

NGHIÊN CỨU TẠO CHỒI *IN VITRO* CÂY HOA HỒNG TỶ MUỘI (*Rosa chinensis* Jacq. Var. *minima* Redh.)

Nguyễn Ngọc Quỳnh Thơ, Nguyễn Duy Khánh,
Huỳnh Thị Ánh Sang, Từ Văn Út, Trương Quỳnh Yến Yến,
Nguyễn Thành Luân, Trịnh Thị Hương*

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

*Email: trinhtthuongcsdl@gmail.com

Ngày nhận bài: 02/4/2018; Ngày chấp nhận đăng: 05/6/2018

TÓM TẮT

Hoa hồng là một loài hoa đẹp, rất được ưa chuộng. Tuy nhiên, các nghiên cứu vi nhân giống cây hoa hồng thường gặp nhiều khó khăn do loài hoa này thuộc nhóm cây thân gỗ. Trong nghiên cứu này, các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tạo chồi *in vitro* từ đốt thân của cây hoa hồng tỷ muội (*Rosa chinensis* Jacq. Var. *minima* Redh) được khảo sát. Kết quả thu được cho thấy, các đoạn đốt thân được khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,2% trong thời gian 10 phút cho tỷ lệ mẫu không nhiễm và sống sót đạt 71,67%. Môi trường thích hợp để tạo chồi *in vitro* từ đốt thân là môi trường MS (Murashige and Skoog) có bổ sung 2 mg/L BA (benzyl adenine), 0,5 mg/L kinetin, 0,5 g/L than hoạt tính, 30 g/L sucrose, pH 5,8. Sau 21 ngày nuôi cấy, tỷ lệ bật chồi đạt 100%, số chồi đạt 3,6 chồi/mẫu, với chiều cao trung bình của chồi là 2,2 cm. Kết quả đạt được của nghiên cứu là cơ sở cho việc xây dựng quy trình vi nhân giống cây hoa hồng tỷ muội cung cấp nguồn giống cây hoa hồng cho các khu vực trồng hoa.

Từ khóa: Chất điều hoà sinh trưởng thực vật, hoa hồng tỷ muội, *in vitro*, tạo chồi, vi nhân giống.

1. MỞ ĐẦU

Hoa hồng là một trong những loài hoa được ưa chuộng nhất trên thế giới. Trong tự nhiên, hoa hồng có nhiều loại khác nhau: hồng Beauvais, hồng California, hồng Trung Hoa, hồng tỷ muội... Đặc biệt, hoa hồng tỷ muội có ưu điểm so với các giống hoa hồng khác như: màu sắc đa dạng, dễ nở hoa, lâu tàn, hoa nở nhiều lần trong năm và ngày càng chiếm được thị hiếu trên thị trường hoa, cây cảnh. Làng hoa Sa Đéc là nơi cung cấp một lượng lớn hoa cắt cành và cây cảnh cho khu vực Thành phố Hồ Chí Minh, trong đó có hoa hồng tỷ muội. Phương pháp nhân giống loài hoa hồng này chủ yếu là giâm cành. Phương pháp này thường thu được hiệu quả thấp, cây dễ thoái hoá và khó kiểm soát được phẩm chất của cây con. Hiện nay, phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật được sử dụng khá phổ biến trong vi nhân giống nhiều loài cây trồng khác nhau, do ưu điểm của phương pháp là có thể nhân nhanh với số lượng lớn trong một thời gian ngắn, đồng thời tạo cây sạch bệnh và đồng nhất về mặt di truyền [1].

Tuy nhiên, khi áp dụng phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật lên hoa hồng thường gặp nhiều khó khăn. Vấn đề chính là các đoạn thân chuyển từ môi trường bên ngoài vào môi trường MS vô trùng để nuôi cấy dễ mang theo những vi sinh vật bám ở bề mặt thân cây cũng như bị nhiễm nội sinh. Ngoài ra, sự chuyển đổi môi trường ảnh hưởng nhất định đến khả năng sống sót và điều tiết sinh trưởng của chồi bật từ đoạn thân còn mang theo các tính chất của cây *ex vitro*. Bên cạnh đó, vi nhân giống một loại cây thân bán gỗ và có tinh dầu như cây

hoa hồng thường xuyên gặp phải sự tích lũy hợp chất phenol trong cây gây ra hiện tượng ức chế sinh trưởng, khó nuôi cấy, chậm phát triển, vàng lá và cây dễ bị chết trong môi trường *in vitro*.

Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích hoàn thiện quy trình nuôi cấy thu nhận chồi *in vitro* của cây hoa hồng tỷ muội, làm cơ sở cho quá trình vi nhân giống loài cây này, nhằm cung cấp nguồn cây giống đồng nhất, sạch bệnh, khỏe mạnh đáp ứng sản xuất thương mại loài cây này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vật liệu được sử dụng trong nghiên cứu là các đốt thân (có kích thước khoảng 3 cm) của cây hoa hồng tỷ muội (*Rosa chinensis* Jacq. Var. *minima* Redh) thu nhận tại Thành phố Sa Đéc, tỉnh Đồng Tháp, Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của nồng độ chất khử trùng HgCl₂ lên khả năng tạo chồi *in vitro* của cây hoa hồng tỷ muội

Cành cây hoa hồng tỷ muội khỏe mạnh được cắt thành từng đốt thân mang chồi ngủ dài khoảng 3 cm. Các đốt thân này được rửa bằng xà phòng loãng, sau đó rửa lại với nước sạch và để dưới vòi nước chảy trong 30 phút, rửa bằng nước cất vô trùng trước khi xử lý với ethanol 70% trong 2 phút. Tiếp theo, trong tủ cấy vô trùng, mẫu được ngâm vào dung dịch khử trùng HgCl₂ ở các nồng độ khác nhau: 0,1; 0,2; 0,3% trong 10 phút.

Sau đó các mẫu được cấy lên môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/L BA, 20 g/L sucrose, 8 g/L agar, pH 5,8 [2, 3]. Đây là môi trường cơ bản cho các thí nghiệm tiếp theo.

Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ than hoạt tính lên khả năng tạo chồi *in vitro* của cây hoa hồng tỷ muội

Các mẫu đốt thân sau khi khử trùng được cấy vào môi trường cơ bản có bổ sung than hoạt tính ở các nồng độ khác nhau: 0; 0,5; 1,0 g/L.

Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ đường lên khả năng tạo chồi *in vitro* của cây hoa hồng tỷ muội

Các mẫu đốt thân sau khi khử trùng được cấy vào môi trường cơ bản nhưng bổ sung đường sucrose ở các nồng độ khác nhau: 0; 10; 20; 30; 40; 50 g/L, và bổ sung than hoạt tính ở nồng độ tối ưu thu được từ kết quả thí nghiệm 2.

Thí nghiệm 4: Khảo sát ảnh hưởng của BA lên khả năng tạo chồi *in vitro* của cây hoa hồng tỷ muội

Các mẫu đốt thân sau khi khử trùng được cấy vào môi trường cơ bản có bổ sung sucrose và than hoạt tính ở nồng độ tối ưu thu được từ thí nghiệm 2, 3, và BA được bổ sung vào môi trường nuôi cấy ở các nồng độ khác nhau: 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4 mg/L.

Thí nghiệm 5: Khảo sát ảnh hưởng của Kinetin lên khả năng tạo chồi *in vitro* của cây hoa hồng tỷ muội

Các mẫu đốt thân sau khi khử trùng được cấy vào môi trường MS có bổ sung than hoạt tính, đường sucrose, BA (ở nồng độ tối ưu thu được từ các thí nghiệm 2, 3, 4) kết hợp Kinetin ở các nồng độ khác nhau: 0; 0,25; 0,5; 1 mg/L.

2.2.2. Điều kiện thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện nhiệt độ $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, cường độ chiếu sáng $2500\text{ lux} \pm 200\text{ lux}$, thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày, độ ẩm 50-60%.

2.2.3. Xử lý thống kê

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn (CRD), với 3 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức có 10 mẫu, tiến hành cấy 1 mẫu/chai.

Các số liệu được thu nhận sau 15-21 ngày nuôi cấy, tùy theo từng thí nghiệm. Sau đó, số liệu xử lý thống kê bằng phần mềm Statgraphic Centurion XVI và Microsoft Excel.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ HgCl_2 lên khả năng khử trùng và tạo chồi từ mẫu đốt thân hoa hồng tỷ muội

HgCl_2 là chất khử trùng thường được sử dụng nhiều trong giai đoạn tạo mẫu *in vitro* ở thực vật do hiệu quả khử trùng cao mà ít ảnh hưởng đến mẫu nuôi cấy. Wang *et al.*, 2002 đã tiến hành khử trùng đoạn thân hoa hồng bằng dung dịch HgCl_2 , kết quả thu được cho thấy mẫu được khử trùng với dung dịch HgCl_2 ở nồng độ 0,1% trong 10 phút thu được tỷ lệ mẫu sống sót cao [4].

Trong nghiên cứu này, kết quả đạt được sau 15 ngày nuôi cấy cho thấy, tỷ lệ mẫu không nhiễm thấp nhất (41,67%) ở nghiệm thức 0,1% HgCl_2 . Ở 2 nghiệm thức còn lại (0,2% và 0,3% HgCl_2) thu được tỷ lệ mẫu không nhiễm cao hơn hẳn so với nghiệm thức 0,1% HgCl_2 ; đồng thời không có sự khác biệt thống kê về hiệu quả khử trùng giữa hai nghiệm thức này (Bảng 1).

Yêu cầu của chất khử trùng mẫu là đạt được tỷ lệ mẫu không nhiễm cao và ít ảnh hưởng đến tỷ lệ sống sót của các mẫu nuôi cấy. Trong nghiên cứu này, tất cả các mẫu không nhiễm đều bật chồi khoẻ mạnh ở cả 3 nghiệm thức. Điều này cho thấy dung dịch HgCl_2 ở các ngưỡng nồng độ 0,1-0,3% có sự khác biệt về hiệu quả khử trùng, nhưng không ảnh hưởng nhiều đến khả năng bật chồi của mẫu đốt thân nuôi cấy. Vì thế, chế độ khử trùng với dung dịch HgCl_2 0,2% trong 10 phút được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 1. Kết quả ảnh hưởng của nồng độ HgCl_2 lên khả năng khử trùng mẫu đốt thân hoa hồng sau 15 ngày nuôi cấy

Nồng độ HgCl_2 (%)	Tỷ lệ mẫu không nhiễm (%)
0,1	$45,33 \pm 8,38^b$
0,2	$73,67 \pm 3,21^a$
0,3	$77,00 \pm 2,64^a$

^{a,b}: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy $p \leq 0,05$ trong phép thử Duncan.

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ than hoạt tính lên khả năng tạo chồi *in vitro* của cây hồng tỷ muội

Trong nuôi cấy mô, than hoạt tính có vai trò chủ yếu là hấp thu các chất độc và các chất ức chế sinh trưởng thực vật như phenolic, dịch rỉ nâu từ mẫu được nuôi cấy. Than hoạt tính còn giúp cải thiện sự tăng trưởng và phát triển của tế bào [5, 6].

Kết quả thí nghiệm cho thấy, trong môi trường MS có bổ sung than hoạt tính (activated charcoal – AC), chồi hoa hồng tỷ muội phát triển khỏe, xanh đậm, cao hơn hẳn so với môi trường không bổ sung AC (Bảng 2).

Ở môi trường có bổ sung 0,5 và 1,0 g/L AC, các chỉ tiêu về chiều cao chồi, số chồi, số lá không có sự khác biệt nhau về mặt thống kê. Nghiệm thức đối chứng (0 g/L AC) cho thấy một số mẫu phát sinh 2 chồi, không giống như ở nghiệm thức có than hoạt tính thì mỗi mẫu đọt thân nuôi cấy chỉ tạo một chồi duy nhất. Tuy nhiên, các chồi thu được ở nghiệm thức không bổ sung AC có lá màu xanh nhạt hoặc hơi vàng, sinh trưởng chậm và chiều cao thấp hơn hẳn so với hai nghiệm thức có bổ sung AC. Do đó, môi trường có bổ sung 0,5 g/L AC được lựa chọn sử dụng cho các nghiên cứu tạo chồi cây hoa hồng tỷ muối tiếp theo. Nghiên cứu của Alsemaan cũng cho thấy, trong quá trình nuôi cấy *in vitro*, than hoạt tính được bổ sung vào môi trường để kiểm soát sự sản sinh phenolic của giống hồng Damask ở Syria [7].

Bảng 2. Kết quả ảnh hưởng của nồng độ than hoạt tính lên khả năng tạo chồi cây hoa hồng tỷ muối *in vitro* sau 15 ngày nuôi cấy

Nồng độ than hoạt tính (g/L)	Chiều cao (cm)	Số chồi	Số lá	Hình thái chồi
0	1,17 ± 0,06 ^b	2,00 ± 0,81 ^a	3,00 ± 0,50 ^b	Chồi yếu, nhỏ, lá màu xanh nhạt hoặc hơi vàng
0,5	1,87 ± 0,11 ^a	1 ± 0,00 ^b	5,33 ± 0,57 ^a	Chồi khỏe, lá xanh đậm
1	2,00 ± 0,10 ^a	1 ± 0,00 ^b	4,83 ± 0,76 ^a	Chồi khỏe, lá xanh đậm

^{a, b}: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy $p \leq 0,05$ trong phép thử Duncan.

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ đường lên khả năng bật chồi của đọt thân hoa hồng tỷ muối

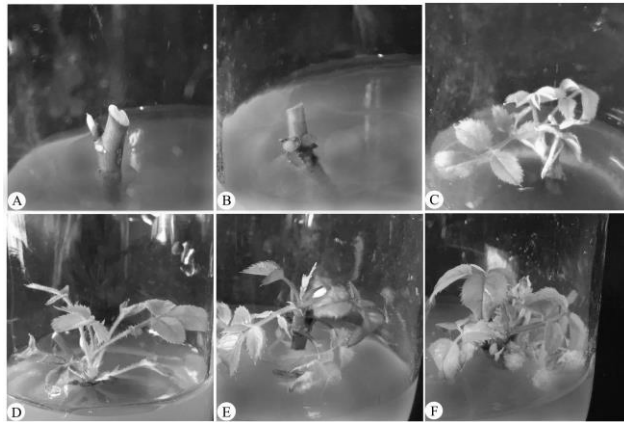
Trong nuôi cấy *in vitro*, mô và tế bào thực vật sống chủ yếu theo phương thức dị dưỡng nên việc bổ sung đường vào môi trường nuôi cấy làm nguồn chất hữu cơ là điều bắt buộc [8]. Nghiên cứu của Lâm Ngọc Phương và ctv cũng cho thấy, đường với vai trò là nguồn cung cấp cacbohydrate có ảnh hưởng quan trọng lên khả năng bật chồi và phát triển chồi *in vitro* [9].

Trong nghiên cứu này, ở môi trường không bổ sung đường hoặc nồng độ đường quá thấp (10 g/L), đoạn thân sau khi bật chồi từ mắt ngủ không thể tiếp tục sinh trưởng (Hình 1A, B). Ở nghiệm thức môi trường có bổ sung nồng độ đường cao (40 và 50 g/L), chồi tạo thành nhanh chóng bị vàng, rụng lá, mép lá hóa nâu và héo úa (Hình 1E, F). Khi môi trường nuôi cấy có bổ sung 20 g/L và 30 g/L đường, chồi không bị các hiện tượng trên, phát triển bình thường. So sánh giữa 2 nghiệm thức này cho thấy, các chỉ tiêu chiều cao chồi và số lá của chồi ở nồng độ đường 30 g/L cao hơn so với nghiệm thức 20 g/L đường (Bảng 3, Hình 1C, D). Kết quả trong nghiên cứu này cũng tương tự với nghiên cứu của Nguyễn Thị Phương Thảo và ctv thực hiện năm 2015, môi trường với nồng độ đường 30 g/L cũng là môi trường dùng để nuôi cấy bật chồi từ đoạn thân cây hoa hồng cơm nhằm tạo vật liệu khởi đầu [10].

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ đường lên khả năng tạo chồi *in vitro* cây hoa hồng tỷ muối sau 21 ngày nuôi cấy

Nồng độ đường (g/L)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá	Hình thái
0	0,16 ± 0,06 ^d	0,00	Chồi không phát triển
10	0,95 ± 0,28 ^c	2,50 ± 0,35 ^c	Chồi không phát triển hoặc nhỏ yếu
20	1,24 ± 0,34 ^b	2,93 ± 0,72 ^c	Chồi phát triển bình thường, lá màu xanh
30	2,03 ± 0,22 ^a	4,23 ± 0,80 ^b	Chồi phát triển bình thường, lá xanh đậm, tốt
40	1,87 ± 0,24 ^a	4,83 ± 1,07 ^{ab}	Chồi phát triển bình thường, lá bị vàng
50	1,91 ± 0,70 ^a	5,73 ± 0,85 ^a	Chồi phát triển bình thường, lá bị vàng nâu dần.

^{a, b, c, d}: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy $p \leq 0,05$ trong phép thử Duncan.



Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ đường bổ sung vào môi trường nuôi cấy lên khả năng tạo chồi *in vitro* cây hoa hồng tỷ muội.

Các ký hiệu A, B, C, D, E, F tương ứng với các nồng độ đường là: 0, 10, 20, 30, 40, 50 (g/L).

3.4. Ảnh hưởng của nồng độ BA lên khả năng bật chồi *in vitro* của cây hoa hồng tỷ muội

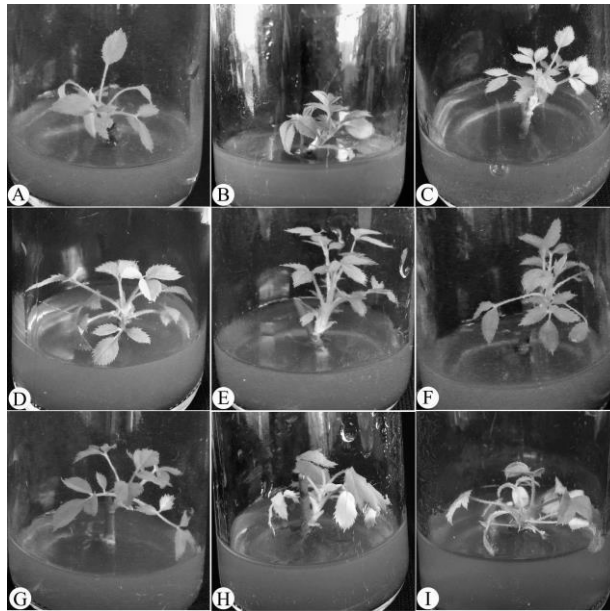
BA là chất điều hoà sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin, đóng vai quan trọng trong các quá trình nuôi cấy tạo chồi hoa hồng [11]. Trong nghiên cứu này, kết quả thu được lại một lần nữa khẳng định vai trò thiết yếu của BA trong cảm ứng tạo chồi bên cây hoa hồng tỷ muội từ nuôi cấy đốt thân. Các chồi thu nhận được ở các nghiệm thức có bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy đều sinh trưởng tốt hơn hẳn so với nghiệm thức đối chứng (0 mg/L BA) (Bảng 4, Hình 2).

Nồng độ BA khác nhau bổ sung vào môi trường nuôi cấy cũng có ảnh hưởng khác nhau đến sự sinh trưởng của chồi. Khi nồng độ BA bổ sung vào môi trường nuôi cấy tăng dần 0,5-2,0 mg/L, các chỉ tiêu sinh trưởng của chồi cũng tăng dần. Ở các nghiệm thức bổ sung BA cao hơn 2 mg/L không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về các chỉ tiêu chiều cao chồi và số lá. Tuy nhiên, quan sát hình thái chồi cho thấy, ở nghiệm thức môi trường nuôi cấy có bổ sung BA ở nồng độ 3-4 mg/L có hiện tượng nhanh bị vàng lá (Hình 2). Do vậy, môi trường nuôi cấy có bổ sung 2 mg/L BA thích hợp cho quá trình bật chồi *in vitro* từ nuôi cấy đốt thân cây hoa hồng tỷ muội. Kết quả này tương tự với kết quả của Zeng *et al.* khi thực hiện trên loài *Rosa hybrida* cv. Fairy Dance, môi trường MS bổ sung 2 mg/L BA cho khả năng bật chồi tốt nhất [12].

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ BA bổ sung vào môi trường nuôi cấy lên khả năng tạo chồi *in vitro* cây hoa hồng tỷ muội sau 21 ngày nuôi cấy

Nồng độ BA (mg/L)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá	Hình thái chồi
0	1,30 ± 0,14 ^c	2,67 ± 0,52 ^d	Có 1/3 Chồi chậm phát triển
0,5	1,41 ± 0,17 ^c	3,67 ± 0,52 ^c	Chồi xanh, ốm
1,0	1,65 ± 0,05 ^b	4,33 ± 0,52 ^{bc}	Chồi xanh, ốm
1,5	1,67 ± 0,12 ^b	5,00 ± 0,89 ^{ab}	Chồi xanh, tốt
2,0	1,96 ± 0,08 ^a	5,50 ± 0,84 ^a	Chồi xanh, tốt
2,5	1,88 ± 0,10 ^a	5,33 ± 0,52 ^a	Chồi xanh, tốt
3,0	1,87 ± 0,08 ^a	5,67 ± 0,82 ^a	Chồi xanh, tốt
3,5	1,90 ± 0,09 ^a	5,50 ± 0,84 ^a	Chồi xanh, nhanh bị vàng lá
4,0	1,72 ± 0,25 ^a	5,50 ± 0,55 ^a	Chồi xanh, nhanh bị vàng lá

^{a, b, ...}: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy $p \leq 0,05$ trong phép thử Duncan.



Hình 2. Ảnh hưởng của BA lên khả năng bật chồi cây hoa hồng tỷ muối *in vitro*.

A, B, C, D, E, F, G, H, I: lần lượt là môi trường bổ sung BA các nồng độ 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 (mg/L)

3.5. Ảnh hưởng của Kinetin lên khả năng bật chồi *in vitro* của hoa cây hồng tỷ muối

Ảnh hưởng tích cực của Kinetin (Kin) đối với tác động tái sinh chồi lên mẫu đoạn thân hoa hồng đã được nhắc đến trong nghiên cứu của Nguyễn Thị Phương Thảo và ctv, môi trường MS bổ sung 3 mg/L BA, 1 mg/L Kin, 3 mg/L Adenin sunphate cho kết quả tái sinh chồi trên đoạn thân cây hoa hồng com Phú Thọ đạt 99,78% [10].

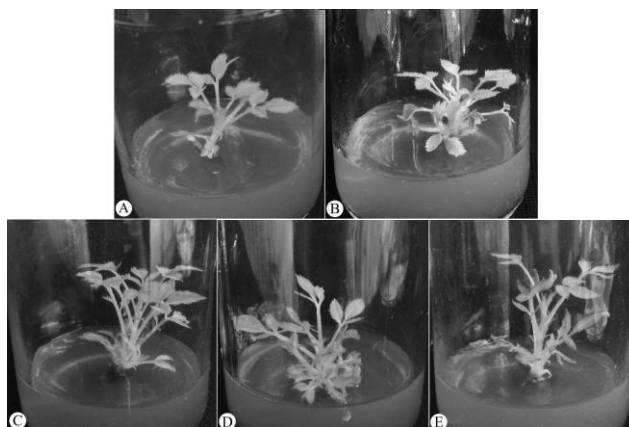
Trong thí nghiệm này, các đốt thân được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 2 mg/L BA kết hợp với Kin ở các nồng độ khác nhau. Kết quả thu được cho thấy, môi trường có bổ sung 0,5 mg/L Kin thu được số lượng chồi bật lên từ mắt ngủ của đốt thân cao nhất (3,6 chồi/mẫu). Ngược lại, môi trường chỉ bổ sung 2,0 mg/L BA và không bổ sung Kin chỉ hình thành 1 chồi/mẫu (Bảng 5, Hình 3A, B). Kết quả này chứng tỏ, bổ sung Kin vào môi trường nuôi cấy đã kích thích gia tăng số lượng chồi tạo thành, từ đó có thể giúp gia tăng hệ số nhân chồi. Điều này có ý nghĩa quan trọng trong vi nhân giống thực vật, đặc biệt là đối với những loài cây thuộc nhóm thân gỗ, luôn có nhược điểm là khó nhân giống như cây hoa hồng.

Tuy nhiên, khi bổ sung Kin vào môi trường nuôi cấy ở các nồng độ 0,75-1,0 mg/L, số chồi và chiều cao chồi thu được có khuynh hướng giảm dần. Ngoài ra, quan sát hình thái của chồi cũng nhận thấy, ở 2 nghiệm thức này, lá có hiện tượng hơi mọng nước và hơi thu nhỏ đầu mép lá (Hình 3D, E). Vì vậy, môi trường nuôi cấy có bổ sung 2 mg/L BA kết hợp với 0,5 mg/L Kin thích hợp nhất cho quá trình tạo chồi *in vitro* từ nuôi cấy đốt thân cây hoa hồng tỷ muối (Hình 3C). Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Hameed *et al.* trên đối tượng *Rosa indica* L., nhóm tác giả này cũng đề cập đến ảnh hưởng của Kin lên hệ số nhân, sự sinh trưởng, phát triển của chồi, cụ thể là với nồng độ 0,5 mg/L Kin thì chồi phát triển tốt nhất [13].

Bảng 5. Ảnh hưởng của Kinetin lên khả năng tạo chồi của đoạn thân cây hoa hồng tỷ muội sau 21 ngày nuôi cấy

Nồng độ Kinetin (mg/L)	Số chồi	Chiều cao chồi
0,00	1,00 ± 0,00 ^c	1,70 ± 0,10 ^b
0,25	1,20 ± 0,45 ^c	1,82 ± 0,84 ^b
0,50	3,60 ± 0,55 ^a	2,20 ± 0,21 ^a
0,75	2,40 ± 0,89 ^b	2,06 ± 0,09 ^a
1,00	2,20 ± 0,83 ^b	2,04 ± 0,11 ^a

^{a, b, ...}: thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức tin cậy $p \leq 0,05$ trong phép thử Duncan.



Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ Kinetin lên khả năng tạo chồi ở đốt thân cây hoa hồng tỷ muội. A, B, C, D, E: Môi trường có bổ sung Kinetin lần lượt ở các nồng độ: 0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 (mg/L).

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã xác định được chế độ khử trùng mẫu và môi trường nuôi cấy thích hợp cho quá trình tạo chồi *in vitro* cây hoa hồng tỷ muội từ nuôi cấy mẫu đốt thân. Trong đó, chất khử trùng thích hợp là sử dụng dung dịch $HgCl_2$ 0,2% trong 10 phút. Môi trường nuôi cấy tạo chồi thích hợp là: môi trường MS có bổ sung 2 mg/L BA, 0,5 mg/L Kinetin, 0,5 g/L than hoạt tính, 30 g/L sucrose. Chồi thu nhận được sẽ là nguồn vật liệu cho các nghiên cứu tiếp theo.

Lời cảm ơn: Trân trọng cảm ơn trường ĐH Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM đã hỗ trợ kinh phí giúp chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dương Công Kiên - Nuôi cấy mô thực vật, NXB Đại học Quốc gia TP.Hồ Chí Minh, 2002, tr. 35.
2. Murashige T., Skoog F. - A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiologia Plantarum* **15** (1962) 473-497.
3. Vu N. H., Anh P. H., Nhut D. T. - The role of sucrose and different cytokinin in the *in vitro* floral morphogenesis of rose (Hybrid tea) cv. "First Prize", *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **87** (3) (2006) 315-320.
4. Wang G. Y., Yuan M. F., Hong Y. - *In vitro* flower induction in roses, *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* **38** (5) (2002) 513-518.

5. Dương Tấn Nhựt - Công nghệ sinh học thực vật, Tập 1, NXB Nông nghiệp, TP. Hồ Chí Minh, 2007, tr. 95.
6. Nguyễn Thị Nhật Linh, Nguyễn Bá Nam, Nguyễn Thị Kim Yến, Lê Kim Cương, Nguyễn Phúc Huy, Dương Tấn Nhựt - Ảnh hưởng của than hoạt tính lên khả năng định hướng rễ ở cây hồng môn và cây cúc nuôi cấy *in vitro*, Tạp chí Sinh học **34** (3) (2012) 377-388.
7. Alsemaan T. - Micropropagation of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) cv. Almarah, International Journal of Agricultural Research **8** (4) (2013) 172-177.
8. Lê Trần Bình, Hồ Hữu Nhi, Lê Thị Muội - Công nghệ sinh học thực vật trong cải tiến giống cây trồng, NXB Nông nghiệp, 1997, tr. 132.
9. Lâm Ngọc Phương, Nguyễn Bảo Vệ, Đỗ Thị Trang Nhã - Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng và hàm lượng đường sucrose trong môi trường nuôi cấy đến sự phát triển của chồi dưa hấu tam bội *in vitro*, Tạp Khoa học Trường Đại học Cần Thơ **4** (2005) 1-8.
10. 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 - Nhân nhanh và cảm ứng ra hoa *in vitro* cây hoa hồng com (*Rosa sericea* Lindl), Tạp chí Khoa học và Phát triển **13** (4) (2015) 606-613.
11. Naphaporn N. U., Kantamaht K., Kamnoon K. - Micropropagation from cultured nodal explants of rose (*Rosa hybrida* L. cv. 'Perfume Delight'), Songklanakarin Journal of Science and Technology **31** (6) (2009) 583-586.
12. Zeng S., Liang S., Zhang Y.Y., Wu K. L., TeixeiraSilva J.A., Duan J. - *In vitro* flowering red miniature rose, Biologia Plantarum **57** (3) (2013) 401-409.
13. Hameed N., Shabbir A., Ali A., Bajwa R. - *In vitro* micropropagation of disease free rose (*Rosa indica* L.), Mycopath **4** (2) (2006) 35-38.

ABSTRACT

STUDY ON *IN VITRO* SHOOT INDUCTION OF MINIATURE ROSE (*Rosa chinensis* Jacq. Var. minima Redh)

Nguyen Ngoc Quynh Tho, Nguyen Duy Khanh,
Huynh Thi Anh Sang, Tu Van Ut, Truong Quynh Yen Yen,
Nguyen Thanh Luan, Trinh Thi Huong*
Ho Chi Minh City University of Food Industry
*Email: trinhthihuongcsdl@gmail.com

Roses are beautiful and popular species. However, the propagation of roses is difficult because they are woody plants. This study investigates some factors impacting the *in vitro* shoot induction from the node of *Rosa chinensis* Jacq. Var. minima Redh. The results show that the percentage of uninfected samples was 71.67% when the nodes were sterilized with 0.2% HgCl₂ solution for 10 min. MS medium supplemented with 2.0 mg/L BA, 0.5 mg/L Kinetin, 0.5 g/L activated charcoal, 30.0 g/L sucrose, pH 5.8 was suitable for induction of *in vitro* shoots. After 21 days of culture, the shoot formation rate was 100% with 3.6 shoots per sample, the shoots' average height was 2.2 cm. The study results can be used as a reference for establishing a process of propagating *Rosa chinensis* Jacq. Var. minima Redh.

Keywords: BA, miniature rose, *in vitro*, shoot induction, propagation.