

# KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA CHẤT ĐIỀU HÒA TĂNG TRƯỞNG THỰC VẬT VÀ MÔI TRƯỜNG NUÔI CÂY ĐẾN KHẢ NĂNG TẠO RỄ CÀ RỐT TRONG NUÔI CÂY IN VITRO

Lê Thị Thúy, Trịnh Mộng Nhi, Phạm Văn Lộc

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh

## TÓM TẮT

Lá mầm và rễ cà rốt được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng thực vật ở nồng độ 0,5 mg/l để khảo sát khả năng tạo rễ. Trong các chất được bổ sung, IBA thích hợp nhất cho phát sinh rễ bất định và rễ thứ cấp. Khi khảo sát ảnh hưởng của nồng độ IBA và môi trường lên hình thành rễ *in vitro* cho thấy môi trường SH bổ sung IBA 1,0 mg/l cho số lượng rễ bất định từ lá mầm cao nhất. Trong khi đó, rễ thứ cấp phát sinh từ rễ *in vitro* cho kết quả cao nhất trên môi trường SH bổ sung IBA 1,5 mg/l.

**Từ khoá:** auxin, cà rốt, rễ bất định, rễ thứ cấp

\*

## 1. GIỚI THIỆU

Cà rốt (*Daucus carota* L.) là loại thực phẩm giàu dinh dưỡng. Cà rốt còn được sử dụng để điều trị các vấn đề bệnh đến tiêu hóa, ký sinh trùng đường ruột, viêm amidan, chống oxy hóa và thiếu máu (Pant và Manandhar, 2007).

Cà rốt chứa hàm lượng carotenoid cao nhất trong các loại thực phẩm. Theo Olson (1989), carotenoid nổi bật nhất trong cà rốt là  $\beta$ -caroten và  $\alpha$ -caroten vì chúng có thể chuyển hóa thành vitamin A, loại vitamin thường thiếu hụt trong khẩu phần của người dân vùng nhiệt đới. Mặc dù cà rốt ở Việt Nam không khan hiếm nhưng các chế phẩm từ cà rốt được sản xuất rất ít và chưa được quan tâm đúng mức. Bên cạnh đó, việc tách chiết các hợp chất hóa học trực tiếp từ củ cà rốt được trồng ở bên ngoài còn nhiều hạn chế, phụ thuộc nhiều vào yếu tố môi trường. Trong các nghiên cứu trước đây về cà rốt, chỉ

có một vài nghiên cứu cơ bản về nuôi cấy huyền phù tế bào cà rốt như nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ sucrose lên tăng sinh khối và sinh tổng hợp carotenoid của Yun và cộng sự (1990). Ở Việt Nam tài liệu nghiên cứu về cà rốt còn rất ít đặc biệt những nghiên cứu về nuôi cấy tế bào *in vitro*.

Việc nghiên cứu thu nhận sinh khối rễ cà rốt bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* có khả năng tổng hợp carotenoid là cần thiết và hứa hẹn đem lại hiệu quả kinh tế cao. Trong bài báo này chúng tôi sẽ giới thiệu một số kết quả nghiên cứu về sự ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng tạo rễ cà rốt *Daucus carota* L. nuôi cấy *in vitro*.

## 2. VẬT LIỆU – PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Vật liệu

Hạt cà rốt được khử trùng bằng cồn 70% trong 1 phút 30 giây và javel 30% trong 9 phút, sau đó cấy trên môi trường MS

(Murashige và Skoog, 1962). Sau hai tuần lá mầm cà rốt được sử dụng làm vật liệu cảm ứng tạo rễ bất định, rễ mầm được sử dụng làm vật liệu cảm ứng sự phát sinh rễ thứ cấp.

## 2.2. Phương pháp

– Khảo sát ảnh hưởng của các loại auxin lên khả năng hình thành rễ bất định của lá mầm và sự phát sinh rễ thứ cấp từ rễ mầm cà rốt. Lá mầm (3x10 mm) và rễ mầm (1cm) được cấy vào môi trường MS có bổ sung các loại auxin khác nhau ở nồng độ 0,5 mg/l. Khảo sát sự hình thành và tăng trưởng của rễ sau 3 tuần nuôi cấy. Đối chứng là môi trường MS không bổ sung chất điều hòa tăng trưởng thực vật.

– Khảo sát ảnh hưởng nồng độ IBA đến khả năng tạo rễ cà rốt trên các loại môi trường. Lá mầm (3x10 mm) và rễ mầm (1 cm) được cấy vào các môi trường MS, SH, B5 có bổ sung IBA với các nồng độ 0; 0,1; 0,5; 1; 1,5 và 2 mg/l. Mẫu cấy được nuôi trong tối ở nhiệt độ  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , ẩm độ 70  $\pm$  2%. Khảo sát sự hình thành và tăng trưởng của rễ sau 3 tuần nuôi cấy.

– Điều kiện thí nghiệm: Môi trường sử dụng trong các thí nghiệm là môi trường MS, SH, B5, pH môi trường được điều chỉnh = 5,8 trước khi hấp khử trùng. Khử trùng ở  $121^{\circ}\text{C}$ , 1atm trong 20 phút. Thời gian chiếu sáng 16 giờ/ngày, nhiệt độ:  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , độ ẩm trung bình: 75 – 80%, cường độ chiếu sáng: 2500-3000 lux. Thí nghiệm được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học thực vật, Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh.

– Xử lý số liệu: Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD). Các số liệu thí nghiệm được phân tích thống kê bằng phần mềm Statgraphics centurion XV.I, sử dụng trắc nghiệm đa biến độ Duncan với độ tin cậy 95%.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Khảo sát ảnh hưởng của các loại auxin lên khả năng tạo rễ bất định cà rốt in vitro

Sau 3 tuần nuôi cấy ảnh hưởng của loại auxin lên khả năng tạo rễ cà rốt từ mẫu lá mầm được thể hiện trong bảng 1.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của các loại auxin lên sự hình thành rễ bất định cà rốt in vitro

DHSTTV (mg/l)	Tỉ lệ mẫu tạo rễ(%)	Số lượng rễ / mẫu	Chiều dài rễ (mm)	Hình thái rễ
Đối chứng	6,70 <sup>a</sup>	0,13 <sup>a</sup>	5,00 <sup>a</sup>	Rễ ngắn
IAA	33,30 <sup>b</sup>	4,00 <sup>b</sup>	19,20 <sup>b</sup>	Rễ dài, sẹo nhỏ
2,4-D	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	Tạo sẹo
IBA	100,0 <sup>c</sup>	8,47 <sup>c</sup>	37,80 <sup>c</sup>	Rễ dài, sẹo nhỏ
NAA	13,30 <sup>a</sup>	0,47 <sup>a</sup>	9,30 <sup>a</sup>	Tạo sẹo nhỏ

\*Các mẫu tự khác nhau biểu diễn mức độ sai biệt có ý nghĩa (theo cột) ở độ tin cậy 95%.

Kết quả trên cho thấy trên môi trường bổ sung IBA cho tỉ lệ mẫu cấy tạo rễ 100%, số lượng rễ trung bình trên mẫu là 8,47 và chiều dài rễ cao nhất là 37,83 mm. Trên môi trường bổ sung 2,4-D không hình thành rễ mà chỉ cảm ứng tạo sẹo. NAA cho thấy không thích hợp cho tạo rễ cà rốt, rễ có hiện tượng hóa nâu do tiết hợp chất polyphenol và chết sau

23 ngày nuôi cấy. Đối với môi trường không bổ sung chất điều hòa tăng trưởng mẫu cũng có hiện tượng tạo rễ nhưng rất ít, do hàm lượng auxin nội sinh còn lại trong mẫu kích thích tạo rễ.

Hầu hết, thực vật cần có auxin để cảm ứng sự ra rễ (Nguyễn Đức Lượng và Lê Thị Thủy Tiên, 2006). Theo Marks và Simpson

(20000) ở môi trường cảm ứng tạo rễ *in vitro* các loại cây thân gỗ, việc sử dụng auxin ngoại sinh đã làm gia tăng tỉ lệ tái sinh rễ và chiều dài rễ. Các loài thực vật khác nhau có đáp ứng với các loại auxin khác nhau.

Kết quả thí nghiệm đã chứng tỏ IBA thích hợp cho nuôi cấy tạo rễ bất định cà rốt. IBA cũng được chứng minh là auxin hiệu quả cho việc hình thành rễ trên nhiều đối tượng khác như: *Panax ginseng* (Nguyễn Thị

Liễu và cộng sự, 2011), *Chry-santhemum* sp (Văn Hoàng Long và cộng sự, 2007).

### 3.2 Khảo sát ảnh hưởng của các auxin lên khả năng tạo rễ thứ cấp từ rễ mầm cà rốt *in vitro*

Sau 3 tuần nuôi cấy ảnh hưởng của loại auxin lên khả năng tạo rễ thứ cấp từ rễ mầm được thể hiện trong bảng 2.

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của các loại auxin lên sự hình thành rễ thứ cấp cà rốt *in vitro* sau 3 tuần nuôi cấy

CĐHTTTV (mg/l)	Tỉ lệ mẫu tạo rễ (%)	Số lượng rễ/ mẫu	Chiều dài rễ (mm)	Hình thái rễ
Đối chứng	66,70 <sup>b</sup>	2,53 <sup>b</sup>	13,50 <sup>bc</sup>	Rễ mảnh
IAA	86,70 <sup>c</sup>	4,87 <sup>c</sup>	15,50 <sup>c</sup>	Rễ ngắn, tạo sẹo
2,4-D	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	Tạo sẹo
IBA	100,00 <sup>d</sup>	7,30 <sup>d</sup>	32,80 <sup>d</sup>	Rễ dài
NAA	80,00 <sup>c</sup>	4,73 <sup>c</sup>	11,20 <sup>b</sup>	Rễ ngắn, tạo sẹo

\*Các mẫu tự khác nhau biểu diễn mức độ sai biệt có ý nghĩa (theo cột) ở độ tin cậy 95%.

Kết quả trên cho thấy trên môi trường bổ sung IBA 100% mẫu cây tạo rễ, cho số lượng rễ trung bình trên mẫu (7,27) và chiều dài rễ cao nhất (32,8). Các mẫu cây trên môi trường bổ sung 2,4-D chỉ cảm ứng tạo sẹo không hình thành rễ. Việc hình thành rễ trên môi trường bổ sung các auxin khác như IAA và NAA không có sự khác biệt về mặt thống kê, đều cảm ứng sự hình thành rễ. Tuy nhiên, trên hai môi trường này rễ nhỏ và ngắn hơn. Trên môi trường không bổ sung chất điều hòa tăng trưởng thực vật cũng cảm ứng tạo rễ, nhưng số lượng rễ rất ít và nhỏ.

Những loại auxin được sử dụng rộng rãi cho việc hình thành rễ là IBA, NAA và IAA. IBA được dùng để cảm ứng tạo rễ; IAA, NAA và những chất tổng hợp hóa học khác hoạt động tương tự như chất điều hòa sinh trưởng (Tiberiapop và cộng sự, 2001). Trong thí nghiệm này, IBA là loại auxin thích hợp cho việc nuôi cấy tạo rễ thứ cấp từ rễ mầm cà rốt.

Sự hình thành rễ phụ thuộc vào kiểu gen, loại, nồng độ chất điều hòa sinh trưởng (Tiberiapop, 2011), mô, cơ quan, tuổi và giai đoạn phát triển của cây (Võ Thị Bạch Mai, 2004). Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy có sự khác nhau về loại và nồng độ chất điều hòa sinh trưởng cho sự hình thành và tăng trưởng của rễ bất định từ lá mầm và rễ thứ cấp từ rễ mầm cà rốt. Số lượng rễ và chiều dài rễ thứ cấp cho kết quả không cao bằng rễ bất định. Điều này chứng tỏ trong quá trình phát sinh cơ quan những tế bào có nguồn gốc khác nhau sẽ có trạng thái sinh lý, sinh hóa khác nhau (Torres, 1989).

### 3.3 Ảnh hưởng của nồng độ IBA và môi trường nuôi cấy đến khả năng tạo rễ bất định cà rốt.

Sau 3 tuần nuôi cấy ảnh hưởng của loại nồng độ IBA và môi trường lên khả năng tạo rễ bất định từ lá mầm được thể hiện trong bảng 3.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của nồng độ IBA và môi trường nuôi cấy đến số lượng rễ bất định cà rốt

IBA (mg/l)	Môi trường		
	MS	SH	B5
0,0	0,46 <sup>a</sup>	0,67 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>
0,1	5,80 <sup>b</sup>	3,87 <sup>b</sup>	1,13 <sup>a</sup>
0,5	8,60 <sup>c</sup>	6,60 <sup>c</sup>	3,40 <sup>b</sup>
1,0	9,27 <sup>d</sup>	17,60 <sup>e</sup>	6,00 <sup>c</sup>
1,5	11,73 <sup>e</sup>	9,73 <sup>d</sup>	16,13 <sup>e</sup>
2,0	9,33 <sup>d</sup>	8,40 <sup>d</sup>	10,47 <sup>d</sup>

\*Các mẫu tự khác nhau biểu diễn mức độ sai biệt có ý nghĩa (theo cột) ở độ tin cậy 95%.

Kết quả cho thấy mẫu nuôi cấy trên môi trường có bổ sung IBA đều cảm ứng tạo rễ nhanh sau 5 – 6 ngày. Số lượng rễ tăng theo hàm lượng IBA, tuy nhiên khi IBA càng cao thì số lượng rễ càng giảm xuống. Môi trường SH có hiệu quả nhất trong việc tạo rễ bất định cà rốt. Trên môi

trường SH bổ sung IBA ở các nồng độ khác nhau đều cho rễ to, dài, trắng và khỏe hơn so với các môi trường khác ở cùng nồng độ (hình 1). Môi trường SH bổ sung IBA 1,0 mg/l cho số lượng rễ bất định hình thành và phát triển cao nhất là 17,6 rễ/mẫu cấy.



**Hình 1:** Rễ cà rốt phát triển từ lá trên môi trường SH bổ sung IBA ở các nồng độ khác nhau sau 3 tuần nuôi cấy: a) 0,0 mg/l; b) 0,1 mg/l; c) 0,5 mg/l; d) 1,0 mg/l; e) 1,5 mg/l; f) 2,0 mg/l

### 3.4. Ảnh hưởng của nồng độ IBA và môi trường nuôi cấy đến khả năng tạo rễ thứ cấp cà rốt

Sau ba tuần nuôi cấy ảnh hưởng của loại nồng độ IBA và môi trường lên khả năng tạo rễ thứ cấp từ rễ *in vitro* cà rốt được thể hiện trong bảng 4.

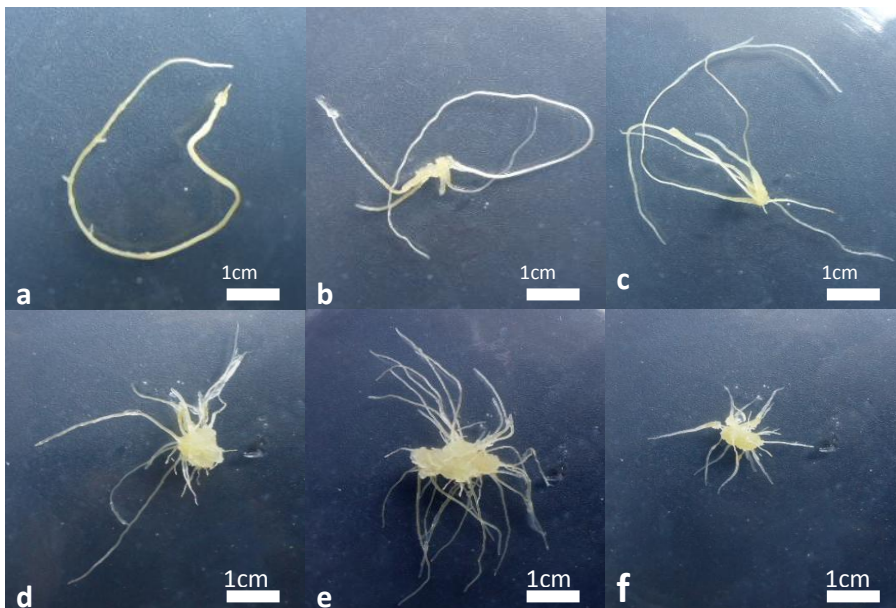
**Bảng 4:** Ảnh hưởng của nồng độ IBA và môi trường nuôi cấy đến số lượng rễ thứ cấp cà rốt

IBA (mg/l)	Môi trường		
	MS	SH	B5
0	2,67 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	0,33 <sup>a</sup>
0,1	5,33 <sup>b</sup>	5,07 <sup>b</sup>	1,67 <sup>ab</sup>
0,5	7,27 <sup>c</sup>	5,93 <sup>b</sup>	2,93 <sup>bc</sup>
1	8,00 <sup>d</sup>	8,87 <sup>c</sup>	9,87 <sup>d</sup>
1,5	10,33 <sup>e</sup>	16,47 <sup>c</sup>	4,13 <sup>bc</sup>
2	8,33 <sup>d</sup>	4,53 <sup>b</sup>	4,40 <sup>c</sup>

\*Các mẫu tự khác nhau biểu diễn mức độ sai biệt có ý nghĩa (theo cột) ở độ tin cậy 95%.

Kết quả cho thấy: các mẫu cấy đều cảm ứng hình thành rễ sau 5 – 6 ngày nuôi cấy. Ở nghiệm thức đối chứng rễ vẫn được hình thành và kéo dài, tuy nhiên số lượng rất ít, chỉ kéo dài phần mẫu cấy. Môi trường SH bổ sung IBA 1,5 mg/l cho số lượng rễ cao nhất (16,47). Các rễ tạo ra trên môi trường SH mảnh, nhiều và có màu trắng. Các mẫu rễ tiếp tục tăng trưởng và kéo dài sau 3 tuần

nuôi cấy. Môi trường B5 cho kết quả tạo rễ thứ cấp thấp hơn so với môi trường MS và SH, số lượng rễ thấp và chiều dài rễ ngắn. Các mẫu cấy cảm ứng tạo rễ sau 7 – 8 ngày và phát triển ở các ngày sau đó. Trên môi trường B5 cho rễ có màu nâu, ngắn và dễ chết. Như vậy, môi trường SH là môi trường thích hợp cho việc hình thành rễ bất định và rễ thứ cấp của cây mầm cà rốt.



**Hình 2.** Rễ thứ cấp cà rốt phát triển từ rễ trên môi trường SH bổ sung IBA ở các nồng độ khác nhau sau 3 tuần nuôi cấy: a) 0,0 mg/l; b) 0,1 mg/l; c) 0,5 mg/l; d) 1,0 mg/l; e) 1,5 mg/l; f) 2,0 mg/l

Môi trường sử dụng trong các thí nghiệm là môi trường MS, SH và B5, đây là những môi trường được sử dụng phổ biến nhất cho nhiều đối tượng khác nhau (Nguyễn Thị Liễu và cộng sự, 2010). Các môi trường trên chứa hầu hết các chất dinh dưỡng cần thiết, chủ

yếu là khoáng cho sự sinh trưởng của rễ, tuy nhiên, hàm lượng khoáng trong các môi trường khác nhau. Sự phát triển của rễ giảm đáng kể khi N, P, K bị loại bỏ khỏi môi trường nuôi cấy. Egh-ball và cộng sự (1993) cho rằng môi trường thiếu N đã làm giảm

phân nhánh ở rễ ngô, N tăng đã làm tăng chiều dài rễ và khối lượng rễ của cây ngô. Baligar và cộng sự (1998) công bố rằng trọng lượng khô của rễ cây lúa, cây đậu phộng và cây đậu tương đều giảm khi phân bón thiếu N, P là một chất dinh dưỡng thiết yếu đối với sự phát triển của rễ. Môi trường SH là môi trường chứa thành phần chất dinh dưỡng phù hợp cho sự sinh trưởng của rễ cà rốt.

#### 4. KẾT LUẬN

IBA có vai trò quan trọng trong việc cảm ứng sự hình thành rễ bất định từ từ diệp và sự phát sinh rễ thứ cấp từ rễ mầm cà rốt. Môi trường SH bổ sung IBA 1,0 mg/l cho số lượng rễ bất định hình thành và phát triển cao nhất. Số lượng rễ thứ cấp hình thành và phát triển cao nhất trên môi trường SH bổ sung IBA 1,5 mg/l.

### EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS AND MEDIA ON THE FORMATION OF CARROT ROOTS *IN VITRO*

Le Thi Thuy, Trinh Mong Nhi, Pham Van Loc

*Ho Chi Minh City University of Food Industry*

#### ABSTRACT

*This study aims to observe the ability of root regeneration from cotyledons of carrot and roots on MS medium supplemented with various plant growth regulators in concentration of 0,5mg/l. Within the supplements, IBA was suitable for the induction and proliferation of adventitious roots and secondary roots. The results also indicated that SH medium with IBA 1,0 mg/l concentration represented the highest number of adventitious roots isolating from cotyledons when examining the effects of IBA concentration and media on in vitro roots formation process. Meanwhile, secondary roots the deriving from in vitro roots had shown the most effective result on SH medium combined with 1,5 mg/l IBA.*

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Eghball B., Settimi J. R., Maranville J. W., and Parkhurst A. M. (1993), *Fractal analysis formorphological description of corn roots under nitrogen stress*, Agron. J. 85, 287–289.
- [2] Marks T.R., Simpson S.E. (2000), *Interaction of explant type and indole-3-butyric acid during rooting in vitro in a range of difficult and easy to root woody plants*, Plant Cell Tiss. Org. Cult., 62: 65–74.
- [3] Nguyễn Thị Liễu, Nguyễn Trung Thành, Nguyễn Văn Kết (2011), *Nghiên cứu khả năng tạo rễ bất định của sâm Ngọc Linh (Panax vietnamensis Ha et Grushv.) trong nghiên cứu in vitro*, Tạp chí Khoa học – Đại học Quốc gia Hà Nội, 27:30-36.
- [4] Nguyễn Đức Lượng, Lê Thị Thủy Tiên, *Công nghệ tế bào*, NXB Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 2006.
- [5] James Allen Olson (1989), *Provitamin A Function of Carotenoids: The Conversion of beta-Carotene into Vitamin A*, J Nutri, 119: 105-108.
- [6] Jeong Won Yun, Ji Hyeon Kim, Young Je Yoo (1990), *Optimizations of carotenoid biosynthesis by controlling sucrose concentration*, Biotechnology Letters, p. 905 - 910
- [7] Pant B., Manandhar S. (2007), *In vitro propagation of carrot (Daucus Carota) L*, Scientific World, 5:51-53.
- [8] Torres K. C. (1989), *Tissue culture technique for horticultural crops*, Chapman and Hall, New York-London, America, p. 284
- [9] Tiberiapop, Doru Pamfil, Catherine Bellin (2001), *Auxin Control in the Formation of Adventitious Roots*, Not. Bot. Hor.t Agrobot. Cluj., 39(1):307-316.
- [10] Văn Hoàng Long, Bùi Văn Thế Vinh, Dương Tấn Nhựt (2007), *Giá thể nylon trong ra rễ cây hoa cúc (Chrysanthemum sp.) – Tuyển tập Hội nghị Khoa học Công nghệ sinh học trong nhân giống và chọn tạo giống hoa*, NXB Nông nghiệp.
- [11] Võ Thị Bạch Mai, *Sự phát triển chồi và rễ*, NXB Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 2004.