

## **NHÂN NHANH VÀ CẢM ỨNG RA HOA *IN VITRO* CÂY HOA HỒNG CƠM (*Rosa sericea* LINDL)**

**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**

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

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

Ngày gửi bài: 24.03.2015

Ngày chấp nhận: 04.06.2015

### TÓM TẮT

Nghiên cứu đã xác định được các môi trường phù hợp cho quá trình nhân nhanh và ra hoa *in vitro* cây hoa hồng cơm (*Rosa sericea* Lindl) thu thập tại Phú Thọ, Việt Nam. 99,78% mẫu đoạn thân hoa hồng bật chồi trên môi trường MS bổ sung 2,0 mg/l BA và 0,05 mg/l  $\alpha$ -NAA. Môi trường nhân nhanh chồi tốt nhất là môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BA. 100% chồi hoa hồng *in vitro* ra rễ trên môi trường  $\frac{1}{4}$  MS. Bổ sung  $\text{AgNO}_3$  và  $\text{CoCl}_2$  vào môi trường có ảnh hưởng tích cực đến sự ra hoa *in vitro* hoa hồng cơm. Trên môi trường có bổ sung  $30\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$  hoặc  $30\mu\text{M}$   $\text{CoCl}_2$ , tỉ lệ ra hoa đạt lần lượt 50% và 20%. Trên môi trường bổ sung  $30\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$ , hoa bền trong vòng 14 ngày sau nở, trong khi đó trên môi trường bổ sung  $30\mu\text{M}$   $\text{CoCl}_2$  hoa chỉ bền được 7-8 ngày sau nở.

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

### ***In Vitro* Propagation and Flower Induction of *Rosa sericea* Lindl.**

#### ABSTRACT

This study was conducted to determine optimal media for *in vitro* propagation and flowering of rose (*Rosa sericea* Lindl) collected in Phu Tho province, Viet Nam. 99.78% of rose explants formed shoots on MS medium supplemented with 2.0 mg/l BA and 0.05 mg/l  $\alpha$ -NAA. The optimal medium for micropropagation was MS medium containing 1.5 mg/l BA. 100 % of the shoots produced roots on  $\frac{1}{4}$  MS. The study showed that  $\text{AgNO}_3$  and  $\text{CoCl}_2$  had positive impacts on *in vitro* flowering of the rose plantlets. On medium supplemented with  $30\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$  or  $30\mu\text{M}$   $\text{CoCl}_2$ , flowering rates were 50 % and 20 %, respectively. On medium containing  $30\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$ , flower longevity last 14 days after anthesis whereas on medium including  $30\mu\text{M}$   $\text{CoCl}_2$ , flowers only last 7-8 days.

Keywords:  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{CoCl}_2$ , *in vitro* flowering, *Rosa sericea* Lindl

#### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa hồng là một trong những loài hoa được ưa chuộng nhất trên thế giới bởi màu sắc và hương thơm của nó. Hoa hồng được sử dụng phổ biến hiện nay dưới dạng hoa cắt cành, hoa trồng chậu (Wang et al., 2002).

Trong tự nhiên, hoa hồng cũng như nhiều loài hoa khác đều sinh trưởng và phát triển theo quy luật khi sinh trưởng đến một ngưỡng nhất định cây sẽ chuyển từ giai đoạn sinh trưởng sinh

dưỡng sang sinh trưởng sinh thực, sự phân hóa mầm hoa hình thành, hoa xuất hiện. Quá trình ra hoa của cây rất phức tạp, chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố cả nội sinh và ngoại sinh. Sự phát triển hoa ở thực vật bậc cao đã thu hút sự quan tâm của nhiều nhà khoa học trong nước và trên thế giới, đặc biệt là thời điểm chuyển từ giai đoạn sinh dưỡng sang giai đoạn sinh thực. Thời điểm này được đánh giá là một trong những sự kiện quan trọng trong chu kỳ sống của cây. Hệ thống ra hoa trong ống nghiệm được xem là công cụ

hữu ích trong nghiên cứu sự ra hoa ở thực vật. Bên cạnh đó, đây cũng được xem là hướng tiếp cận mới trong lai tạo các giống hoa. Hơn nữa, hoa trong ống nghiệm cũng là một sản phẩm thương mại tiềm năng mở ra phương thức chơi hoa mới. Một số nghiên cứu trong cảm ứng ra hoa *in vitro* ở hoa hồng đã được công bố (Wang et al., 2002; Vu et al., 2006; Kantamaht et al., 2009...), tuy nhiên các nghiên cứu này chỉ tập trung vào việc sử dụng các chất điều tiết sinh trưởng thực vật, quang chu kỳ và thời gian cấy chuyển nhằm cảm ứng ra hoa mà chưa quan tâm đến vai trò của các yếu tố vi lượng trong quá trình này. Trên thực tế, ảnh hưởng của các nguyên tố vi lượng đến quá trình ra hoa đã được tiến hành trên một số đối tượng cây. Theo Uthaichay et al. (2007) việc phun  $Ag^+$  giảm rụng hoa và nụ hoa ở cây lan.  $Ag^+$  làm giảm 100% hiện tượng rụng hoa *Alstroemeria* so với hoa không được xử lý (Wagstaff et al., 2005). Sharma et al. (2008) đã điều khiển ra hoa *in vitro* của cây ớt (*Capsicum frutescens*) bằng  $Co^{2+}$ .

Mục đích của nghiên cứu này là nhằm tối ưu hệ thống nhân nhanh *in vitro* và sử dụng các yếu tố vi lượng nhằm điều khiển ra hoa *in vitro* cây hoa hồng cơm thu thập tại Phú Thọ, tạo tiền đề cho nghiên cứu điều khiển ra hoa và sản xuất thương mại cây hoa hồng ra hoa *in vitro*.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Vật liệu

Hoa hồng cơm (*Rosa sericea* Lindl) thu thập tại Phú Thọ do TS. Mai Văn Thơm, Bộ môn Canh tác, Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam cung cấp.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Khử trùng mẫu:** Đoạn cành bánh tẻ mang mắt ngủ, không sâu bệnh, sinh trưởng tốt được rửa sạch dưới vòi nước, ngâm trong xà phòng loãng 15 phút rồi rửa sạch xà phòng dưới vòi nước chảy. Sau đó, 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.

**Nuôi cấy khởi động:** Mẫu cấy sau khi khử trùng được cấy vào môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962) có bổ sung các chất điều tiết sinh trưởng với các nồng độ khác nhau để phát sinh tạo chồi, cụm chồi.

**Nhân nhanh *in vitro*:** Các chồi có chiều cao khoảng 1,0 - 1,5cm và 3 - 4 lá từ môi trường tạo chồi tốt nhất được sử dụng cho thí nghiệm nhân nhanh chồi *in vitro*. Môi trường nhân nhanh chồi *in vitro* là môi trường MS cơ bản có bổ sung BA với nồng độ từ 0,5 - 2,0 mg/l.

**Tạo rễ cho chồi *in vitro*:** Các chồi *in vitro* có chiều cao 1,5 - 2,0cm, sinh trưởng và phát triển bình thường được cấy chuyển sang môi trường MS, 1/2MS và 1/4MS để kích thích tạo rễ.

**Điều khiển ra hoa *in vitro*:** Các chồi *in vitro* có chiều cao 2,0 - 3,0cm, sinh trưởng và phát triển bình thường được cấy chuyển sang môi trường MS cơ bản có bổ sung các nguyên tố vi lượng  $Ag^+$  (dạng  $AgNO_3$ , nồng độ 10 - 50 $\mu$ M) hoặc  $Co^{2+}$  (dạng  $CoCl_2$ , nồng độ 10 - 40 $\mu$ M) để kích thích ra hoa.

**Môi trường nuôi cấy:** Sử dụng môi trường MS cơ bản (riêng thí nghiệm tạo rễ cho chồi *in vitro* thì hàm lượng muối khoáng trong môi trường MS thay đổi) có bổ sung 3% sucrose, các chất điều tiết sinh trưởng, các yếu tố vi lượng khác nhau tùy theo thí nghiệm, pH môi trường 5,8.

**Điều kiện nuôi cấy:** Nhiệt độ 22 - 25 $^{\circ}$ C, cường độ ánh sáng 2.000 lux, thời gian chiếu sáng 16 giờ sáng.

**Bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu:** Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn (CRD), mỗi công thức lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại 30 mẫu, số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và IRRISTAT 5.0.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* hoa hồng cơm

#### 3.1.1. Ảnh hưởng của môi trường đến sự tái sinh chồi từ đoạn thân mang mắt ngủ hoa hồng cơm

Trong quá trình nhân giống và điều khiển ra hoa *in vitro*, việc tạo ra một nguồn vật liệu

khởi đầu đồng đều với số lượng lớn có ý nghĩa quan trọng quyết định đến hiệu quả của quá trình này. Mục đích của thí nghiệm là tìm ra công thức có tỷ lệ bật chồi cao, chồi hình thành sớm để tạo nguồn vật liệu khởi đầu cho các thí nghiệm tiếp theo.

Dựa trên các kết quả nghiên cứu đã được công bố, ba công thức môi trường với công thức đối chứng là MS đã được lựa chọn để khảo sát khả năng bật chồi của đoạn thân mang mắt ngủ hoa hồng côm (Bảng 1). Kết quả cho thấy, trên môi trường MS không bổ sung chất điều tiết sinh trưởng (ĐC), chỉ 28,89% mẫu đoạn thân hoa hồng tái sinh chồi, trong khi đó tỷ lệ này dao động từ 88,89 - 99,78% trên môi trường có bổ sung chất điều tiết sinh trưởng. Trong đó, hai công thức môi trường CT1 (bổ sung 2,0 mg/l BA + 0,05 mg/l  $\alpha$ -NAA) và CT2 (bổ sung 3,0 mg/l BA + 1,0 mg/l kinetin + 3,0 mg/l adenin sunphate) cho tỷ lệ mẫu đoạn thân hoa hồng tái sinh chồi là cao nhất, đều đạt 99,78%. Tuy nhiên, xét về hiệu quả kinh tế, môi trường CT1 có ưu thế hơn do không sử dụng adenin sunphate và hàm lượng các chất điều tiết sinh

trưởng cần bổ sung cũng ít hơn so với CT2 (Bảng 1). Hơn nữa, quan sát về hình thái cho thấy, các chồi tạo ra trên môi trường CT1 có chất lượng tốt hơn, chồi có màu xanh đậm và mập hơn so với các chồi tái sinh trên môi trường CT2. Do vậy, môi trường MS + 2,0 mg/l BA + 0,05 mg/l  $\alpha$ -NAA + 30 g/l sucrose được lựa chọn làm môi trường để tái sinh chồi từ đoạn thân cây hoa hồng côm.

### 3.1.2. Ảnh hưởng của BA đến hệ số nhân chồi và sự sinh trưởng của chồi hoa hồng côm

Để tạo đủ vật liệu cho các nghiên cứu ra hoa *in vitro*, các chồi hoa hồng cần được nhân nhanh với số lượng lớn, có chất lượng tốt và đồng đều. Ảnh hưởng tích cực của cytokinin đến nhân nhanh chồi hoa hồng đã được đề cập trong các nghiên cứu của Douglas et al. (1989), Naphaporn et al. (2009). Trong thí nghiệm này, BA với các nồng độ khác nhau được bổ sung vào môi trường MS cơ bản nhằm xác định môi trường nhân nhanh chồi hoa hồng côm thích hợp nhất.

Kết quả bảng 2 cho thấy, khi bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy với nồng độ tăng dần từ

**Bảng 1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến tỷ lệ bật chồi từ đoạn thân hoa hồng côm sau 4 tuần nuôi cấy**

CT	Môi trường	Tỷ lệ bật chồi (%)	Tài liệu tham khảo
ĐC	MS	28,89	
CT1	MS + 2,0 mg/l BA + 0,05 mg/l $\alpha$ -NAA	99,78	Wang et al. (2002)
CT2	MS + 3,0 mg/l BA + 1,0 mg/l kinetin + 3,0 mg/l adenin sunphate	99,78	Naphaporn et al. (2009)
CT3	MS + 1,0 mg/l BA + 0,1 mg/l $\alpha$ -NAA	88,89	Jala (2014)

**Bảng 2. Ảnh hưởng của BA đến hệ số nhân và sinh trưởng của chồi hoa hồng côm sau 6 tuần nuôi cấy**

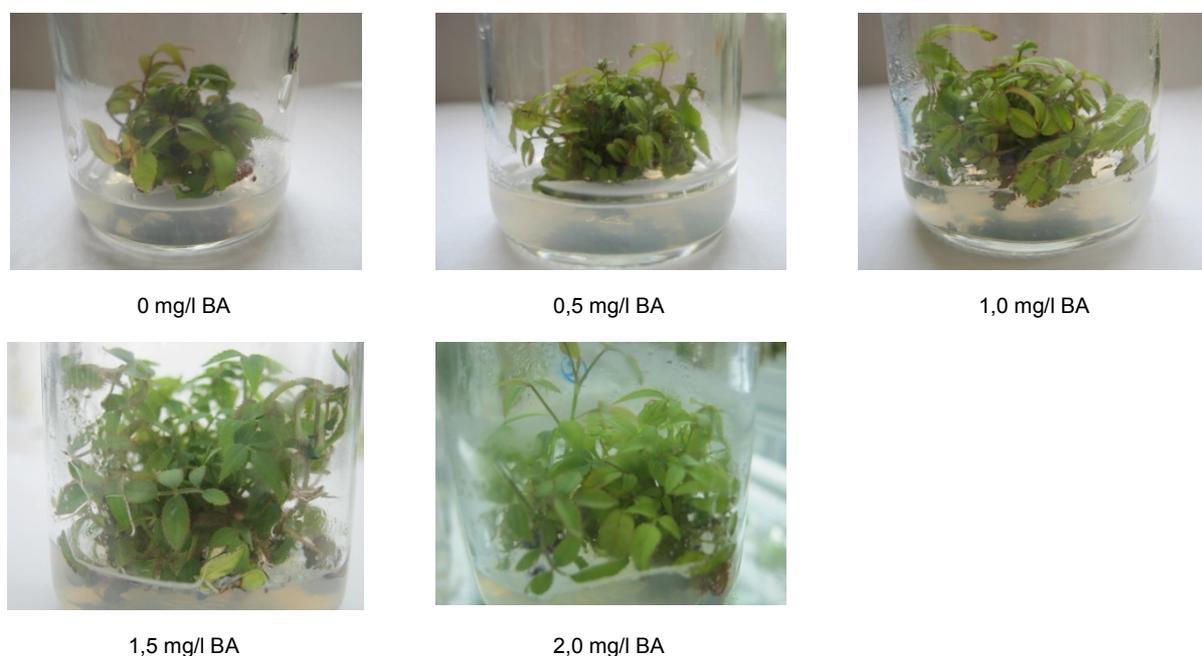
BA (mg/l)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi (cm)
0	2,06	1,34
0,5	2,27	1,53
1,0	2,53	1,63
1,5	2,73	1,69
2,0	2,46	1,51
LSD <sub>0,05</sub>	0,44	0,21
CV%	1,30	1,60

0 đến 1,5 mg/l, hệ số nhân chồi hoa hồng cơm và chiều cao chồi tăng tương ứng với hệ số nhân chồi (2,46 lần) và chiều cao chồi (1,69cm) đạt cao nhất trên môi trường chứa 1,5 mg/l BA sau 6 tuần nuôi cấy. Tuy nhiên, nếu bổ sung BA ở nồng độ cao hơn (2,0 mg/l), hệ số nhân chồi (2,46 lần) và chiều cao chồi (1,51cm) đều giảm (Bảng 2). Quan sát hình thái cho thấy, các chồi hoa hồng cơm trên môi trường có chứa BA sinh trưởng, phát triển tốt hơn so với chồi trên môi trường đối chứng (Hình 1). Như vậy, môi trường thích hợp nhất để nhân nhanh chồi hoa hồng cơm là MS + 1,5 mg/l BA+ 30 g/l sucrose.

### 3.1.3. Ảnh hưởng hàm lượng muối khoáng đến khả năng tạo rễ của chồi hoa hồng cơm

Tác động tích cực của việc giảm hàm lượng muối khoáng đến sự ra rễ của chồi *in vitro* đã được công bố trong nhiều nghiên cứu trên các đối tượng cây trồng khác nhau (Driver and Suttle, 1987). Trên đối tượng hoa hồng, môi trường MS có hàm lượng khoáng đa lượng và vi lượng giảm cũng đã được sử dụng trong nghiên cứu tạo rễ cho chồi *in vitro* (Naphaporn et al., 2009).

Tỷ lệ chồi hoa hồng cơm hình thành rễ đều đạt 100% sau 6 tuần nuôi cấy trên cả 3 môi trường có hàm lượng muối khoáng khác nhau.



Hình 1. Chồi hoa hồng cơm trên môi trường chứa BA sau 6 tuần nuôi cấy

Bảng 3. Ảnh hưởng của hàm lượng muối khoáng đến khả năng tạo rễ của chồi hoa hồng cơm sau 6 tuần nuôi cấy

Môi trường	Tỷ lệ hình thành rễ (%)	Số rễ/cây	Nhận xét
MS	100	2,88	Rễ mảnh, dài
½ MS	100	5,00	Rễ mập, ngắn
¼ MS	100	5,87	Rễ mập, dài
LSD <sub>0,05</sub>		0,29	
CV%		3,20	



**Hình 2. Chồi hoa hồng côm tạo rễ trên môi trường có hàm lượng muối khoáng khác nhau sau 6 tuần nuôi cấy**

Trong đó, số lượng rễ/cây đạt cao nhất (5,87 rễ) khi nuôi cấy chồi hoa hồng côm trên môi trường 1/4 MS (Bảng 3). Đồng thời, các rễ tạo ra trên môi trường này cũng dài và mập hơn so với các rễ tạo ra trên môi trường MS và 1/2 MS (Hình 2).

Như vậy, môi trường thích hợp để tạo rễ cho chồi hoa hồng côm là 1/4 MS. Kết luận này cũng phù hợp với kết quả của Naphaporn (2009) khi môi trường 1/4 MS cũng là môi trường thích hợp nhất để cảm ứng ra rễ cho giống hoa hồng *Rosa hybrid* cv. “Heirloom” trong nghiên cứu.

### **3.2. Ảnh hưởng của $AgNO_3$ và $CoCl_2$ đến sự sinh trưởng và hình thành hoa hồng côm *in vitro***

#### **3.2.1. Ảnh hưởng của $AgNO_3$**

Các ion bạc được cung cấp dưới dạng nitrate ( $AgNO_3$ ) vào môi trường nuôi cấy 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 ảnh hưởng đến hoạt động của ethylene (Bais et al., 1999; Sharma et al., 2008). Trong khi đó, đồng (Cu) là nhân tố kết hợp (cofactor) với thụ thể ethylene - Ethylene Receptor 1 (ETR1). Sự có mặt của đồng là bắt buộc nhằm có được sự gắn kết chặt chẽ của ethylene với thụ thể ETR1. Do bạc có thể thay thế đồng trong phức hợp ETR1 - đồng, chính vì vậy, có thể sử dụng bạc để gây rối loạn hoạt tính của protein ETR1 (Zhao, 2002). Với các tiền đề trên, thí nghiệm này được thực hiện nhằm

nghiên cứu ảnh hưởng của  $AgNO_3$  đến sự sinh trưởng và ra hoa *in vitro* cây hoa hồng côm.

Kết quả bảng 4 cho thấy  $AgNO_3$  không có ảnh hưởng tích cực đến hệ số nhân chồi hoa hồng côm do hệ số nhân chồi trên môi trường bổ sung  $AgNO_3$  (0 - 0,2 lần) thấp hơn so với môi trường đối chứng (0,3 lần). Tuy nhiên, chiều cao và số lá của chồi trên môi trường bổ sung  $AgNO_3$  đạt được cao hơn so với đối chứng với chiều cao đạt cao nhất (2,2cm) trên môi trường bổ sung  $30\mu M AgNO_3$  và số lá/chồi đạt cao nhất (5,1 lá) trên môi trường chứa 10 hoặc  $40\mu M AgNO_3$ .

Mặc dù tác động  $AgNO_3$  đến sự sinh trưởng của chồi hoa hồng côm không rõ rệt nhưng  $AgNO_3$  lại có ảnh hưởng tích cực đến tỷ lệ ra hoa và màu sắc hoa hồng côm. Trên môi trường không bổ sung  $AgNO_3$ , tỷ lệ chồi ra hoa bằng 0% sau 60 ngày nuôi cấy, trong khi đó tỷ lệ này dao động từ 10 - 50% trên môi trường có bổ sung  $AgNO_3$ . Tỷ lệ chồi hoa hồng côm hình thành hoa đạt cao nhất (50%) trên môi trường chứa  $30\mu M AgNO_3$ . Màu sắc hoa cũng có sự khác biệt giữa các công thức môi trường chứa  $AgNO_3$  ở các nồng độ khác nhau, từ màu phớt trắng cho đến hồng đậm (Bảng 4). Quan sát trong quá trình theo dõi thí nghiệm nhận thấy nụ hoa hồng hình thành sớm nhất (18 ngày) trên môi trường chứa  $50\mu M AgNO_3$  nhưng độ bền hoa lâu nhất (14 ngày sau khi nở) ghi nhận được từ các nụ hoa trên môi trường bổ sung  $30\mu M AgNO_3$ .

Theo nghiên cứu của Sharma et al. (2008),  $AgNO_3$  cũng có ảnh hưởng tích cực đến sự ra hoa

**Bảng 4. Ảnh hưởng của AgNO<sub>3</sub> đến sự sinh trưởng và hình thành hoa hồng cơm *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy**

AgNO <sub>3</sub> (μM)	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi	Tỉ lệ chồi hình thành hoa (%)	Màu sắc hoa
0	1,66	4,60	0	-
10	2,00	5,10	10,0	Hồng đậm
20	2,10	5,03	22,3	Hồng đậm vừa
30	2,20	5,03	50,0	Hồng nhạt vừa
40	2,00	5,10	30,0	Hồng nhạt
50	1,76	4,60	20,0	Phớt trắng
LSD <sub>0,05</sub>	0,72	0,72		
CV%	2,10	0,80		

*in vitro* của cây ớt ngọt (*Capsicum frutescens*) với kết quả là các chồi ớt ngọt nở hoa sau 25 ngày trên môi trường chứa 40μM AgNO<sub>3</sub>. Tuy nhiên trên đối tượng cây hoa hồng, cho đến nay vẫn chưa có công bố nào liên quan đến tác động của AgNO<sub>3</sub> đến sự sinh trưởng và ra hoa của hoa hồng. Trong nghiên cứu này, có thể kết luận AgNO<sub>3</sub> có ảnh hưởng tích cực đến ra hoa *in vitro* của hoa hồng cơm và môi trường cảm ứng nở hoa *in vitro* tốt nhất là MS + 30μM AgNO<sub>3</sub> cho tỷ lệ hình thành hoa là 50%, hoa bên 14 ngày kể từ ngày nở.

### 3.2.2. Ảnh hưởng của CoCl<sub>2</sub>

Coban ức chế quá trình tổng hợp ethylen và tăng sự tái sinh chồi bằng cách cản trở quá trình biến đổi của ACC tới ethylene (Lau and Yang, 1976). Ở một số loài, ethylene có vai trò kích thích sự ra hoa (đặc biệt là ra hoa trái vụ), còn trên đa số các loài thực vật khác ethylene lại gây ức chế sự ra hoa. Tuy nhiên, trên đối tượng cây hoa hồng,

vẫn chưa từng có nghiên cứu nào đánh giá tác động của coban đến sự ra hoa *in vitro*.

Kết quả bảng 5 cho thấy, CoCl<sub>2</sub> có ảnh hưởng tích cực tới sự hình thành hoa của chồi hoa hồng cơm. Tỷ lệ hình thành hoa tỷ lệ thuận với nồng độ CoCl<sub>2</sub> bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Khi nồng độ CoCl<sub>2</sub> tăng từ 10 - 40μM tỷ lệ ra hoa tăng từ 6,67 - 20%. Tỷ lệ chồi hoa hồng cơm ra hoa cao nhất (20%) trên môi trường chứa 30μM hoặc 40μM CoCl<sub>2</sub>. Quan sát hình thái cho thấy, các nụ hoa bắt đầu hình thành sau 15 - 20 ngày, hoa bắt đầu hé nở sau khi hình thành nụ 5 - 7 ngày, sau khi hé mở 7 - 8 ngày hoa bắt đầu tàn. Các nụ hoa bình thường, có kích thước nhỏ hơn kích thước hoa ngoài tự nhiên. Khi nở, các cánh hoa nhỏ, đầy đủ đài, tràng, nhị, nhụy (Hình 3). Tuy nhiên, ở công thức có nồng độ 40μM CoCl<sub>2</sub>, một số nụ bị biến dị và bị héo trước khi nở. Do vậy, môi trường bổ sung MS + 30μM CoCl<sub>2</sub> là thích hợp để hoa hồng cơm ra hoa *in vitro*.

**Bảng 5. Ảnh hưởng của CoCl<sub>2</sub> đến sự hình thành hoa hồng cơm *in vitro* sau 60 ngày nuôi cấy**

CoCl <sub>2</sub> (μM)	Tỷ lệ hình thành hoa (%)	Nhận xét
0	0,0	-
10	6,67	Nụ nhỏ, màu sắc hoa hơi nhạt, cánh hoa nhỏ
20	13,33	Nụ nhỏ, màu sắc hoa hơi nhạt, cánh hoa nhỏ
30	20,0	Nụ nhỏ, màu sắc hoa bình thường
40	20,0	Nụ nhỏ, màu sắc hoa nhạt, một số cánh hoa bị biến dạng



Sau 22 ngày

Sau 27 ngày

Sau 35 ngày

**Hình 3. Sự phát triển của hoa hồng côm trên môi trường MS + 30 $\mu$ M CoCl<sub>2</sub>**

Kết luận này cũng phù hợp với kết quả của Sharma et al. (2008) khi nghiên cứu ảnh hưởng của CoCl<sub>2</sub> đến sự ra hoa của cây ớt ngọt. Sharma et al. (2008) đã bổ sung CoCl<sub>2</sub> với các nồng độ từ 0, 10, 20, 30, 40, 50 $\mu$ M vào môi trường nuôi cấy chồi ớt *in vitro*. Ở công thức đối chứng không bổ sung CoCl<sub>2</sub> cây không cảm ứng ra hoa trong khi CoCl<sub>2</sub> ở nồng độ thấp (10 $\mu$ M) không có sự cảm ứng hình thành hoa sau 25 ngày theo dõi, và sau 45 ngày cây chỉ có 1 hoa. Cây cảm ứng ra hoa khi nồng độ CoCl<sub>2</sub> tăng lên từ 20 - 50 $\mu$ M, đặc biệt với nồng độ 30 $\mu$ M được xem như nồng độ tối ưu, cây cho số lượng hoa cao nhất là 7 hoa trên một cây. Đồng thời, chiều dài chồi của cây ở 30 $\mu$ M cũng cao nhất (5,4cm). Nồng độ CoCl<sub>2</sub> cao hơn làm cây có phản ứng hình thái khác thường.

#### 4. KẾT LUẬN

Môi trường thích hợp để đoạn thân hoa hồng côm tái sinh chồi là MS + 2,0 mg/l BA + 0,05 mg/l  $\alpha$ -NAA, cho tỷ lệ mẫu bật chồi đạt 99,78 %.

Môi trường tốt nhất để nhân nhanh chồi hoa hồng côm *in vitro* là MS + 1,5 mg/l BA với hệ số nhân đạt 2,73 lần sau 6 tuần.

Môi trường thích hợp để cảm ứng tạo rễ cho chồi hoa hồng côm là 1/4 MS, đạt tỷ lệ ra rễ 100% sau 6 tuần nuôi cấy.

Các yếu tố AgNO<sub>3</sub> và CoCl<sub>2</sub> có tác dụng tích cực trong điều khiển hoa hồng côm ra hoa *in vitro*. Môi trường tốt nhất cho hình thành hoa *in*

*vitro* hoa hồng côm là MS + 30 $\mu$ M AgNO<sub>3</sub>, cho tỷ lệ hoa nở 50% và hoa bền trong 14 ngày kể từ ngày nở hoa.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với kinh phí từ 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

- Bais, H.P., George, J. and Ravishankar, G.A. (1999). Influence of polyamines on growth of hairy root cultures of wtl of chiochory (*Chichorium intybus* L cv Lucknow local) and formation of coumarins. *Journal of Plant Growth Regulation*, 18(1): 33-37.
- Beyer, E.M. (1976). A potent inhibitor of ethylene action in plants. *Plant Physiology*, 58(3): 268-271.
- Douglas, G.C., Rutledge, C.B., Casey, A.D. and Richardson, D.H.S. (1989). Micropropagation of Floribunda, ground cover and miniature roses. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 19: 55-64.
- Driver, J.A. and Suttle, G.R. (1987). Nursery handling of propagules. *Cell and Tissue Culture in Forestry*, p. 320-335.
- Jala, A. (2014). Role of 2,4-D on callus induction and shoot formation to increase number of shoot in miniature rose *in vitro*. *American Transaction on Engineering and Applied Sciences*, 3(3): 207-213.
- Kantamaht, K., Nonlapan, P., Kamnoon, K. (2009) *In vitro* flowering from cultured nodal explants of rose (*Rosa hybrida* L.). *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*, 37(2): 261 - 263.

- Murashige T. and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 1(3): 473-497.
- Lau, O. and Yang, S. (1976). Inhibition of ethylene production by cobaltous ion. *Plant Physiology*, 58: 114-117
- Naphaporn, N.U., Kantamaht, K. and Kamnoon, K. (2009). Micropropagation from cultured nodal explants of rose (*Rosa hybrida* L. cv. 'Perfume Delight'). *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 31(6): 583-586.
- Sharma A., Kumar V., Parvatam, G. and Ravishankar, G. (2008). Induction of *in vitro* flowering in *Capsicum frutescens* under the influence of silver nitrate and cobalt chloride and pollen transformation. *Electronic Journal of Biotechnology*, 11(2): 1-6.
- Vu, N.H., Anh, P.H. and 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. and Hong, Y. (2002). *In vitro* flower induction in Rose. *In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 38(5): 513-518.
- Zhao, X.C., Qu, X., Mathewa, D.E. and Schaller, G.E. (2002). Effect of ethylene-pathway mutations upon expression of the ethylene receptor ETR1 from *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 130(4): 1983-1991.