

Nghiên cứu nhân nhanh *in vitro* cây hoa hồng đổi màu (*Rosa asagumo*)

Bùi Thị Thu Hương, Đồng Huy Giới*

Học viện Nông nghiệp Việt Nam

In vitro micropropagation of changeable color rose (*Rosa asagumo*)

Bui Thi Thu Huong, Dong Huy Gioi*

Vietnam National University of Agriculture

*Corresponding author: dhgioi@vnua.edu.vn

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.12.4.2023.028-035>

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đã tiến hành đánh giá khả năng tạo mẫu sạch *in vitro* cây hoa hồng đổi màu (*Rosa asagumo*) và đánh giá ảnh hưởng của các chất điều tiết sinh trưởng như BAP, Kinetin, α -NAA đến khả năng nhân nhanh *in vitro* cây hoa hồng đổi màu. Kết quả thu được cho thấy: (i) 80% các đoạn thân mang mắt ngủ sống sạch khi được khử trùng lần lượt với Javel 5% trong 10 phút, Johnson 2,5% trong 10 phút và $HgCl_2$ 0,1% trong 2 phút; (ii) Hơn 90% đoạn thân mang mắt ngủ hoa hồng đổi màu tái sinh chồi *in vitro* khi nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP và 1,0 mg/l Kinetin với hệ số tái sinh là 2,71 lần; (iii) Môi trường nhân nhanh chồi hoa hồng đổi màu *in vitro* thích hợp nhất là môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP, 1,0 mg/l Kinetin với hệ số nhân chồi là 2,79 lần; (iv) Chồi *in vitro* hoa hồng đổi màu nuôi trên môi trường $\frac{1}{4}$ MS cho tỉ lệ ra rễ đạt 96,64%, số rễ trung bình đạt 3,1 rễ/chồi, rễ mập, chiều dài trung bình là 2,91 cm.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 20/04/2023

Ngày phân biện: 23/05/2023

Ngày quyết định đăng: 20/06/2023

Từ khóa:

Hoa hồng đổi màu, *in vitro*, kinetin, nuôi cấy mô.

Keywords:

changeable color rose, *in vitro*, kinetin, tissue culture.

ABSTRACT

The project aims to improve the quality of the changeable color rose plantlets by studying the effects of plant growth regulators such as BAP, Kinetin, and NAA on its tissue culture. The results showed that i) 80% of the stem segments survived and were clean when being disinfected with Javel 5% for 10 minutes, then Johnson 2.5% for 10 minutes, and $HgCl_2$ 0.1% for 2 minutes. ii) The most optimal solution for shoot regeneration of the rose stem segments was the MS medium added 1.5 mg. L^{-1} BAP and 0.5 mg. L^{-1} Kinetin which resulted in a regeneration rate of over 90% and a regeneration coefficient was 2.71; iii) the MS medium supplemented with 1.5 mg. L^{-1} BAP and 1.0 mg. L^{-1} Kinetin was the most suitable for multiplying the shoots with a coefficient of 2.79; iv) and the ideal medium for rooting of the shoots was $\frac{1}{4}$ MS which stimulated 96.64% of samples rooting with 3.1 roots per shoot and an average of 2.19 cm in length.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa hồng (*Rosa* spp.) là một loài hoa đẹp được trồng phổ biến ở nhiều quốc gia trên thế giới. Nó được trồng với nhiều mục đích khác nhau như trang trí làm đẹp cho không gian sống, làm mỹ phẩm và thuốc chữa bệnh, đồng thời mang lại giá trị kinh tế cao. Hoa hồng đổi màu là giống hoa hồng nhập ngoại có nguồn gốc từ Mỹ, đặc điểm nổi bật của giống hoa này là màu sắc cánh hoa thay đổi theo thời gian từ khi hoa nở đến khi hoa tàn, tạo nên sự hấp dẫn đặc biệt đối với người chơi hoa. Do là giống nhập ngoại nên giá cây giống hoa hồng đổi màu tương đối

cao. Để giúp giảm giá thành và chủ động nguồn cây giống, người trồng hoa cũng đã tiến hành nhân giống hoa hồng đổi màu bằng các biện pháp truyền thống như giâm cành, ghép... Tuy nhiên, các biện pháp nhân giống này cho hệ số nhân thấp, cây giống được tạo ra có tỉ lệ nhiễm bệnh cao.

Phương pháp nhân giống *in vitro* đã được áp dụng thành công trên nhiều đối tượng cây trồng khác nhau, ưu điểm của phương pháp này là có thể tiến hành quanh năm, tạo ra lượng cây giống lớn trong một thời gian ngắn, cây giống đồng đều, sạch bệnh. Đã có nhiều nghiên cứu về nhân

giống *in vitro* cây hoa hồng ở Việt Nam và trên thế giới [1]. Các nghiên cứu đã đạt được một số kết quả khả quan với một số giống hoa hồng khác nhau như là hoa hồng com [2], hồng cô Sapa [3] và các giống hoa hồng khác [4 - 8]. Tuy nhiên, với giống hoa hồng đổi màu thì cho đến nay chưa có nghiên cứu nhân giống *in vitro* nào được thực hiện. Chính vì vậy, nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố đến nhân giống *in vitro* cây hoa hồng đổi màu hướng tới mục tiêu tạo ra lượng lớn cây giống đảm bảo chất lượng phục vụ cho nhu cầu của người trồng hoa.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu: Giống hoa hồng đổi màu được trồng tại khu thí nghiệm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam (Hình 1).



Hình 1. Hoa hồng đổi màu (*Rosa asagumo*)

2.2. Điều kiện thí nghiệm: Các thí nghiệm trong phòng được bố trí trong điều kiện chiếu sáng 16h/ngày, cường độ 2000 lux ở nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm 70 - 80%. Môi trường trước khi sử dụng để nuôi cấy được hấp khử trùng ở 121°C , 1 atm trong 20 phút, 7 g/l agar, 30 g/l sucrose, pH = 5,8.

2.3. Tạo vật liệu khởi đầu *in vitro*: Các bước tiến hành được thực hiện dựa theo phương pháp của Attia & cs., (2012) [9] có cải tiến. Cụ thể, các đoạn thân mang mắt ngủ được rửa sạch dưới vòi nước chảy cho sạch bụi đất, sau đó ngâm trong nước xà phòng loãng 10-15 phút, rửa lại bằng nước sạch cho hết xà phòng. Mẫu được đưa vào tủ cấy và khử trùng bằng cồn 70 độ trong 1 phút, rửa lại bằng nước cất vô trùng 2-3 lần. Các mẫu này tiếp tục được lắc lần lượt trong các dung dịch Javel 5%, Johnson 2,5%, và HgCl_2 0,1% theo các công thức như sau: CT1- Javel 5% trong 3 phút, Johnson 2,5% trong 10 phút; CT2- Javel 5% trong 3 phút, Johnson

2,5% trong 10 phút, HgCl_2 0,1% 2 phút; CT3- Javel 5% trong 10 phút, Johnson 2,5% trong 10 phút; CT4- Javel 5% trong 10 phút, Johnson 2,5% trong 10 phút, HgCl_2 0,1% 2 phút. Các mẫu được nuôi cấy trên môi trường MS và theo dõi các chỉ tiêu tỉ lệ mẫu sạch, tỉ lệ mẫu sống sạch sau 1 tuần nuôi cấy.

2.3. Nghiên cứu tái sinh chồi *in vitro*

**Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP đến sự tái sinh chồi của đoạn thân mang mắt ngủ:* Thí nghiệm được bố trí dựa theo mô tả trong nghiên cứu của Asad & cs., (2009) [10]. Theo đó, các đoạn thân mang mắt ngủ được nuôi cấy trên môi trường bổ sung BAP với các nồng độ khác nhau (0; 0,5; 1; 1,5; và 2 mg/l). Sau 2 tuần nuôi cấy, theo dõi các chỉ tiêu tỉ lệ tái sinh chồi (%), hệ số tạo chồi, số lá/chồi, và chiều cao trung bình của chồi (cm).

**Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP và Kinitin đến sự tái sinh chồi của đoạn thân mang mắt ngủ:* Theo công bố của Kshirsagar & cs., (2014) [11], khi bổ sung kết hợp BAP và 0,5 mg/l Kinetin có thể kích thích sự tái sinh chồi ở các đoạn thân mang mắt ngủ của hoa hồng. Chính vì vậy, các đoạn thân mang mắt ngủ hoa hồng đổi màu được nuôi cấy trên môi trường bổ sung BAP với nồng độ tốt nhất của thí nghiệm trên và kết hợp Kinetin với nồng độ khác nhau (0; 0,5; 1; và 1,5 mg/l). Sau 2 tuần, theo dõi các chỉ tiêu như tỉ lệ tái sinh chồi, hệ số nhân chồi, số lá/chồi và chiều cao trung bình của chồi.

2.4. Nghiên cứu nhân nhanh chồi và ra rễ tạo cây hoàn chỉnh:

** Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP, α -NAA, và kinetin đến khả năng nhân nhanh của chồi *in vitro*:*

Theo một số công bố BAP có kết hợp α -NAA (một khoảng lượng nhỏ khoảng 0,005-0,05 mg/l) [2, 12] vào môi trường nuôi cấy có khả năng kích thích chồi hoa hồng nhân lên với hệ số nhân cao, chồi sinh trưởng, phát triển tốt. Chính vì vậy, trong thí nghiệm này, các chồi hoa hồng đổi màu tái sinh từ đoạn thân được nuôi cấy trên môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962) [13] có 0,05 mg/l α -NAA kết hợp với

BAP (0; 1; 2 hoặc 3 mg/l).

Ngoài ra, theo công bố của Kshirsagar (2014) [11], khi bổ sung 1,5 mg/l BAP và 0,5 mg/l Kinetin vào môi trường nhân chồi hoa hồng *Rosa hybrida* L. Bionano Frontier có khả năng kích thích nhân chồi với hệ số nhân cao nhất, chồi sinh trưởng, phát triển tốt nhất. Chính vì vậy, các mẫu chồi tái sinh từ đoạn thân được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/l BAP và bổ sung các nồng độ kinetin khác nhau (0; 0,5; 1; 1,5 và 2 mg/l). Sau 2 tuần nuôi cấy, theo dõi các chỉ tiêu hệ số nhân chồi, số lá/chồi và chiều cao trung bình của chồi.

**Ảnh hưởng của hàm lượng khoáng đến khả năng tạo rễ từ chồi in vitro:* Theo nghiên cứu của Kantamaht & cs., (2009) [1], khi sử dụng hàm lượng khoáng thấp của môi trường MS có tác dụng kích thích chồi hoa hồng *Rosa hybrida* L. ra rễ. Chính vì vậy, các chồi *in vitro* hồng đôi màu được nuôi trong môi trường $\frac{1}{6}$ MS; $\frac{1}{4}$ MS; $\frac{1}{2}$ MS. Sau 6 tuần nuôi cấy, đánh giá các chỉ tiêu như tỉ lệ chồi ra rễ; số rễ trung bình/chồi; chiều dài trung bình của rễ.

2.5. Bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu:

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên, mỗi công thức lặp lại 3 lần, mỗi lần 20 hoặc 30

mẫu tùy thí nghiệm. Các số liệu được tính toán bằng phần mềm Excel và xử lý bằng IRRISTAT 5.0. Các công thức so sánh được tiến hành theo phương pháp kiểm tra sự sai khác giữa các giá trị trung bình bằng phép ước lượng và sử dụng tiêu chuẩn LSD (độ tin cậy là 95%). Kiểm tra độ biến động của thí nghiệm được biểu hiện qua chỉ số tiêu chuẩn CV (%).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo vật liệu khởi đầu *in vitro* cây hoa hồng đôi màu

Các đoạn thân mang mắt ngủ sau khi được khử trùng được nuôi cấy trên môi trường MS, kết quả sau 1 tuần nuôi cấy thể hiện tại Bảng 1. Kết quả Bảng 1 cho thấy, công thức khử trùng tốt nhất là CT4 (mẫu được khử trùng 10 phút bằng Javel 5%, sau đó 10 phút bằng Johnson 2,5% và cuối cùng 2 phút trong dung dịch HgCl₂ 0,1%) với tỉ lệ mẫu sạch đạt được là cao nhất với 86,67% và tỉ lệ mẫu sống sạch đạt 80%. Như vậy công thức khử trùng này tạo vật liệu khởi đầu có kết quả tốt hơn nghiên cứu trước về hoa hồng xanh (Green rose) khi tiến hành thí nghiệm khử trùng đoạn thân mang mắt ngủ bằng dung dịch HgCl₂ 0,1% trong 10 phút, cho tỉ lệ mẫu sạch và sống chỉ đạt 68,69% [14].

Bảng 1. Khả năng tạo vật liệu khởi đầu của đoạn thân mang mắt ngủ sau 1 tuần nuôi cấy

Công thức khử trùng	Tỉ lệ mẫu sạch (%)	Tỉ lệ mẫu sống sạch (%)
CT1	33,33	33,33
CT2	50,00	46,67
CT3	61,67	61,67
CT4	86,67	80,00

Ghi chú: CT1 (Javel 5% trong 3 phút, Johnson 2,5% trong 10 phút);

CT2 (Javel 5% trong 3 phút, Johnson 2,5% trong 10 phút, HgCl₂ 0,1% 2 phút);

CT3 (Javel 5% trong 10 phút, Johnson 2,5% trong 10 phút);

CT4 (Javel 5% trong 10 phút, Johnson 2,5% trong 10 phút, HgCl₂ 0,1% 2 phút).

3.2. Tái sinh chồi *in vitro*

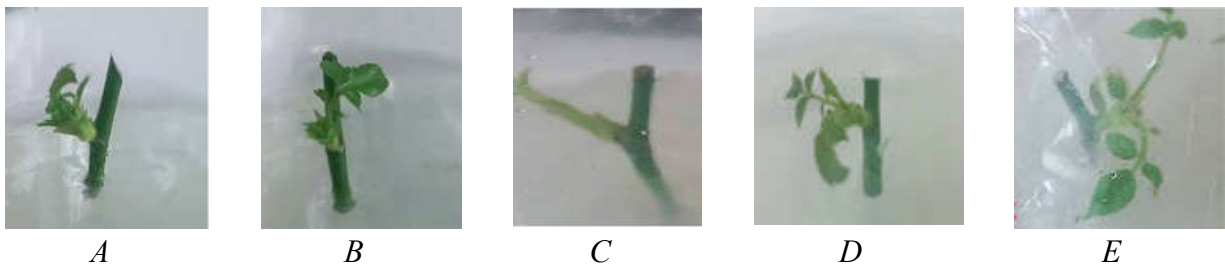
Các đoạn thân mang mắt ngủ sống sạch được nuôi cấy trong môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose, 7 g/l agar kết hợp BAP với nồng độ thay đổi. Sau 2 tuần nuôi cấy, chồi *in vitro* có phản ứng khác nhau với môi trường có nồng độ BAP khác nhau. Kết quả thu được ở Bảng 2, Hình 2. Nồng độ BAP đã gây ra những ảnh hưởng lớn

và khác nhau đến khả năng tái sinh chồi hoa hồng. Ở tất cả các công thức, khi tăng nồng độ BAP, các mẫu đều có tỉ lệ mẫu tạo chồi và hệ số nhân chồi cao hơn công thức đối chứng. Ở công thức CT3 (1,5 mg/l BAP), hệ số nhân chồi đạt là lớn nhất 1,21 và chiều cao chồi đạt cao nhất 2,52 cm. Chiều cao của chồi đạt cao nhất, 3,11 cm ở môi trường có bổ sung 1 mg/l BA.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BAP đến khả năng tái sinh của chồi sau 2 tuần nuôi cấy

Công thức	BAP (mg/l)	Tỉ lệ bật chồi (%)	Hệ số tạo chồi	Chiều cao chồi (cm)	Đặc điểm chồi mới
ĐC	0,0	21,9	0,90 ^d	1,16 ^d	Chồi mập, khỏe, xanh đậm
CT1	0,5	31,7	1,07 ^{bc}	2,12 ^c	Chồi mập, khỏe, xanh đậm
CT2	1,0	40,9	1,15 ^{ab}	3,11^a	Chồi trung bình, dài, xanh nhạt
CT3	1,5	52,7	1,21^a	2,72 ^b	Chồi nhỏ, xanh nhạt, nhiều lá
CT4	2,0	51,6	1,01 ^c	2,68 ^b	Chồi nhỏ, xanh nhạt, nhiều lá
LSD _{0,05}			0,10	0,12	
CV%			4,9	2,9	

Ghi chú: Các chữ cái a, b, c... trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.



Hình 2. Đoạn thân mang mắt ngủ trong môi trường bổ sung BAP với các nồng độ khác nhau
(Ghi chú: A-0 mg/l BAP; B- 0,5 mg/l BAP; C-1 mg/l BAP; D-1,5 mg/l BAP; E-2 mg/l BAP)

Trong nghiên cứu Hameed & cs., (2006) [4] trên đối tượng *Rose indica*, các tác giả cũng đề cập đến ảnh hưởng của BAP đến hệ số nhân, sinh trưởng, phát triển của chồi. Với thí nghiệm này, môi trường MS có 1,5 mg/l BAP thì chồi phát triển tốt nhất và có với hệ số nhân cao nhất 1,21 lần. Công bố của Shabbir & cs., (2009) [10] cho rằng, 94% mẫu hoa hồng *R. indica* bật chồi trong môi trường có 1,5 mg/l BAP. Tuy nhiên, kết quả này khác với công bố của Nguyễn Thị Kim Thanh & cs., (2005) [15] khi họ cho rằng, BAP tác động giai đoạn tạo tái sinh chồi đoạn thân cây hoa hồng đỏ và hoa hồng trắng với nồng độ 1 mg/l và 2 mg/l BA đều cho tỉ lệ bật chồi 100% sau 2 tuần theo dõi.

Tuy nhiên, đoạn thân mang mắt ngủ hoa

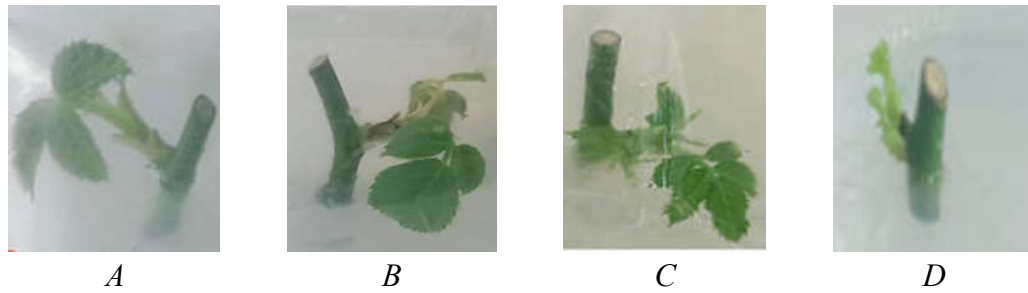
hồng cũng được cho là có thể tái sinh chồi mới khi nuôi cấy trong môi trường có BAP và NAA [5]. Với mẫu hoa hồng đôi màu, khi các đoạn thân được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP và α - NAA, kết quả thể hiện ở Bảng 3, Hình 3.

Kết quả cho thấy, khi tăng nồng độ NAA trong tổ hợp BA và NAA khiến tăng tỉ lệ mẫu tái sinh chồi cũng như hệ số nhân chồi hoa hồng đôi màu, nhưng làm giảm chiều cao chồi. Ở công thức CT2 (1,5 mg/l BAP và 0,5 mg/l NAA) có hệ số nhân chồi cao nhất đạt 82,12% và hệ số nhân chồi là 2,17 chồi, cao hơn so với công thức đối chứng CT0 (1,5 mg/l BAP và 0 mg/l NAA) có tỉ lệ bật chồi là khoảng 60% và hệ số nhân chồi là 1,17.

Bảng 3. Ảnh hưởng của BA và α - NAA đến sự tái sinh chồi sau 2 tuần nuôi cấy

Công thức	BA (mg/l)	α - NAA (mg/l)	Tỉ lệ bật chồi (%)	Hệ số tạo chồi	Chiều cao chồi (cm)	Đặc điểm chồi
CT0	1,5	0,00	60,10	1,17 ^c	3,40^a	Chồi có lá to
CT1	1,5	0,25	68,18	2,10 ^{ab}	3,07^a	Chồi có lá to, hơi xoắn
CT2	1,5	0,50	82,12	2,17^a	2,43 ^b	Chồi có lá to, xanh nhạt
CT3	1,5	0,75	81,29	2,06 ^b	1,18 ^c	Chồi nhỏ, xanh nhạt
LSD _{0,05}				0,09	0,97	
CV%				4,2	1,1	

Ghi chú: Các chữ cái a, b, c... trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.



Hình 3. Chồi phát sinh từ đoạn thân mang mắt ngủ ở môi trường MS có BA và α-NAA

(Ghi chú: A – 1,5 mg/l BA + 0 mg/l α-NAA; B – 1,5 mg/l BA + 0,25 mg/l α-NAA; C – 1,5 mg/l BA + 0,50 mg/l α-NAA; D – 1,5 mg/l BA + 0,75 mg/l α-NAA)

Kết quả này gần tương đương như kết quả thí nghiệm của Nguyễn Thị Phương Thảo & cs., (2015) [2] khi sử dụng môi trường MS có 2 mg/l BA + 0,05 mg/l α-NAA kích thích chồi hồng nhân lên với hệ số nhân cao chồi cao, chồi sinh trưởng, phát triển tốt. Nhóm tác giả đã sử dụng nồng độ này trong giai đoạn tạo vật liệu khởi đầu để nuôi cấy chồi nách *R. hybrida* với tỉ lệ bật chồi cao nhất là 99,78%. Mặt khác, theo công bố của Naphaporn & cs., (2009) [5] khi nghiên cứu nhân nhanh về giống hoa hồng *R. hybrida* cv. ‘Perfume Delight’ lại cho rằng, 100% các mẫu bật chồi trong môi trường 3 mg/l

BA + 0,003 mg/l NAA.

Bên cạnh đó, theo công bố của Kshirsagar (2014) [16], BAP cũng được sử dụng trong giai đoạn tạo vật liệu khởi đầu từ chồi nách trong nghiên cứu nhân nhanh cũng mẫu *R. hybrida* với nồng độ 2 mg/l BAP kết hợp 0,5 mg/l Kinetin cho tỉ lệ bật chồi 86% sau 2 tuần nuôi cấy. Với kết quả khảo sát nuôi cấy tái sinh chồi *in vitro* giống hồng đôi màu, các đoạn thân được nuôi cấy trong môi trường bổ sung 1,5 mg/l BAP và Kinetin với nồng độ từ 0 đến 2 mg/l. Kết quả thể hiện ở Bảng 4, Hình 4.

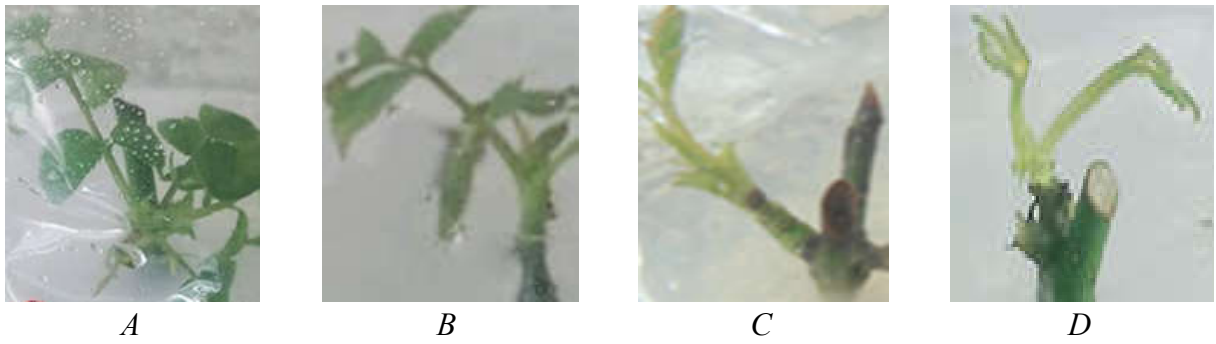
Bảng 4. Ảnh hưởng của BAP và Kinetin đến tái sinh chồi sau 2 tuần nuôi cấy

Công thức	BAP (mg/l)	Ki (mg/l)	Tỉ lệ bật chồi (%)	Chiều cao chồi (cm)	Hệ số tái sinh chồi	Đặc điểm chồi
CT0	1,5	0,0	71,15	3,10 ^c	1,24 ^c	Chồi mập, ngắn, lá to xanh
CT1	1,5	0,5	83,33	3,95 ^c	2,71^a	Chồi mập, dài, lá vừa xanh nhạt
CT2	1,5	1,0	90,49	5,32^a	2,27^a	Chồi trung bình, lá nhỏ xanh nhạt
CT3	1,5	1,5	81,74	5,75^a	2,20^a	Chồi nhỏ, dài; lá nhỏ dài xanh nhạt
LSD _{0,05}				0,98	0,68	
CV%				1,1	3,1	

Ghi chú: Các chữ cái a, b, c... trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Kết quả phân tích thống kê cho thấy, sau 2 tuần nuôi cấy, tổ hợp BAP và Ki có tác động sự tái sinh chồi hồng đôi màu *in vitro*. Các chỉ tiêu ở các công thức bổ sung 1,5 BAP và Ki đều cao hơn đối chứng CT0, đặc biệt tỉ lệ bật chồi cao nhất là ở CT2 (1,5 mg/l BAP + 1 mg/l Kinetin) là 90,49%, trong khi ở công thức đối chứng CT0 là 71,15%. Chiều cao chồi đạt cao nhất ở CT2 và CT3 (khoảng 5,5 cm). Ở công thức CT1,

CT2, và CT3 hệ số nhân đạt được là cao không sai khác nhau có ý nghĩa thống kê (khoảng 2,2 đến 2,7 cm). Kết quả này gần giống công bố của Shabbir & cs., (2009) [10] và Kshirsagar (2014) [11], khi bổ sung 1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l Kinetin vào môi trường nhân nhanh chồi hoa hồng nghiên cứu có khả năng kích thích tạo chồi với hệ số cao nhất, giúp chồi sinh trưởng, phát triển tốt nhất.



Hình 4. Chồi phát sinh từ đoạn thân mang mắt ngủ ở môi trường có BAP và Kinetin
(Ghi chú: A -1,5 mg/l BAP + 0 mg/l Ki; B -1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l Ki; C -1,5 mg/l BAP + 1 mg/l Ki; D -1,5 mg/l BAP + 2 mg/l Ki)

3.3. Nhân nhanh chồi *in vitro*

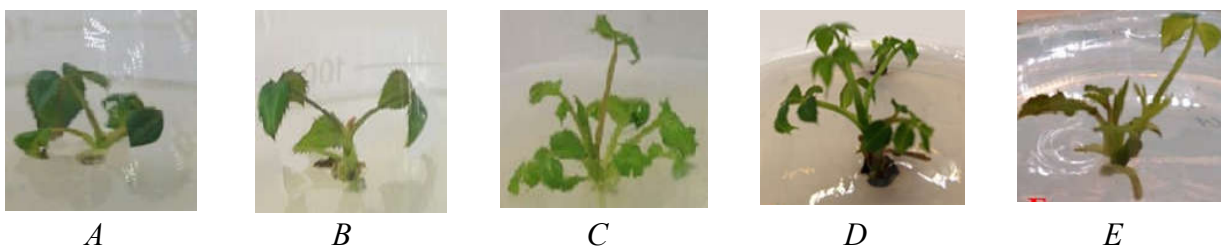
Các chồi *in vitro* được nuôi cấy trong môi trường nền MS + 1,5 mg/l BAP+ 30 g/l sucrose + 7 g/l agar kết hợp Kinetin với nồng độ thay đổi (0; 0,5; 1; 1,5; 2 mg/l). Kết quả cho thấy, chồi *in vitro* có phản ứng khác nhau ở các công thức khác nhau. Kết quả thu được ở Bảng 5, Hình 5. Kết quả Bảng 5 cho thấy, khi thay đổi nồng độ Kinetin đã ảnh hưởng đến hệ số nhân, sinh trưởng và phát triển của chồi hoa hồng đối

màu *in vitro*. Hệ số nhân chồi và chiều cao chồi tăng tỉ lệ thuận khi chồi được nuôi cấy trên môi trường bổ sung 1,5 BAP và tăng nồng độ Kinetin từ 0 đến 2 mg/l. Hệ số nhân chồi cao nhất ở công thức CT2, CT3, CT4 (bổ sung 0,5; 1,5 hoặc 2 mg/l Kinetin), là 2,72 đến 3,11 lần và chiều cao chồi cao nhất (3,39 - 3,52 cm) ở CT2 và CT3 và sai khác có ý nghĩa thống kê so với các công thức còn lại. Ở công thức có nồng độ Kinetin là 1,5 mg/l thì số lá là nhiều nhất 6,73 lá.

Bảng 5. Ảnh hưởng của BAP và Kinetin đến nhân chồi sau 2 tuần nuôi cấy

Công thức	BAP (mg/l)	Ki (mg/l)	Hệ số nhân	Chiều cao chồi (cm)	Số lá (lá)	Đặc điểm chồi mới
CT0	1,5	0,0	1,51 ^c	1,48 ^c	3,49 ^d	Chồi mập; lá to, xanh đậm
CT1	1,5	0,5	2,19 ^b	2,06 ^b	4,23 ^c	Chồi mập; lá to xanh
CT2	1,5	1,0	2,79^a	3,52^a	6,73^a	Chồi nhỏ; lá trung bình, xanh
CT3	1,5	1,5	2,72^a	3,39^a	5,72 ^b	Chồi nhỏ, lá trung bình, xanh
CT4	1,5	2,0	3,11^a	2,23 ^b	4,51 ^c	Chồi nhỏ, lá nhỏ, xanh nhạt
LSD _{0,05}			0,57	0,67	0,40	
CV%			1,80	2,10	4,00	

Ghi chú: Các chữ cái a, b, c... trong cùng một cột thì sai khác có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.



Hình 5. Chồi *in vitro* trong môi trường có BAP và Kinetin sau 2 tuần nuôi cấy
(Ghi chú: A - 1,5 mg/l BAP + 0 mg/l Ki; B - 1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l Ki; C - 1,5 mg/l BAP + 1 mg/l Ki; D - 1,5 mg/l BAP + 1,5 mg/l Ki; E - 1,5 mg/l BAP + 2 mg/l Ki)

Trong nghiên cứu của Hameed & cs., (2006) [4] trên đối tượng *R. indica* cũng đề cập đến ảnh hưởng của Kinetin đến hệ số nhân, sinh trưởng, phát triển của chồi, cụ thể là với nồng độ 0,5 mg/l Kinetin thì chồi phát triển tốt nhất

với hệ số nhân khoảng 2 lần.

3.4. Ra rễ tạo cây hoàn chỉnh in vitro

Các mẫu chồi *in vitro* được nuôi cấy trên môi trường ra rễ với hàm lượng khoáng khác nhau. Kết quả thu được thể hiện ở Bảng 6, Hình 6.

Bảng 6. Khả năng ra rễ của chồi in vitro cây hoa hồng đối màu (sau 6 tuần)

Công thức	Môi trường	Tỉ lệ chồi ra rễ (%)	Số rễ (rễ/chồi)	Chiều dài rễ (cm)	Đặc điểm rễ
CT1	1/6 MS	21,59	0,97 ^c	1,36 ^c	Rễ mảnh, nhỏ nhiều rễ vàng đen
CT2	1/4 MS	96,64	3,10^a	2,91^a	Rễ mập, vàng trắng
CT3	1/2 MS	73,28	2,54 ^b	2,09 ^b	Rễ trung bình, có ít rễ vàng nâu
LSD _{0,05}			0,52	0,13	
CV%			1,0	2,7	

Qua Bảng 6 cho thấy, sau 6 tuần nuôi cấy, sự hình thành rễ của chồi trên các môi trường 1/2 MS và 1/4 MS đạt tỉ lệ cao (73,28 đến 96,64%). Tỉ lệ hình thành rễ cao nhất khi chồi được nuôi trên môi trường 1/4 MS (96,64%), rễ cũng đạt giá trị dài nhất (2,91 cm) và rễ mập, trắng, không phân nhánh, số lượng rễ trung bình trên một chồi cao nhất (3,10 rễ/cây). Đối với công thức 1/6 MS, tỉ lệ hình thành rễ thấp nhất (21,59%) sau 6 tuần, rễ ngắn, không phân nhánh, nhiều rễ bị thối nhũn, thâm đen. Đối với công thức 1/2 MS, tỉ lệ hình thành rễ khá cao (73,28%) sau 6 tuần, chồi phát triển khá tốt, có sự tăng lên về chiều cao cây, các rễ ra phát triển kéo dài tuy nhiên rễ mảnh, đen và yếu.

Trong nghiên cứu của nhiều nhà khoa học như Naphaporn và cộng sự (2009) [5] có tỉ lệ hình thành rễ trong môi trường 1/4 MS là 70,05%. Theo [17], để tạo rễ hoa hồng *Rosa indica* đã sử dụng 0,6 mg/l IBA hoặc 0,1 mg/l NAA sau khoảng thời gian 12 tuần thì tỉ lệ chồi ra rễ đạt 50%. Sự hình thành rễ của chồi hoa hồng còn được thử nghiệm với 2 mg/l IBA kết hợp với 2 mg/l α -NAA trong nghiên cứu của Nguyễn Thị Kim Thanh (2005) [15] sử dụng để kích thích chồi ra rễ, cho hiệu quả trên 60%. Tuy nhiên, với hoa hồng đối màu, với lượng khoáng sử dụng là 1/4 MS đã cho hiệu quả ra rễ cao với tỉ lệ mẫu ra rễ gần 100%, rễ dài, mập, khỏe.



Hình 6. Rễ của chồi in vitro trong môi trường có lượng khoáng khác nhau (sau 6 tuần nuôi cấy)

(Ghi chú: A-1/6 MS; B-1/4 MS; C-1/2 MS)

4. KẾT LUẬN

Các đoạn thân mang mắt ngủ hoa hồng đối màu được khử trùng lần lượt với Javel 5% trong 10 phút, Johnson 2,5% trong 10 phút và HgCl₂ 0,1% trong 2 phút cho tỉ lệ mẫu sạch và mẫu sống sạch đạt cao nhất lần lượt là 86,67% và 80%.

Môi trường thích hợp nhất để tái sinh chồi từ đoạn thân mang mắt ngủ hoa hồng đối màu là môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP, 1,0 mg/l Kinetin với tỉ lệ mẫu bật chồi là 90,49%, hệ số tái sinh chồi là 2,71 lần.

Chồi *in vitro* hoa hồng đối màu nuôi cấy trên

môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP, 1,0 mg/l Kinetin cho khả năng nhân chồi tốt nhất với hệ số nhân là 2,79 chồi/mẫu, chiều cao chồi trung bình đạt 3,52 cm và 6,73 lá/chồi sau 2 tuần nuôi cấy.

Môi trường ra rễ tối ưu là ¼ MS với tỉ lệ mẫu ra rễ đạt 96,64% sau 6 tuần nuôi cấy, số rễ trung bình cao nhất đạt 3,10 rễ/cây, chiều dài rễ trung bình đạt 2,91 cm, rễ mập và khỏe.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Kanchanapoom K., Nonlapan P., and Kanchanapoom K. (2009). *In Vitro* Flowering from Cultured Nodal Explants of Rose (*Rosa hybrida* L.), *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 37. doi: 10.15835/nbha3723077.

[2]. 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 com (*Rosa sericea* LINDL). *J. Sci. & Devel.* 13(4): 606-613. <https://doc/nhan-nhanh-va-cam-ung-ra-hoa-in-vitro-cay-hoa-hong-com-rosa-sericea-lindl-5ws8tq.html>

[3]. Bùi Thị Thu Hương, Đồng Huy Giới, Nguyễn Thị Trang & Hồ Thị Quyên (2017). Nhân nuôi cây hoa hồng cổ Sapa (*Rosa gallica* L.) bằng kỹ thuật cấy mô *in vitro*. Báo cáo khoa học về sinh thái và tài nguyên sinh vật, Hội nghị khoa học toàn quốc lần thứ 7. Nhà Xuất bản Khoa học tự nhiên và Công nghệ.

[4]. Hameed N., Shabbir A., Ali A., and Bajwa R. (2008). *In vitro* micropropagation of disease-free rose (*Rosa indica* L.), *Mycopath.* 4: 35–38,

[5]. Kanchanapoom K. (2021). Micropropagation from cultured nodal explants of rose (*Rosa hybrida* L. cv Perfume Delight). *Songklanakarin Journal of Science and Technology.* 31(6): 583–586.

[6]. Murali R. & Sindhu. K. (2011). *In vitro* multiplication of rose (*Rosa bourboniana*). *International Journal of Current Research, International Journal of curent research.* 3(4): 100–103.

[7]. Zeng S., Liang S., Zhang Y. Y., Wu K. L., T. da Silva J. A. & Duan J. (2013). *In vitro* flowering red miniature rose. *Biologia plantarum.* 57 (3): 401–409. doi: 10.1007/s10535-013-0306-4.

[8]. Nguyen Hoai Nguyen & Bui Van Le (2020). A simple, economical, and high efficient protocol to produce *in vitro* miniature rose. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant.* 56(3):362–365. doi: 10.1007/s11627-019-10043-1.

[9]. Attia A. O., Dessoky E. D. S. & El-Tarras A. E. (2012). *In vitro* propagation of *Rosa hybrida* L. cv. Al-Taif Rose plant. *African Journal of Biotechnology.* 11(48). doi: 10.4314/ajb.v11i48.

[10]. Shabbir A., Hameed N., Ali A. & Bajwa D R. (2009). Effect of different cultural conditions on Micropropagation of Rose (*Rosa indica* L.). *Pakistan Journal of Botany.* 41: 2877–2882.

[11]. Kshirsagar A. (2014). Effect of BAP and Kinetin on nodal culture of *Rosa hybrida* L.. *Bionano Frontier.* vol. 2, no. July to December 2014: 254–257.

[12]. Wang G. Y., Yuan M. F. & Hong Y. (2002). *In vitro* flower induction in roses. *In Vitro Cell Dev Biol - Plant.* 38(5): 513–518. doi: 10.1079/IVP2002340.

[13]. Murashige T. & Skoog F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Plant Physiology.* 15: 473–497.

[14]. Bùi Thị Thu Hương, Nguyễn Mai Thom & Đồng Huy Giới (2021). Research on *in vitro* propagation of green rose (*Rosa*.L). *Journal of Forestry Science and Technology.* 11: 20–27.

[15]. Nguyen Thi Kim Thanh (2005). Propagating Rose plants using *in vitro* transplantation technique. *Journal of Agriculture and Rural Development.* 1: 39–41.

[16]. Kshirsagar A. (2014). Effect of bap and kinetin on nodal culture of *Rosa hybrida* L. *Bionano Frontier.* 2: 254–257.

[17]. Rashida S., Shamsa Y. & Rizwana A. (2003). *In vitro* Propagation of *Rosa indica*. *Pakistan Journal of Biological Sciences.* doi: 10.3923/pjbs.2003.826.830.