

**NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA NANO SẮT
LÊN SỰ HÌNH THÀNH RỄ VÀ TẠO CÂY HOÀN CHỈNH
CỦA CÂY DÂU TÂY (*Fragaria x ananassa*),
SÂM NGỌC LINH (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.)
NUÔI CÂY *IN VITRO***

**Đỗ Mạnh Cường^{1,2}, Hà Thị Mỹ Ngân¹, Hoàng Thanh Tùng¹, Vũ Quốc Luận¹,
Vũ Thị Hiền¹, Trương Thị Bích Phượng², Dương Tấn Nhựt^{1*}**

¹Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

*Email: duongtannhut@gmail.com

Ngày nhận bài: 6/01/2020; ngày hoàn thành phản biện: 21/02/2020; ngày duyệt đăng: 02/7/2020

TÓM TẮT

Hiện nay, những tiến bộ về khoa học vật liệu đã tạo tiền đề để công nghệ nano có mặt trong nhiều lĩnh vực như vật lý, hoá học, sinh học. Trong đó, nano sắt đã trở thành một nguồn vật liệu mới được ứng dụng nhiều trong ngành sinh học nông nghiệp. Tuy nhiên, ảnh hưởng của nano sắt đến các loài thực vật đặc biệt là trong nuôi cấy mô thực vật vẫn chưa được nghiên cứu nhiều. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm thử nghiệm dùng vật liệu nano sắt thay thế cho Fe-EDTA trong quá trình ra rễ, sinh trưởng, phát triển của cây Dâu tây và sâm Ngọc Linh trong nuôi cấy *in vitro*. Các chỉ tiêu về tỷ lệ ra rễ, chiều cao cây, chiều rộng lá, số rễ, chiều dài rễ, trọng lượng tươi, trọng lượng khô và chỉ số SPAD được khảo sát. Kết quả cho thấy, nano sắt trong môi trường nuôi cấy ở nồng độ 1,4 mg/L cho sự ra rễ và sinh trưởng tốt nhất trên đối tượng Dâu tây, trong khi đối với sâm Ngọc Linh là 5,6 mg/L. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ, nano sắt lại gây ức chế và giảm sự sinh trưởng các loài cây trong nghiên cứu; cũng như thúc đẩy quá trình tạo phôi ở cây sâm Ngọc Linh.

Từ khoá: Dâu tây, hình thành rễ, *in vitro*, nano sắt, sâm Ngọc Linh.

1. MỞ ĐẦU

Sắt là một nguyên tố đã được chứng minh là rất cần thiết trong các quá trình sinh trưởng, phát triển và sinh sản của thực vật. Cụ thể, chúng được sử dụng cho hệ thống các enzyme để thực hiện phản ứng oxy hoá khử và chuỗi vận chuyển điện tử

trong cây; giúp tổng hợp chất diệp lục, duy trì cấu trúc của lục lạp. Ngoài ra, sắt cũng có vai trò điều hoà hô hấp, quang hợp, khử nitrat và sulfat [9]. Nhưng hiện nay, trong nuôi cấy mô tế bào thực vật, sắt chủ yếu được sử dụng dưới dạng chelate (Fe-EDTA). Fe-EDTA cho phép giải phóng từ từ và liên tục ion sắt vào môi trường nuôi cấy và hạn chế sự kết tủa của sắt thành dạng oxide. Tuy nhiên, Fe-EDTA thường ổn định ở mức pH dưới 6,0; nếu pH trên 6,5 thì khoảng 50% sắt không hiệu quả [1]. Thêm vào đó giá thành của EDTA tương đối cao dẫn đến chi phí sản xuất cây giống cũng gia tăng. Vì vậy, việc sử dụng sắt có tính tan cao thay thế cho dạng Fe-EDTA hiện tại là một trong những giải pháp tốt cho vấn đề này.

Trong lĩnh vực công nghệ nano, sắt đã được quan tâm nghiên cứu, vì nó có ứng dụng rất đa dạng trong sản xuất và đời sống như làm vật liệu chế tạo linh kiện điện tử và cảm biến; hay ứng dụng trong y học. Đặc biệt gần đây, nano sắt được sử dụng rất hiệu quả để xử lý nước và chất độc hại [19]. Bên cạnh đó, một số nghiên cứu đã được tiến hành như nghiên cứu của Zhu và cộng sự (2008) về sự hấp thu, vận chuyển và tích lũy của nano Fe_3O_4 trên cây bí ngô [11]; Trujillo-Reyes và cộng sự (2014) đã nghiên cứu về độc tính của nano sắt/ sắt oxide và đồng/ đồng oxide trên cây rau diếp [13]; hay nghiên cứu của Racuciu và Creagna (2006) về ảnh hưởng của nano sắt từ phủ tetramethylammonium hydroxide lên sự phát triển ở cây ngô [14]. Tuy nhiên, ảnh hưởng của nano sắt đến các loài thực vật đặc biệt là trong quá trình ra rễ và tạo cây con hoàn chỉnh vẫn còn rất hạn chế.

Tạo cây con hoàn chỉnh là giai đoạn rất quan trọng quyết định khả năng sống sót trong điều kiện *ex vitro*. Trong đó, Dâu tây (*Fragaria x ananassa*) thuộc họ Rosaceae là một trong những cây ăn trái quan trọng của thế giới, chứa nhiều khoáng chất cần thiết cho nhu cầu dinh dưỡng của con người. Dâu tây được trồng thương mại tại nhiều nước như Canada, Hoa Kỳ, Nhật Bản... Tại Việt Nam, Dâu tây được trồng chủ yếu ở Đà Lạt và một số địa điểm tại đồng bằng sông Hồng. Dâu tây có khả năng cung cấp 4 nhóm chất chính: vitamin (A, B1, B2); các chất khoáng (Ca, P, Fe...); amino acid (tryptophan, threonine, isoleucine...); chất béo (bão hoà, bão hoà đơn, bão hoà đa). Việc sử dụng Dâu tây hoặc các sản phẩm từ Dâu tây giúp cơ thể chống lại mệt mỏi, giảm stress, chữa các bệnh về răng lợi, tăng sức đề kháng, chống nhiễm trùng, chữa bệnh về tim mạch và giảm thiểu sự lão hóa cơ thể [2]. Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) thuộc họ Nhân sâm (Araliaceae) là một loài dược liệu quý hiếm và đặc hữu có trong sách đỏ Việt Nam, đang có nguy cơ bị tuyệt chủng cần được bảo tồn. Sâm Ngọc Linh chứa 52 loại saponin, 17 acid amin, 20 chất khoáng vi lượng, 0,1% tinh dầu. Nhờ chứa thành phần tự nhiên quý saponin, loài sâm này có tác dụng dược lý rất quan trọng, giúp tăng cường hệ miễn dịch và ngăn ngừa ung thư. Tại hội nghị quốc tế về sâm, sâm Ngọc Linh được xếp vào nhóm các loài sâm quý trên thế giới cùng với sâm Triều Tiên (*Panax ginseng*), sâm Mỹ (*Panax quinquefolium*) [6]. Chính vì

thế, trong nghiên cứu này, nano sắt được sử dụng để thay thế lượng Fe-EDTA trong môi trường nuôi cấy *in vitro* nhằm đánh giá hiệu quả ra rễ và tạo cây con hoàn chỉnh.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Nguồn mẫu

Chồi *in vitro* của các cây Dâu tây, sâm Ngọc Linh hiện có tại phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo giống cây trồng (Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên) được chọn làm nguồn mẫu ban đầu.

Vật liệu nano sắt

Nano sắt do Viện Công nghệ Môi trường (Số 18, Hoàng Quốc Việt, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội) cung cấp với các hạt nano có kích thước từ 20 – 60 nm, nồng độ 0,5 g/L.

Môi trường nuôi cấy

Môi trường nuôi cấy là môi trường MS [18] hoặc SH [16] và môi trường MS hoặc SH cải biên loại bỏ Fe-EDTA có bổ sung 30 g/L sucrose; 8,5 g/L agar; các chất điều hoà sinh trưởng và nano sắt với các nồng độ khác nhau được bổ sung vào môi trường nuôi cấy tùy theo từng thí nghiệm. Tất cả các môi trường nuôi cấy này được điều chỉnh về pH = 5,8; sau đó toàn bộ môi trường được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, áp suất 1 atm trong thời gian 20 phút.

Phương pháp

Hình thành rễ và tạo cây con hoàn chỉnh trên cây Dâu tây

Chồi Dâu tây 6 tuần tuổi có chiều cao khoảng 1,5 cm được cấy vào môi trường MS chứa 0,02 mg/L NAA, 30 g/L sucrose, 1 g/L than hoạt tính, 8,5 g/L agar [8] và nano sắt được thay thế với các nồng độ khác nhau (0; 0,7; 1,4; 2,8; 5,6; 11,2 mg/L). Mỗi thí nghiệm thực tiến hành trên 30 bình, mỗi bình cấy 5 chồi để nghiên cứu ảnh hưởng của nano sắt đến quá trình sinh trưởng, phát triển và tạo cây con hoàn chỉnh thông qua các chỉ tiêu theo dõi: tỷ lệ ra rễ (%), chiều cao cây (cm), số rễ, chiều dài rễ (cm), trọng lượng tươi (g), trọng lượng khô (mg), giá trị SPAD sau 4 tuần nuôi cấy.

Hình thành rễ và tạo cây con hoàn chỉnh trên cây sâm Ngọc Linh

Chồi sâm Ngọc Linh 6 tuần tuổi có chiều cao khoảng 3 cm được cấy vào môi trường SH chứa 1 mg/L NAA; 2 mg/L BA; 3 mg/L GA₃; 50 g/L sucrose và 8,5 g/L agar [12] và nano sắt được thay thế với các nồng độ khác nhau (0; 0,7; 1,4; 2,8; 5,6; 11,2 mg/L). Mỗi thí nghiệm thực tiến hành trên 30 bình, mỗi bình cấy 3 chồi. Các chỉ tiêu theo

dõi bao gồm: chiều cao cây (cm), chiều rộng lá (cm), số rễ, chiều dài rễ (cm), trọng lượng tươi (g), trọng lượng khô (g) nhằm nghiên cứu ảnh hưởng của nano sắt đến quá trình tạo cây con hoàn chỉnh sau 12 tuần nuôi cấy.

Điều kiện nuôi cấy

Các thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện *in vitro* ở nhiệt độ phòng $25 \pm 2^\circ\text{C}$, chu kỳ chiếu sáng 16 giờ/ngày, cường độ $40 - 45 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ dưới ánh sáng đèn huỳnh quang, độ ẩm trung bình 55 - 60%.

Xác định chỉ tiêu tăng trưởng

Chiều cao cây (cm) được xác định bằng cách đo chiều dài từ gốc đến phiến lá của lá đầu tiên; chiều dài rễ (cm) được xác định bằng cách đo chiều dài từ gốc đến chóp rễ; chiều rộng lá (cm) được xác định bằng cách đo đường kính lá, khối lượng tươi (g) được xác định bằng cách cân khối lượng cây tươi; khối lượng khô (mg) cân mẫu đã được xác định khối lượng tươi ở trên sấy ở nhiệt độ 60°C cho đến khi khối lượng không đổi; giá trị SPAD được xác định bằng cách đo hàm lượng diệp lục (chlorophyll) tổng bằng máy đo SPAD-502 (Minilta Co., Ltd., Japan).

Tỷ lệ ra rễ (%) = Số mẫu ra rễ $\times$ 100/ Tổng số mẫu cấy thí nghiệm

Xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Tất cả các số liệu sau khi thu thập ứng với từng chỉ tiêu theo dõi được xử lý bằng phần mềm MicroSoft Excel® 2017 và phần mềm phân tích thống kê SPSS 16.0 theo phương pháp Duncan's test với $\alpha = 0,05$ [5].

3. KẾT QUẢ

Hình thành rễ và tạo cây con hoàn chỉnh trên cây Dâu tây

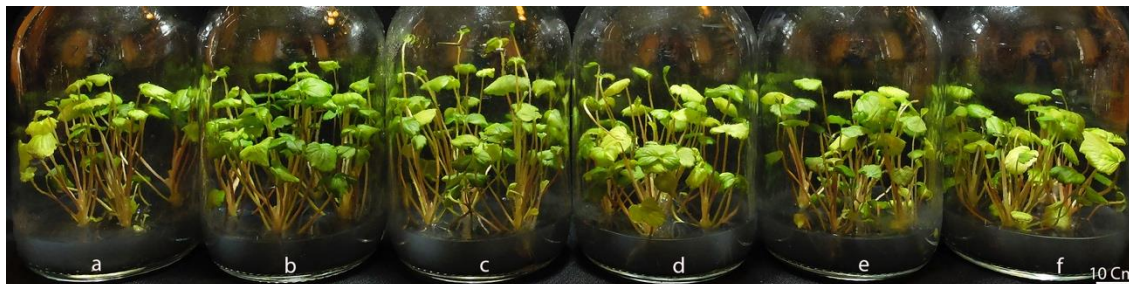
Giai đoạn ra rễ và hình thành cây con hoàn chỉnh là giai đoạn quan trọng trong quá trình vi nhân giống, quyết định hiệu quả của quá trình nhân giống *in vitro*. Sau 4 tuần nuôi cấy, các chỉ tiêu đánh giá ảnh hưởng của các nồng độ nano sắt khác nhau lên khả năng ra rễ, sinh trưởng và phát triển của cây con Dâu tây *in vitro* được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nano sắt lên sự hình thành rễ và tạo cây con hoàn chỉnh của chồi cây Dâu tây sau 4 tuần nuôi cấy*

Nồng độ (mg/L)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Chiều cao cây (cm)	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)	Trọng lượng tươi (g)	Trọng lượng khô (mg)	Giá trị SPAD
0,0**	71,11 ^{ab***}	3,90 ^b	3,00 ^{ab}	3,23 ^{ab}	0,34 ^b	40,18 ^c	27,73 ^b
0,7	56,67 ^b	5,56 ^{ab}	2,00 ^{ab}	3,60 ^{ab}	0,32 ^{bc}	72,68 ^b	25,32 ^{bc}
1,4	88,89 ^a	6,76 ^a	4,00 ^a	4,46 ^a	0,75 ^a	84,19 ^a	38,31 ^a

2,8	61,11 ^b	5,36 ^{ab}	2,66 ^{ab}	3,16 ^{ab}	0,37 ^b	76,61 ^{ab}	29,16 ^b
5,6	51,11 ^{bc}	4,10 ^b	2,33 ^{ab}	1,96 ^b	0,19 ^c	37,98 ^{cd}	24,11 ^{bc}
11,2	32,22 ^c	3,60 ^b	0,66 ^b	1,93 ^b	0,18 ^c	30,13 ^d	20,57 ^c

* Thí nghiệm sử dụng môi trường MS cải biên đã loại bỏ Fe-EDTA và bổ sung nano sắt, (**) riêng nghiệm thức đối chứng sử dụng MS bình thường có Fe-EDTA. (***) Những chữ cái khác nhau (a,b,c,...) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$ trong phép thử Duncan.



Hình 1. Ảnh hưởng của nano sắt ở các nồng độ khác nhau (a. 0,0; b. 0,7; c. 1,4; d. 2,8; e. 5,6; f. 11,2 mg/L) lên sự hình thành rễ và tạo cây con hoàn chỉnh của chồi Dầu tây sau 4 tuần nuôi cấy.

Theo quan sát, các chồi Dầu tây nuôi cấy trên môi trường bổ sung nano sắt có sự cảm ứng ra rễ khác nhau; cụ thể các chồi ở nghiệm thức thay thế Fe-EDTA bằng 1,4 mg/L nano sắt đã xuất hiện rễ sau tuần đầu tiên nuôi cấy, ở các nghiệm thức còn lại rễ bắt đầu xuất hiện ở tuần thứ 2; và các rễ này tiếp tục phát triển ở các tuần tiếp theo. Sau 4 tuần nuôi cấy kết quả thu được cho thấy, ở nghiệm thức thay thế 1,4 mg/L nano sắt cho tỷ lệ ra rễ đạt cao nhất đạt 88,89% so với nghiệm thức đối chứng đạt 71,11% (bảng 1).

Bên cạnh đó, khi thay thế một lượng nano sắt ở nồng độ thấp vào môi trường nuôi cấy (0,7 mg/L - bằng 1/8 lượng Fe-EDTA dùng trong môi trường đối chứng), kết quả ghi nhận ở tất cả các chỉ tiêu theo dõi cho thấy sự sinh trưởng và phát triển của cây Dầu tây rất thấp so với đối chứng, có hiện tượng vàng lá nhẹ (hình 1b); chứng tỏ với lượng nano sắt này không đáp ứng đủ trong giai đoạn ra rễ và sinh trưởng phát triển của cây Dầu tây. Nhưng khi nồng độ nano sắt trong môi trường nuôi cấy tăng lên, sự sinh trưởng và phát triển của Dầu tây *in vitro* tăng dần và đạt cao nhất ở nghiệm thức 1,4 mg/L nano sắt. Các chỉ tiêu như chiều cao cây (6,76 cm); số rễ (4,00); chiều dài rễ (4,46 cm); trọng lượng tươi (0,75 g); trọng lượng khô (84,19 mg) và giá trị SPAD (34,64) của nghiệm thức này đều cao nhất và khác biệt so với các nghiệm thức còn lại (bảng 1). Đặc biệt, cây Dầu tây sinh trưởng trên môi trường này có thân to, lá sáng bóng, có màu xanh đậm được phủ bởi một lớp lông dày đặc (hình 1c). Khi tăng nồng độ nano sắt lên đến 2,8; 5,6 và 11,2 mg/L, sự sinh trưởng và phát triển của cây giảm dần, có hiện tượng vàng lá rất rõ rệt nhất là ở phần mép lá và phần phiến lá nằm giữa các gân lá xanh (hình 1d,e,f). Điều này có thể do có một lượng nano sắt dư thừa bám ở bề mặt lông hút

của rễ ảnh hưởng đến quá trình hấp thu nano sắt. Đặc biệt, ở nghiệm thức thay thế Fe-EDTA bằng 11,2 mg/L nano sắt có hệ rễ ngắn nhất và xuất hiện nhiều lông hút hơn tất cả các nghiệm thức khác. Như vậy, thiếu hụt hay dư thừa sắt đều ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng của cây với biểu hiện vàng lá. Tóm lại, khi thay thế Fe-EDTA bằng 1,4 mg/L nano sắt cho quá trình ra rễ và sinh trưởng phát triển tốt nhất ở cây Dâu tây nuôi cấy *in vitro*.

Hình thành rễ và tạo cây con hoàn chỉnh trên cây sâm Ngọc Linh

Các nồng độ nano sắt khác nhau sẽ ảnh hưởng khác nhau lên sự sinh trưởng và phát triển của chồi sâm Ngọc Linh nuôi cấy *in vitro*. Kết quả ghi nhận sau 12 tuần nuôi cấy được chỉ ra ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nano sắt lên sự hình thành rễ và tạo cây con hoàn chỉnh của chồi sâm Ngọc Linh sau 12 tuần nuôi cấy*

Nồng độ (mg/L)	Chiều cao cây (cm)	Chiều rộng lá (cm)	Số rễ	Chiều dài rễ (cm)	Trọng lượng tươi (g)	Trọng lượng khô (g)	Giá trị SPAD
0,0**	3,93 ^{bc***}	1,13 ^{ab}	2,66 ^{bc}	2,00 ^c	0,86 ^{bc}	0,43 ^b	18,90 ^{ab}
0,7	5,16 ^{ab}	0,56 ^d	4,33 ^{ab}	3,36 ^{ab}	0,76 ^{bc}	0,39 ^b	14,13 ^b
1,4	5,33 ^{ab}	0,96 ^{bc}	5,33 ^a	4,13 ^{ab}	1,11 ^{abc}	0,46 ^{ab}	15,90 ^b
2,8	6,56 ^a	0,7 ^{cd}	3,66 ^{ab}	3,50 ^{ab}	1,20 ^{ab}	0,49 ^{ab}	17,03 ^{ab}
5,6	4,26^{bc}	1,4^a	5,00^a	4,43^a	1,32^a	0,66^a	21,76^a
11,2	2,93 ^c	0,43 ^d	2,33 ^c	2,90 ^{bc}	0,73 ^c	0,49 ^{ab}	9,60 ^c

* Thí nghiệm sử dụng môi trường MS cải biên đã loại bỏ Fe-EDTA và bổ sung nano sắt, (**) riêng nghiệm thức đối chứng sử dụng MS bình thường có Fe-EDTA. (***) Những chữ cái khác nhau (a,b,c,...) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$ trong phép thử Duncan.



Hình 2. Ảnh hưởng của nano sắt ở các nồng độ khác nhau (a. 0,0; b. 0,7; c. 1,4; d. 2,8; e. 5,6; f. 11,2 mg/L) lên sự hình thành rễ và tạo cây con hoàn chỉnh của chồi sâm Ngọc Linh sau 12 tuần nuôi cấy.

Sau 4 tuần nuôi cấy cho thấy rễ hình thành hầu hết ở tất cả các nghiệm thức thay thế nano sắt, ở nghiệm thức đối chứng ghi nhận sự hình thành rễ ở tuần thứ 6. Số

liệu thu được sau 12 tuần nuôi cấy cho thấy rễ được hình thành ở hầu hết các nghiệm thức (hình 2), các chỉ tiêu theo dõi như: chiều rộng lá, chiều dài rễ, trọng lượng tươi, trọng lượng khô, giá trị SPAD của nghiệm thức thay thế 5,6 mg/L nano sắt (1,4 cm; 4,43 cm; 1,32 g; 0,66 g; 21,76) cao hơn đáng kể so với đối chứng (1,13 cm; 2 cm; 0,86 g; 0,43 g; 18,90) và các nghiệm thức thay thế nano sắt còn lại (bảng 2). Đối với chỉ tiêu chiều cao cây ở nghiệm thức được thay thế bằng 2,8 mg/L nano sắt (6,56 cm) tỏ ra vượt trội hơn các nghiệm thức còn lại, nhưng các cây này có hiện tượng mọng nước ở thân (hình 2d). Ở nghiệm thức thay thế bằng 1,4 mg/L nano sắt có số rễ đạt cao nhất, nhưng các rễ này phát triển không đồng đều, giòn, dễ bị đứt gãy khi có tác động cơ học (hình 2c). Bên cạnh đó, ở tất cả các nghiệm thức thay thế bằng nano sắt đều xuất hiện các mô phôi tròn, nhỏ ở gốc cây; riêng ở nghiệm thức được thay thế bằng 11,2 mg/L nano sắt kết quả ghi nhận sự hình thành phôi nhiều nhất (Hình 2f) và không tạo được cây con hoàn chỉnh do phần thân đã bị rui và tập trung cho quá trình tạo phôi, nên kết quả thu được chiều cao cây chỉ đạt 2,93 cm (bảng 2). Về hình thái, những cây sinh trưởng trong môi trường được thay thế bằng 5,6 mg/L nano sắt có cuống lá to, lá mở rộng, có màu xanh đậm (hình 2e) so với các nghiệm thức khác có cuống lá nhỏ, lá mỏng, có màu xanh nhạt (hình 2a,b,c,d). Như vậy, việc thay thế Fe-EDTA bằng 5,6 mg/L nano sắt đạt hiệu quả cao nhất trong giai đoạn ra rễ và hình thành cây hoàn chỉnh trong vi nhân giống sâm Ngọc Linh.

4. THẢO LUẬN

Trong những nghiên cứu trước đây, các chất auxin thường được sử dụng cho quá trình ra rễ và hình thành cây con hoàn chỉnh. Trong khi đó ảnh hưởng của các thành phần kim loại như sắt hoặc nano sắt chưa có nhiều nghiên cứu.

Năm 2016 Martínez-Fernández và cộng sự đã báo cáo về sự sụt giảm các nguyên tố đa lượng (Ca, K, Mg và S) khi nghiên cứu tác động của nano sắt lên cây hoa hướng dương. Hiện tượng này là do các hạt nano sắt với kích thước lớn bao phủ xung quanh bề mặt rễ ngăn cản sự hấp thu nước của cây trồng từ rễ, dẫn đến giảm khả năng hấp thụ các chất dinh dưỡng hoà tan trong nước. Kết quả làm giảm hàm lượng chlorophyll ở lá [4]. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của Trujillo-Reyes và cộng sự (2014), Wang và cộng sự (2011) khi nghiên cứu sự hấp thu nano sắt trên cây rau diếp, lúa [10, 13]. Ngược lại, cũng có nhiều nghiên cứu cho thấy nếu các hạt nano có kích thước nhỏ hơn 50 nm thì chúng có thể được hấp thu và vận chuyển dễ dàng trong cây [3, 7, 15].

Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng các hạt nano sắt có kích thước từ 20 – 60 nm. Khi các chồi Dầu tây và sâm Ngọc Linh được nuôi cấy trên môi trường MS cải biên ở nồng độ nano sắt thấp hoặc quá cao có hiện tượng vàng lá. Đây là hiện tượng đặc trưng chứng tỏ cây bị thiếu hụt sắt hoặc dư thừa sắt đã được Eskandari (2011) mô

tả khi nghiên cứu về vai trò và cơ chế hấp thu sắt của thực vật [9]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy nano sắt có ảnh hưởng đến hình thái rễ của cây Dâu tây nuôi cấy *in vitro*, cụ thể là rễ xuất hiện nhiều lông hút. Điều này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của Giordani và cộng sự (2012) trên cây cà chua nuôi cấy thủy canh trong môi trường có bổ sung 500 mg/L TiO_2 ở dạng nano [17]. Tác giả giải thích rằng sự phân bố của nano TiO_2 trên bề mặt rễ làm giảm sự hấp thu nước và chất dinh dưỡng của rễ; từ đó rễ xuất hiện nhiều lông hút nhằm mục đích cải thiện khả năng hấp thu dinh dưỡng của cây. Một điều đáng lưu ý là nồng độ nano sắt sử dụng trong nghiên cứu này, ở nồng độ cao sẽ gây ức chế đến hệ rễ và sự sinh trưởng, phát triển của cây Dâu tây; hoặc thúc đẩy quá trình tạo phôi ở sâm Ngọc Linh. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Racuciu và Creagna (2006) về ảnh hưởng của nano sắt phủ tetramethyl ammonium hydroxide lên sự phát triển ở cây ngô. Kết quả cho thấy ở nồng độ cao (100 – 250 $\mu\text{L/L}$), dung dịch nano sắt này làm giảm hàm lượng chlorophyll a [14].

Thiếu sắt ảnh hưởng nhiều đến quá trình tổng hợp diệp lục tố cũng như hệ thống các enzyme trong phản ứng oxy hoá khử và chuỗi vận chuyển điện tử [9]. Vì sắt là nguyên tố đóng vai trò chính trong các quá trình, nên nano sắt có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của các chồi Dâu tây và sâm Ngọc Linh trong nghiên cứu này. Một điểm đáng chú ý là hàm lượng nano sắt ở nghiệm thức thay thế Fe-EDTA bằng 1,4 mg/L nano sắt có hiệu quả đáng kể đến quá trình ra rễ và sinh trưởng phát triển của cây Dâu tây nuôi cấy *in vitro*. Mặt khác, trên cây sâm Ngọc Linh ở nghiệm thức thay thế Fe-EDTA bằng 5,6 mg/L nano sắt đạt hiệu quả cao lên quá trình ra rễ và tạo cây con hoàn chỉnh. Điều này có thể thấy ở các đối tượng khác nhau thì nhu cầu hấp thu sắt trong quá trình phát triển sẽ khác nhau; thường phụ thuộc vào kiểu gene hoặc chu kỳ sinh trưởng của từng loài. Đối với những loài có chu kỳ sinh trưởng ngắn như Dâu tây thì chỉ cần một lượng nano sắt bằng $\frac{1}{4}$ so với lượng Fe-EDTA trong môi trường đối chứng cũng đã đáp ứng đủ nhu cầu sinh trưởng và phát triển của thực vật, giúp tiết kiệm được chi phí trong sản xuất. Ở cây sâm Ngọc Linh có chu kỳ sinh trưởng dài hơn thì cần một lượng nano sắt lớn hơn nên cần thay thế một lượng nano sắt tương đương (5,6 mg/L) với lượng Fe-EDTA trong môi trường đối chứng. Kết quả cho thấy các cây này sinh trưởng, phát triển tốt hơn so với cây đối chứng.

5. KẾT LUẬN

Khi tiến hành thay thế Fe-EDTA bằng nano sắt ở các nồng độ khác nhau trên đối tượng Dâu tây và sâm Ngọc Linh, kết quả thu được như sau. Ở cây Dâu tây với nồng độ nano sắt thấp (0,7 mg/L) gây ra hiện tượng vàng lá nhẹ, là biểu hiện của sự thiếu sắt. Khi tăng nồng độ nano sắt lên đến 2,8; 5,6 và 11,2 mg/L, sự sinh trưởng và phát triển của cây này giảm dần, có hiện tượng vàng lá rất rõ rệt, là biểu hiện của hiện tượng dư sắt. Trong khi đó, ở nồng độ 1,4 mg/L nano sắt cho hiệu quả tốt nhất trong

quá trình ra rễ và hình thành cây hoàn chỉnh. Đối với sâm Ngọc Linh, ở tất cả các nghiệm thức thay thế bằng nano sắt đều xuất hiện các mô phôi; riêng ở nghiệm thức được thay thế bằng 11,2 mg/L nano sắt có sự hình thành phôi nhiều nhất và không tạo được cây con hoàn chỉnh. Mặt khác, nano sắt ở nồng độ 5,6 mg/L cho hiệu quả cao trong quá trình ra rễ và hình thành cây con hoàn chỉnh trên đối tượng này.

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành nghiên cứu này, nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự tài trợ kinh phí của đề tài “Nghiên cứu tác động của nano kim loại lên khả năng tái sinh, sinh trưởng, phát triển và tích lũy hoạt chất trong quá trình nhân giống một số cây trồng có giá trị cao ở Việt Nam” thuộc hợp phần: “Nghiên cứu cơ chế tác động và đánh giá an toàn sinh học của các chế phẩm nano được nghiên cứu trong dự án”, mã số: VAST.TĐ.NANO.04/15-18.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. A. Slater, N.W. Scott, M.R. Fowler (2003). “Chaper 2: Plant tissue culture”, *Plant Biotechnology Oxford: the genetic manipulation of plants*, Oxford University, pp. 41.
- [2]. Agriculture United States Department of (1999). *Crop Profile for Strawberries in California*, U.S. Department of Agriculture, Pest Management Centers.
- [3]. C. Ma, S. Chhikara, B. Xing, C. Musante, J.C. White, O.P. Dhankher (2013). Physiological and molecular response of *Arabidopsis thaliana* (L.) to nanoparticle cerium and indium oxide exposure, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1(7), pp. 768-778.
- [4]. D. Martínez-Fernández, D. Barroso, M. Komárek (2016). Root water transport of *Helianthus annuus* L. under iron oxide nanoparticle exposure, *Environmental Science and Pollution Research*, 23(2), pp. 1732-1741.
- [5]. D.B. Duncan (1955). Multiple ranges and multiple F test, *Biometrics*, 11(1), pp. 1-42.
- [6]. D.N. Phai, N.N. Chinh, N.M. Duc, T.T.V. Cam, L.T. Trung, N.M. Cang (2002). Cultivation and development of Vietnamese ginseng and preliminary results of the study on cultivated Vietnamese ginseng, *Tạp chí Y học Thành Phố Hồ Chí Minh*, 6(1), pp. 12-18.
- [7]. E. Corredor, P.S. Testillano, M.J. Coronado, P. González-Melendi, R. Fernández-Pacheco, C. Marquina, M.R. Ibarra, M. de-la-Fuente J., D. Rubiales, A. Pérez-de-Luque (2009). Nanoparticle penetration and transport in living pumpkin plants: *in situ* subcellular identification, *BMC Plant Biology*, 9(1), pp. 45-56.
- [8]. F. Haddadi, M.A. Aziz, G. Saleh, A.A. Rashid, H. Kamaladini (2010). Micropropagation of Strawberry cv. Camarosa: Prolific shoot regeneration from *in vitro* shoot tips using Thidiazuron with N6-benzylamino-purine, *HortScience*, 45(3), pp. 453-456.
- [9]. H. Eskandari (2011). The importance of iron (Fe) in plant products and mechanism of its uptake by plants, *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 1(10), pp. 448-452.

- [10]. H. Wang, X. Kou, Z. Pei, J.Q. Xiao, X. Shan, B. Xing (2011). Physiological effects of magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles on perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and pumpkin (*Cucurbita mixta*) plants, *Nanotoxicology*, 5(1), pp. 30-42.
- [11]. H. Zhu, J. Han, J.Q. Xiao, Y. Jin (2008). Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants, *Journal of Environmental Monitoring*, 10(6), pp. 713-717.
- [12]. Hoàng Xuân Chiến, Ngô Thành Tài, Nguyễn Bá Trực, Trần Xuân Tình, Lâm Bích Thảo, Trần Công Luận, Dương Tấn Nhựt (2011). Nghiên cứu một số yếu tố tạo củ sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) *in vitro* và xác định hàm lượng saponin trong cây tạo từ củ trồng thử nghiệm ở núi Ngọc Linh, *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 9(3), pp. 325-339.
- [13]. J. Trujillo-Reyes, S. Majumdar, C.E. Botez, J.R. Peralta-Videa, J.L. Gardea-Torresdey (2014). Exposure studies of core-shell $\text{Fe}/\text{Fe}_3\text{O}_4$ and Cu/CuO NPs to lettuce (*Lactuca sativa*) plants: are they a potential physiological and nutritional hazard?, *Journal of Hazardous Materials*, 267(1), pp. 255-263.
- [14]. M. Racuciu, D.E. Creanga (2007). TMA-OH coated magnetic nanoparticles internalized in vegetal tissue, *Romanian Journal of Physics*, 52(3), pp. 395-402.
- [15]. P. González-Melendi, R. Fernández-Pacheco, M.J. Coronado, E. Corredor, P.S. Testillano, M.C. Risueño, C. Marquina, M.R. Ibarra, D. Rubiales, A. Pérez-de-Luque (2007). Nanoparticles as smart treatment-delivery systems in plants: assessment of different techniques of microscopy for their visualization in plant tissues, *Annals of Botany*, 101(1), pp. 187-195.
- [16]. R.U. Schenk, A.C. Hildebrandt (1972). Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures, *Canadian Journal of Botany*, 50(1), pp. 199-204.
- [17]. T. Giordani, A. Fabrizi, L. Guidi, L. Natali, G. Giunti, F. Ravasi, A. Cavallini, A. Pardossi (2012). Response of tomato plants exposed to treatment with nanoparticles, *EQA-International Journal of Environmental Quality*, 8(8), pp. 27-38.
- [18]. T. Murashige, F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures, *Physiologia Plantarum*, 15(3), pp. 473-497.
- [19]. W.X. Zhang (2003). Nanoscale iron particles for environmental remediation: an overview, *Journal of Nanoparticle Research*, 5(3), pp. 323-332.

**EFFECTS OF NANO IRON ON ROOT AND PLANTLET FORMATION
OF STRAWBERRY (*Fragaria x ananassa*), NGOC LINH GINSENG
(*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) CULTURED *IN VITRO***

**Do Manh Cuong^{1,2}, Ha Thi My Ngan¹, Hoang Thanh Tung¹, Vu Quoc Luan¹,
Vu Thi Hien¹, Truong Thi Bich Phuong², Duong Tan Nhut^{1*}**

¹Tay Nguyen Institute for Scientific Research, VAST

²University of Sciences, Hue University

*Email: duongtannhut@gmail.com

ABSTRACT

Nowadays, materials science advances give a base for nanotechnology to exist in various fields such as physics, chemistry, biology. Nano iron has become a new material applied in many agriculture biology sectors. The effects of nano iron on plants, particularly in tissue culture, however, have not been much studied. Therefore, this study was conducted with the aim of replacing of nano iron for Fe-EDTA in root formation and plantlet growth of strawberry and Ngoc Linh ginseng cultured *in vitro*. In this research, root generation rate, plantlet height, leaves width, root number, root length, fresh weight, dry weight and SPAD index were investigated. The results showed that nano iron with concentration 1.4 mg/L in culture medium had the best effect on root generation and Strawberry growth, while this number was 5.6 mg/L on Ngoc Linh ginseng. However, when increasing the concentration, nano iron inhibited and decreased the growth of these plantlets as well as promoted embryogenesis on Ngoc Linh ginseng.

Keywords: Strawberry, root formation, *in vitro*, nano iron, Ngoc Linh ginseng.



Đỗ Mạnh Cường sinh ngày 29/10/1990. Ông tốt nghiệp đại học năm 2014 ngành Công nghệ Sinh học tại Trường Đại học Yersin Đà Lạt. Hiện tại, ông đang công tác tại Phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo giống cây trồng, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm Khoa học Công Nghệ Việt Nam.

Lĩnh vực nghiên cứu: Công nghệ Sinh học.



Hà Thị Mỹ Ngân sinh năm 1988. Bà tốt nghiệp đại học năm 2011 ngành Công nghệ Sinh học tại Trường Đại học Đà Lạt. Năm 2014, bà tốt nghiệp cao học ngành Sinh học Thực nghiệm tại Trường Đại học Đà Lạt. Hiện tại, bà đang công tác tại Phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo giống cây trồng, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm Khoa học Công Nghệ Việt Nam.

Lĩnh vực nghiên cứu: Công nghệ Sinh học.



Hoàng Thanh Tùng sinh ngày 26/03/1989 tại Quảng Bình. Ông tốt nghiệp cử nhân ngành Sinh học, Ngôn ngữ Anh và thạc sĩ chuyên ngành Sinh học thực nghiệm tại Đại học Đà Lạt. Ông nhận học vị tiến sĩ chuyên ngành Sinh lý thực vật tại Đại học Khoa học, Đại học Huế. Hiện nay, ông là nghiên cứu viên, Phòng Sinh học phân tử và Chọn tạo giống cây trồng, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

Lĩnh vực nghiên cứu: Công Nghệ Sinh học Thực vật; Công nghệ thủy canh...



Vũ Quốc Luận sinh năm 1977. Ông tốt nghiệp đại học năm 2004 ngành Sinh học tại trường Đại học Đà Lạt. Năm 2009, ông tốt nghiệp cao học ngành Sinh học Thực nghiệm tại trường Đại học Đà Lạt. Năm 2017, ông tốt nghiệp tiến sĩ ngành khoa học cây trồng tại Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền nam. Hiện tại, ông đang công tác tại Phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo giống cây trồng, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm Khoa học Công Nghệ Việt Nam.

Lĩnh vực nghiên cứu: Công nghệ Sinh học.



Vũ Thị Hiền sinh năm 1979. Bà tốt nghiệp đại học năm 2005 ngành Sinh học tại trường Đại học Đà Lạt. Năm 2012, bà tốt nghiệp cao học ngành Sinh học Thực nghiệm tại trường Đại học Đà Lạt. Năm 2019, bà tốt nghiệp tiến sĩ ngành Sinh lý Thực vật tại Học viện Khoa học Công nghệ Việt Nam. Hiện tại, bà đang công tác tại Phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo giống cây trồng, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam.

Lĩnh vực nghiên cứu: Công nghệ Sinh học.



Trương Thị Bích Phượng sinh ngày 19/07/1964 tại Quảng Ngãi. Bà tốt nghiệp cử nhân ngành Sinh học năm 1989 và thạc sĩ chuyên ngành Sinh học tại Đại học Khoa học, Đại học Huế vào năm 1995. Bà nhận học vị tiến sĩ năm 2004 tại Đại học Huế và học hàm phó giáo sư vào năm 2009. Hiện nay, bà giảng dạy tại Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Gây tạo đột biến và chọn giống cây trồng đột biến, Nuôi cấy mô tế bào thực vật, Biến dị dòng soma, Nghiên cứu hình thái, sinh lý và hóa sinh của cây trồng chịu hạn, Nghiên cứu tính kháng bệnh ở cây trồng, Nghiên cứu đa dạng di truyền.



Dương Tấn Nhựt sinh ngày 06/04/1967 tại Khánh Hòa. Ông tốt nghiệp cử nhân ngành Sinh học năm 1991 tại Đại học Đà Lạt; thạc sĩ chuyên ngành Công nghệ Sinh học Thực vật tại Đại học Kagawa (Nhật Bản) vào năm 1999; nhận học vị tiến sĩ năm 2002 tại Đại học Kagawa (Nhật Bản); nhận học hàm phó giáo sư năm 2009 và giáo sư năm 2018. Ông hiện đang giữ chức vụ Phó Viện trưởng của Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên (VAST).

Lĩnh vực nghiên cứu: Công nghệ sinh học thực vật.

