

# TÌM HIỂU QUÁ TRÌNH PHÁT TRIỂN CHỒI VÀ RỄ CÂY HOA HỒNG (*ROSA SP.*) TRONG ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY *IN VITRO*

Nguyễn Duy Hiệp

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên

(Bài nhận ngày 07/10/1999)

**TÓM TẮT :** Bài báo trình bày vấn đề áp dụng kỹ thuật nuôi cấy mô thực vật ở cây Hồng nHung (*Rosa sp.*). Sự tái lập tầng trưởng của chồi nách và sự sinh sản chồi được cảm ứng trên môi trường Murashige-Skoog (MS) chứa BA 2,5mg/l và NAA 0,1mg/l. Sự sinh sản chồi nhanh chóng cho phép tạo những cụm chồi, từ một đỉnh chồi duy nhất. Các chồi nhỏ tách rời từ cụm chồi ra rễ khi được chuyển sang môi trường MS<sup>1/4</sup> chứa IBA 0,1mg/l

## MỞ ĐẦU

Cùng với sự phát triển của nền kinh tế, nhu cầu hoa kiểng của cả nước và Thành phố ngày càng gia tăng. Hoa Hồng được mọi người ưa chuộng vì màu sắc, hình dáng và hương thơm quyến rũ [Huỳnh Văn Thới 1997]. Theo Ts. Dương Công Kiên (1998), khó khăn lớn nhất để phát triển nghề trồng cây hoa Hồng là ở khâu giống. Thông thường, giống cây hoa Hồng được sản xuất bằng hai phương pháp: nhân giống hữu tính (gieo hạt) và nhân giống vô tính (chiết cành, giâm cành, ghép).

Khúc cắt thân cây hoa Hồng đặc biệt rất khó ra rễ, gây nhiều khó khăn cho việc giâm cành [Huỳnh Tố Linh 1992]. Rất gần đây, Lineberger (1999) đã cải tiến môi trường dinh dưỡng và dùng các chất điều hòa tăng trưởng thực vật để kích thích sự phát triển chồi từ sinh mô ngọn và sự phát triển rễ từ cây *in vitro* 4 tháng tuổi.

Trong khảo cứu này, chúng tôi dùng vật liệu ban đầu rất phong phú và dễ tìm, đó là các chồi ngủ trên cành mang hoa của cây hoa Hồng “Nhưng”. Cây non *in vitro* (2 tháng rưỡi tuổi) được sử dụng trong nghiên cứu sự phát triển rễ.

## **VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP**

### **Vật liệu thực vật**

Nhánh mang hoa của cây hoa Hồng “nhung” (*Rosa sp.*) (ảnh 1).

### **Phương pháp**

#### **Quan sát hình thái giải phẫu**

Lát cắt ngang và dọc qua lóng và đốt thân, chồi và vùng tạo rễ được nhuộm hai màu (đỏ carmin / xanh iod) và quan sát dưới kính hiển vi ở các độ phóng đại x50 và x100.

#### **Sự nuôi cấy *in vitro***

Các khúc cắt thân cao 3 cm, mang chồi ngủ ở vị trí 1 - 7, được cắt bỏ lá và khử trùng với  $\text{HgCl}_2$  0,1 % trong 10 phút. Sau đó, vùng mô mang chồi ngủ, có kích thước 4 x 4 x 4 mm, được cô lập và đặt trên môi trường MS [Murashige and Skoog 1962] với saccharose 30 g/l và các chất khác nhau tùy theo thí nghiệm: ANA 0,1 mg/l + BA 2,5 mg/l (Lineberger 1999). Môi trường được làm rắn bởi agar 6,5 g/l. Tỷ lệ sống của chồi được quan sát sau 4 tuần nuôi cấy.

Cây con từ cụm chồi sau 2 tháng rưỡi trên môi trường NAA 0,1 mg/l + BA 2,5 mg/l được chuyển sang môi trường MS  $\frac{1}{4}$  (các chất dinh dưỡng đa lượng được làm loãng  $\frac{1}{4}$ ), với saccharose 30 g/l và AIB 0,1 mg/l. Môi trường được làm rắn bởi agar 6,5 g/l. Tỷ lệ cây con tạo rễ được quan sát sau 5, 10 và 15 ngày.

Sự nuôi cấy được thực hiện trong phòng tăng trưởng, ở các điều kiện: ánh sáng  $3.000 \pm 200$  lux (12 giờ / ngày), nhiệt độ  $27 \pm 2$  °C, độ ẩm tương đối  $55 \pm 3$  %.

## **KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

### **Sự phát triển chồi của cây hoa Hồng**

Vì được bao phủ bởi các lớp vảy, nên chồi ngủ ít nhiều gặp khó khăn trong sự tái lập tăng trưởng và phát triển *in vitro*. Tuy nhiên, vài mô phân sinh chồi “nách” được tìm thấy xung quanh mô phân sinh chồi “ngọn” (ảnh 2). Điều này chắc chắn sẽ giúp cho sự tạo các cụm chồi dễ dàng hơn. Thật vậy, trên môi



trường có BA 2,5 mg/l và ANA 0,1 mg/l, các lớp vảy mở ra, chồi ngủ tái lập tăng trưởng sau 10 ngày nuôi cấy (ảnh 3). Các chồi tiếp tục phát triển trên môi trường này (ảnh 4), và tạo các cụm chồi sau 2 tháng rưỡi (ảnh 5).

Với phương pháp được mô tả, tỉ lệ sống và tái lập tăng trưởng (chồi với các lá xanh thoát khỏi các vảy) của các chồi ngủ, sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường có BA 2,5 mg/l và ANA 0,1 mg/l, là 68,57% (bảng 1).

**Bảng 1:** Tỉ lệ sống và tái lập tăng trưởng của các chồi ngủ trên môi trường có BA 2,5 mg/l và ANA 0,1 mg/l. (Quan sát sau 4 tuần nuôi cấy.)

Chỉ tiêu quan sát	Tỉ lệ (%)
Sống và tái lập tăng trưởng	68,57
Chết (hóa nâu)	20,00
Nhiễm	11,43

### Sự phát triển rễ của cây hoa Hồng

Các cây hoa Hồng tách riêng từ các cụm chồi không tạo được rễ trên môi trường MS sau 1 tháng nuôi cấy. Cây hoa Hồng tạo rễ bất định khó là vì thân chứa nhiều tanin, ít tinh bột dự trữ, hơn nữa hàm lượng AAB cao, hàm lượng auxin và gibberelin thấp (Huỳnh Tố Linh 1992).

Theo Lineberger (1999), môi trường MS ¼ với AIB 0,1 mg/l có tác dụng kích thích mạnh sự tạo rễ bất định *in vitro* ở *Amelanchier laevis* (họ Rosaceae). Chúng tôi đã dùng môi trường này và đạt kết quả khá tốt trên cây hoa Hồng “Nhưng” được tách riêng từ các cụm chồi (sau 2 tháng rưỡi nuôi cấy trên môi trường MS với BA 2,5 mg/l + ANA 0,1 mg/l), sau 10 ngày nuôi cấy (bảng 2).

**Bảng 2:** Tỉ lệ tạo rễ theo thời gian ở các cây hoa Hồng “Nhưng” tách rời từ các cụm chồi và được chuyển sang môi trường MS với AIB 0,1 mg/l. (Số cây thí nghiệm : 21.)

Thời gian (ngày)	10	15	20
Tỉ lệ (%)	33,33	57,14	66,67

Trên môi trường MS ¼ với AIB 0,1 mg/l, cây hoa Hồng tách riêng ở trạng thái bình thường với các lá xanh tốt. Sau đó, ở ngày 10, ta có thể thấy các sơ khởi mới của rễ (ảnh 6), cũng như các sơ khởi rễ đã kéo dài; hệ thống mạch dẫn của rễ được thấy nối liền với hệ thống mạch dẫn của thân (ảnh 7). Ở ngày 15, các cây có 2 - 6 rễ phát triển (ảnh 8). Sự tạo rễ qua hai giai đoạn phù hợp với kết quả của Mai Trần Ngọc Tiếng và csv (1980).

### KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Qua các kết quả đạt được, chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

- Nhánh mang hoa với nhiều chồi ngủ là vật liệu thích hợp, dễ tìm cho các nghiên cứu về sự tạo chồi và rễ ở cây hoa Hồng. Đó cũng là vật liệu ban đầu thích hợp cho sự nhân giống *in vitro*, đáp ứng nhu cầu về giống hiện nay.
- Chồi ngủ trên các nhánh mang hoa có thể sống, tái lập tăng trưởng, và tạo cụm chồi khá dễ dàng trên môi trường có tỉ lệ cytokinin / auxin cao (BA 2,5 mg/l và NAA 0,1 mg/l).
- Cây con tách riêng từ các cụm chồi tạo được rễ trên môi trường có AIB 0,1 mg/l.

Trong tương lai, chúng tôi sẽ tiếp tục tìm hiểu cơ chế sự phát triển rễ của cây hoa Hồng còn tách riêng từ các cụm chồi.

### SHOOT DEVELOPMENT AND ADVENTITIOUS ROOT FORMATION IN VITRO IN ROSA SP.

Nguyen Duy Hiep

**ABSTRACT** : The intent of this communication is to briefly describe the application of the tissue culture techniques to the plant "Hong Nhung" (rosa sp.). The release of axillary buds and the shoot multiplication were induced, on a Murashige-Skoog (MS) medium containing 2,5 mg/l BA and 0,1 mg/l NAA. This rapid proliferation of shoots results in masses of shoots being produced from a single tip. The small shoots which had been removed from the cultures were stimulated to form roots by transference to a ¼ MS medium containing 0,1 mg/l IBA



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Bùi Trang Việt, 1998. Sinh lý thực vật đại cương. Phần 3: Phát triển. Ban Xuất Bản Trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên - Đại Học Quốc Gia Thành Phố Hồ Chí Minh, 264 trang.

[2] Dương Công Kiên, Lê Ngọc Điệp, Phạm Văn Hiếu, Võ Thị Thu Oanh và Nguyễn Văn Hai, 1998. Giáo trình lớp Hoa Hồng. Trung tâm Khoa học và Công nghệ Sinh học - Trường ĐH. Khoa học Tự nhiên Tp. HCM, 69 trang.

[3] Huỳnh Tố Linh 1992. Tìm hiểu khả năng tạo rễ bất định và ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật lên quá trình tạo sơ khởi rễ ở cành giâm hoa Hồng. Tiểu luận tốt nghiệp - ĐH. Tổng Hợp Tp. HCM.

[4] Huỳnh Văn Thới, 1997. Kỹ thuật trồng và ghép Hoa Hồng. Nhà Xuất Bản Trẻ, 126 trang.

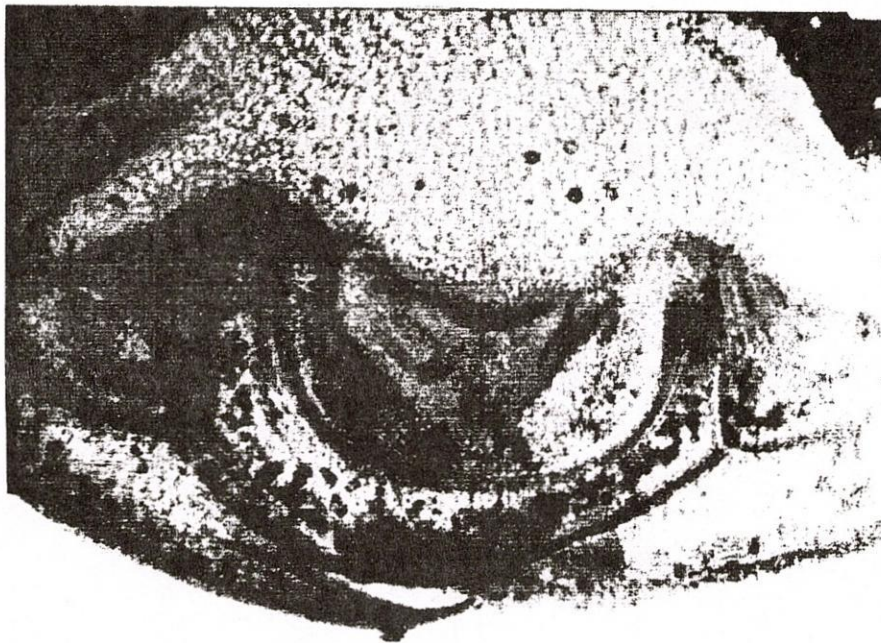
[6] Lineberger R. 1999. Shoot tip culture of *Amelanchier laevis*. (Tài liệu của Bộ môn Sinh lý thực vật.)

[7] Mai Trần Ngọc Tiếng, Nguyễn Thị Ngọc Lang, Đặng Vĩnh Thanh, Nguyễn Du Sanh và Bùi Trang Việt 1980. Kích thích tố giâm cành. Phần II- Cơ chế tạo rễ bất định. Thông báo Khoa học Đại học Tổng hợp thành phố Hồ Chí Minh, 4: 93-98.

*Cảm ơn : Tác giả xin chân thành cảm ơn quý Thầy Cô và nhân viên Phòng thí nghiệm Sinh lý thực vật (Bộ môn sinh lý thực vật-Di truyền) đã tạo điều kiện thuận lợi để công trình được thực hiện. Ban tổ chức chương trình nghiên cứu Khoa học sinh viên Trường Đại học Khoa học Tự nhiên đã tài trợ kinh phí để thực hiện đề tài này. Thầy Ts. Bùi Trang Việt, Trưởng Bộ môn Sinh lý Thực vật-Di truyền đã gợi ý và hướng dẫn việc thực hiện đề tài, CN. Phan Ngô Hoang (Bộ môn Sinh lý Thực vật-Di truyền) đã giúp đỡ trong thời gian làm đề tài và viết báo cáo khoa học.*

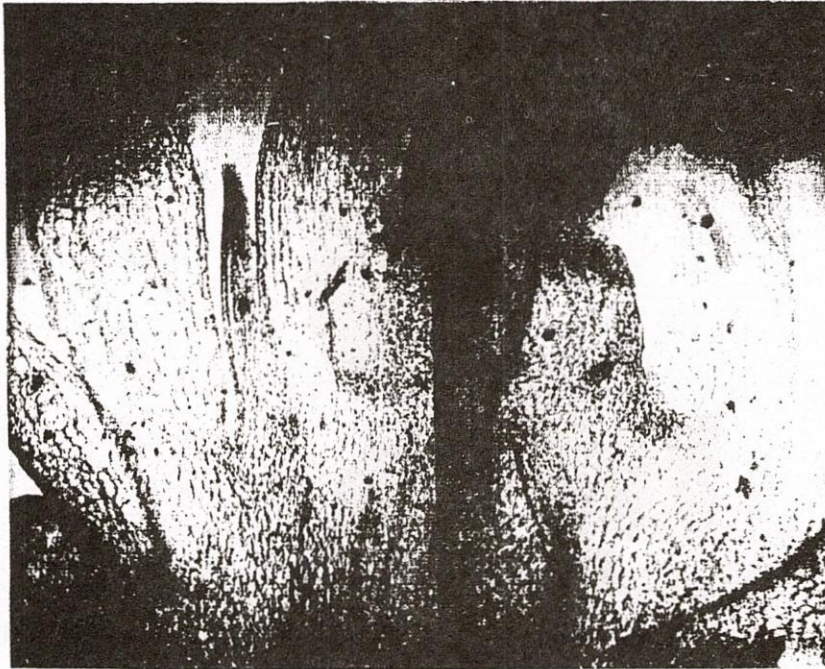


**Ảnh 1:** Nhánh mang hoa của cây hoa Hồng “Nhưng”. (Chồi ngủ ở vị trí các nách lá không thấy được bằng mắt thường)

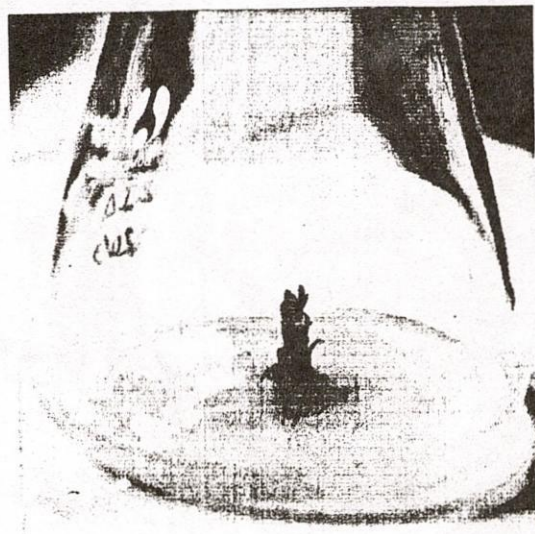


**Ảnh 2:** Cấu trúc chồi ngủ ở nách lá cây hoa Hồng “Nhưng”. (Lát cắt ngang qua đốt thân thứ hai.)



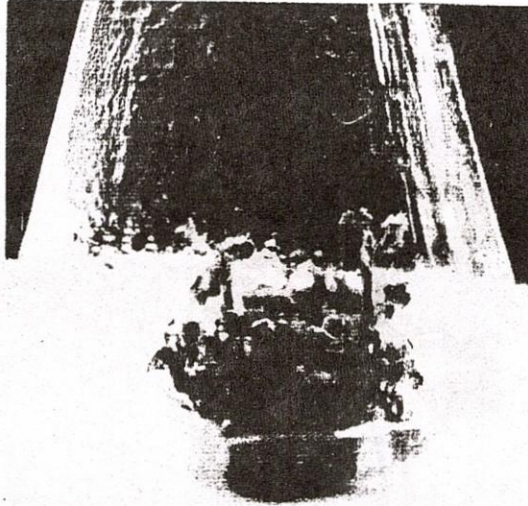


**Ảnh 3:** Cấu trúc chồi ngủ ở nách lá cây hoa Hồng “Nhung” sau 10 ngày nuôi cấy trên môi trường MS có BA 2,5 mg/l và NAA 0,1 mg/l. (Lát cắt dọc qua chồi ngủ ở đốt thân thứ hai.)



**Ảnh 4:** Sự phát triển chồi ở nách lá cây hoa Hồng “Phấn” sau 1 tháng nuôi cấy trên môi trường MS có BA 2,5 mg/l và NAA 0,1 mg/l.





**Ảnh 5:** Cụm chồi phát triển từ chồi ngủ ở nách lá cây hoa Hồng “Nhưng” sau 2 tháng rưỡi nuôi cấy trên môi trường MS có BA 2,5 mg/l và NAA 0,1 mg/l.



**Ảnh 6:** Sự phân hóa rễ bất định từ sơ khởi rễ của cây hoa Hồng “Nhưng” tách rời từ cụm chồi và được chuyển sang môi trường MS với AIB 0,1 mg/l. (Quan sát ở ngày thứ 15 trên môi trường mới.)





**Ảnh 7:** Cây hoa Hồng “Nhưng” tách rời từ cụm chồi và được chuyển sang môi trường MS với AIB 0,1 mg/l. (Quan sát ở ngày thứ 15 trên môi trường mới, cho thấy các rễ bất định xuất hiện trên thân.)