



TẠO NGUỒN MẪU *IN VITRO* CHO GIỐNG CHANH DÂY TÍM (*Passiflora edulis Sims.*) VÀ VÀNG (*Passiflora edulis f. flavicarpa*)

Trần Hiếu^{1,2,3}, Hoàng Thanh Tùng¹, Cao Đăng Nguyên², Dương Tấn Nhựt^{1*}

¹ Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,
116 Xô Viết Nghệ Tĩnh, Đà Lạt, Lâm Đồng, Việt Nam

² Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, 77 Nguyễn Huệ, Huế, Thừa Thiên Huế, Việt Nam

³ Trường Cao đẳng Sư phạm Ninh Thuận, 08 Yên Ninh, Khánh Hải, Ninh Hải, Ninh Thuận, Việt Nam

Tóm tắt. Việc lựa chọn nguồn mẫu ban đầu và phương pháp khử trùng mẫu phù hợp là bước quan trọng quyết định đến sự thành công của cả quy trình nhân giống. Trong nghiên cứu này, nguồn mẫu *ex vitro* (chồi đỉnh, đốt thân và đoạn thân) của giống chanh dây tím và vàng được sử dụng làm vật liệu nuôi cấy ban đầu và được khử trùng bằng các chất khử trùng khác nhau (NaOCl, HgCl₂ và nano bạc) ở nồng độ và thời gian xử lý khác nhau nhằm tạo nguồn mẫu *in vitro* của 2 giống chanh dây phục vụ cho các nghiên cứu sau này. Sau 8 tuần nuôi cấy, kết quả cho thấy mẫu đốt thân của 2 giống chanh dây được khử trùng bằng nano bạc (0,1 %) trong thời gian 15 phút cho hiệu quả khử trùng cao nhất với giống tím là 68,33 % và giống vàng là 66,67 %; hệ số tái sinh chồi cũng đạt cao nhất với giống tím là 2,73 chồi và giống vàng là 2,67 chồi và các chỉ tiêu này cũng lớn hơn đáng kể so với các nghiệm thức khác khi khử trùng bằng NaOCl và HgCl₂. Bên cạnh đó, sự phát sinh hình thái (chồi, mô sẹo) từ mẫu đoạn thân có sự khác biệt rõ rệt giữa 2 giống chanh dây; hầu hết các mẫu đoạn thân của giống tím hình thành mô sẹo, trong khi đó ở giống vàng lại hình thành chồi. Ngoài ra, nano bạc còn có tác dụng trong việc kích thích sự nhân nhanh chồi của giống chanh dây tím và vàng.

Từ khóa: chồi đỉnh, đoạn thân, đốt thân, nhân chồi, *Passiflora edulis*

1 Mở đầu

Chanh dây (Passion fruit) có nguồn gốc từ Nam Mỹ (Brazil), thuộc họ Passifloraceae và được trồng chủ yếu ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Chanh dây nổi bật không chỉ bởi mùi vị thơm ngon và hương thơm dễ chịu của nó mà nó còn cho giá trị dinh dưỡng cao cũng như khả năng chữa một số bệnh như: đái tháo đường, an thần, co giật, tim mạch, viêm xương khớp, hen suyễn... [28]. Chính vì vậy, chanh dây được trồng thương mại và mang lại hiệu quả kinh tế cao ở một số quốc gia như Thái Lan, Úc, Nam Phi và Việt Nam. Trong số những loài chanh dây, có 2 giống phổ biến nhất là giống chanh dây tím (*Passiflora edulis Sims.*) và giống chanh dây vàng (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) [18].

* Liên hệ: duongtannhut@gmail.com

Phần lớn giống chanh dây thương mại trên thế giới được nhân giống bằng hạt, điều đó gây ra những vấn đề không mong muốn như giống dễ bị thoái hóa, không đồng nhất về mặt di truyền ở cây giống... Bên cạnh đó, phương pháp nhân giống bằng giâm hom và ghép cành đôi khi cũng được thực hiện; tuy nhiên, những phương pháp này có nguy cơ lây nhiễm virus gây bệnh [13]. Trong khi đó, vi nhân giống mang lại nhiều thuận lợi như nhân nhanh với số lượng lớn, đồng nhất và tạo cây con sạch bệnh [3, 6].

Vi nhân giống bao gồm nhiều giai đoạn khác nhau: lựa chọn nguồn mẫu, thiết lập nguồn mẫu vô trùng, nhân giống, ra rễ và thích nghi của cây con. Trong đó, khử trùng mẫu trong giai đoạn thiết lập nguồn mẫu vô trùng là bước quan trọng và quyết định đến sự thành công của cả quy trình nhân giống. Khử trùng mẫu được thực hiện khi mẫu được khử nhiễm trong chất khử trùng mà không làm chết tế bào thực vật trước khi nuôi cấy. Những chất khử trùng trong nhân giống được sử dụng phổ biến hiện nay là NaOCl, Ca(ClO)₂, HgCl₂, AgNO₃ [10, 25]. Nano bạc là một trong những loại nano kim loại được ứng dụng rộng rãi trong lĩnh vực nuôi cấy mô thực vật và được biết đến như là một chất có khả năng diệt khuẩn có hiệu quả [1] bởi tính ưu việt của chúng như: tăng hiệu quả tiếp xúc bề mặt nên ion dễ dàng bám dính xâm nhập vào tế bào vi sinh vật hay thực vật hơn, dễ dàng di chuyển trong thực vật giúp chúng nhanh chóng được hấp thu và cho hiệu quả cao hơn; vì vậy, nano bạc trong những năm gần đây đã được ứng dụng nhiều để nghiên cứu khả năng khử khuẩn trên nhiều đối tượng khác nhau [7, 14, 24]. Phương pháp khử trùng khác nhau sẽ được thay đổi để phù hợp với từng loài hay từng loại mẫu (thân, lá, rễ) nhằm đảm bảo hiệu quả cao nhất trong giai đoạn thiết lập nguồn mẫu ban đầu. Mỗi vật liệu thực vật có mức độ nhiễm bề mặt khác nhau, phụ thuộc vào môi trường sinh trưởng, tuổi và bộ phận của cây được dùng cho vi nhân giống [10]. Vì vậy, việc loại bỏ vi sinh vật ra khỏi nguồn mẫu là cần thiết và rất khó để có được vật liệu thực vật hoàn toàn vô trùng [16].

Các nghiên cứu nuôi cấy mô liên quan đến chi *Passiflora* đã bắt đầu từ những năm 1960, và kể từ đó, một số nghiên cứu về nhân giống và tái sinh trên đối tượng chanh dây đã được báo cáo [17, 18, 20, 27]. Tuy nhiên, những nghiên cứu về nguồn mẫu và chất khử trùng ở đối tượng này thì còn rất hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu về vai trò của nguồn mẫu và chất khử trùng đến giai đoạn tạo mẫu *in vitro* được thực hiện nhằm xác định loại mẫu, loại chất khử trùng và thời gian khử trùng hiệu quả nhất cho các nghiên cứu nhân giống cũng như hướng đến việc sản xuất giống thương mại trên hai giống chanh dây tím và vàng là rất cần thiết.

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Vật liệu

Nguồn mẫu: Nguồn mẫu sử dụng trong nghiên cứu này bao gồm chồi đỉnh, đốt thân và đoạn thân *ex vitro* của giống chanh dây tím và vàng 2 tháng tuổi hiện có tại xã Phi Liêng, huyện Đam Rông, tỉnh Lâm Đồng.

Vật liệu nano: Dung dịch nano bạc với các hạt nano bạc có kích thước trung bình ≤ 20 nm do Viện Công nghệ Môi trường (Viện Hàn Lâm Khoa Học và Công Nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội) cung cấp với nồng độ 500 ppm [2] được pha thành các nồng độ khác nhau: 0,05 %, 0,1 %, 0,15 % để khử trùng mẫu.

Môi trường nuôi cấy: Môi trường tái sinh chồi: môi trường MS cơ bản [12] có bổ sung 2,0 mg/L BA, 30 g/L sucrose và 8 g/L agar [22]; môi trường nhân nhanh chồi: môi trường MS cơ bản có bổ sung 1,0 mg/L BA, 1,0 mg/L Kinetin, 30 g/L sucrose và 8 g/L agar [23]; tất cả môi trường được điều chỉnh về pH 5,7–5,8 trước khi hấp khử trùng bằng autoclave ở 121 °C, 1 atm trong 30 phút.

2.2 Phương pháp

Phương pháp bố trí thí nghiệm:

Khảo sát vai trò của chất khử trùng và nguồn mẫu lên sự tái sinh chồi in vitro của giống chanh dây tím và vàng: Nguồn mẫu (chồi đỉnh, đốt thân và đoạn thân) được thu nhận từ những cây khỏe mạnh ngoài tự nhiên và rửa dưới vòi nước chảy trong 10 phút. Sau đó, mẫu được ngâm trong xà phòng (0,01 %) 10 phút và rửa lại bằng nước máy 3 lần. Trước khi đưa mẫu vào phòng cấy, mẫu được rửa sạch bằng nước cất vô trùng. Trong tủ cấy, mẫu được rửa với nước cất vô trùng 3 lần, mỗi lần 5 phút. Tiếp theo, mẫu được khử trùng sơ bộ bằng cồn 70 % trong 30 giây, rồi rửa lại bằng nước cất vô trùng 3 lần. Tiếp đó, mẫu được khử trùng bằng HgCl₂, NaOCl và nano bạc có bổ sung vài giọt Tween-80, với nồng độ và thời gian khác nhau tùy từng nghiệm thức (Bảng 1). Cuối cùng, mẫu được rửa lại 5 lần bằng nước cất vô trùng trước khi cấy mẫu vào môi trường.

Bảng 1. Các chất khử trùng được sử dụng trong việc khử trùng mẫu với nồng độ và thời gian khác nhau

Chất khử trùng	Nồng độ (%)	Thời gian (phút)	Kí hiệu nghiệm thức
NaOCl	0,5	10, 15, 20	N1, N2, N3
	1,0	10, 15, 20	N4, N5, N6
	1,5	10, 15, 20	N7, N8, N9
HgCl ₂	0,05	2, 5, 8	N10, N11, N12
	0,1	2, 5, 8	N13, N14, N15
	0,15	2, 5, 8	N16, N17, N18
Nano bạc	0,05	10, 15, 20	N19, N20, N21
	0,1	10, 15, 20	N22, N23, N24
	0,15	10, 15, 20	N25, N26, N27

Mẫu sau khi khử trùng được chia thành 3 loại: đốt thân, đoạn thân và chồi đỉnh với kích thước 1 cm và cấy vào môi trường tái sinh chồi. Mẫu đốt thân và chồi đỉnh cấy nghiêng một góc 60° xuống môi trường; mẫu đoạn thân được đặt nằm ngang trên môi trường nuôi cấy. Mục đích của thí nghiệm này là nhằm đánh giá vai trò của các chất khử trùng và nguồn mẫu lên hiệu quả khử trùng và tái sinh chồi của giống chanh dây tím và vàng. Các chỉ tiêu: tỷ lệ nhiễm (%) và tỷ lệ sống (%) được ghi nhận sau 4 tuần nuôi cấy; trong khi đó, số chồi/mẫu, chiều cao chồi (cm) và hệ số tái sinh chồi được ghi nhận sau 4 tuần nuôi cấy tiếp theo.

Tỷ lệ nhiễm và tỷ lệ sống được tính bằng công thức:

$$\text{Tỷ lệ nhiễm (\%)} = \frac{\text{Số mẫu nhiễm}}{\text{Tổng số mẫu cấy ban đầu}} \times 100$$

$$\text{Tỷ lệ sống (\%)} = \frac{\text{Số mẫu sống}}{\text{Tổng số mẫu cấy ban đầu}} \times 100$$

Khảo sát vai trò của chất khử trùng trong quá trình nhân nhanh chồi in vitro của giống chanh dây tím và vàng: Những chồi có kích thước khoảng 1 cm thu được từ các nghiệm thức tốt nhất của mỗi chất khử trùng ở thí nghiệm trên được cấy lên môi trường nhân nhanh chồi. Mục đích của thí nghiệm là so sánh khả năng nhân nhanh chồi của những chồi có nguồn gốc từ những mẫu cấy được khử trùng bằng HgCl₂, NaOCl và nano bạc. Sau 8 tuần nuôi cấy, ghi nhận số chồi/mẫu và chiều cao chồi (cm).

Điều kiện nuôi cấy: Các bình nuôi cấy được đặt ở 25±2 °C, độ ẩm 55–60 %, thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày với cường độ chiếu sáng 40–45 μmol.m⁻².s⁻¹ dưới ánh sáng huỳnh quang.

Xử lý số liệu: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, với 3 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại cấy 20 bình/nghiệm thức. Mỗi bình cấy 1 mẫu. Các số liệu thu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel® 2010 và phần mềm SPSS 20.0 với phép thử Duncan ở mức α = 0,05 [4].

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Vai trò của chất khử trùng và nguồn mẫu lên sự tái sinh chồi *in vitro* của giống chanh dây tím và vàng

Sau 4 tuần nuôi cấy kết quả cho thấy có sự khác biệt về khả năng khử trùng của các chất khử trùng ở các nguồn mẫu khác nhau của cả giống chanh dây tím và vàng (Bảng 2 và 4). Quan sát các nguồn mẫu sau khi được nuôi cấy thấy rằng tăng thời gian và nồng độ các chất khử trùng thì tỷ lệ mẫu nhiễm giảm đáng kể nhưng làm tăng tỷ lệ mẫu chết; do đó, làm giảm tỷ lệ sống của mẫu. Như vậy, mẫu chết trong suốt quá trình nuôi cấy là do mẫu tiếp xúc với chất khử trùng trong thời gian khá lâu; điều này có thể do độc tính gây ra bởi chất khử trùng đặc biệt là thủy ngân [9].

Các nguồn mẫu (đốt thân, chồi đỉnh và đoạn thân) của 2 giống chanh dây này được khử trùng bằng nano bạc (0,1 %) trong thời gian 15 phút (N23) cho hiệu quả khử trùng cao hơn so với

các nghiệm thức khác và hơn cả những nghiệm thức tốt nhất khi khử trùng bằng NaOCl hay HgCl₂ được thể hiện thông qua tỷ lệ sống của mẫu: mẫu đốt thân của giống tím (68,33 %) và giống vàng (66,67 %); chồi đỉnh của giống tím (61,67 %) và giống vàng (63,33 %); đoạn thân của giống tím (70,00 %) và giống vàng (65,00 %) (Bảng 2 và 4). Nghiên cứu này cũng cho kết quả tương tự như nghiên cứu của Dương Tấn Nhựt và cs.; các nguồn mẫu của cây african violet khử trùng bằng nano bạc (0,05 %) trong thời gian 15 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất so với các chất khử trùng thông dụng (HgCl₂, Ca(ClO)₂) [15]. Ngoài ra, nghiên cứu của Son-di và Salopek-Son-di, Kim và cs., Navarro và cs. cũng khẳng định được vai trò của nano bạc trong việc ngăn chặn hiệu quả sự nhiễm khuẩn của mẫu trên nhiều đối tượng; các tác giả cũng cho rằng kích thước nhỏ của các hạt nano giúp tăng hiệu quả tiếp xúc bề mặt, dễ dàng xâm nhập, tác động sâu bên trong tế bào và từ đó làm tăng hiệu quả khử trùng mẫu, tạo ra sự khác biệt trong cảm ứng và phát triển mẫu cấy [7, 14, 24].

Ngoài ra, kết quả ghi nhận ở Bảng 2 và Bảng 4 cũng cho thấy hiệu quả khử trùng mẫu không chỉ bị ảnh hưởng bởi nồng độ, thời gian của chất khử trùng mà còn phụ thuộc vào nguồn mẫu và giống. Trong số 3 nguồn mẫu của 2 giống chanh dây này, mẫu đoạn thân cho tỷ lệ sống cao hơn so với mẫu đốt thân và chồi đỉnh sau 4 tuần nuôi cấy; còn đối với giống chanh dây tím và vàng thì không có sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê.

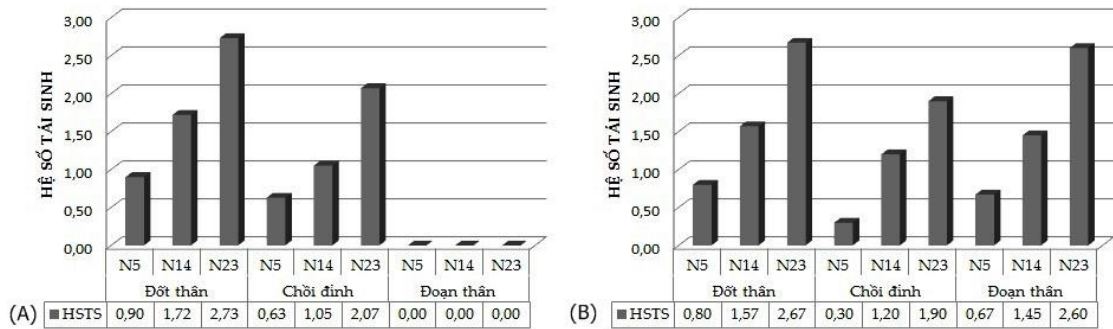
Sau 4 tuần nuôi cấy tiếp theo từ giai đoạn khử trùng mẫu, kết quả cho thấy nguồn mẫu (đốt thân, chồi đỉnh) sống sót của 2 giống chanh dây này đều cảm ứng tái sinh chồi. Tuy nhiên, đối với mẫu đoạn thân của giống chanh dây tím và vàng có sự khác biệt về cảm ứng tái sinh (chồi, sẹo): 100 % mẫu đoạn thân của giống chanh dây vàng cảm ứng tái sinh chồi, trong khi đó ở giống chanh dây tím mẫu đoạn thân lại cảm ứng tái sinh mô sẹo. Điều này có thể chỉ ra rằng giống là một trong những yếu tố làm ảnh hưởng lên quá trình phát sinh hình thái của mẫu (Bảng 3, 5 và Hình 2).

So sánh khả năng tái sinh chồi giữa các nguồn mẫu ở 2 giống chanh dây sau 8 tuần nuôi cấy cho thấy mẫu đốt thân của 2 giống chanh dây cho khả năng tái sinh chồi tốt hơn so với chồi đỉnh và đoạn thân ở tất cả các nghiệm thức. Đặc biệt, mẫu đốt thân ở nghiệm thức N23 cho khả năng tái sinh chồi cao hơn so với ở nghiệm thức N14 và N5, thể hiện qua các chỉ tiêu: tỷ lệ tái sinh của giống tím (68,33 %) và giống vàng (66,67 %); số chồi/mẫu của giống tím (4,00 chồi) và giống vàng (4,00 chồi); chiều cao chồi của giống tím (1,97 cm) và giống vàng (2,07 cm). Ngoài ra, mẫu đốt thân ở giống chanh dây tím cho hệ số tái sinh chồi cao hơn so với các nguồn mẫu khác; trong khi đó hệ số tái sinh chồi ở mẫu đốt thân và đoạn thân của giống chanh dây vàng thì không có sự khác biệt về mặt thống kê, nhưng chồi ở mẫu đốt thân sinh trưởng tốt hơn so với chồi ở mẫu đoạn thân (chồi có kích thước cao, lá phát triển) (Hình 1 và 2).

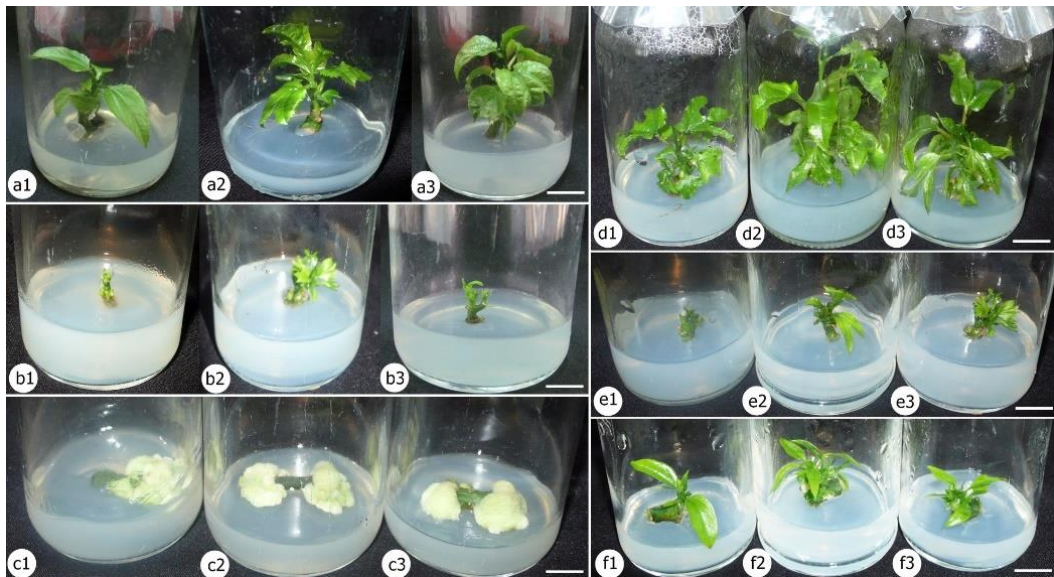
Nhiều nghiên cứu trước đây trên đối tượng chanh dây (*P. edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) cho thấy việc sử dụng chồi đỉnh và đốt thân cũng cho kết quả tái sinh chồi *in vitro* là hiệu quả cao nhất [11, 19]. Sujana và cs. nghiên cứu về hiệu quả tái sinh cây bạc hà Âu (*Mentha piperita* L.) *in*

vitro từ chồi đỉnh và đốt thân [26] và Ghanbar và cs. nghiên cứu về hiệu quả tái sinh chồi trực tiếp ở cây *Salvia sclarea* L. từ chồi đỉnh và đốt thân [5] cho thấy mẫu đốt thân cho tỷ lệ tái sinh và số chồi/mẫu cao hơn so với mẫu chồi đỉnh.

Như vậy, các chất khử trùng (NaOCl, HgCl₂, nano bạc) tác động lên quá trình khử trùng mẫu và tái sinh chồi từ các nguồn mẫu khác nhau (đốt thân, chồi đỉnh, đoạn thân). Kết quả của nghiên cứu này cho thấy mẫu đốt thân được khử trùng bằng nano bạc (0,1 %) trong thời gian 15 phút cho hiệu quả hơn so với NaOCl (1,0 %) trong 15 phút và HgCl₂ (0,1 %) trong 5 phút. Điều này cho thấy mẫu đốt thân là thích hợp cho sự tái sinh chồi *in vitro* của giống chanh dây tím và giống vàng để làm nguồn vật liệu cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 1. Hệ số tái sinh chồi ở các nguồn mẫu sau 8 tuần nuôi cấy. (A): giống tím; (B): giống vàng



Hình 2. Các nguồn mẫu của giống chanh dây tím, vàng khử trùng bằng NaOCl, nano bạc và HgCl₂ trong giai đoạn tái sinh chồi sau 8 tuần nuôi cấy. a1, a2, a3 (d1, d2, d3): đốt thân giống tím (giống vàng) lần lượt khử trùng bằng NaOCl, nano bạc, HgCl₂; b1, b2, b3 (e1, e2, e3): chồi đỉnh giống tím (giống vàng) lần lượt khử trùng bằng NaOCl, nano bạc, HgCl₂; c1, c2, c3 (f1, f2, f3): đoạn thân giống tím (giống vàng) lần lượt khử trùng bằng NaOCl, nano bạc, HgCl₂. Thanh bar: 1 cm

Bảng 2. Khả năng khử trùng các nguồn mẫu sau 4 tuần nuôi cấy của giống chanh dây tím

NT	Đốt thân		Chồi đỉnh		Đoạn thân	
	Tỷ lệ nhiễm (%)	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Tỷ lệ sống (%)
N1	100 ^a	0,00 ^o	100 ^a	0,00 ^k	100 ^a	0,00 ⁿ
N2	86,67 ^b	13,33 ^{mn}	88,33 ^c	11,67 ⁱ	81,67 ^{cd}	18,33 ^{ik}
N3	80,00 ^{cd}	20,00 ^{jkl}	81,67 ^e	18,33 ^{fgh}	76,67 ^e	23,33 ^{ghi}
N4	78,33 ^d	21,67 ^{ijk}	80,00 ^{ef}	15,00 ^{hi}	71,67 ^f	28,33 ^{fg}
N5	55,00^j	31,67^{fg}	53,33^{ij}	31,67^c	51,67ⁱ	36,67^e
N6	55,00 ^j	26,67 ^{gh}	51,67 ^l	26,67 ^{de}	51,67 ^l	31,67 ^f
N7	68,33 ^f	20,00 ^{jkl}	66,67 ^g	21,67 ^{fg}	65,00 ^g	23,33 ^{ghi}
N8	60,00 ^{hi}	18,33 ^{kl}	56,67 ^{hi}	18,33 ^{fgh}	58,33 ^{hi}	21,67 ^{hij}
N9	56,67 ^{ij}	11,67 ⁿ	53,33 ^{ij}	13,33 ^{hi}	51,67 ⁱ	13,33 ^{lm}
N10	80,00 ^{cd}	20,00 ^{jkl}	83,33 ^{de}	16,67 ^{gh}	76,67 ^e	23,33 ^{ghi}
N11	73,33 ^e	26,67 ^{gh}	76,67 ^f	23,33 ^{ef}	71,67 ^f	28,33 ^{fg}
N12	63,33 ^{gh}	25,00 ^{ghi}	66,67 ^g	21,67 ^{fg}	63,33 ^g	25,00 ^{gh}
N13	76,67 ^{de}	23,33 ^{hij}	80,00 ^{ef}	20,00 ^{fg}	71,67 ^f	28,33 ^{fg}
N14	41,67^k	51,67^b	46,67^k	45,00^b	36,67^k	56,67^b
N15	36,67 ^l	36,67 ^{de}	38,33 ^l	33,33 ^c	35,00 ^{kl}	40,00 ^{de}
N16	73,33 ^e	26,67 ^{gh}	76,67 ^f	23,33 ^{ef}	71,67 ^f	28,33 ^{fg}
N17	65,00 ^{fg}	21,67 ^{ijk}	70,00 ^g	16,67 ^{gh}	61,67 ^{gh}	26,67 ^g
N18	55,00 ^j	13,33 ^{mn}	58,33 ^h	11,67 ⁱ	51,67 ^l	15,00 ^{kl}
N19	100 ^a	0,00 ^o	100 ^a	0,00 ^k	90,00 ^b	10,00 ^m
N20	100 ^a	0,00 ^o	95,00 ^b	5,00 ^j	85,00 ^c	15,00 ^{kl}
N21	83,33 ^{bc}	16,67 ^{lm}	86,67 ^{cd}	13,33 ^{hi}	80,00 ^{de}	20,00 ^{ij}
N22	61,67 ^{gh}	38,33 ^d	70,00 ^g	23,33 ^{ef}	56,67 ⁱ	43,33 ^{cd}
N23	20,00ⁿ	68,33^a	25,00ⁿ	61,67^a	16,67^m	70,00^a
N24	16,67 ⁿ	43,33 ^c	20,00 ^o	43,33 ^b	11,67 ⁿ	46,67 ^c
N25	36,67 ^l	33,33 ^{ef}	41,67 ^l	30,00 ^{cd}	35,00 ^{kl}	36,67 ^e
N26	33,33 ^m	28,33 ^{gh}	31,67 ^m	26,67 ^{de}	31,67 ^l	28,33 ^{fg}
N27	20,00 ⁿ	18,33 ^{kl}	23,33 ^{no}	18,33 ^{fgh}	16,67 ^m	26,67 ^g

*Những chữ cái khác nhau trên cùng 1 cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $\alpha = 0,05$ theo phép thử Duncan.

Bảng 3. Vai trò của chất khử trùng và nguồn mẫu lên sự tái sinh chồi sau 8 tuần nuôi cấy của giống chanh dây tím

NT	Đốt thân			Chồi đỉnh			Đoạn thân		
	TLTS (%)	SC	CCC (cm)	TLTS (%)	SC	CCC (cm)	TLTS (%)	SC	CCC (cm)
N1	0,00 ^o	0,00 ^h	0,00 ^c	0,00 ^k	0,00 ^e	0,00 ⁱ	–	–	–
N2	13,33 ^{mn}	1,00 ^g	0,73 ^{bc}	11,67 ⁱ	1,00 ^d	0,23 ^{fgh}	–	–	–
N3	20,00 ^{ikl}	1,33 ^{fg}	0,90 ^{bc}	18,33 ^{fgh}	1,33 ^{cd}	0,23 ^{fgh}	–	–	–
N4	21,67 ^{ijk}	1,67 ^{efg}	0,83 ^{bc}	15,00 ^{hi}	1,00 ^d	0,20 ^{gh}	–	–	–
N5	31,67^{fg}	3,00^{bc}	1,23^{bc}	31,67^c	2,00^{bc}	0,30^{def}	–	–	–
N6	26,67 ^{gh}	2,00 ^{def}	1,07 ^{bc}	26,67 ^{de}	1,67 ^{bcd}	0,20 ^{gh}	–	–	–
N7	20,00 ^{kl}	1,33 ^{fg}	1,00 ^{bc}	21,67 ^{fg}	1,33 ^{cd}	0,17 ^h	–	–	–
N8	18,33 ^{kl}	2,33 ^{cde}	1,03 ^{bc}	18,33 ^{fgh}	1,67 ^{bcd}	0,23 ^{fgh}	–	–	–
N9	11,67 ⁿ	1,67 ^{efg}	3,27 ^a	13,33 ^{hi}	1,00 ^d	0,17 ^h	–	–	–
N10	20,00 ^{ikl}	2,33 ^{cde}	0,67 ^{bc}	16,67 ^{gh}	1,00 ^d	0,23 ^{fgh}	–	–	–
N11	26,67 ^{gh}	3,00 ^{bc}	0,60 ^{bc}	23,33 ^{ef}	1,67 ^{bcd}	0,23 ^{fgh}	–	–	–
N12	25,00 ^{ghi}	1,67 ^{efg}	0,47 ^{bc}	21,67 ^{fg}	1,33 ^{cd}	0,20 ^{gh}	–	–	–
N13	23,33 ^{hij}	2,33 ^{cde}	1,23 ^{bc}	20,00 ^{fg}	1,33 ^{cd}	0,30 ^{def}	–	–	–
N14	51,67^b	3,33^{ab}	1,53^{bc}	45,00^b	2,33^b	0,40^b	–	–	–
N15	36,67 ^{de}	2,67 ^{bcd}	1,27 ^{bc}	33,33 ^c	1,67 ^{bcd}	0,33 ^{bcd}	–	–	–
N16	26,67 ^{gh}	2,33 ^{cde}	0,73 ^{bc}	23,33 ^{ef}	1,33 ^{cd}	0,27 ^{efg}	–	–	–
N17	21,67 ^{ijk}	3,00 ^{bc}	0,63 ^{bc}	16,67 ^{gh}	1,67 ^{bcd}	0,27 ^{efg}	–	–	–
N18	13,33 ^{mn}	1,33 ^{fg}	0,53 ^{bc}	11,67 ⁱ	1,00 ^d	0,23 ^{fgh}	–	–	–
N19	0,00 ^o	0,00 ^h	0,00 ^c	0,00 ^k	0,00 ^e	0,00 ⁱ	–	–	–
N20	0,00 ^o	0,00 ^h	0,00 ^c	5,00 ^j	1,00 ^d	0,17 ^h	–	–	–
N21	16,67 ^{lm}	2,33 ^{cde}	1,13 ^{bc}	13,33 ^{hi}	1,00 ^d	0,20 ^{gh}	–	–	–
N22	38,33 ^d	2,67 ^{bcd}	1,36 ^{bc}	23,33 ^{ef}	2,00 ^{bc}	0,37 ^{bc}	–	–	–
N23	68,33^a	4,00^a	1,97^b	61,67^a	3,33^a	0,50^a	–	–	–
N24	43,33 ^c	3,00 ^{bc}	1,53 ^{bc}	43,33 ^b	2,33 ^b	0,40 ^b	–	–	–
N25	33,33 ^{ef}	2,33 ^{cde}	1,27 ^{bc}	30,00 ^{cd}	1,33 ^{cd}	0,30 ^{def}	–	–	–
N26	28,33 ^{gh}	2,00 ^{def}	1,23 ^{bc}	26,67 ^{de}	1,00 ^d	0,27 ^{efg}	–	–	–
N27	18,33 ^{kl}	1,67 ^{efg}	0,77 ^{bc}	18,33 ^{fgh}	1,00 ^d	0,23 ^{fgh}	–	–	–

* Những chữ cái khác nhau trên cùng 1 cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $\alpha = 0,05$ theo phép thử Duncan. TLTS: tỷ lệ tái sinh; SC: số chồi; CCC: chiều cao chồi; “–”: không có sự tái sinh chồi.

Bảng 4. Khả năng khử trùng các nguồn mẫu sau 4 tuần nuôi cấy của giống chanh dây vàng

NT	Đốt thân		Chồi đỉnh		Đoạn thân	
	Tỷ lệ nhiễm (%)	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Tỷ lệ sống (%)
N1	100 ^a	0,00 ^l	100 ^a	0,00 ⁿ	100 ^a	0,00 ^m
N2	83,33 ^{bc}	13,33 ^{jk}	90,00 ^b	10,00 ^m	85,00 ^{cd}	15,00 ^{ijk}
N3	81,67 ^c	18,33 ^{hi}	83,33 ^{cd}	16,67 ^{kl}	81,67 ^{de}	18,33 ^{ghi}
N4	83,33 ^{bc}	16,67 ^{ij}	85,00 ^c	10,00 ^m	76,67 ^{fg}	23,33 ^{fg}
N5	56,67^{gh}	30,00^{de}	55,00^h	30,00^{cd}	53,33^{ik}	33,33^d
N6	50,00 ^{ij}	26,67 ^{ef}	50,00 ⁱ	28,33 ^{cde}	50,00 ^k	30,00 ^{de}
N7	70,00 ^e	20,00 ^{ghi}	68,33 ^f	21,67 ^{ghi}	66,67 ^h	20,00 ^{ghi}
N8	60,00 ^g	20,00 ^{ghi}	58,33 ^{gh}	18,33 ^{ijk}	61,67 ⁱ	16,67 ^{hij}
N9	53,33 ^{hi}	18,33 ^{hi}	55,00 ^h	10,00 ^m	55,00 ⁱ	10,00 ^{kl}
N10	83,33 ^{bc}	16,67 ^{ij}	85,00 ^c	15,00 ^{kl}	80,00 ^{ef}	20,00 ^{ghi}
N11	76,67 ^d	23,33 ^{fg}	78,33 ^e	21,67 ^{ghi}	73,33 ^g	26,67 ^{ef}
N12	65,00 ^f	21,67 ^{gh}	68,33 ^f	18,33 ^{ijk}	65,00 ^{hi}	21,67 ^{gh}
N13	80,00 ^{cd}	20,00 ^{ghi}	80,00 ^{de}	20,00 ^{hij}	76,67 ^{fg}	18,33 ^{ghi}
N14	46,67^j	46,67^b	45,00ⁱ	45,00^b	40,00^l	48,33^b
N15	38,33 ^k	33,33 ^{cd}	38,33 ^k	31,67 ^c	36,67 ^l	38,33 ^c
N16	68,33 ^{ef}	31,67 ^{cd}	78,33 ^e	21,67 ^{ghi}	75,00 ^g	18,33 ^{ghi}
N17	66,67 ^{ef}	20,00 ^{ghi}	71,67 ^f	13,33 ^{lm}	63,33 ^{hi}	23,33 ^{fg}
N18	60,00 ^g	10,00 ^k	60,00 ^g	10,00 ^m	55,00 ^l	11,67 ^{kl}
N19	100 ^a	0,00 ^l	100 ^a	0,00 ⁿ	93,33 ^b	6,67 ^l
N20	100 ^a	0,00 ^l	100 ^a	0,00 ⁿ	88,33 ^c	11,67 ^{ijkl}
N21	86,67 ^b	13,33 ^{jk}	85,00 ^c	15,00 ^{kl}	81,67 ^{de}	18,33 ^{ghi}
N22	66,67 ^{ef}	33,33 ^{cd}	70,00 ^f	23,33 ^{fgh}	61,67 ⁱ	38,33 ^c
N23	21,67^m	66,67^a	25,00^m	63,33^a	21,67ⁿ	65,00^a
N24	18,33 ^m	46,67 ^b	21,67 ^m	46,67 ^b	11,67 ^o	46,67 ^b
N25	35,00 ^k	35,00 ^c	46,67 ^{ij}	26,67 ^{def}	38,33 ^l	31,67 ^{de}
N26	30,00 ^l	31,67 ^{cd}	31,67 ^l	25,00 ^{efg}	30,00 ^m	30,00 ^{de}
N27	20,00 ^m	16,67 ^{ij}	23,33 ^m	20,00 ^{hij}	20,00 ⁿ	23,33 ^{fg}

* Những chữ cái khác nhau trên cùng 1 cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $\alpha = 0,05$ theo phép thử Duncan.

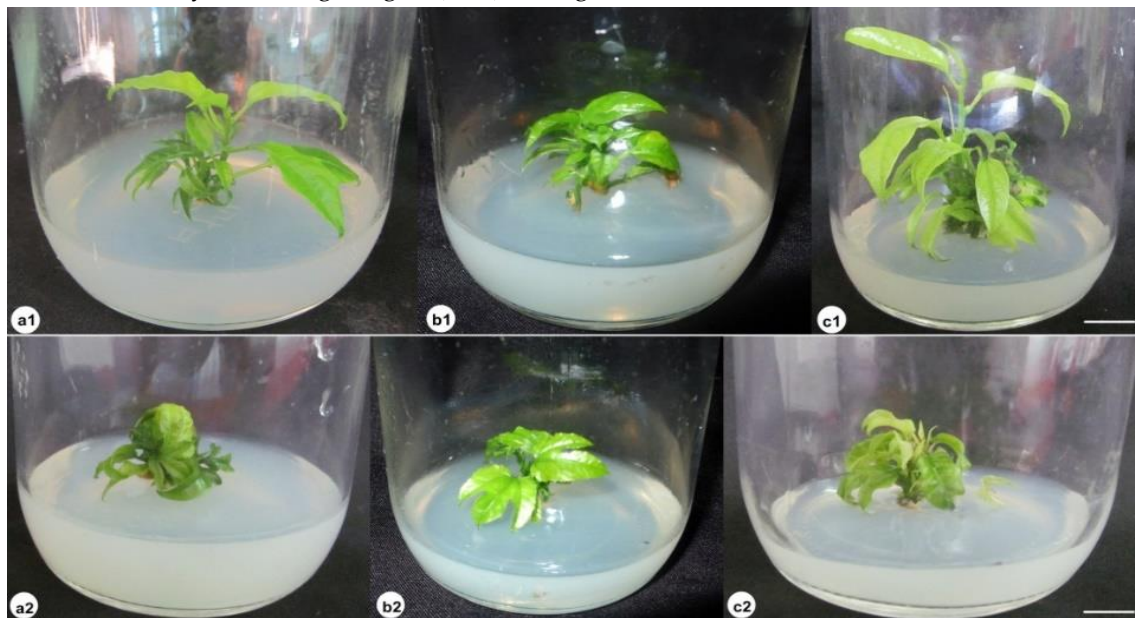
Bảng 5. Vai trò của chất khử trùng và nguồn mẫu lên sự tái sinh chồi sau 8 tuần nuôi cấy của giống chanh dây vàng

NT	Đốt thân			Chồi đỉnh			Đoạn thân		
	TLTS (%)	SC	CCC (cm)	TLTS (%)	SC	CCC (cm)	TLTS (%)	SC	CCC (cm)
N1	0,00 ^l	0,00 ^g	0,00 ^k	0,00 ⁿ	0,00 ^f	0,00 ⁱ	0,00 ^m	0,00 ^h	0,00 ^l
N2	13,33 ^{jk}	2,00 ^{def}	1,13 ^{gh}	10,00 ^m	1,00 ^e	0,20 ^{gh}	15,00 ^{ijk}	1,67 ^{fg}	0,73 ^{jk}
N3	18,33 ^{hi}	2,00 ^{def}	1,23 ^{efg}	16,67 ^{kl}	1,00 ^e	0,20 ^{gh}	18,33 ^{ghi}	1,67 ^{fg}	0,97 ^{fg}
N4	16,67 ^{ij}	1,67 ^{ef}	1,27 ^{def}	10,00 ^m	1,00 ^e	0,20 ^{gh}	23,33 ^{fg}	1,33 ^g	0,93 ^{gh}
N5	30,00^{de}	2,67^{bcd}	1,37^{cd}	30,00^{cd}	1,00^e	0,27^{efg}	33,33^d	2,00^{efg}	1,03^f
N6	26,67 ^{ef}	2,00 ^{def}	1,33 ^{de}	28,33 ^{cde}	1,00 ^e	0,17 ^h	30,00 ^{de}	1,67 ^{fg}	0,93 ^{gh}
N7	20,00 ^{ghi}	1,67 ^{ef}	1,13 ^{gh}	21,67 ^{ghi}	1,00 ^e	0,17 ^h	20,00 ^{ghi}	1,33 ^g	0,77 ^{kl}
N8	20,00 ^{ghi}	2,00 ^{def}	1,07 ^h	18,33 ^{ijk}	1,00 ^e	0,17 ^h	16,67 ^{hij}	1,67 ^{fg}	0,80 ^{ijk}
N9	18,33 ^{hi}	1,67 ^{ef}	1,03 ^h	10,00 ^m	1,00 ^e	0,20 ^{gh}	10,00 ^{kl}	1,33 ^g	0,70 ^l
N10	16,67 ^{ij}	1,67 ^{ef}	1,07 ^h	15,00 ^{kl}	1,67 ^{cde}	0,27 ^{efg}	20,00 ^{ghi}	2,00 ^{efg}	1,00 ^{fg}
N11	23,33 ^{fg}	2,33 ^{cde}	1,27 ^{def}	21,67 ^{ghi}	2,00 ^{cd}	0,20 ^{gh}	26,67 ^{ef}	2,33 ^{def}	1,13 ^e
N12	21,67 ^{gh}	2,00 ^{def}	1,2 ^{fg}	18,33 ^{ijk}	1,67 ^{cde}	0,23 ^{fgh}	21,67 ^{fgh}	2,33 ^{def}	0,93 ^{gh}
N13	20,00 ^{ghi}	2,67 ^{bcd}	1,37 ^{cd}	20,00 ^{hij}	2,00 ^{cd}	0,33 ^{de}	18,33 ^{ghi}	2,00 ^{efg}	1,13 ^e
N14	46,67^b	3,33^{ab}	1,67^b	45,00^b	2,67^{ab}	0,43^b	48,33^b	3,00^{bcd}	1,27^{bc}
N15	33,33 ^{cd}	3,00 ^{bc}	1,27 ^{def}	31,67 ^c	2,33 ^{bc}	0,30 ^{ef}	38,33 ^c	2,67 ^{cde}	1,20 ^{cde}
N16	31,67 ^{cd}	2,00 ^{def}	1,13 ^{gh}	21,67 ^{ghi}	2,00 ^{cd}	0,23 ^{fgh}	18,33 ^{ghi}	2,00 ^{efg}	0,93 ^{gh}
N17	20,00 ^{ghi}	1,67 ^{ef}	1,13 ^{gh}	13,33 ^{lm}	1,67 ^{cde}	0,23 ^{fgh}	23,33 ^{fg}	2,33 ^{def}	1,00 ^{fg}
N18	10,00 ^k	1,33 ^f	1,07 ^h	10,00 ^m	1,33 ^{de}	0,20 ^{gh}	11,67 ^{kl}	1,33 ^g	0,87 ^{hi}
N19	0,00 ^l	0,00 ^g	0,00 ^k	0,00 ⁿ	0,00 ^f	0,00 ⁱ	6,67 ^l	1,33 ^g	0,83 ^{ij}
N20	0,00 ^l	0,00 ^g	0,00 ^k	0,00 ⁿ	0,00 ^f	0,00 ⁱ	11,67 ^{kl}	1,67 ^{fg}	1,03 ^f
N21	13,33 ^{jk}	2,33 ^{cde}	1,37 ^{cd}	15,00 ^{kl}	1,67 ^{cde}	0,23 ^{fgh}	18,33 ^{ghi}	2,00 ^{efg}	1,30 ^b
N22	33,33 ^{cd}	3,00 ^{bc}	1,47 ^c	23,33 ^{fgh}	2,00 ^{cd}	0,33 ^{de}	38,33 ^c	3,33 ^{abc}	1,47 ^a
N23	66,67^a	4,00^a	2,07^a	63,33^a	3,00^a	0,53^a	65,00^a	4,00^a	1,23^{bcd}
N24	46,67 ^b	3,33 ^{ab}	1,63 ^b	46,67 ^b	2,33 ^{bc}	0,40 ^{cd}	46,67 ^b	3,67 ^{ab}	1,17 ^{de}
N25	35,00 ^c	2,67 ^{bcd}	1,33 ^{de}	26,67 ^{def}	1,67 ^{cde}	0,27 ^{efg}	31,67 ^{de}	2,33 ^{def}	1,00 ^{fg}
N26	31,67 ^{cd}	2,33 ^{cde}	1,23 ^{efg}	25,00 ^{efg}	2,00 ^{cd}	0,30 ^{ef}	30,00 ^{de}	2,67 ^{cde}	1,17 ^{de}
N27	16,67 ^{ij}	2,00 ^{def}	1,13 ^{gh}	20,00 ^{hij}	1,33 ^{de}	0,27 ^{efg}	23,33 ^{fg}	1,67 ^{fg}	0,77 ^{kl}

* Những chữ cái khác nhau trên cùng 1 cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $\alpha = 0,05$ theo phép thử Duncan. TLTS: tỷ lệ tái sinh; SC: số chồi; CCC: chiều cao chồi.

3.2 Vai trò của chất khử trùng lên sự nhân nhanh chồi của giống chanh dây tím và vàng

Những nghiệm thức sử dụng chất khử trùng NaOCl và HgCl₂ ở giống chanh dây tím và vàng sau 8 tuần nuôi cấy cho thấy không có sự khác biệt về mật thống kê ở các chỉ tiêu theo dõi như số chồi/mẫu và chiều cao chồi. Trong khi đó, chồi từ đốt thân ở 2 giống chanh dây này được khử trùng bằng nano bạc cho khả năng nhân nhanh chồi với hiệu quả cao nhất: số chồi/mẫu của giống tím (6,33 chồi) và giống vàng (4,33 chồi); chiều cao chồi của giống tím (1,63 cm) và giống vàng (1,43 cm) (Bảng 6 và Hình 3). Kết quả này cho thấy hàm lượng ion bạc trong quá trình khử trùng đã thấm sâu vào mô và tích lũy trong nội bào của mẫu. Theo Saber và cs., nano bạc tác động lên sự phát triển của mẫu cấy cũng như làm giảm hàm lượng phenol tiết ra trong quá trình nuôi cấy của mẫu hoa hồng khi được sử dụng làm chất khử trùng [21]. Hơn nữa, nhiều nghiên cứu cũng cho thấy các nano kim loại có thể dễ dàng di chuyển và thâm nhập vào lớp biểu bì gốc của tế bào và nội mô của tế bào; cuối cùng chúng di chuyển, tích lũy bên trong tế bào của các bộ phận của cây thông qua phloem và xylem [7, 14, 24]; một khi nano kim loại đã tích lũy trong tế bào thì chúng sẽ được chuyển hóa và sử dụng để hỗ trợ cho các quá trình trao đổi chất bên trong tế bào, từ đó có tác động tích cực đến sự sinh trưởng của cây [8]. Kết quả của nghiên cứu này cũng tương tự như nghiên cứu của Dương Tấn Nhật và cs. trên đối tượng african violet, tổng số chồi phát sinh từ mẫu cấy khử trùng bằng nano bạc (88 chồi) cao hơn nhiều so với số chồi thu được từ mẫu cấy khử trùng bằng Ca(ClO)₂ và HgCl₂ [15].



Hình 3. Mẫu đốt thân giống chanh dây tím và vàng khử trùng bằng NaOCl, HgCl₂ và nano bạc trong giai đoạn nhân nhanh chồi sau 8 tuần nuôi cấy. a1, b1, c1: chồi nhân nhanh từ đốt thân giống tím khử trùng lần lượt bằng NaOCl, HgCl₂ và nano bạc; a2, b2, c2: chồi nhân nhanh từ đốt thân giống vàng khử trùng lần lượt bằng NaOCl, HgCl₂ và nano bạc. Thanh bar: 1 cm

Bảng 6. Sự nhân nhanh chồi từ mẫu đốt thân giống chanh dây tím và vàng khử trùng bằng các chất khử trùng NaOCl, HgCl₂ và nano bạc sau 8 tuần nuôi cấy

Chất khử trùng	Giống tím		Giống vàng	
	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)
NaOCl	3,67 ^b	1,40 ^b	3,00 ^b	1,13 ^b
HgCl ₂	4,00 ^b	1,47 ^b	3,33 ^b	1,23 ^b
Nano bạc	6,33 ^a	1,63 ^a	4,33 ^a	1,43 ^a

* Những chữ cái khác nhau trên cùng 1 cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở $\alpha = 0,05$ theo phép thử Duncan.

4 Kết luận

Kết quả của nghiên cứu này cho thấy mẫu đốt thân *ex vitro* của cả giống chanh dây tím và vàng được khử trùng bằng nano bạc (0,1 %) trong thời gian 15 phút cho hiệu quả khử trùng và hệ số tái sinh chồi là cao nhất so với các nguồn mẫu (chồi đỉnh, đoạn thân) và các chất khử trùng khác (NaOCl, HgCl₂). Ngoài ra, nano bạc còn tác động tích cực lên quá trình nhân nhanh chồi ở giai đoạn tiếp theo.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi Phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo Giống cây trồng, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên.

Tài liệu tham khảo

1. Chaloupka K., Malam Y., Seifalian A. M. (2010), Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends Biotechnol* 28(11): 580–588.
2. Chau N. H., Bang L., Buu N., Dung T., Ha H., Quang D. (2008), Some results in manufacturing of nanosilver and investigation of its application for disinfection. *Adv Nat Appl Sci* 9(2): 241–248.
3. Dornelas, M. C., Vieira, M. L. C. (1994), Tissue culture studies on species of *Passiflora*. *Plant Cell Tiss Org Cult* 36: 211–217.
4. Duncan D. B. (1955), Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 11: 1–42.
5. Ghanbar T., Hosseini B., Jabbarzadeh Z., Farokhzad A., Sharafi A. (2016), High-frequency *in vitro* direct shoots regeneration from axillary nodal and shoot tip explants of clary sage (*Salvia sclarea* L.). *Bulg J Agric Sci* 22: 73–78.
6. Kawata K., Ushida C., Kawai F., Kanamori M., Kuriyama A. (1995), Micropropagation of passion fruit from subcultured multiple shoot primordia. *J Plant Physiol* 147: 281–284.
7. Kim J. S., Kuk E., Yu K. N., Kim J., Park S. J., Lee H. J., Kim S. H., Park Y. K., Park Y. H., Hwang C. Y., Kim Y. K., Lee S. Y., Jeong D. H., Cho M. H. (2007), Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nano-medicine* 3: 95–101.

8. Larue C., Castillo-Michel H., Sobanska S., Cécillon L., Bureau S. and Barthès V. (2014), Foliar exposure of the crop *Lactuca sativa* to silver nanoparticles: evidence for internalization and changes in Ag speciation. *J Hazard Mater* 264: 98–106.
9. Manvir K., Dhaliwal H. S., Anirudh T., Gurupkar S., Manveen K. (2015), *In vitro* plantlet formation in Carrizo citrange: A promising citrus rootstock. *Indian J Horticult* 72(1): 1–6.
10. Mihaljević I., Dugalić K., Tomaš V., Viljevac M., Pranjić A., Čmelik Z., Puškar B., Jurković Z. (2013), *In vitro* sterilization procedures for micropropagation of ‘oblačinska’ sour cherry. *J Agric Sci* 58(2): 117–126.
11. Monteiro A. C. B. A., Higashi E. N., Goncalves A. N., Rodriguez A. P. M. (2000), A novel approach for the inorganic medium components for micropropagation of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.). *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 36: 527–531.
12. Murashige T., Skoog F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiol* 15: 473–497.
13. Nakasone H. Y., Paull R. E. (1998), *Tropical Fruits*. CAB International, Wallingford, UK.
14. Navarro E. A. B., Behra R., Hartman N. B., Filser J., Miao A.J., Quiagg A., Santschi P. H., Sigg L. (2008), Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nano particles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology* 17: 372–386.
15. Dương Tấn Nhật, Dương Bảo Trinh, Đỗ Mạnh Cường, Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Phúc Huy, Vũ Thị Hiền, Vũ Quốc Luận, Lê Thị Thu Hiền, Nguyễn Hoài Châu (2018), Khảo sát nano bạc làm chất khử trùng mẫu mới trong nhân giống vô tính cây african violet (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.). *Tạp chí công nghệ sinh học* 16(1): 87–97.
16. Niedz R. P., Bausher M. G. (2002), Control of *in vitro* contamination of explants from greenhouse and field-grown trees. *In Vitro Cell Dev Biol* 38: 468–471.
17. Pinto A. P. C., Alessandra C. B. A., Monteiro-Hara, Stipp L. C. L., Mendes B. M. J. (2010), *In vitro* organogenesis of *Passiflora alata*. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 46: 28–33.
18. Prammanee S., Thumjamras S., Chiemsombat P., Pipattanawong N. (2011), Efficient shoot regeneration from direct apical meristem tissue to produce virus-free purple passion fruit plants. *Crop Prot* 30: 1425–1429.
19. Reis L. B., Paiva Neto V. B., Toledo Picoli E. A., Costa M. G. C., Rêgo M. M., Carvalho C. R., Finger F. L., Otoni W. C. (2003), Axillary bud development of passion fruit as affected by ethylene precursor and inhibitors. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 39: 618–622.
20. Rocha D. I., Vieira L. M., Tanaka F. A. O., Silva L. C., Otoni W. C. (2012), Anatomical and ultrastructural analyses of *in vitro* organogenesis from root explants of commercial passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). *Plant Cell Tiss Org Cult* 111: 69–78.
21. Saber S., Ali B., Marzieh A., Shahriar H., Mohammad M. A. (2014), The effects of different concentrations of nano- silver on elimination of bacterial contaminations and phenolic exudation of rose (*Rosa hybrida* L.). *Int J Farm All Sci* 3(1): 50–54.
22. Shekhawat M. S., Kannan N., Manokari M., Ravindran C. P. (2015a), *In vitro* regeneration of shoots and *ex vitro* rooting of an important medicinal plant *Passiflora foetida* L. through nodal segment cultures. *Genet Eng Biotechnol J* 13: 209–214.
23. Shekhawat M. S., Manokari M., Ravindran C. P. (2015b), An improved micropropagation protocol by *ex vitro* rooting of *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg. through nodal segment culture. *Sci, Hindawi Publishing Corporation, Cairo, Egypt* 8 pages doi: 10.1155/2015/578676.
24. Sondi I., Salopek-Sondi B. (2004), Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study as a model for gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci* 275: 177–182.

25. Srivastava N., Kamal B., Sharma V., Negi Y. K., Dobriyal A. K., Gupta S., Jadon V. S. (2010), Standardization of sterilization protocol for micropropagation of *Aconitum heterophyllum*-An endangered medicinal herb. *Academ Arena* 2(6): 62–66.
26. Sujana P., Naidu C. V. (2011), High frequency rapid plant regeneration from shoot tip and nodal explants of *Mentha piperita* (L.)-An important multipurpose medicinal plant. *J phytol* 3(5): 09–13.
27. Tatiana G. J., Solange R. M. A., Karine S. S., Celma S. C., Antônio S. S., Carlos A. S. L. (2014), *In vitro* culture of shoot apices from juvenile and adult yellow passion fruit plants. *Rev Bras Ciênc Agrár Recife* 9(3): 353–358.
28. Zas P., John S. (2016), Diabetes and medicinal benefits of *Passiflora edulis*. *Int J Food Sci Nutr* 5(2): 265–269.

ESTABLISHING ASEPTIC EXPLANT SOURCE FOR *Passiflora edulis* Sims. AND *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*

Tran Hieu^{1,2,3}, Hoang Thanh Tung¹, Cao Dang Nguyen², Duong Tan Nhut^{1*}

¹Tay Nguyen Institute for Scientific Research, VAST, 116 Xo Viet Nghe Tinh, Da Lat, Lam Dong, Vietnam

²University of Sciences, Hue University, 77 Nguyen Hue, Hue, Thua Thien Hue, Vietnam

³Pedagogical College of Ninh Thuan, 08 Yen Ninh, Khanh Hai, Ninh Hai, Ninh Thuan, Vietnam

Abstract. An explant source selection and a suitable sterilization method are important steps and critical to the success of the whole breeding process. In this study, the *ex vitro* explants (shoot tip, nodal segment, and internodal segment) of *P. edulis* Sims. and *P. edulis* f. *flavicarpa* were used as culture materials and were sterilized with sterilizing agents (NaOCl, HgCl₂, and silver nanoparticles) at different concentrations and duration in order to produce an aseptic explant source for these passion fruit cultivars. After 8 weeks of culture, the results showed that the nodal segments of *P. edulis* Sims. and *P. edulis* f. *flavicarpa* sterilized with 0.1 % silver nanoparticles for 15 minutes gave the best antiseptic efficiency (68.33 % and 66.67 %, respectively) and the highest shoot multiplication coefficient (2.73 and 2.67, respectively) that were significantly higher than those of other treatments sterilized with NaOCl or HgCl₂. In addition, the morphogenesis (shoot and callus formation) from the nodal segments was different between the two passion fruit cultivars; most of the nodal segments of *P. edulis* Sims. induced calli, whereas *P. edulis* f. *flavicarpa* mostly formed shoots. Furthermore, silver nanoparticles had a positive influence on the rapid shoot multiplication of *P. edulis* Sims and *P. edulis* f. *flavicarpa*.

Keywords: internodal segment, nodal segment, *Passiflora edulis*, shoot multiplication, shoot tip