

## ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT ĐIỀU TIẾT SINH TRƯỞNG THỰC VẬT VÀ CHẤT KHOÁNG VI LƯỢNG ĐẾN SINH TRƯỞNG VÀ RA HOA *IN VITRO* Ở CÂY HOA HỒNG

Nguyễn Thị Thủy, Ngô Thị Việt, Nguyễn Thị Phương Thảo\*, Nguyễn Thị Thùy Linh, Ninh Thị Thảo, Nguyễn Thị Lâm Hải, Nguyễn Thanh Hải

*Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt nam*

*Email\* : ntpthao@vnua.edu.vn*

Ngày gửi bài: 18.05.2015

Ngày chấp nhận: 02.12.2015

### TÓM TẮT

Hệ thống ra hoa *in vitro* là một công cụ hữu ích trong nghiên cứu quá trình ra hoa cũng như sản xuất hoa *in vitro* thương mại. Nghiên cứu này tiến hành đánh giá ảnh hưởng của các chất điều tiết sinh trưởng thực vật (BA và TDZ) và chất khoáng vi lượng ( $\text{AgNO}_3$  và  $\text{CoCl}_2$ ) đến sự sinh trưởng và ra hoa *in vitro* trên ba giống hồng (HV, HD, HT). Kết quả cho thấy các yếu tố khảo sát đều ảnh hưởng đến sự sinh trưởng nhưng chỉ có TDZ và  $\text{AgNO}_3$  ảnh hưởng đến sự cảm ứng ra hoa. Trên môi trường MS có bổ sung 0,2 mg/l TDZ, chỉ có mẫu giống hoa hồng HV cảm ứng ra hoa với tỉ lệ 72,2%. Trong khi đó, trên môi trường có bổ sung 30  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$ , sau 21-25 ngày, cả ba giống HT, HV và HD đều ra hoa với tỉ lệ lần lượt là 30%, 40% và 50%; độ bền hoa khoảng 14-16 ngày.

Từ khóa:  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{CoCl}_2$ , BA, TDZ, hoa hồng, ra hoa *in vitro*.

### Effects of Plant Growth Regulators and Micronutrients on *In vitro* Growth and Flowering in Roses

### ABSTRACT

An *in vitro* flowering system has been considered as a convenient tool not only to study flowering mechanism but also to produce commercial *in vitro* flowers. This study evaluated effect of plant growth regulators (BA and TDZ),  $\text{AgNO}_3$  and  $\text{CoCl}_2$  on growth and *in vitro* flowering of three rose varieties (HV, HD, HT). The results showed that all tested compounds had different effects on plant growth but only TDZ and  $\text{AgNO}_3$  were able to induce flowering. On MS medium containing 0.2 mg/l TDZ, only HV variety was induced flowering with the rate of 72.2%, while on medium supplemented 30  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$ , after 21-25 days, all three varieties HT, HV and HD were induced flowering with the rates of 30%, 40% and 50%, respectively; the flowers lasted as long as 14-16 days.

Keywords:  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{CoCl}_2$ , BA, *in vitro* flowering, roses, TDZ.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong lĩnh vực hoa cây cảnh, nuôi cấy *in vitro* đã khẳng định vai trò không thể thay thế và đem lại hiệu quả kinh tế to lớn thực sự. Rất nhiều loài hoa và cây cảnh đã được nuôi cấy *in vitro* thành công nhưng hầu hết các nghiên cứu mới chỉ dừng lại ở mức vi nhân giống mà chưa được khai thác về khía cạnh điều khiển ra hoa *in vitro*. Sự ra hoa là một trong những sự kiện quan trọng trong đời sống thực vật. Quá trình

này đánh dấu sự chuyển hóa từ giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng sang giai đoạn sinh trưởng sinh thực được điều khiển bởi cả yếu tố nội sinh và ngoại sinh (Kantamaht et al., 2010). Sự nở hoa trong ống nghiệm có thể cung cấp một mô hình để nghiên cứu sự hình thành và phát triển, sự già hóa của hoa đồng thời có thể được ứng dụng trong công tác chọn tạo giống, đặc biệt đối với những giống có giai đoạn sinh trưởng sinh dưỡng kéo dài. Thêm vào đó, việc điều khiển sự ra hoa *in vitro* góp phần thúc đẩy quá trình

chọn tạo các giống hoa mới cũng như làm đa dạng hóa sản phẩm và đáp ứng nhu cầu về chơi và thưởng thức hoa (Wang et al., 2002).

Để phục vụ nhu cầu thưởng thức, thưởng ngoạn hoa đa dạng, ngày nay, ngoài các phương thức trồng hoa trên giá thể truyền thống là đất thì phương thức trồng hoa trong môi trường nhân tạo đang rất được quan tâm. Ở các nước như Thái Lan, Singapore và Đài Loan, cây trồng nuôi cấy *in vitro* đã được giới thiệu ra thị trường bởi một số công ty thương mại. Một số nhà khoa học trên thế giới cũng đã nghiên cứu cơ chế nở hoa thành công đối với một số ít đối tượng như hoa lan (Tee et al., 2008; Chen, 2003), hoa hồng (Wang et al., 2002; Vu et al., 2006; Kantamaht, 2001, 2010).

Hoa hồng là một trong những loài hoa phổ biến nhất thế giới bởi màu sắc đa dạng, hình dáng đẹp và hương thơm quyến rũ (MacPhail and Kevan, 2009). Ngày nay, hoa hồng được trồng khắp mọi nơi làm hoa cắt và hoa trồng chậu đem lại giá trị kinh tế cao (Vu et al., 2006). Trên thế giới, một số nghiên cứu tạo hoa hồng nở hoa *in vitro* đã được thực hiện thành công bởi Wang et al. (2002), Kantamaht et al. (2010)... Hiện nay ở Việt Nam đã có những hiểu biết bước đầu về cơ chế hình thành hoa *in vitro*. Tuy nhiên, vai trò của các yếu tố tham gia điều khiển quá trình ra hoa *in vitro* ở cây trồng như quang chu kỳ, nhiệt độ, chất điều hòa sinh trưởng cũng như thành phần đa, vi lượng trong môi trường nuôi cấy cần được tiếp tục nghiên cứu và làm rõ. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định được ảnh hưởng của các chất điều tiết sinh trưởng và các yếu tố vi lượng đến quá trình ra hoa ở một số giống hoa hồng thương mại, tạo cơ sở cho việc phát triển các qui trình kỹ thuật chủ động điều khiển ra hoa *in vitro* trên cây hoa hồng.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng đoạn thân bánh tẻ chứa mầm ngủ ba giống Hồng vàng (HV), Hồng đỏ (HD) và Hồng trắng (HT) thu thập tại Mê Linh - Vĩnh Phúc.

### 2.2. Phương pháp khử trùng

Đoạn thân bánh tẻ mang mầm ngủ (không quá già cũng không quá non), không sâu bệnh, sinh trưởng tốt được rửa sạch dưới vòi nước, ngâm trong xà phòng loãng 15 phút, rồi rửa lại dưới vòi nước chảy đến khi sạch xà phòng. Sau đó, trong tủ cấy vô trùng, mẫu được ngâm trong cồn 70% trong 1 phút, rửa lại bằng nước cất vô trùng trước khi được khử trùng bằng dung dịch  $HgCl_2$  0,1% trong 15 phút và cuối cùng được rửa bằng nước cất vô trùng từ 3-5 lần.

### 2.3. Tạo vật liệu khởi đầu và điều khiển ra hoa *in vitro*

Đoạn thân hoa hồng sau khi khử trùng được chuyển sang môi trường MS + 30 g/l sucrose trong ba tuần để cảm ứng tạo chồi. Các chồi sinh trưởng, phát triển khỏe mạnh, thân mập có từ 3-4 lá, cao 1-1,5 cm sau đó được chuyển sang môi trường MS + 30 g/l sucrose có bổ sung BA, TDZ,  $AgNO_3$  và  $CoCl_2$  riêng rẽ hoặc kết hợp ở các nồng độ khác nhau để kích thích chồi hoa hồng ra hoa trong điều kiện *in vitro*.

Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH 5,8 trước khi hấp khử trùng ở nhiệt độ  $121^\circ C$  trong 20 phút. Điều kiện nuôi cấy *in vitro*: 16h sáng/8h tối, cường độ ánh sáng 2000 - 2500 lux, nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ C$ .

### 2.4. Bố trí thí nghiệm, theo dõi và xử lý số liệu

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn, mỗi công thức lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại 30 mẫu. Các chỉ tiêu được theo dõi và đo đếm sau 3-10 tuần tùy từng thí nghiệm.

Số liệu được xử lý thống kê theo chương trình Excel và IRRISTAT 5.0.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của chất điều tiết sinh trưởng đến sinh trưởng và ra hoa *in vitro* ở cây hoa hồng

Bên cạnh vai trò kích thích sự phát sinh hình thái, tăng khả năng sinh trưởng, phát

triển của các chồi *in vitro*, trong một số trường hợp, việc bổ sung BA, TDZ vào môi trường nuôi cấy còn có tác dụng kích thích sự ra hoa *in vitro* như cây hoa hồng (Wang et al., 2002; Kantamaht et al., 2010), hoa lan *Dendrobium candidum* Wall ex. Lindl (Wang et al., 2002). Trong nghiên cứu này, BA và TDZ được bổ sung vào môi trường ở các nồng độ khác nhau nhằm khảo sát ảnh hưởng của chúng đến sự sinh trưởng, phát triển và ra hoa *in vitro* của ba giống hoa hồng HD, HV và HT.

### 3.1.1 Ảnh hưởng của BA đến sinh trưởng và ra hoa *in vitro* giống hoa hồng HT, HV và HD

Kết quả bảng 1 cho thấy, tác động của BA đến sự sinh trưởng của chồi *in vitro* ba giống hoa hồng HT, HD và HV là khác nhau và phụ thuộc vào nồng độ BA bổ sung vào môi trường nuôi cấy.

Trên giống hoa hồng HT, hệ số nhân chồi và chiều cao chồi ở tất cả các công thức có bổ sung BA đều cao hơn so với công thức đối chứng. Cụ thể, trên môi trường MS không bổ sung BA, hệ số nhân chồi và chiều cao chồi đạt tương ứng 2,0 lần và 1,53 cm. Trong khi đó, hệ số nhân chồi trên môi trường chứa BA đạt dao động từ 2,67 - 3,20 lần và chiều cao chồi đạt 1,59 - 2,07 cm.

Đối với cây hoa hồng HV, xu hướng tương tự như hoa hồng HT khi nuôi cấy chồi trên môi

trường có bổ sung BA cũng được ghi nhận. Tất cả các công thức môi trường có bổ sung BA đều cho hệ số nhân chồi và chiều cao chồi HV cao hơn so với công thức đối chứng. Hệ số nhân chồi (5,13 lần) và chiều cao chồi (2,32 cm) hoa hồng HV đạt cao nhất trên môi trường MS + 1,5 mg/l BA (Bảng 1).

Khác với hoa hồng HT và HV, bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy không có tác dụng tích cực đối với sinh trưởng của giống hoa hồng HD. Đặc biệt, nếu bổ sung BA ở nồng độ cao (lớn hơn 1,0 mg/l), hệ số nhân chồi và chiều cao chồi đều thấp hơn hoặc tương đương so với công thức đối chứng (Bảng 1).

Tuy ảnh hưởng khác nhau đến sinh trưởng phát triển của các giống hoa hồng HT, HV và HD nhưng BA không có tác động cảm ứng ra hoa *in vitro* ở cả ba giống hoa hồng này. Tỷ lệ chồi ra hoa *in vitro* là 0% ở tất cả nồng độ BA sử dụng.

Kantamaht et al. (2010) đã điều khiển ra hoa *in vitro* cây hoa hồng giống *Rosa hybrid* L. cv. 'Red Masterpiece' thành công trên môi trường MS có bổ sung 2,0 mg/l BA. Trong khi đó, nghiên cứu này không thành công khi sử dụng BA để kích thích ba giống hoa hồng HT, HV và HD ra hoa. Điều này chứng tỏ, bên cạnh chất điều tiết sinh trưởng, phản ứng ra hoa *in vitro* của hoa hồng phụ thuộc rất lớn vào kiểu gen.

**Bảng 1. Ảnh hưởng của BA đến sinh trưởng và ra hoa *in vitro* của hoa hồng HT, HV và HD sau 6 tuần nuôi cấy**

BA (mg/l)	HT			HV			HD		
	HSN (lần)	Chiều cao (cm)	TL chồi ra hoa (%)	HSN (lần)	Chiều cao (cm)	TL chồi ra hoa (%)	HSN (lần)	Chiều cao (cm)	TL chồi ra hoa (%)
0,0	2,00	1,53	0	2,33	1,41	0	2,10	1,26	0
0,5	2,67	1,91	0	3,13	1,51	0	2,17	1,22	0
1,0	3,06	1,59	0	3,86	1,50	0	1,89	1,34	0
1,5	3,20	2,07	0	5,13	2,32	0	1,63	1,22	0
2,0	2,87	2,06	0	3,86	1,51	0	1,83	1,26	0
LSD <sub>0,05</sub>	0,23	0,13		0,21	0,29		0,11	0,47	
CV%	4,60	3,90		3,10	0,90		3,00	2,00	

### 3.1.2. Ảnh hưởng của TDZ đến sinh trưởng và ra hoa *in vitro* giống hoa hồng HV, HT, HD

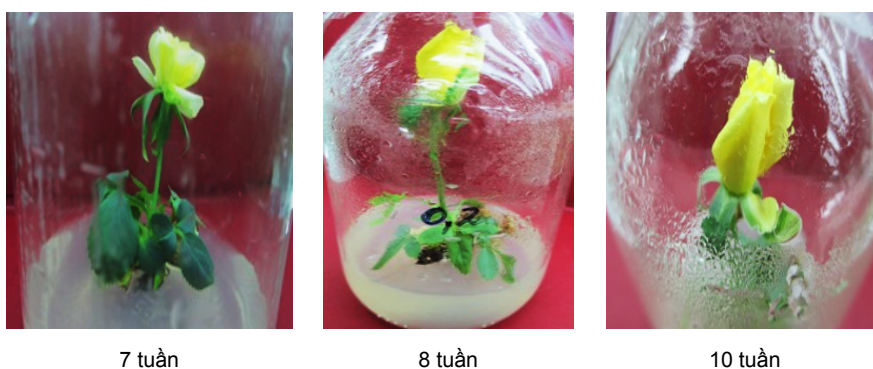
Trong tự nhiên, các cytokinin đều là dẫn xuất của adenine. Mặc dù TDZ có tác dụng như cytokinin nhưng TDZ lại không phải là dẫn xuất của adenine. Ở nồng độ thấp, TDZ cảm ứng tái sinh chồi trực tiếp từ mô. Ở nồng độ cao, TDZ cảm ứng hình thành mô sẹo và những cấu trúc bất thường. Ở nồng độ quá cao, TDZ cảm ứng hình thành mô sẹo và phôi sinh dưỡng từ mô sẹo. Vì TDZ bền, có hoạt tính cao nên thường sử dụng trong nuôi cấy mô. Đối với tác dụng kích thích sự ra hoa *in vitro*, đã có nhiều nghiên cứu thành công khi bổ sung TDZ vào môi trường nuôi cấy như hoa hồng (Wang et al., 2002; Vu et al., 2006), hoa lan *cymbidium* (Chen et al., 2003).

Kết quả bảng 2 cho thấy, TDZ có ảnh hưởng khác nhau đến sinh trưởng và ra hoa *in vitro* của các giống hoa hồng nghiên cứu. TDZ không có tác dụng làm tăng hệ số nhân chồi hoa hồng HT nhưng lại có tác dụng kéo dài chồi trên giống này. Chiều cao chồi hoa hồng HT đạt được cao nhất 2,56 cm khi bổ sung 0,6 mg/l TDZ vào môi trường nuôi cấy. Đối với giống hoa hồng HV, hệ số nhân chồi trên môi trường chứa TDZ dao động từ 0,78-1,08 lần, cao hơn 0,52 lần so với hệ số nhân trên môi trường đối chứng. Với giống hoa hồng HD, hệ số nhân chồi trên môi trường bổ sung 1,0 mg/l TDZ đạt cao nhất (3,0 lần), nhưng chiều cao chồi cao nhất (2,4 cm) lại ghi nhận trên môi trường chứa 0,4 mg/l TDZ (Bảng 2).

Khác với trường hợp bổ sung BA, bổ sung TDZ đã kích thích sự ra hoa *in vitro* của giống

**Bảng 2. Ảnh hưởng của TDZ đến sinh trưởng và ra hoa *in vitro* của hoa hồng HT, HV và HD sau 6 tuần nuôi cấy**

TDZ (mg/l)	HT			HV			HD		
	HSN (lần)	Chiều cao (cm)	TL chồi ra hoa (%)	HSN (lần)	Chiều cao (cm)	TL chồi ra hoa (%)	HSN (lần)	Chiều cao (cm)	TL chồi ra hoa (%)
0,0	0,35	1,76	0	0,52	3,10	0	1,40	1,70	0
0,2	0,25	2,20	0	0,78	2,73	72,2	1,20	1,68	0
0,4	0,15	2,36	0	0,92	3,07	66,7	1,40	2,40	0
0,6	0,10	2,56	0	1,00	3,20	55,6	1,40	2,06	0
0,8	0,10	2,00	0	0,92	3,40	0	2,00	1,82	0
1,0	0	1,86	0	1,08	3,73	0	3,00	1,77	0
LSD0,05	0,82	0,11		0,34	0,13		0,35	0,63	
CV%	0,0	2,90		2,20	2,20		1,60	2,50	



**Hình 1. Chồi hoa hồng HV ra hoa trên môi trường MS + 0,2 mg/l TDZ sau 7, 8 và 10 tuần nuôi cấy**

Ảnh hưởng của chất điều tiết sinh trưởng thực vật và chất khoáng vi lượng đến sinh trưởng và ra hoa *in vitro* ở cây hoa hồng

hoa HV với tỷ lệ chồi ra hoa dao động từ 55,6-72,2% trên môi trường bổ sung 0,2-0,6 mg/l TDZ. Tỷ lệ chồi ra hoa đạt cao nhất (72,2%) tại nồng độ 0,2 mg/l TDZ (Bảng 2). Quan sát trong quá trình theo dõi cho thấy, nụ hoa bắt đầu hình thành sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường bổ sung TDZ, cánh hoa dày, có màu vàng đậm (Hình 1). Tuy nhiên, TDZ không có tác dụng kích thích ra hoa *in vitro* trên giống hoa hồng HT và HD.

Vu et al. (2005) đã cảm ứng thành công ra hoa *in vitro* cho hoa hồng trên môi trường 1/2 MS + 0,2; 0,5 hoặc 1,0 mg/l TDZ với tỷ lệ hình thành hoa lần lượt đạt 11,1; 12,5 và 25%. Cũng nghiên cứu ra hoa *in vitro* hoa hồng, Wang et al. (2002) kết luận môi trường có bổ sung 0,5 mg/l TDZ và 0,1 mg/l  $\alpha$ -NAA cho tỷ lệ hình thành hoa đạt 49,1%.

Như vậy có thể thấy, TDZ có ảnh hưởng đến sự ra hoa *in vitro* trên cây hoa hồng và phản ứng ra hoa dưới tác dụng của TDZ phụ thuộc vào giống. Trong phạm vi nghiên cứu, môi trường cảm ứng hình thành hoa tốt nhất cho giống HV là MS + 0,2 mg/l TDZ, cho tỷ lệ hình thành hoa cao nhất đạt 72,2%.

### 3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của $\text{AgNO}_3$ và $\text{CoCl}_2$ đến sự sinh trưởng và ra hoa *in vitro* của cây hoa hồng

$\text{AgNO}_3$  và  $\text{CoCl}_2$  là 2 chất có khả năng điều khiển quá trình sinh trưởng, phát triển của chồi thông qua tác động vào quá trình trao đổi ethylene (Biddington 1992). Trong khi  $\text{AgNO}_3$  ức

chế hoạt động của ethylene (Beyer 1976a),  $\text{CoCl}_2$  lại ức chế tổng hợp ethylene (Lau and Yang, 1976). Chính vì thế, bổ sung 2 hợp chất này vào môi trường nuôi cấy có thể ức chế việc tổng hợp ethylene hoặc chức năng của ethylene bằng cách tác động lên quá trình tổng hợp hoặc tác động lên tín hiệu trao đổi chất (Pua and Chi, 1993), qua đó ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của cây trồng.

#### 3.2.1. Ảnh hưởng của $\text{CoCl}_2$ đến sự sinh trưởng và ra hoa *in vitro* của hoa hồng giống HT, HV và HD

Tương tự như các chất điều tiết sinh trưởng BA, TDZ, bổ sung  $\text{CoCl}_2$  ở nồng độ thích hợp có tác dụng làm tăng hệ số nhân chồi và chiều cao chồi hoa hồng. Với giống HT, chiều cao chồi (1,75 cm) và hệ số nhân chồi (2,86 lần) đạt cao nhất trên môi trường MS + 10  $\mu\text{M}$   $\text{CoCl}_2$ . Kết quả tương tự cũng được ghi nhận với giống hoa hồng HV với chiều cao và hệ số nhân tương ứng 1,82 cm và 2,97 lần. Với giống HD, chồi sinh trưởng tốt nhất trên môi trường MS + 30  $\mu\text{M}$   $\text{CoCl}_2$  với hệ số nhân là 1,80 lần, chiều cao trung bình đạt 2,06 cm. Tuy nhiên, chiều cao giữa các công thức bổ sung  $\text{CoCl}_2$  không có sai khác có ý nghĩa ở mức 5%. (Bảng 3).

Tuy ảnh hưởng nhất định đến sinh trưởng của các giống hoa hồng nghiên cứu nhưng  $\text{CoCl}_2$  lại không cảm ứng sự hình thành hoa hồng trong điều kiện *in vitro*, với tỷ lệ ra hoa ở tất cả các giống nghiên cứu là 0% (Bảng 3).

**Bảng 3. Ảnh hưởng của  $\text{CoCl}_2$  đến sự sinh trưởng và ra hoa *in vitro* của hoa hồng giống HT, HV và HD**

CoCl <sub>2</sub> ( $\mu\text{M}$ )	HT			HV			HD		
	HSN (lần)	Chiều cao (cm)	TL chồi ra hoa (%)	HSN (lần)	Chiều cao (cm)	TL chồi ra hoa (%)	HSN (lần)	Chiều cao (cm)	TL chồi ra hoa (%)
0	2,10	1,26	0	2,23	1,27	0	1,60	1,74	0
10	2,86	1,75	0	2,97	1,82	0	1,60	1,72	0
20	2,17	1,22	0	2,21	1,27	0	1,40	1,90	0
30	1,89	1,34	0	1,85	1,28	0	1,80	2,06	0
40	1,63	1,22	0	1,58	1,18	0	1,20	1,96	0
50	1,83	1,26	0	1,77	1,26	0	1,00	1,74	0
LSD <sub>0,05</sub>	0,11	0,47		0,18	0,57		0,20	0,49	
CV%	3,00	2,00		4,80	2,40		1,10	2,10	

Theo Lau and Yang (1976), coban úc chế quá trình tổng hợp ethylene và tăng sự tái sinh chồi bằng cách cản trở quá trình trao đổi của axit amino cyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) tới ethylene. Ethylene thông thường gây ức chế sự ra hoa, tuy nhiên, ở một số loài, ethylene có vai trò kích thích sự ra hoa (đặc biệt là ra hoa trái vụ). Như vậy, bằng cách tác động vào quá trình tổng hợp ethylen,  $\text{CoCl}_2$  có thể có ảnh hưởng đến sinh trưởng, phát triển và ra hoa. Sharma et al. (2008) bổ sung  $\text{CoCl}_2$  ở nồng độ từ 0-50  $\mu\text{M}$  vào môi trường nuôi cấy đã kích thích cây ớt ngọt ra hoa *in vitro*. Tuy nhiên, trên đối tượng ba giống hoa hồng trong nghiên cứu này,  $\text{CoCl}_2$  không cảm ứng ra hoa *in vitro*.

### 3.2.2. Ảnh hưởng của nitrat bạc ( $\text{AgNO}_3$ ) đến sự sinh trưởng và hình thành hoa *in vitro* của hoa hồng giống HD, HV và HT

Các ion bạc dưới dạng nitrate ( $\text{AgNO}_3$ ) có ảnh hưởng trực tiếp hoặc gián tiếp đến quá trình phát sinh cơ quan, sinh phôi, ra rễ *in*

*vitro*, cảm ứng ra hoa, ra hoa sớm, kiểm soát hiện tượng rụng lá thông qua việc ức chế hoạt động của ethylene (Sharma, 2008).

Trong nghiên cứu này, khi bổ sung  $\text{AgNO}_3$  vào môi trường, cả ba giống hoa hồng đều cho chiều cao chồi tốt hơn so với công thức đối chứng không bổ sung  $\text{AgNO}_3$ , với chiều cao đạt được cao nhất trên các giống HV, HD và HT lần lượt là 4,62 cm, 4,80 cm và 3,38 cm trên môi trường MS + 30  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$ . Hệ số nhân giữa các giống đạt được tương đối khác nhau. Tất cả các công thức có bổ sung  $\text{AgNO}_3$ , hệ số nhân chồi hoa hồng HV đều thấp hơn so với công thức đối chứng. Môi trường MS + 30  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$  cho hệ số nhân chồi giống hoa hồng HT (1,6 lần) và giống hoa hồng HD (2,0 lần) cao nhất. Tuy nhiên, ở mức sai khác có ý nghĩa 5% hệ số nhân chồi của hai giống HT và HV giữa các công thức là tương đương nhau (Bảng 4).

Kết quả ảnh hưởng của  $\text{AgNO}_3$  đến sự ra hoa của ba giống hoa hồng nghiên cứu được thể hiện ở bảng 5, 6 và 7.

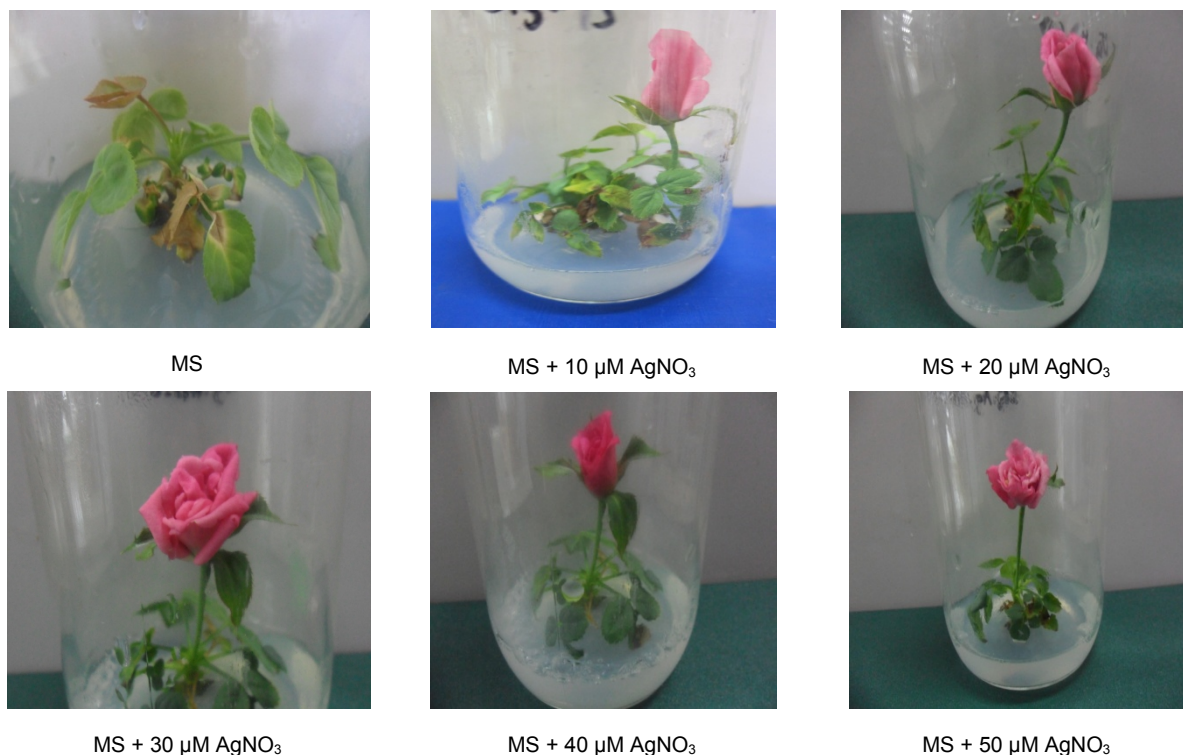
**Bảng 4. Ảnh hưởng của nitrat bạc ( $\text{AgNO}_3$ ) đến sự sinh trưởng của giống HD, HV và HT**

$\text{AgNO}_3$ ( $\mu\text{M}$ )	HT		HV		HD	
	HSN (lần)	Chiều cao (cm)	HSN (lần)	Chiều cao (cm)	HSN (lần)	Chiều cao (cm)
0	1,40	1,74	1,50	1,80	1,40	1,61
10	1,60	2,30	1,40	2,07	1,60	2,22
20	1,60	3,16	1,40	3,30	2,00	3,94
30	1,50	3,38	1,40	4,62	2,00	4,80
40	1,40	3,00	1,20	3,28	1,20	3,48
50	1,20	2,20	1,10	2,45	1,40	2,40
LSD <sub>0,05</sub>	0,32	0,10	0,82	0,55	0,27	0,56
CV%	1,7	3,0	2,2	3,2	1,4	1,61

**Bảng 5. Ảnh hưởng của  $\text{AgNO}_3$  đến sự hình thành hoa *in vitro* của giống HD (sau 60 ngày nuôi cấy)**

$\text{AgNO}_3$ ( $\mu\text{M}$ )	Ngày xuất hiện nụ hoa đầu tiên	Tỷ lệ hình thành nụ (%)	Tỷ lệ nở hoa (%)	Độ bền hoa (ngày)	Màu sắc hoa
0	0	0	0	0	-
10	22	40	20	16	Đỏ nhạt
20	23	60	33,3	15	Đỏ đậm
30	21	80	50	14	Đỏ đậm
40	24	60	30	14	Đỏ nhạt
50	25	45	25	13	Đỏ nhạt

Ảnh hưởng của chất điều tiết sinh trưởng thực vật và chất khoáng vi lượng đến sinh trưởng và ra hoa *in vitro* ở cây hoa hồng



**Hình 2. Hoa hồng HD ra hoa *in vitro* trên môi trường chứa  $\text{AgNO}_3$  ở các nồng độ khác nhau**

Hoa hồng HD phản ứng ra hoa rõ ràng dưới tác động của  $\text{AgNO}_3$ . Trong khi hoa hồng HD nuôi cấy trên môi trường đối chứng không ra hoa thì tất cả các công thức có bổ sung  $\text{AgNO}_3$  đều có chồi ra hoa với tỷ lệ dao động từ 20-50%. Sau 21-25 ngày nuôi cấy, nụ hoa hồng HD bắt đầu xuất hiện, tỷ lệ chồi hoa hồng HD hình thành nụ dao động từ 40-80%. Môi trường MS + 30  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$  cho tỷ lệ ra nụ (80%) và ra hoa cao nhất (50%). Đối với những nụ xuất hiện sớm (21 ngày), sau 28 ngày thì hoa nở, hoa được hình thành với đầy đủ các cánh, đài nhị và nhụy. Tuy nhiên, bên cạnh các bông hoa có hình dạng bình thường cũng xuất hiện một số bông hoa dị dạng (hoa nở bé, nở không hết, có lá xuất hiện trong hoa). Tần suất xuất hiện bông hoa dị dạng trên môi trường chứa  $\text{AgNO}_3$  ở nồng độ cao hơn so với môi trường chứa  $\text{AgNO}_3$  ở nồng độ thấp. Màu sắc của hoa cũng thay đổi theo hàm lượng  $\text{AgNO}_3$  được bổ sung. Màu hoa đỏ đậm trên môi trường chứa 20-30  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$ , ở các nồng độ  $\text{AgNO}_3$  khác, màu hoa nhạt hơn. Về chỉ tiêu độ bền hoa, bổ sung  $\text{AgNO}_3$  vào môi trường ở nồng

độ càng thấp thì thời gian hoa bền càng dài. Trên môi trường chứa 10  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$ , hoa nở kéo dài trong 16 ngày, trong khi đó tuổi thọ của hoa chỉ đạt 13 ngày trên môi trường chứa 50  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$  (Bảng 5, Hình 2).

Tương tự như giống hoa hồng HD,  $\text{AgNO}_3$  có tác dụng cảm ứng ra hoa rất rõ trên giống hoa hồng HV. Ngoài trừ môi trường bổ sung nồng độ  $\text{AgNO}_3$  quá cao (50  $\mu\text{M}$ ), tất cả các môi trường bổ sung  $\text{AgNO}_3$  ở nồng độ thấp hơn đều cảm ứng hoa hồng HV ra hoa *in vitro*. Bổ sung 30  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$  cho tỷ lệ hình thành hoa đạt cao nhất là 40%, tỷ lệ hình thành hoa thấp hơn khi bổ sung  $\text{AgNO}_3$  ở nồng độ thấp hơn (10-20  $\mu\text{M}$ ) hoặc cao hơn (40  $\mu\text{M}$ ). Nụ hoa xuất hiện sớm nhất là sau 20 ngày nuôi cấy trên môi trường bổ sung 30  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$ , sau 25 ngày thì hoa nở (Bảng 6).

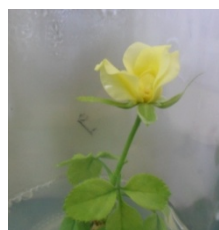
Hoa hồng HT có phản ứng ra hoa tương tự với giống HD và HV dưới tác động của  $\text{AgNO}_3$ . Tuy nhiên, phản ứng ra hoa của giống HT với  $\text{AgNO}_3$  không mạnh bằng hai giống HD và HV với tỷ lệ hình thành hoa thấp hơn so với giống

HD và HV. Tỷ lệ giống HT ra hoa cao nhất (30%) đạt được khi nuôi cấy trên môi trường MS + 30  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$ . Đây cũng là công thức cho nụ

hoa xuất hiện sớm nhất sau khi cấy chuyển (20 ngày). Ở nồng độ  $\text{AgNO}_3$  thấp (10  $\mu\text{M}$ ) hoặc cao (40-50  $\mu\text{M}$ ), giống HV không hình thành hoa.

**Bảng 6. Ảnh hưởng của  $\text{AgNO}_3$  đến sự hình thành hoa của giống HV (sau 60 ngày nuôi cấy)**

$\text{AgNO}_3$ ( $\mu\text{M}$ )	Ngày xuất hiện nụ hoa đầu tiên	Tỷ lệ hình thành nụ (%)	Tỷ lệ nở hoa (%)	Độ bền hoa (ngày)	Màu sắc hoa
0	0	0	0	0	-
10	18	40	20	15	Vàng nhạt
20	20	60	33,3	13	Vàng đậm
30	23	70	40	16	Vàng đậm
40	24	35	19,7	14	Vàng nhạt
50	0	0	0	0	-



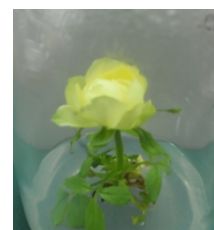
MS + 10  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$



MS + 20  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$



MS + 30  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$

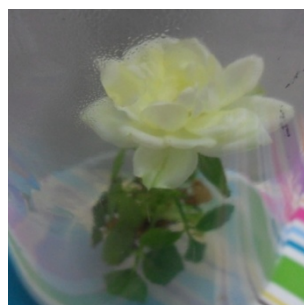


MS + 40  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$

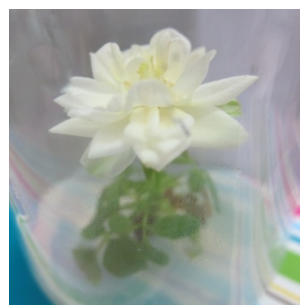
**Hình 3. Hoa hồng HV ra hoa trong điều kiện *in vitro* trên môi trường chứa  $\text{AgNO}_3$  ở các nồng độ khác nhau**

**Bảng 7. Ảnh hưởng của  $\text{AgNO}_3$  đến sự hình thành hoa của giống HT (sau 60 ngày nuôi cấy)**

$\text{AgNO}_3$ ( $\mu\text{M}$ )	Ngày xuất hiện nụ hoa đầu tiên	Tỷ lệ hình thành nụ (%)	Tỷ lệ nở hoa (%)	Độ bền hoa (ngày)
0	0	0	0	0
10	0	0	0	0
20	21	40	20	15
30	20	50	30	18
40	0	0	0	0
50	0	0	0	0



MS+ 20  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$



MS+ 30  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$

**Hình 4. Hoa hồng HT ra hoa trong điều kiện *in vitro* trên môi trường chứa 20 và 30  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$**



Ảnh hưởng của chất điều tiết sinh trưởng thực vật và chất khoáng vi lượng đến sinh trưởng và ra hoa *in vitro* ở cây hoa hồng

Khi nghiên cứu ảnh hưởng của  $\text{AgNO}_3$  đến ra hoa *in vitro* trên giống *Rosa indica* L., Pratheesh et al. (2012) đã kết luận rằng môi trường tốt nhất cho sự hình thành hoa *in vitro* là MS + 0,5 mg/l IAA+ 1,0 mg/l BA + 50 mg/l  $\text{AgNO}_3$ .

Trong nghiên cứu này, nồng độ  $\text{AgNO}_3$  bổ sung 30  $\mu\text{M}$  là tốt nhất cho sự sinh trưởng và hình thành hoa với tỷ lệ ra hoa ở các giống HT, HV và HD lần lượt đạt 30%, 40% và 50%.

#### 4. KẾT LUẬN

Môi trường MS + 0,2 mg/l TDZ cảm ứng ra hoa *in vitro* cho giống hoa hồng HV với tỷ lệ cao ra hoa cao nhất đạt được là 72,2%.

$\text{AgNO}_3$  có tác dụng cảm ứng ra hoa trên trên các giống hoa hồng HT, HV và HD với tỷ lệ cây ra hoa tương ứng là 30%, 40% và 50% trên môi trường MS+ 30  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$ .

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài “Nghiên cứu điều khiển sự ra hoa *in vitro* của hoa lan, hoa hồng và họ cảnh tiên (lá bỏng)”, mã số: B2012-11-15.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Beyer EM (1976a). A potent inhibitor of ethylene action in plants. *Plant Physiol.*, 58(3): 268-271.
- Biddington NL (1992). The influence of ethylene in plant tissue culture. *Plant Growth Regulation*, 11(2): 173-187.
- Chen C. (2003). Cytokinins promotion of flowering in *Cymbidium ensifolium* var. *misericors in vitro*. *Plant Growth Regulation*, 39: 217-221.
- Kantamaht K., Patthara S., Kamnoon K. (2010). *In vitro* flowering of shoots regenerated from culture nodal explant of *Rosa hybrida* cv ‘Heirloom’. *Science Asia*, 36: 161-164.
- Kantamaht K., Patthara S., Kamnoon K. (2001). *In vitro* flowering from cultured nodal explants of Rose (*Rosa hybrida* L.). *Scientia Horticulturae*, 88(1): 41-57.
- Lau O. L., Yang S. F. (1976). Inhibition of ethylene production by cobaltous ion. *Plant Physiology*, 58(1): 114-117.
- Lau OL, Yang SF(1976). Inhibition of ethylene production by cobaltous ion. *Plant Physiol.*, 58(1): 114-117
- MacPhail V. J., Kevan P. G. (2009). Review of the breeding systems of wild roses (*Rosa* spp.). *Floricultural, Ornamental and Plant Biotechnology*, 3: 1-13.
- Pratheesh P. T, Anil K. M. (2012). *In vitro* flowering in *Rosa indica* L. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1): 196-200.
- Pua EC, Chi GL (1993). De novo shoot morphogenesis and plant growth of mustard (*Brassica juncea*) in vitro in relation to ethylene. *Physiol. Plant*, 88(3): 467-474
- Sharma A., Kumar V., Parvatam G., Ravishankar G., A. (2008). Induction of *in vitro* flowering in *Capsicum frutescens* under the influence of silver nitrate and cobalt chloride and pollen transformation.
- Tee C. S., Maziah M., Tan C. S. (2008). Induction of *in vitro* flowering in the orchid *Dendrobium Sonia* 17. *Biologia plantarum*, 52(4): 723-726
- Vu N. H., Anh P. H. Nhut D. T. (2006). The role of sucrose and different cytokinins in the *in vitro* floral morphogenesis of rose (hybrid tea) cv. ‘First Prize’. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 87: 315-320.
- Wang G. Y., Yuan M. F., Hong Y. (2002). *In vitro* flower induction in roses. *In vitro Cellular and Developmental Biology plant*, 38: 513-518.