

## DÙNG SINH TRẮC NGHIỆM KHÚC CẮT TRỤ THƯỢNG DIỆP CÂY MẦM *Dolichos* sp. ĐỂ PHÂN TÍCH SỰ TẠO RỄ BẤT ĐỊNH Ở TRE, HỒNG VÀ HUỆ TRẮNG

Bùi Trang Việt, Phan Ngô Hoang, Lê Thị Diễm, Võ Hoàng Xuân Nguyệt, Phan Hoàng Anh  
Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 30 tháng 01 năm 2004) .

**TÓM TẮT:** Sự tạo rễ gồm 2 bước căn bản: tạo sơ khởi rễ và kéo dài các sơ khởi rễ này. Sinh trắc nghiệm trụ thượng diệp cây mầm đậu đỏ (*Dolichos* sp.) dựa vào khả năng kích thích sự tạo sơ khởi rễ của auxin, khi đặt các khúc cắt trụ thượng diệp trên môi trường đặc với agar 7g/l. Những ảnh hưởng của auxin có nồng độ thay đổi và các chất trích từ vật liệu thực vật trên khúc cắt trụ thượng diệp đậu đỏ đã được quan sát và giải thích trong bài báo này. Vai trò của auxin và khả năng tạo rễ Tre, Hồng Nhung và Huệ trắng cũng được thảo luận.

**Từ khóa:** đậu đỏ (*Dolichos* sp.), sơ khởi rễ, auxin, tre, hồng, huệ trắng (*Lolium longiflorum*).

### MỞ ĐẦU

Sự tạo rễ là giai đoạn quan trọng trong vi nhân giống thực vật, giúp cây *in vitro* non trẻ thích nghi được môi trường sống ngoài ống nghiệm (Collin and Edwards 1998). Sự tạo rễ gồm hai bước căn bản: tạo sơ khởi rễ và sự kéo dài sơ khởi này thành rễ con (Mai Trần Ngọc Tiếng và csv. 1980, Mitsuhashi *et al.* 1969). Để đo sự kéo dài rễ, sinh trắc nghiệm khúc cắt trụ hạ diệp cây mầm đậu đã được sử dụng (Mai Trần Ngọc Tiếng và csv. 1980). Trong bài này, chúng tôi đề nghị dùng trắc nghiệm khúc cắt trụ thượng diệp để khảo sát sự tạo sơ khởi rễ.

### VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

#### Vật liệu

1. Hạt đậu đỏ *Dolichos* sp.
2. Các "mẫu", phần phình to ở gốc nhánh Tre Lục trúc (*Bambusa oldhamii* Munro) 1 năm tuổi, được chia thành hai loại: "mẫu" để ra rễ có các vảy lá còn xanh non, khoảng cách giữa các đốt trên "mẫu" thưa; nhánh khó ra rễ có các vảy lá hóa vàng, các đốt trên "mẫu" xếp khít lại.
3. Lá cây hoa Mười giờ (*Portulaca grandiflora* L.) ở giai đoạn mang nụ hoa.
4. Các chồi *in vitro* Tre Lục trúc 21 ngày tuổi, từ chồi ngủ, trên môi trường MS với BA 4 mg/l.
5. Các chồi *in vitro* 45 ngày tuổi từ vảy hành từ củ Huệ trắng (*Lolium longiflorum* Thunb), trên môi trường MS với BA 1 mg/l và NAA 1 mg/l.
6. Lá ở vị trí 3-7 trên cành mang hoa Hồng nhung (*Rosa* sp.).
7. Các chồi Hồng nhung (*Rosa* sp.) *in vitro* (từ chồi ngủ) sau 28 ngày trên môi trường MS với BA 2,5 mg/l và NAA 0,1 mg/l.

#### Phương pháp

##### Sinh trắc nghiệm khúc cắt trụ thượng diệp *Dolichos*

Sinh trắc nghiệm được thực hiện theo hai cách sau đây:

- Cách 1: Hạt đậu đỏ *Dolichos* sp. được gieo trong cát ẩm, dưới ánh sáng. Các khúc cắt trụ thượng diệp dài 2 cm (mặt cắt dưới của khúc cắt cách chỗ dính từ diệp 1,5 cm) được đặt trong bình thủy tinh có chứa thạch rắn (agar 7 g/l) với auxin hay chất trích từ thực vật ở các nồng độ khác nhau. Cách này được áp dụng đối với xử lý AIB, các dịch trích Mười giờ, Hồng nhung và Tre Lục trúc. Kết quả được quan sát sau 6 ngày xử lý.

- Cách 2 (trong điều kiện vô trùng): Hạt đậu đỏ *Dolichos* sp. được khử trùng và gieo trên môi trường chứa agar 7%. Sau 6 ngày, khi cây mầm cao 8-9 cm, khúc cắt trụ thượng diệp dài 0,5 cm (mặt

cắt dưới của khúc cắt cách chỗ dính từ điệp 1 cm) được đặt trong môi trường MS (Murashige and Skoog 1962) có chứa auxin hay chất trích từ thực vật. Cách này được áp dụng đối với xử lý AIA và dịch trích Huệ trắng. Kết quả được quan sát sau 8 ngày xử lý.

Trong các sinh trắc nghiệm trên, khúc cắt được cắm vào trong thạch theo vị trí thẳng đứng, theo hướng ngọn – gốc, và khoảng phân nửa khúc cắt được giữ trong thạch. Điều kiện nuôi cấy luôn luôn được giữ ở nhiệt độ  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , ánh sáng  $3000 \pm 500 \text{ lx}$  (quang kỳ 12 giờ) và độ ẩm tương đối  $56 \pm 4\%$ . Để đánh giá tác dụng của chất xử lý, số sơ khởi rễ được đếm dưới kính hiển vi từ 10 lát cắt ngang ở phần gốc khúc cắt và tính trung bình.

#### Phương pháp chiết cành ở tre lục trúc

Phương pháp hiện được các nhà trồng Tre ở huyện Hóc Môn TP. Hồ Chí Minh áp dụng. Chọn những cành “bánh tẻ” dễ ra rễ, cắt bỏ ngọn và chừa khoảng 35-40cm về phía thân. Dùng cưa cắt ngang thân khoảng 4/5 diện tích phần tiếp giáp giữa nhánh và thân, và bôi lên vết cắt một lớp AIB 0,1%. Dùng xơ dừa ẩm bó xung quanh và ngoài cùng là 1 lớp màng PE giữ ẩm. Theo dõi sự ra rễ sau 2 tuần.

#### Quan sát hình thái giải phẫu

Sự xuất hiện của các sơ khởi rễ được quan sát dưới kính hiển vi, sau sự nhuộm hai màu đỏ carmin – xanh iod.

#### Ly trích chất tạo rễ từ thực vật

Các chất trích thực vật (pha acid) được chuẩn bị theo Mai Trần Ngọc Tiếng và csv. (1980).

#### Xử lý auxin để kích thích sự tạo rễ

Để giúp sự tạo rễ tốt hơn, các chồi *in vitro* của các đối tượng khảo sát được chuyển vào môi trường MS với AIB 2mg/l (trường hợp Tre Lục trúc), AIA 2mg/l (Huệ trắng), hay AIB 0,5 mg/l (Hồng nhung).

### KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### Nguồn gốc của rễ bất định

Sơ khởi rễ xuất hiện rõ, ở sâu bên trong vùng vỏ, gần tầng phát sinh libe-mộc, ở trụ thượng điệp cây mầm *Dolichos* (ảnh 1), tương tự như ở các cây *in vitro* Tre Lục trúc hay Hồng nhung (ảnh 2, 3). Theo Buvat (1944-1945), sự phát sinh hình thái rễ bắt đầu từ các tế bào có không bào lớn. Trong giai đoạn đầu, chúng biến đổi thành các tế bào gần giống với tế bào mô phân sinh cấp hai có khả năng phát sinh mô: lục lạp mất dần các sắc tố và phân chia mạnh cùng với ti thể, để trở thành các bóng màng ngày càng nhỏ, khó phân biệt dưới kính hiển vi; sau đó, các tế bào này tiếp tục biến đổi thành các tế bào gần giống với tế bào mô phân sinh cấp một có khả năng phát sinh cơ quan: phân chia mạnh, tế bào chất đậm đặc, không bào nhỏ, nhân và hạch nhân rất lớn (Favre 1977). Những nghiên cứu gần đây ngày càng cho phép hiểu rõ các biến đổi hình thái tế bào học đặc sắc này, dưới các khía cạnh sinh lý học và sinh học phân tử (Heller *et al.* 1995).

#### Ảnh hưởng của các auxin trên khúc cắt trụ thượng điệp *Dolichos*

Số sơ khởi rễ gia tăng theo nồng độ AIA và AIB được sử dụng. Tác dụng tạo sơ khởi rễ giảm ở 10 mg/l đối với AIA, và ở 5 mg/l đối với AIB (bảng 1). Giống như ở các hiện tượng sinh lý học khác, tác động của auxin trên sự tạo sơ khởi rễ thay đổi theo nồng độ xử lý (Heller *et al.* 1995).

**Bảng 1:** Tác động của AIA và AIB trên số sơ khởi rễ xuất hiện ở phần gốc khúc cắt trụ thượng điệp *Dolichos sp.*

Nồng độ chất xử lý (mg/l)		Số sơ khởi rễ
AIA	0	$1,0 \pm 0,4$
	0,01	$2,2 \pm 0,5$
	0,1	$3,4 \pm 1,2$
	1	$6,4 \pm 1,4$
	10	$5,4 \pm 1,3$
	0	$0,10 \pm 0,00$

AIB	0,5	$0,93 \pm 0,27$
	1	$2,71 \pm 0,26$
	2	$2,85 \pm 0,35$
	5	$2,31 \pm 0,37$

**Ảnh hưởng của các chất trích trên khúc cắt trụ thượng diệp *Dolichos***

Tất cả các dịch trích thực vật, ở các mức độ khác nhau, đều kích thích sự tạo sơ khởi rễ ở khúc cắt trụ hạ diệp cây mầm đậu *Dolichos* sp (bảng 2, 3, 4). Tác động của các dịch trích nói chung gia tăng theo nồng độ xử lý. Ở Tre Lục trúc, dịch trích từ các “mẫu” tre khó ra rễ (ngày 0, khi bắt đầu sự chiết cành) vẫn chứa các chất kích thích sự tạo sơ khởi rễ nhưng tác động kém hơn dịch trích từ “mẫu” tre dễ ra rễ; mặt khác, tác động kích thích sự tạo sơ khởi rễ của dịch trích từ “mẫu” tre dễ ra rễ gia tăng theo thời gian chiết cành (rễ bắt định lú ra khỏi vỏ từ ngày thứ 6).

**Ảnh hưởng của các auxin trên các cây *in vitro***

Đối với xử lý các auxin ngoại sinh, các chồi Tre Lục trúc *in vitro* tạo rễ mạnh trên môi trường MS với AIB 2mg/l (và lượng  $NH_4NO_3$  được giảm phân nửa) tương tự các chồi Huệ trắng *in vitro* trên môi trường MS có bổ sung AIA 2mg/l (bảng 5). Trên môi trường MS, chồi Huệ trắng tạo được sơ khởi rễ, nhưng số sơ khởi rễ tăng mạnh trên môi trường có thêm AIA. Cây Hồng nhung *in vitro* cũng tạo được sơ khởi rễ sau 1 tuần nuôi cấy trên môi trường MS với AIB 0,5 mg/l (ảnh 3). Vì các dịch trích đều có khả năng kích thích tạo sơ khởi rễ trong sinh trắc nghiệm khúc cắt trụ thượng diệp *Dolichos*, do đó có thể nói rằng, hiệu ứng của auxin trong sự tạo rễ đối với các đối tượng khảo cứu là do hiệu ứng kích thích trực tiếp sự tạo sơ khởi rễ và/hay hiệu ứng đẩy lùi các yếu tố gây khó khăn trong sự tạo sơ khởi rễ.

**Bảng 2:** Tác động của các dịch trích từ các “mẫu” trên các nhánh Tre Lục trúc “khó” hay “dễ” ra rễ theo thời gian trên sự tạo sơ khởi rễ ở phần gốc khúc cắt trụ thượng diệp *Dolichos* sp. (quan sát ở ngày thứ 6).

Dịch trích 1%	Thời điểm lấy mẫu (ngày)	Số sơ khởi rễ
Chuẩn (nước)	-	$0,1 \pm 0,0$
Mẫu “Khó” ra rễ	0	$0,6 \pm 0,2$
Mẫu “Dễ” ra rễ	0	$0,7 \pm 0,1$
	1	$1,6 \pm 0,4$
	2	$1,8 \pm 2,3$
	3	$0,9 \pm 1,4$

**Bảng 3:** Tác động của dịch trích chồi Huệ trắng trên sự tạo sơ khởi rễ ở phần gốc khúc cắt trụ thượng diệp *Dolichos* sp. (quan sát ở ngày thứ 8).

Xử lý	Số sơ khởi rễ
Chuẩn (MS)	$1,0 \pm 0,4$
Dịch trích (1%)	$6,8 \pm 1,4$

**Bảng 4:** Tác động của các dịch trích lá Mười giờ và lá Hồng nhung trên sự tạo sơ khởi rễ ở phần gốc khúc cắt trụ thượng diệp *Dolichos* sp.

Nồng độ chất trích (%)	Số sơ khởi rễ	
	Dịch trích lá Mười giờ	Dịch trích lá Hồng nhung
0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
0,05	0,2 ± 0,1	0,5 ± 0,1
0,10	0,2 ± 0,1	0,7 ± 0,2
0,15	0,5 ± 0,1	1,0 ± 0,4
0,20	0,8 ± 0,1	1,1 ± 0,4
0,25	1,4 ± 0,2	1,6 ± 0,3
0,5	1,9 ± 0,3	2,3 ± 0,4

**Bảng 5:** Tác động của các auxin trên sự ra rễ ở các chồi *in vitro* Tre Lục trúc (sau 4 tuần nuôi cấy) và Huệ trắng (sau 3 tuần nuôi cấy).

Xử lý	Số sơ khởi rễ	
	Tre Lục trúc	Huệ trắng
Chuẩn	0	0,8 ± 0,1
AIB 2mg/l	3,5 ± 0,5	-
AIA 2mg/l	-	3,0 ± 0,9

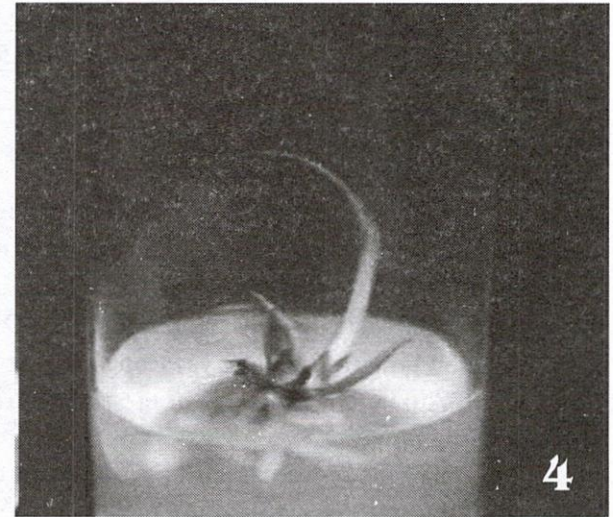
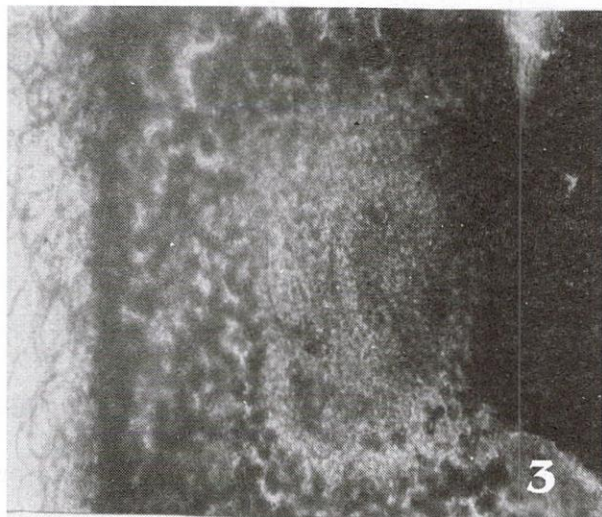
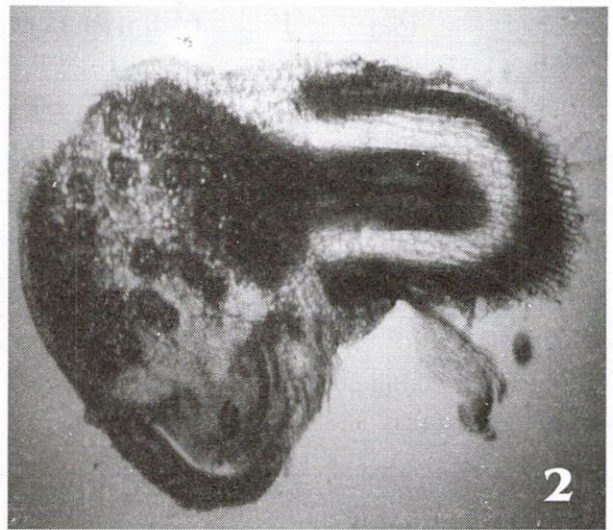
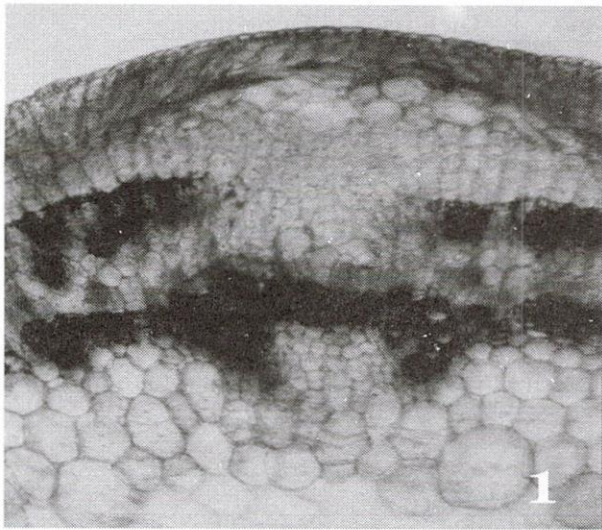
## KẾT LUẬN

1. Có thể dùng sinh trắc nghiệm khúc cắt trụ thượng diệp *Dolichos* để đo khả năng tạo sơ khởi rễ (bước 1 của sự phát sinh rễ bất định) và tìm hiểu nguyên nhân cản sự tạo các sơ khởi này ở các đối tượng nghiên cứu khác nhau.

2. Khúc cắt ngắn từ trụ thượng diệp *Dolichos* thích hợp để nghiên cứu vai trò của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong sự phát sinh hình thái rễ.

3. Auxin cần thiết cho sự tạo sơ khởi rễ ở *Dolichos* sp., cũng như ở Tre lục trúc, Huệ trắng và Hồng nhung.

Trong tương lai, chúng tôi tiếp tục sử dụng sinh trắc nghiệm *Dolichos* sp., đặc biệt là trong điều kiện vô trùng, để nghiên cứu sự tạo rễ ở các đối tượng nghiên cứu khác nhau, trong sự nuôi cấy *in vitro* hay trong giám canh.



Ảnh 1: Sơ khởi rễ ở khúc cắt trụ thượng diệp *Dolichos* sau 8 ngày nuôi cấy trên môi trường MS.

Ảnh 2: Sơ khởi rễ bất định ở tre Lục trúc sau 2 tuần nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung AIB 2mg/l với lượng  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  giảm một nửa.

Ảnh 3: Sơ khởi rễ bất định ở Hồng nhung sau 1 tuần nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung AIB 0,5mg/l.

Ảnh 4: Chôi Huệ trắng ra rễ sau 3 tuần nuôi cấy trên môi trường MS với AIA 2mg/l.

**ANALYSIS OF ADVENTITIOUS ROOT FORMATION IN BAMBOO, ROSE AND  
*LOLIUM LONGIFLORUM* BY USING THE *DOLICHOS* sp. EPICOTYL ASSAY**

**Bui Trang Viet, Phan Ngo Hoang, Le Thi Diem,  
 Vo Hoang Xuan Nguyet, Phan Hoang Anh**

**ABSTRACT:** The root formation is composed of two steps: In the first step, root primordia are initiated, and in the second step these primordia are elongated. The *Dolichos* epicotyl assay was based on the ability of auxin to stimulate the primordium initiation of *Dolichos* epicotyl sections inserted into a medium solidified with 7-g/l agar. The effects of the auxins at various concentrations and the substances extracted in the plant materials on the epicotyl sections were demonstrated and explained in this paper. The roles of auxin and the rooting ability of the bamboo, rose and *Lolium longiflorum* cuttings were discussed.

**Key words:** *Dolichos* sp., root formation, auxins, bamboo, rose, *Lolium longiflorum*.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Collin H. and Edwards S. 1998. Plant Cell culture. Bios Scientific publishers (158p).
2. Favre J.M. 1977. La rhizogenèse. Aspects divers d'un processus d'organogenèse végétale. Annales de l'Université d'Abidjan.
3. Heller R., Esnault R. et Lance C. 1995. Physiologie végétale. 2. Développement. Masson.
4. Mai Trần Ngọc Tiếng, Nguyễn Thị Ngọc Lang, Đặng Vĩnh Thanh, Nguyễn Du Sanh, Bùi Trang Việt. 1980. Kích thích tố giâm cành. Phần I - Các kích thích tố giâm cành hiện diện trong vài thực vật thông thường. Thông báo khoa học, ĐH. Tổng hợp TP. HCM, số 4, 85 - 92.
5. Mai Trần Ngọc Tiếng, Nguyễn Thị Ngọc Lang, Đặng Vĩnh Thanh, Nguyễn Du Sanh, Bùi Trang Việt. 1980. Kích thích tố giâm cành. Phần II - Cơ chế tạo rễ bất định. Thông báo khoa học, ĐHTH TP.HCM, số 4, 93 - 98.
6. Mai Trần Ngọc Tiếng, Nguyễn Thị Ngọc Lang, Đặng Vĩnh Thanh, Nguyễn Du Sanh, Bùi Trang Việt. 1980. Kích thích tố giâm cành. Phần III - Điều kiện một hom tiêu phải hội đủ để giâm cành thành công. Thông báo Khoa Học Trường ĐH. Tổng Hợp Tp. Hồ Chí Minh, số 4, 99-104.
7. Mai Trần Ngọc Tiếng và Bùi Trang Việt 1986. Kích thích tố giâm cành. Phần IV - Chất cản trong giâm cành dây cái Tiêu. Thông báo Khoa Học Trường ĐH. Tổng Hợp Tp. Hồ Chí Minh, số 5, 53-60.
8. Mitsuhashi M.N., Shibaoka H. and Shimokoriyama M., 1969. Portulac: a rooting promoting substance in Portulaca leaves. Plant and Cell Physiology, 4:715-725.
9. Murashige T. and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.