng thực vật tùy thuộc vào từng thí nghiệm khác nhau. Môi trường được chỉnh pH về mức 5,8. Hấp ở nhiệt độ 121°C, áp suất 1atm trong vòng 15 phút.

Điều kiện nuôi cấy *in vitro*

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng Công nghệ tế bào - Viện Sinh học Nhiệt đới. Điều kiện phòng nuôi cấy có nhiệt độ duy trì 25±2°C, cường độ chiếu sáng 40 μmol.m².s⁻¹, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày, độ ẩm trung bình từ 60-70%.

Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát điều kiện khử trùng tạo mẫu *in vitro*

Mẫu thân rễ của cây tiêu thảo lá nhẵn sau khi được khử trùng sơ bộ bằng xà phòng loãng 5%, rửa lại bằng nước sạch 3 lần được khử trùng bằng HgCl₂ 0,1% hoặc chất tẩy rửa javel thương mại 25% và 50% ở các khoảng thời gian khác nhau 5, 10 và 15 phút để các định điều kiện khử trùng thích hợp tạo nguồn mẫu *in vitro*. Mẫu vật sau khi khử trùng được cấy lên môi trường MS, theo dõi các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu sống không nhiễm, tỷ lệ mẫu nhiễm và tỷ lệ mẫu chết. Thời gian theo dõi: 2 tuần ngày nuôi cấy.

Ảnh hưởng của BA và KIN lên sự hình thành chồi của cây tiêu thảo lá nhẵn trong điều kiện *in vitro*

Mẫu sau khi được cấy trong điều kiện *in vitro* thành công được cấy tạo chồi trên môi trường MS bổ sung KIN hoặc BA với nồng độ thay đổi 0,5; 1,0; 1,5 và 2,0 mg/l. Mỗi nghiệm thức được cấy với 5 mẫu/bình với 3 lần lặp lại. Theo dõi các chỉ tiêu: số chồi/mẫu; số lá/mẫu và chiều cao chồi. Thời gian theo dõi: 8 tuần nuôi cấy.

Ảnh hưởng của NAA và IBA lên sự hình thành rễ của cây tiêu thảo lá nhẵn trong điều kiện *in vitro*

Mẫu (mẫu chồi có chiều cao 1 cm có 4 - 5 lá) được cấy trên môi trường tạo rễ MS bổ sung NAA hoặc IBA với nồng độ thay đổi 0,5; 1; 1,5 và 2 mg/l. Mỗi nghiệm thức được cấy với 5 mẫu/bình với 3 lần lặp lại. Theo dõi các chỉ tiêu: số rễ/mẫu; số lá/mẫu và số chồi/mẫu (nếu có). Thời gian theo dõi: 6 tuần ngày nuôi cấy.

Xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Số liệu được xử lý trên phần mềm Microsoft Excel 2010 và phương pháp Duncan's test (Duncan,1995) với p=0,05.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả khảo sát điều kiện khử trùng tạo mẫu *in vitro*

Giai đoạn khử trùng mẫu là một bước khởi đầu quan trọng để tạo nguồn mẫu *in vitro* cho quá trình nuôi. Đặc biệt đối với cây thủy sinh, là những loài thực vật sống dưới nước hoặc khu vực đầm lầy ven ao hồ, sông suối thì việc khử trùng rất khó khăn. Để khử trùng một mẫu vật thành công, không chỉ phụ thuộc vào vào kỹ thuật khử trùng mà còn phụ thuộc vào chất khử trùng và thời gian khử trùng. Kết quả khảo sát các chế độ khử trùng đối với mẫu thân rễ của cây tiêu thảo lá nhẵn sử dụng chất khử trùng là HgCl₂ 0,1% hoặc Javel ở những nồng độ và thời gian khử trùng khác nhau được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của loại và thời gian khử trùng đến hiệu quả khử trùng sau 2 tuần theo dõi

Chất khử trùng	Số lượng mẫu	Thời gian khử trùng (phút)	Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỷ lệ mẫu chết (%)	Tỷ lệ mẫu sống vô trùng (%)
HgCl ₂ 0,1%	150	05	20,7	1,3	78,0
HgCl ₂ 0,1%	150	10	3,3	2,0	94,7
HgCl ₂ 0,1%	150	15	2,7	4,7	92,7
Javel 25%	150	05	86,0	0,0	14,0
Javel 25%	150	10	61,3	8,7	30,0
Javel 25%	150	15	40,7	34,0	25,3
Javel 50%	150	05	75,3	15,3	9,3
Javel 50%	150	10	43,3	52,0	4,7
Javel 50%	150	15	8,0	92,0	0,0

Từ kết quả bảng 1 cho thấy, loại chất khử trùng và thời gian chất khử trùng ảnh hưởng khác nhau qua từng nghiệm thức. Chất khử trùng HgCl₂ 0,1% cho thấy hiệu quả khử trùng tốt hơn Javel ở tất cả các nghiệm thức được khảo sát. Với các nghiệm thức sử dụng Javel có tỷ lệ nhiễm trên 40% ở 5 nghiệm thức được khảo sát. Việc gia tăng nồng độ hoặc thời gian khử trùng bằng Javel làm giảm tỷ lệ nhiễm này xong lại gây tình trạng chết mẫu, mẫu bị trắng trong sau thời gian theo dõi, đặc biệt là ở nghiệm thức Javel 50% khử trùng trong 15 phút có mẫu chết chiếm 92%. Các nghiệm thức sử dụng HgCl₂ 0,1% làm chất khử trùng có tỷ lệ mẫu nhiễm tỷ lệ nghịch với thời gian khử trùng. Trong đó, nghiệm thức với thời gian khử trùng là 10 và 15 phút có tỷ lệ mẫu nhiễm lần lượt là 3,3% và 2,7%. Hai nghiệm thức này cũng có tỷ lệ mẫu sống vô trùng đạt cao nhất lần lượt là 94,7% và 92,7%. Căn cứ trên các số liệu ghi nhận cho thấy chất khử trùng là HgCl₂ 0,1% thích hợp để sử dụng khử trùng mẫu cấy thân rễ cây tiêu thảo lá nhẵn với thời gian khử trùng là 10 phút.

Ảnh hưởng của BA và KIN lên sự hình thành chồi của cây tiêu thảo lá nhẵn trong điều kiện *in vitro*

BA và KIN là chất điều hòa sinh trưởng thực vật thuộc nhóm cytokinin, có vai trò kích thích sự phân bào, thúc đẩy sự hình thành và phát triển của mô nuôi cấy (Nguyễn Hoàng Lộc, 2007). Trong nghiên cứu này, BA và KIN được sử dụng bổ sung vào môi trường nuôi cấy có nồng độ khác nhau từ 0,5 đến 2,0 mg/l nhằm đánh giá sự nhân chồi của cây tiêu thảo lá nhẵn. Kết quả thí nghiệm được trình bày tại bảng 2.

Bảng 2. Sự ảnh hưởng của BA và KIN lên sự hình thành chồi cây *Cryptocoryne wendtii* trong điều kiện *in vitro* sau 8 tuần nuôi cấy

Nghiệm thức	Số chồi mới hình thành	Số lá mới hình thành	Chiều cao (cm)
ĐC	1,1 ^d	4,5 ^c	1,40 ^{bc}
B0,5	1,5 ^{bcd}	7,1 ^a	1,15 ^d
B1,0	1,7 ^{bc}	7,1 ^a	1,18 ^d
B1,5	1,9 ^b	7,1 ^a	1,18 ^d
B2,0	3,8 ^a	6,9 ^a	1,24 ^{cd}
K0,5	1,0 ^d	5,3 ^{ab}	1,47 ^{bc}
K1,0	1,1 ^d	5,3 ^b	1,85 ^a
K1,5	1,3 ^{cd}	5,9 ^b	1,78 ^a
K2,0	1,2 ^{cd}	5,6 ^b	1,53 ^b

Ghi chú: Các chữ cái a, b, c, ... trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$ trong phép thử Duncan.

Kết quả thí nghiệm cho thấy khi bổ sung BA và KIN đã cho thấy sự ảnh hưởng khác nhau lên sự tái sinh chồi, sự hình thành lá và chiều cao của cây tiêu thảo lá nhẵn.

Từ kết quả thống kê cho thấy, BA có ảnh hưởng tích cực đến sự hình thành chồi và lá của cây tiêu thảo lá nhẵn. Trong môi trường bổ sung BA số lượng chồi/mẫu và lá hình thành/mẫu cao hơn so với đối chứng và môi trường bổ sung KIN. Dựa vào số liệu cho thấy khi nồng độ BA bổ sung vào môi trường càng tăng thì số lượng chồi hình thành càng tăng. Trên môi trường bổ sung 2,0 mg/l BA có số lượng chồi hình thành cao nhất đạt 3,8 chồi/mẫu sau 8 tuần nuôi cấy. Chồi phát triển tốt và có sự hình thành rễ (hình1). Kết quả nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu của Sundus và đồng tác giả (2019) trên *Cryptocoryne wendtii*, khi bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy ở nồng độ từ 0,5 đến 6,0 mg/l, khi nồng độ BA bổ sung vào môi trường càng tăng thì số chồi mới hình thành càng nhiều.

Đối với KIN, mặc dù sự tác động lên sự hình thành chồi mới từ mẫu cấy ban đầu của KIN không đáng kể, tuy nhiên KIN lại có vai trò tích cực trong sự phát triển chiều cao của chồi, hầu hết chồi được cấy trong môi trường bổ sung KIN đều có chiều cao vượt trội hơn so với các nghiệm thức còn lại và đối chứng và đạt giá trị cao nhất tại nghiệm thức bổ sung 1,0 mg/l đạt trung bình 1,85 cm.



Hình 1. Hình thái chồi của cây tiêu thảo lá nhãn trong môi trường bổ sung BA và KIN

Ảnh hưởng của NAA và IBA lên sự hình thành rễ của cây tiêu thảo lá nhãn trong điều kiện *in vitro*

Trong những nghiên cứu về nhân giống *in vitro* trên cây tiêu thảo lá nhãn, NAA và IBA được sử dụng bổ sung vào môi trường nuôi cấy nhằm khảo sát sự phát sinh hình thái (Dissanayake *et al.*, 2007; Sundus *et al.*, 2019). Trong thí nghiệm này, môi trường MS bổ sung NAA hoặc IBA với nồng độ từ 0,5 đến 2,0 mg/l được sử dụng để khảo sát sự hình thành rễ cũng như sự phát triển cây hoàn chỉnh. Kết quả được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Sự ảnh hưởng của NAA và IBA lên sự hình thành rễ của cây tiêu thảo lá nhãn trong điều kiện *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy

Nghiệm thức	Số chồi mới hình thành	Số lá mới hình thành	Số rễ mới hình thành	Chiều cao (cm)
ĐC	1,7 ^{bc}	5,1 ^a	2,9 ^e	1,15 ^d
NAA0,5	2,8 ^a	4,7 ^{bc}	6,0 ^a	1,10 ^d
NAA1,0	1,8 ^b	4,5 ^{bc}	2,9 ^e	1,36 ^c
NAA1,5	1,9 ^b	4,2 ^{de}	0,7 ^f	1,65 ^b
NAA2,0	1,4 ^{cd}	4,1 ^e	0	1,67 ^b
IBA0,5	1,4 ^{cd}	4,9 ^{ab}	5,9 ^{ab}	1,75 ^{ab}
IBA1,0	1,3 ^d	4,8 ^{abc}	5,4 ^{abc}	1,88 ^a
IBA1,5	1,3 ^{cd}	4,9 ^{ab}	4,9 ^{cd}	1,88 ^a
IBA2,0	1,3 ^d	4,7 ^{bc}	5,2 ^{bc}	1,81 ^{ab}

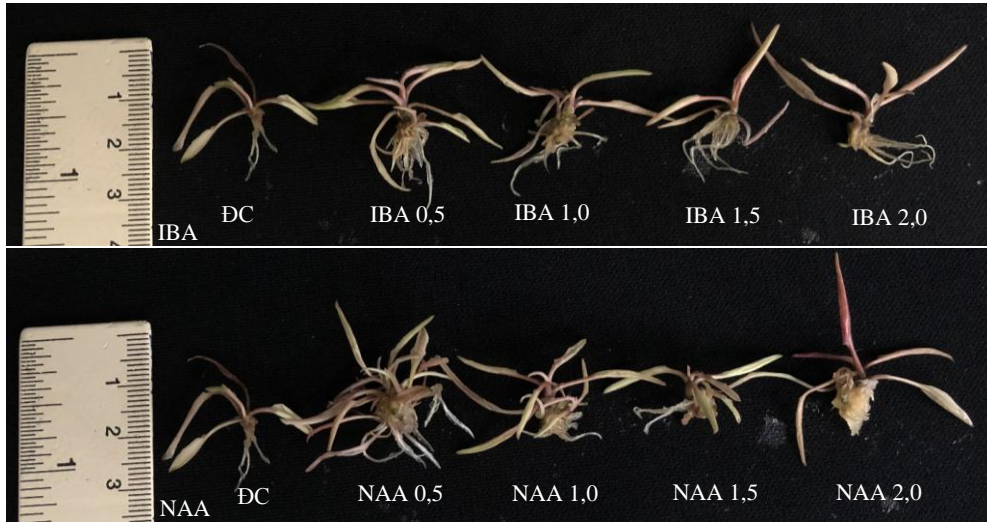
Ghi chú: Các chữ cái a, b, c,... trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $p \leq 0,05$ trong phép thử Duncan.

Từ kết quả bảng 3 cho thấy, khi bổ sung NAA hoặc IBA vào môi trường nuôi cấy đã ảnh hưởng đến sự hình thành rễ của mẫu cấy. Cụ thể, đối với môi trường bổ sung NAA khi tăng nồng độ chất cảm ứng, sự hình thành rễ được kích thích nhưng với nồng độ gia tăng thì có sự ức chế kéo dài rễ của mẫu cấy. Nghiệm thức bổ sung 0,5 mg/l NAA có số lượng rễ hình thành cao nhất so với đối chứng và các nghiệm thức còn lại. Tuy nhiên trong nghiệm thức này rễ hình thành có hiện tượng không kéo dài, rễ bị phình to so với bình thường (hình 3b). Ngoài hình thành rễ, nghiệm thức bổ sung 0,5 mg/l NAA còn có sự hình thành chồi mới từ mẫu cấy ban đầu, đây là điều bất lợi khi tạo cây hoàn chỉnh. Ngoài ra, khi tăng nồng độ NAA lên, thì NAA gây ức chế sự hình thành rễ và có xu hướng tạo sẹo khi nồng độ NAA tăng lên 2,0 mg/l (hình 2; hình 3c).

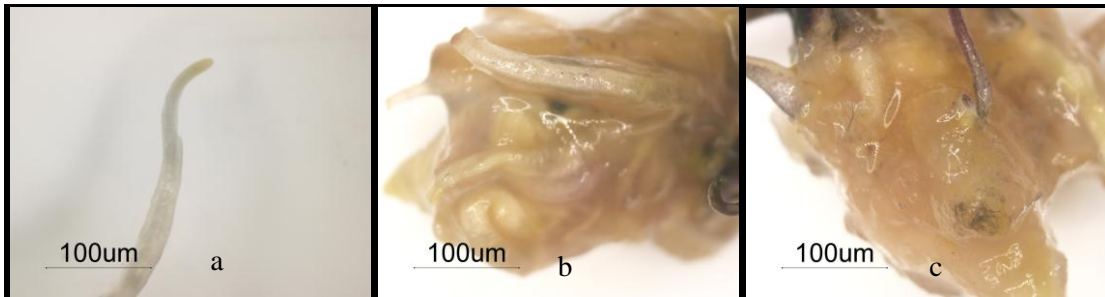
Khác với NAA, khi bổ sung IBA vào môi trường nuôi cấy trong khoảng nồng độ khảo sát, 100% nghiệm thức đều hình thành rễ sau 6 tuần nuôi cấy, với số lượng rễ/chồi khác nhau giữa các nghiệm thức và đạt cao nhất trong nghiệm thức bổ sung 0,5 mg/l IBA. Khi tăng nồng độ IBA trong môi trường nuôi cấy thì số lượng rễ hình thành có xu hướng giảm, tuy nhiên sự khác biệt thống kê không đáng kể, bên cạnh đó hình thái rễ hình thành bình thường (hình 3a). Số lượng rễ trung bình hình thành ở nghiệm thức này là 5,9 rễ/mẫu, tương đương với kết quả nghiên

cứu của Sundus và đồng tác giả (2019) có số lượng rễ hình thành trung bình là 5,5 rễ/mẫu ở nghiệm thức bổ sung IBA nồng độ tương ứng. Tuy nhiên, trong báo cáo này cũng đưa ra kết quả số lượng rễ đạt 6,8 rễ/mẫu trong môi trường bổ sung 1,0 mg/l IBA sau 40 ngày nuôi cấy. Sự khác biệt này có thể do nguồn gốc ban đầu của mẫu hay độ tuổi của mẫu cấy có sự khác biệt. Ngoài ra, IBA còn có tác động tích cực đến chiều cao chồi của mẫu cấy, số liệu ghi nhận được cho thấy chiều cao cây trong các nghiệm thức bổ sung IBA (trong khoảng 1,75 đến 1,88 cm) đều vượt trội so với đối chứng (1,15 cm) và các nghiệm thức còn lại (dưới 1,67 cm).

Như vậy, so sánh hiệu quả cảm ứng tạo rễ để tạo cây hoàn chỉnh sử dụng chất cảm ứng là NAA và IBA trong khoảng nồng độ 0,5 - 2,0 mg/l, kết quả sau 6 tuần nuôi cấy cho thấy IBA ở khoảng nồng độ 0,5 - 1,0 mg/l cảm ứng hiệu quả tạo rễ đối với cây tiêu thảo lá nhẵn.



Hình 2. Hình thái của cây tiêu thảo lá nhẵn trong môi trường bổ sung IBA và NAA



Hình 3. Hình thái rễ của cây tiêu thảo lá nhẵn trong môi trường bổ sung IBA và NAA

(a: rễ bình thường; b: rễ bị phình to và co lại; c: mô sẹo từ gốc)

KẾT LUẬN

Để tạo nguồn mẫu *in vitro* cây tiêu thảo lá nhẵn, chất khử trùng thích hợp là $HgCl_2$ 0,1% trong thời gian 10 phút. Môi trường MS bổ sung 2,0 mg/l BA là môi trường thích hợp cho quá trình cảm ứng tạo chồi cây tiêu thảo lá nhẵn với số chồi hình thành là 3,8 chồi/mẫu sau 8 tuần nuôi cấy. Môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l IBA là môi trường thích hợp cho quá trình cảm ứng tạo rễ hiệu quả và tạo cây hoàn chỉnh với số mẫu trung bình là 5,9 rễ/mẫu (sau 6 tuần nuôi cấy).

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ kinh phí thực hiện nghiên cứu này (hợp đồng số 110/2019/HĐ-QPTKHCN ngày 24 tháng 12 năm 2019).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Dissanayake C, Hettiarachchi M, Iqbal MCM (2007). Sustainable use of *Cryptocoryne wendtii* and *Echinodorus cordifolius* in the aquaculture industry of Sri Lanka by micropropagation. *Sri Lanka J Aquat Sci* 1289.

Kane ME, Davis GL, McConnell DB, Gargiulo J.A. (1999). *In vitro* propagation of *Cryptocoryne wendtii*. *Aquat Bot* 63: 197.

- Kauth P, Kane ME, Vendrame U (2006). Greenhouse irrigation method influences growth and quality of *in vitro* propagated *Cryptocoryne wendtii* plantlets. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 87: 219.
- Murashige T, Skoog F (1962). *Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tiss.* *Plant Physiol* 15: 473-497.
- Nguyễn Hoàng Lộc (2007). *Giáo trình Nhập môn công nghệ sinh học.* Nhà xuất bản Đại học Huế.
- Stanly C, Bhatt A, Keng CL (2011). An efficient *in vitro* plantlet regeneration of *Cryptocoryne wendtii* and *Cryptocoryne beckettii* through shoot tip culture. *Acta Physiol Plant* 33: 619.
- Sundus U, Gurel T, Bulent Y, Meltem B, Aynur G (2019). Improved *in vitro* propagation and direct acclimatization of *Cryptocoryne wendtii* in aquarium in the presence of aquarium fish *Puntius tetrazona* (Bleeker), *Ind J Exper Biol* 57: 330-337.
- Wijesundara DSA, Shantha Siri IG (2004) Some Selected Aquatic Ornamental Plants of Sri Lanka. *National Science Foundation* 95.

ROLE OF PLANT GROWTH REGULATORS ON *INVITRO* CULTURES OF THE AQUATIC PLANT *Cryptocoryne wendtii*

Nguyen Thi Duoc^{*}, Dinh Ba Duy, Do Duc Thang, Tran Trong Tuan, Dang Thi Kim Thuy, Nguyen Thi Huyen Trang, Do Dang Giap

Institute of Tropical Biology - Vietnam Academy of Science and Technology

SUMMARY

Cryptocoryne wendtii is one of great importance aquatic plants. *Cryptocoryne wendtii* is a rhizomatous plant with a wide range of foliage colour and attractive shape. More than 20 species are being used for aquarium decorations in the world. Although *in vitro* propagation of *Cryptocoryne wendtii* had been reported in some countries in the world, there have been no research on *in vitro* propagation this plant in Vietnam. In this study, *Cryptocoryne wendtii* were cultured on MS culture medium that was supplemented with some plant growth regulator such as 6 benzylamino (BA); kinetin; indole butyric acid (IBA) and α - naphthaline acetic acid (NAA) to investigate morphogenesis. The study results showed that, rhizomes of *Cryptocoryne wendtii* were disinfected in HgCl₂ 0.1% for ten minutes have the best result. The MS medium supplemented with 2.0 mg/l BA were the most suitable medium for shoot multiplication of *Cryptocoryne wendtii* with highest mean number of shoots proliferated per single shoot explant (3,8) after 8 weeks. Mean number of roots induced per plant was highest in the MS medium supplemented with 0.5 mg/l IBA (5.9 roots per explants after 6 weeks).

Keywords: Plant growth regulators, *Cryptocoryne wendtii*, *in vitro* culture.

^{*} Author for correspondence: Tel: +84-0347491181; Email: duocnguyen.vn@gmail.com