

NHÂN GIỐNG CÂY HOA HỒNG MÊ LINH - HÀ NỘI BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY MÔ

La Việt Hồng^{1*}, Chu Đức Hà², Ngô Thị Quỳnh¹

¹Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2, ²Viện Di truyền Nông nghiệp (VAAS)

TÓM TẮT

Cây hoa hồng là một trong những loại hoa cắt cành quan trọng nhất trên thế giới và ở Việt Nam hiện nay. Trong nghiên cứu này, hoa hồng Mê Linh (Hà Nội), đã được sử dụng làm vật liệu cho nhân giống *in vitro* phục vụ nguồn cung ứng cây sạch bệnh. Kết quả cho thấy, tất cả các công thức có bổ sung BAP đều kích thích hình thành chồi và môi trường tốt nhất để tái sinh chồi *in vitro* từ đốt thân hoa hồng là MS có bổ sung 1,0 mg/l BAP, chồi tái sinh phát triển tốt. Công thức môi trường thích hợp cho nhân nhanh chồi *in vitro* được xác định là MS bổ sung 1,0 mg/l BAP, số lượng chồi/mẫu đạt 3,80; chiều cao chồi đạt 1,70 cm và số lá/chồi đạt 4,20. Chiều cao chồi lớn nhất được ghi nhận ở công thức có bổ sung 0,2 mg/l than hoạt tính. Tiếp theo, công thức môi trường ½ MS bổ sung 0,5 mg/l NAA thích hợp cho tạo rễ *in vitro* với tỷ lệ hình thành rễ cao nhất đạt 67,50%. Cây *in vitro* được trồng trên giá thể hỗn hợp TS 1 cho tỷ lệ sống cao (75,5%) sau 2 tuần rèn luyện.

Từ khóa: cấy mô, hoa cắt cành, hoa hồng, *in vitro*, nhân nhanh

Ngày nhận bài: 12/11/2018; Ngày hoàn thiện: 29/11/2018; Ngày duyệt đăng: 31/01/2019

PROPAGATION OF ME LINH ROSE BY PLANT TISSUE CULTURE

La Viet Hong^{1*}, Chu Duc Ha², Ngo Thi Quynh¹

¹Hanoi Pedagogical University No2,

²Agricultural Genetics Institute (VAAS)

ABSTRACT

Rose is considered as one of the most important cut flower species in the world and in Vietnam. In this study, stem segments of rose obtained from Me Linh (Ha Noi) were used as the materials for the micropropagation. The results showed that all of the treatments supplemented BAP were stimulated generating shoot and the concentration of 1.0 mg/L BAP was found as the best formula for the growth of regenerated shoots. The formula of MS with 1.0 mg/L BAP was highly recommended for the multiplication of rose nodal explants as the shoots number per explant were 3.80, the length of shoot was 1.70 cm and the leaves number per shoot reached 4.20. In the case of adding 0.2 mg/L activated charcoal, the length of newly regenerated shoots were found to be the highest one (approximately 2.70 cm) as compared with other formulas. Next, the medium ½ MS with 0.50 mg/L NAA showed the efficiency for the *in vitro* root formation, with 67.50 roots per microshoot. Finally, *in vitro* plantlets were acclimatized by growing in TS 1 mixture substrate which exhibited the highest survival rate by approximately 75.5% after 2 weeks.

Keywords: tissue culture, cut flower, rose, *in vitro*, micropropagation

Received: 12/11/2018; Revised: 29/11/2018; Approved: 31/01/2019

* Corresponding author: Tel: 0973 376668, Email: laviethong.sp2@gmail.com

MỞ ĐẦU

Trong vài năm gần đây, nhân giống *in vitro*, với lợi thế về khả năng cung ứng nguồn cây sạch bệnh và đồng đều chất lượng, đã được áp dụng trên nhiều đối tượng cây trồng quan trọng, trong đó có hoa hồng [5]. Đây là một trong những loại cây hoa thương mại quan trọng nhất hiện nay. Nghiên cứu đã chỉ ra rằng phương pháp nhân giống hoa hồng bằng kỹ thuật nuôi cấy mô có thể chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố, như kiểu gen, thành phần môi trường, điều kiện vật lý trong bình nuôi cấy và phòng nuôi cấy [9].

Trên thế giới, một số quy trình vi nhân giống đối tượng hoa hồng, đã có một số nghiên cứu nhân giống thành công [6], [8]. Ở Việt Nam, trên đối tượng hoa hồng cổ Sa Pa, Bùi Thị Thu Hương và cộng sự (2017) [2] thông báo môi trường phù hợp để bật chồi và nhân nhanh chồi là MS có bổ sung BAP và kinetin, cho số chồi/mẫu mới chỉ đạt 2,48. Hệ số nhân nhanh trên đối tượng hoa hồng cổ Sa Pa có thể được cải thiện bằng cách bổ sung nano bạc vào môi trường nhân nhanh [1]. Trên đối tượng hoa hồng cơm, nhóm nghiên cứu Nguyễn Thị Phương Thảo và cộng sự (2015) [4] đã nhân giống và cảm ứng ra hoa trong ống nghiệm cây hồng cơm bằng cách bổ sung vào môi trường nuôi cấy $AgNO_3$ và $CoCl_2$. Có thể thấy rằng, các nghiên cứu nhân giống hoa hồng rất được chú trọng ở Việt Nam, tuy nhiên vẫn chưa có nghiên cứu nào thực hiện trên đối tượng hoa hồng cắt cành của Mê Linh (Hà Nội), là vùng sản xuất hoa lớn của miền Bắc nước ta. Mục đích của nghiên cứu này nhân nhanh hoa hồng Mê Linh (Hà Nội), là cơ sở cho sản xuất số lượng lớn cây giống cung cấp cho các vùng chuyên canh tại Mê Linh cũng như vùng chuyên canh hoa trên cả nước.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu: Cây hoa hồng loại cắt cành của Mê Linh (Hà Nội).

Phương pháp nghiên cứu:

Tái sinh chồi in vitro: Nuôi cấy đốt thân (dài 2 ÷ 3 cm chứa 2 mắt ngủ) được khử trùng bề mặt trên môi trường Murashige và Skoog (MS) (pH = 5,8) [7] có bổ sung 6-

benzylaminopurine (BAP) ở dải nồng độ 0; 0,5; 1,0 và 1,5 mg/l. Chồi tái sinh được đánh giá sau 2 tuần nuôi cấy.

Nhân nhanh chồi in vitro: Sử dụng chồi tái sinh cắt thành các đoạn dài 2 ÷ 3 cm cấy môi trường MS có bổ sung 20; 25 và 30 g/l saccarozơ kết hợp với 3,5; 5,0 và 7,0 g/l agar, bổ sung 1,0 mg/l BAP. Trong thí nghiệm khác, mẫu được nuôi cấy lên môi trường MS (3,5 g/l agar, 25 g/l saccarozơ, 1,0 mg/l BAP) bổ sung 0,1; 0,2; 0,3 và 0,4 g/l than hoạt tính. Xác định các chỉ tiêu số chồi/mẫu, chiều cao chồi (cm) và số lá/chồi sau 5 tuần nuôi cấy.

Tạo cây in vitro hoàn chỉnh: Chồi *in vitro* có chiều cao 2 ÷ 3 cm được nuôi cấy trên môi trường ½ MS có bổ sung 25 g/l saccarozơ, 3,5 g/l agar và 0; 0,25; 0,50; 0,75 và 1,0 mg/l α -naphthalene acetic acid (NAA). Xác định các chỉ tiêu tỷ lệ ra rễ (%), số rễ/chồi, chiều dài rễ (cm) sau 2 tuần nuôi cấy.

Rèn luyện cây in vitro thích nghi môi trường tự nhiên: Cây con *in vitro* có chiều cao 3 ÷ 4 cm, có từ 3 ÷ 5 rễ được sử dụng để ương vào giá thể phối trộn đất + trấu hun (1:1), đất phù sa và giá thể hỗn hợp TS1 (Klasmann-Deilmann, Đức). Xác định tỷ lệ sống (%) sau 2 tuần thí nghiệm.

Phân tích thống kê: Số liệu thực nghiệm được xử lý theo các tham số thống kê và kiểm tra sự sai khác giữa giá trị trung bình bằng LSD (least significant difference) trên phần mềm Excel 2010 [3]. Số liệu thể hiện trong bảng là giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn, trong cùng một cột, các chữ theo sau khác nhau thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $\alpha = 0,05$.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng tái sinh chồi của cây hoa hồng cắt cành

Trong nghiên cứu này, nuôi cấy trên môi trường đối chứng (MS) cho thấy chồi ngủ phát triển chậm, sớm bị hoại tử (Hình 1a). Các công thức có bổ sung BAP đều có tác dụng kích thích sự phát triển của mắt ngủ (đạt 100%) (Hình 1b, c, d). Đặc biệt, chồi tái sinh ở công thức bổ sung 1,0 mg/l BAP có màu xanh đậm, phát triển kéo dài nhanh. Các chồi mới tái sinh được dùng làm nguyên liệu cho

thí nghiệm tiếp theo.

Ảnh hưởng của nồng độ agar, saccarozo đến khả năng sinh trưởng của chồi hoa hồng trong nhân giống *in vitro*

Trong nghiên cứu này, việc bổ sung agar với nồng độ khác nhau có ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng của chồi tái sinh (Bảng 3, Hình 3). Công thức MS chứa 1,0 mg/l BAP, 25 g/l saccarozo và 3,5 g/l agar cho kết quả

nhân nhanh chồi tốt nhất, được thể hiện qua các chỉ tiêu số chồi/mẫu đạt 3,80, chiều cao chồi đạt 1,70 cm và số lá/chồi đạt 4,20. Như vậy, môi trường bán lỏng (lượng agar 3,5 g/l) có thể phù hợp với giai đoạn nhân nhanh chồi của hoa hồng cắt cành. Điều này có thể được giải thích do mẫu dễ dàng hấp thụ dinh dưỡng, chất điều hòa sinh trưởng trong môi trường bán lỏng [6], [9].



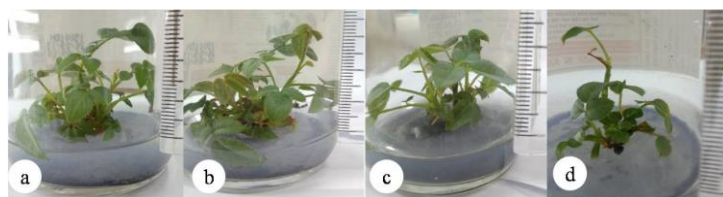
Hình 1. Kết quả tái sinh chồi *in vitro* từ đốt thân hoa hồng sau 14 ngày
a, b, c, d: đốt thân cây trên môi trường MS0, MS0+BAP 0,5, MS0+BAP 1,0, MS0+BAP 1,5

Bảng 3. Ảnh hưởng của agar, saccarozo đến quá trình nhân nhanh chồi hoa hồng *in vitro*

Công thức	MS, 1,0 mg/l BAP (pH 5,8)		Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi/mẫu (cm)	Số lá/mẫu
	Saccarozo (mg/l)	Agar (mg/l)			
1	20		3,40 ^{ab}	2,00 ^a	3,80 ^{ab}
2	25	3,5	3,80^a	1,70^{ab}	4,20^a
3	30		3,20 ^{ab}	1,34 ^b	3,20 ^{abc}
4	20		3,00 ^{abc}	1,52 ^{ab}	3,20 ^{abc}
5	25	5,0	2,80 ^{bc}	1,50 ^{ab}	3,80 ^{ab}
6	30		2,20 ^c	1,34 ^b	3,00 ^{bc}
7	20		2,60 ^{bc}	1,38 ^b	3,40 ^{abc}
8	25	7,0	2,80 ^{bc}	1,14 ^b	3,20 ^{abc}
9	30		3,40 ^{ab}	1,14 ^b	2,60 ^c
	LSD _{0,05}		0,82	0,48	0,96



Hình 2. Ảnh hưởng của agar, saccarozo đến quá trình nhân nhanh chồi hoa hồng *in vitro*
a-c: Tương ứng với CT 1-3 (môi trường chứa lần lượt 20, 25 và 30 g/l saccarozo + 3,5 g/l agar). d-f: Tương ứng với CT 4-6 (môi trường chứa lần lượt 20, 25 và 30 g/l saccarozo + 5,0 g/l agar). g-i: Tương ứng với CT 7-9 (môi trường chứa lần lượt 20, 25 và 30 g/l saccarozo + 7,0 g/l agar)



Hình 4. Ảnh hưởng của than hoạt tính đến quá trình nhân nhanh chồi hoa hồng in vitro

Theo một số nghiên cứu, việc bổ sung than hoạt tính có tác dụng tăng sinh trưởng của mẫu hoa hồng trong nuôi cấy mô [6], [9]. Trong nghiên cứu này, than hoạt tính được bổ sung vào môi trường nhân nhanh. Kết quả cho thấy ở công thức bổ sung 0,2 g/l than hoạt tính) cho chiều cao chồi lớn nhất (đạt 2,70 cm) (Bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của hàm lượng than hoạt tính trong môi trường MS đến sinh trưởng của chồi hoa hồng trong nhân giống in vitro

Công thức	Than hoạt tính (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/mẫu
1	0,1	3,20 ^{ab}	1,90 ^b	3,20 ^b
2	0,2	3,60 ^a	2,70 ^a	5,20 ^a
3	0,3	2,60 ^{bc}	1,84 ^b	4,00 ^{ab}
4	0,4	2,40 ^c	1,90 ^b	4,20 ^{ab}
	LSD _{0,05}	0,70	0,61	1,18

Ảnh hưởng của nồng độ NAA đến khả năng ra rễ của chồi hoa hồng trong nhân giống in vitro

Hầu hết chồi hoa hồng nuôi cấy mô đều có khả năng ra rễ ở các công thức có bổ sung NAA (0,25; 0,50 và 0,75 mg/l), ngoại trừ CT 5 (NAA 1,0 mg/l). Trong đó, CT 3 cho tỷ lệ hình thành rễ cao nhất, đạt 67,50%, CT 2 cho số rễ/chồi tốt nhất, đạt 4,62, CT 4 cho chiều dài rễ tốt nhất, đạt 4,75 (Hình 4, Bảng 4).



Hình 5. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng ra rễ của chồi hoa hồng trong nhân giống in vitro

a. Ra rễ ở CT 1 (NAA 0,25), b. Ra rễ ở CT 2 (NAA 0,50), c. Ra rễ ở CT 3 (NAA 0,75)

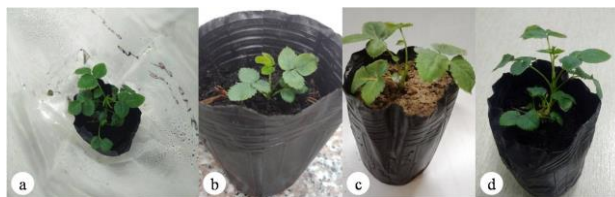
Bảng 5. Ảnh hưởng của NAA đến quá trình ra rễ - tạo cây hoa hồng in vitro hoàn chỉnh

Công thức	NAA (mg/l)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ/chồi	Chiều dài rễ (cm)
1	0,00	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^c
2	0,25	41,75 ^b	4,62 ^a	2,00 ^b
3	0,50	67,50^a	2,25^b	3,00^b
4	0,75	41,50 ^b	1,37 ^c	4,75 ^a
5	1,00	0,00 ^c	0,00 ^d	0,00 ^c
	LSD _{0,05}	6,54	0,56	1,17

Như vậy, môi trường thích hợp cho sự ra rễ của cây hoa hồng nhưng là ½ MS, agar 3,5 g/l, 25 g/l đường saccarozơ và NAA 0,50 mg/l.

Ảnh hưởng của giá thể trong nhân giống hoa hồng trên vườn ươm

Trong nghiên cứu này, cây in vitro được trồng lên các giá thể khác nhau, che đậy bằng túi nilon (Hình 6a), sau 7 ngày bắt đầu mở dần túi nilon cho cây thích nghi dần với điều kiện tự nhiên. Kết quả cho thấy tỷ lệ cây sống sau 14 ngày rèn luyện lần lượt đạt 66,2; 60,0 và 75,5% tương ứng với giá thể đất+trấu hun (1:1), đất phù sa và giá thể TS1 (Hình 6 b, c, d).



Hình 6. Rèn luyện cây hoa hồng cấy mô thích nghi với điều kiện tự nhiên

a, b, c: Lần lượt là cây được rèn luyện trên giá thể đất+trấu hun (1:1), đất phù sa, giá thể TS1

KẾT LUẬN

Môi trường phù hợp để tái sinh chồi từ đốt thân của cây hoa hồng Mê Linh (Hà Nội) là MS, có bổ sung 30 g/l saccarozơ, 7 g/l agar, 1 mg/l BAP. Chồi tái sinh có màu xanh đậm, phát triển nhanh. Môi trường thích hợp để nhân nhanh chồi *in vitro* là MS, có bổ sung 1,0 mg/l BAP, 25 g/l saccarozơ và 3,5 g/l agar (pH 5,8), thể hiện qua các chỉ tiêu số chồi/mẫu đạt 3,80; chiều cao chồi đạt 1,70 cm và số lá/chồi đạt 4,20. Môi trường có thành phần tương tự môi trường nhân nhanh có bổ sung 0,2 mg/l than hoạt tính cho chiều cao chồi lớn nhất (đạt 2,70 cm). Môi trường ½ MS, có bổ sung 25 g/l saccarozơ, 3,5 g/l agar và NAA 0,5 mg/l thích hợp cho ra rễ *in vitro*, tỷ lệ hình thành rễ cao, đạt 67,50%. Cây con được trồng trên giá thể hỗn hợp TS 1 cho tỷ lệ sống cao đạt 75,5% sau 2 tuần rèn luyện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đồng Huy Giới, Dương Thị Mến, (2017), “Nghiên cứu sử dụng chế phẩm nano trong nuôi cấy mô cây hoa hồng cổ Sa Pa”, *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 5(78), tr. 59 - 65.
2. Bùi Thị Thu Hương, Đồng Huy Giới, Nguyễn Thị Trang, Hồ Thị Quyên (2017), “Nhân nuôi cây hoa hồng cổ Sa Pa (*Rosa gallica* L.) bằng kỹ thuật cấy mô *in vitro*”, *Hội nghị Khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 7*, tr. 1229 - 1235.
3. Nguyễn Văn Mã, La Việt Hồng, Ong Xuân Phong (2013), *Phương pháp nghiên cứu sinh lý học thực vật*, Nxb Đại học quốc gia Hà Nội.
4. Nguyễn Thị Phương Thảo, Đặng Quang Bích, Nguyễn Thị Thủy, Nguyễn Thị Thùy Linh, Phạm Thị Thu Hằng, Đặng Thị Thanh Tâm, Ninh Thị Thảo, Nguyễn Thị Lâm Hải, Nguyễn Thanh Hải, (2015), “Nhân nhanh và cảm ứng ra hoa *in vitro* cây hoa hồng cơm (*Rosa sericea* Lindl)”, *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 13(4), tr. 606 - 613.
5. Dhawan V., Bhojwani S. S. (1986), “Micropropagation in crop plants”, *Glimpses Plant Res.*, 7, pp. 1 - 75.
6. Kumud S., Heml P., Vijay R. (2015), “Micropropagation of rose cultivars: biotechnological application to floriculture”, *J. Environ. Res. Develop*, 10(1), pp. 40 - 46.
7. Murashige T., Skoog F. (1962), “A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures”, *Physiol Plant*, 15, pp. 473-497.
8. Omidi M., Yadollahi A., Eftekhari M., (2016), “Comparative study of *Rosa damascenes* Mill. and *R. gallica* micro-propagation”, *Biol. Forum*, 8(1), pp. 135-145.
9. Pati P. K., Rath S. P., Sharma M., Sood A., Ahuja P. S. (2006), “*In vitro* propagation of rose - a review”, *Biotechnol. Adv.*, 24, pp. 94 – 114.

