

NHÂN NHANH *IN VITRO* CÂY DẠ YẾN THẢO HOA HỒNG SỌC TÍM (*PETUNIA HYBRIDA* L.)

Bùi Thị Cúc¹, Đồng Huy Giới², Bùi Thị Thu Hương³

¹Trường Đại học Lâm nghiệp

^{2,3}Học viện Nông nghiệp

TÓM TẮT

Dạ yến thảo (*Petunia hybrida* L.) là loài hoa đang rất được ưa chuộng trên thị trường hoa cảnh. Trong nghiên cứu này, các chất điều tiết sinh trưởng gồm TDZ, BA và α NAA được sử dụng độc lập hoặc phối hợp với các nồng độ khác nhau trong nuôi cấy *in vitro* cây Dạ yến thảo hoa hồng sọc tím. Nghiên cứu đã xác định được môi trường thích hợp nhất cho việc tái sinh chồi từ đoạn thân mang mắt ngủ của Dạ yến thảo là môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose, 6 g/l agar và 0,25 mg/l TDZ, cho đường kính cụm chồi đạt 1,95 cm, chiều cao trung bình chồi đạt 1,67 cm và có 3,36 chồi cao trên 1 cm. Chồi Dạ yến thảo *in vitro* cao 1 - 1,5 cm được sử dụng làm vật liệu để nhân nhanh. Hệ số nhân chồi đạt cao nhất là 73,11 lần sau 5 tuần nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose, 6 g/l agar, 0,75 mg/l BA, 0,1 mg/l α NAA. Môi trường tối ưu cho sự ra rễ của chồi Dạ yến thảo *in vitro* là môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose, 6 g/l agar, 0,1 mg/l α NAA, cho tỷ lệ chồi ra rễ đạt 100%, số rễ trung bình đạt 51,87 rễ/chồi, chiều dài rễ trung bình đạt 0,96 cm sau 4 tuần nuôi cấy.

Từ khóa: Dạ yến thảo, môi trường MS, nhân nhanh *in vitro*.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dạ yến thảo (*Petunia hybrida* L.) còn có tên gọi khác là Yến thảo hoa hay Dã yến thảo, là loài thực vật có hoa thuộc họ Cà (Solanaceae), có nguồn gốc từ các nước miền Nam châu Mỹ. Đây là loại cây chịu nhiệt, hoa có màu sắc đa dạng như trắng, hồng, đỏ, tím... và dáng cây phong phú. Dạ yến thảo thường được trồng trong các chậu trang trí, chậu hoa treo trong nhà, trong vườn, làm viền cho khu vườn và tô điểm cho góc vườn hay căn nhà thêm rực rỡ, nếu chăm sóc tốt cây có thể ra hoa quanh năm (Phạm Hoàng Hộ, 2000).

Hiện nay, Dạ yến thảo được trồng chủ yếu từ hạt, tuy nhiên giá bán hạt giống Dạ yến thảo khá cao, từ 1.000 - 3.000 đ/hạt tùy loại hoa đơn, kép hay khảm. Mặt khác, Dạ yến thảo có hạt rất nhỏ, tỷ lệ nảy mầm của hạt tương đối thấp chỉ khoảng 60%, cây con có tỷ lệ chết cao, do đó mà giá bán cây giống Dạ yến thảo hiện nay khá cao. Ngoài ra, Dạ yến thảo còn có thể nhân giống bằng phương pháp giâm cành, tuy nhiên phương pháp nhân giống này có hệ số nhân thấp, cây giâm cành có sức sống yếu hơn cây gieo bằng hạt và nhanh tàn hơn.

Phương pháp nhân giống bằng nuôi cấy mô

tế bào thực vật đang được áp dụng khá phổ biến trên nhiều đối tượng cây trồng. Một trong số những ưu điểm nổi bật của nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô là hệ số nhân cao, trong một thời gian ngắn có thể tạo ra một số lượng lớn cây giống tương đối đồng nhất, cây giống sạch bệnh, giá thành thấp. Hiện nay trên thế giới đã có một số công trình nghiên cứu về nhân giống *in vitro* cây Dạ yến thảo như: Hassan *et al.* (2010) đã tiến hành nghiên cứu sự tái sinh và tạo biến dị dòng soma của cây Dạ yến thảo; Sara & Naglaa (2015) đã có những nghiên cứu ban đầu về nuôi cấy cây Dạ yến thảo trong điều kiện stress là môi trường có chứa NaCl. Năm 2015, Natalija *et al.* đã nghiên cứu sự tái sinh chồi từ lá *in vitro* của cây Dạ yến thảo. Nghiên cứu này trình bày các kết quả ảnh hưởng của một số chất kích thích sinh trưởng trong các giai đoạn nhân nhanh *in vitro* cây Dạ yến thảo hoa hồng sọc tím.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chồi *in vitro* này mầm từ hạt cây Dạ yến thảo hoa hồng sọc tím (*Petunia hybrida* L.).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

a. Nghiên cứu khả năng tái sinh chồi từ đoạn thân *in vitro* mang mắt ngủ

Đoạn thân *in vitro* mang mắt ngủ được nuôi cấy trên môi trường MS (Murashige T. and F. Skoog., 1962) bổ sung 30 g/l sucrose, 6 g/l agar và BA hoặc TDZ (0 - 1 mg/l). Sau 4 tuần nuôi cấy, đo đếm đường kính cụm chồi (cm); chiều cao cụm chồi (cm); số chồi cao từ 1 cm trở lên/mẫu.

b. Nghiên cứu nhân nhanh chồi *in vitro* cây Dạ yến thảo hoa hồng sọc tím

- Xác định ảnh hưởng của nồng độ BA đến khả năng nhân nhanh chồi: Các chồi *in vitro* 4 tuần tuổi (cao 1 – 1,5 cm) được chuyển sang môi trường MS bổ sung 30 g/l sucrose, 6 g/l agar và BA từ 0 đến 1mg/l.

- Xác định ảnh hưởng của BA kết hợp α NAA hoặc kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi: Các chồi *in vitro* 4 tuần tuổi (cao 1 – 1,5 cm) được cấy vào môi trường MS + 30 g/l sucrose + 6 g/l agar + BA (nồng độ tốt nhất ở thí nghiệm trên) và kết hợp α NAA hoặc kinetin từ 0 - 0,4 mg/l.

Sau 5 tuần nuôi cấy, đo đếm các chỉ tiêu về đường kính cụm chồi; chiều cao trung bình cụm chồi; hệ số nhân chồi (tổng số chồi cao từ 1cm trở lên/mẫu).

c. Tạo cây Dạ yến thảo *in vitro* hoàn chỉnh

Các chồi *in vitro* có chiều cao 3 – 5 cm, có từ 4 – 6 lá được cấy chuyển sang môi trường MS + 30 g/l sucrose + 6 g/l agar có bổ sung α NAA từ 0 đến 0,3 mg/l. Sau 4 tuần nuôi cấy, theo dõi các chỉ tiêu: Tỷ lệ ra rễ (số mẫu ra rễ/tổng số mẫu cấy) x 100 (%); số rễ trung bình/chồi; chiều dài rễ trung bình.

d. Bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

- Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên. Mỗi công thức lặp lại 3 lần, mỗi lần 20 mẫu. Môi trường nuôi cấy có pH = 5,9, được hấp khử trùng ở 121°C trong 20 phút. Các mẫu được nuôi trong điều kiện nhiệt độ 25°C \pm 2°C, ánh sáng 2000 Lux, chu kỳ chiếu sáng là 16h sáng/8h tối.

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

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tái sinh chồi từ đoạn thân *in vitro* mang mắt ngủ

3.1.1. Ảnh hưởng của BA đến khả năng tái sinh chồi từ đoạn thân *in vitro*

Theo Sakakibara (2006), cytokinin có vai trò quan trọng trong phân chia tế bào và kích thích sự hình thành chồi, BA là chất điều tiết sinh trưởng thuộc nhóm cytokinin có tác dụng kích thích sự hình thành đỉnh sinh trưởng và được sử dụng phổ biến trong nuôi cấy mô thực vật (Sakakibara, 2006). Vì vậy, trong nghiên cứu này BA được bổ sung vào môi trường nuôi cấy với nồng độ từ 0,5 – 2,0 mg/l. Qua quan sát chúng tôi nhận thấy, khi bổ sung BA vào môi trường nuôi cấy đã kích thích mẫu tạo mô sẹo, sau đó từ mô sẹo phát triển tạo cụm chồi, tuy nhiên các chồi này phát triển vô định hình và không tạo thành các chồi riêng rẽ. Kết quả thu được ở bảng 1 và hình 1 cho thấy, ở môi trường không bổ sung BA, mẫu nuôi cấy hình thành các chồi đơn riêng biệt với chiều cao đạt 3,30 cm sau 4 tuần nuôi cấy. Ở các công thức bổ sung BA với nồng độ 0,5 và 1,0 mg/l, sau giai đoạn tạo mô sẹo sẽ chủ yếu phát triển tạo cụm chồi, đường kính cụm chồi có xu hướng tăng và đạt giá trị cao nhất ở nồng độ 1,0 mg/l BA, với đường kính cụm chồi đạt 1,84 cm và chiều cao đạt 0,81 cm. Kết quả này phù hợp với công bố của Sara & Naglaa (2015), nghiên cứu chỉ ra rằng lóng thân Dạ yến thảo nuôi trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/l BAP bước đầu tạo mô sẹo và từ mô sẹo tạo chồi (Sara & Naglaa, 2015). Tuy nhiên khi tăng nồng độ BA lên 1,5 và 2,0 mg/l thì sự hình thành cụm chồi có xu hướng giảm (đường kính cụm chồi chỉ đạt 1,21 và 1,31 cm). Hassan *et al.*, (2010) cũng đã tiến hành tái sinh chồi Dạ yến thảo từ nguồn vật liệu ban đầu là mô lá *in vitro*, kết quả cho thấy ở môi trường có 2,0 mg/l BA tỷ lệ tái sinh cao nhất là 45%. Như vậy có thể

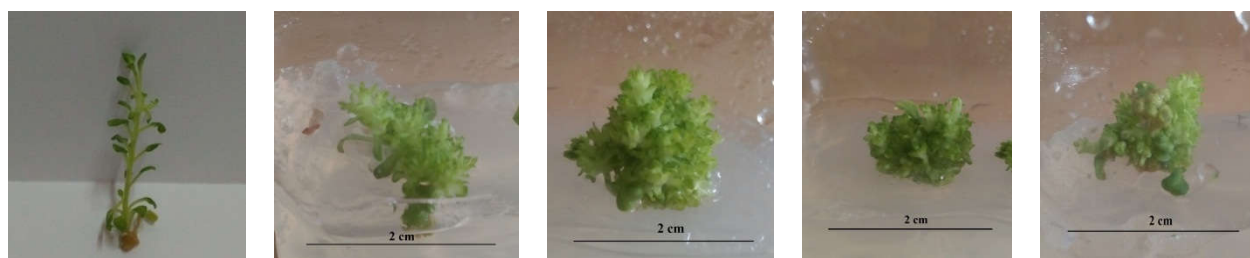
thấy rằng, việc sử dụng nguồn vật liệu ban đầu để tái sinh là đoạn thân cho khả năng tái sinh

tốt hơn so với việc sử dụng mô lá.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BA đến khả năng tái sinh chồi từ đoạn thân in vitro sau 4 tuần nuôi cấy

CT	BA (mg/l)	Đường kính cụm chồi (cm)	Chiều cao trung bình cụm chồi (cm)
CT1 (ĐC)	0	(-)	3,30
CT1	0,5	1,11 ^b	0,77 ^a
CT2	1,0	1,84 ^a	0,81 ^a
CT3	1,5	1,21 ^b	0,76 ^a
CT4	2,0	1,31 ^b	0,78 ^a
LSD _{0,05}		0,50	0,77
CV(%)		1,8	3,9

Chú thích:(-): không tạo cụm chồi



0 mg/l BA 0,5 mg/l BA 1,0 mg/l BA 1,5 mg/l BA 2,0 mg/l BA
Hình 1. Chồi Dạ yến thảo hoa hồng sọc tím trên môi trường bổ sung BA sau 4 tuần nuôi cấy

3.1.2. Ảnh hưởng của TDZ đến khả năng tái sinh chồi từ đoạn thân in vitro

TDZ là loại cytokinin ít bị phân hủy bởi các enzym nội sinh, vì vậy trong nuôi cấy mô tế bào thực vật, TDZ thường được sử dụng với nồng độ thấp hơn so với các loại cytokinin khác. Ở nồng độ thấp, TDZ có thể cho hệ số nhân chồi cao hơn các loại cytokinin khác và ở nồng độ cao TDZ có thể kích thích mẫu cấy hình thành mô sẹo, chồi bất định hoặc phôi soma. Tuy nhiên, các chồi tạo ra thường cứng và không hình thành rễ trong điều kiện *in vivo*, vì vậy TDZ ít được sử dụng trong giai đoạn nhân chồi mà thường được sử dụng trong giai đoạn tái sinh chồi (Mok *et al.*, 1987).

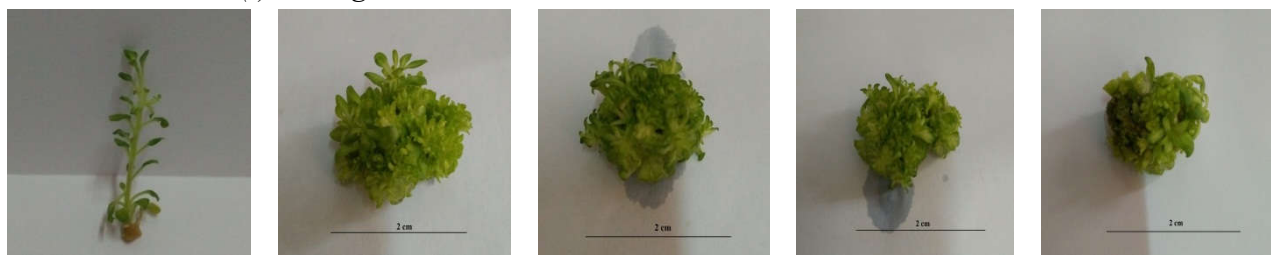
Kết quả thu được ở bảng 2, hình 2 cho thấy, TDZ làm tăng hiệu quả tái sinh chồi từ đoạn thân mang mắt ngủ của Dạ yến thảo hoa hồng

sọc tím. Ở môi trường không bổ sung TDZ, mẫu nuôi cấy tái sinh tạo thành các chồi đơn phát triển tốt. Khi bổ sung TDZ vào môi trường nuôi cấy, mẫu nuôi cấy được kích thích tạo thành mô sẹo và từ đó phát sinh tạo cụm chồi tương tự như khi bổ sung BA. Tuy nhiên, so với việc bổ sung BA, TDZ tỏ ra có hiệu quả hơn vì đường kính cụm chồi đạt cao hơn, ngoài ra các chồi trong cụm chồi phát triển rõ hình thái của chồi và xuất hiện những chồi đơn, cao trên 1 cm. Ở nồng độ 0,25 mg/l TDZ cụm chồi có đường kính cao nhất (1,95 cm) và số chồi cao trên 1 cm đạt 3,36 chồi/mẫu, chồi mập, lá to. Tuy nhiên khi tăng nồng độ TDZ lên 0,5 và 0,75 mg/l, đường kính cụm chồi cũng như số chồi cao trên 1 cm có xu hướng giảm dần.

Bảng 2. Ảnh hưởng của TDZ đến khả năng tái sinh chồi từ đoạn thân in vitro sau 4 tuần nuôi cấy

CT	TDZ (mg/l)	Đường kính cụm chồi (cm)	Chiều cao chồi (cm)	Số chồi cao trên 1 cm	Đặc điểm chồi
CT1	0	(-)	3,30	1,00	chồi bình thường, lá nhỏ
CT1	0,25	1,95 ^a	1,67 ^a	3,63 ^a	chồi mập, lá to
CT2	0,5	1,65 ^b	1,57 ^a	2,57 ^b	chồi mập, lá to
CT3	0,75	1,45 ^c	1,35 ^a	1,67 ^c	chồi nhỏ, lá nhỏ
CT4	1,0	1,28 ^d	1,38 ^a	1,27 ^d	chồi nhỏ, lá nhỏ
LSD _{0,05}		0,11	0,63	0,22	
CV(%)		3,4	2,1	4,9	

Chú thích:(-): không tạo cụm chồi



0 mg/l TDZ

0,25 mg/l TDZ

0,5 mg/l TDZ

0,75 mg/l

1,0 mg/l TDZ

Hình 2. Chồi Dạ yến thảo hoa hồng sọc tím trên môi trường MS bổ sung TDZ sau 4 tuần nuôi cấy

3.2. Nhân nhanh chồi Dạ yến thảo in vitro

3.2.1. Ảnh hưởng của BA đến khả năng nhân nhanh chồi in vitro cây Dạ yến thảo

Kết quả thu được ở bảng 3 và hình 3 cho thấy, BA làm tăng hiệu quả nhân nhanh chồi in vitro Dạ yến thảo. Trên môi trường không bổ sung BA, chồi sinh trưởng, phát triển tốt, tuy nhiên hệ số nhân thấp (1,9 lần). Trong khi chồi Dạ yến thảo nuôi cấy trên môi trường bổ sung BA đều tạo cụm chồi và cho hệ số nhân cao hơn. Ở các nồng độ 0,25 – 0,75 mg/l BA, đường kính cụm chồi có xu hướng tăng dần và ở nồng độ 0,75 mg/l BA cụm chồi đạt đường kính lớn nhất (2,11cm). Bên cạnh đó, hệ số

nhân cũng tăng dần khi nồng độ BA tăng từ 0,25 lên 0,75 mg/l với hệ số nhân tương ứng là 23,78; 49,78 và 65,56 lần sau 5 tuần nuôi cấy. Kết quả này tương tự với kết quả của Hassan (2012) khi nghiên cứu nhân nhanh và tạo nguồn biến dị soma ở Dạ yến thảo (*Petunia hybrida*), nồng độ BA thích hợp nhất cho nhân nhanh chồi là 0,8 mg/l (Hassan, 2012). Ở công thức bổ sung 1,0 mg/l BA, đường kính cụm chồi cũng như hệ số nhân chồi và chiều cao chồi đều giảm. Ngoài ra, quan sát về hình thái cho thấy, chồi tạo thành trên môi trường bổ sung 1,0 mg/l BA nhỏ hơn so với các công thức còn lại.

Bảng 3. Ảnh hưởng của BA đến khả năng nhân chồi Dạ yến thảo sau 5 tuần nuôi cấy

CT	BA (mg/l)	Đường kính cụm chồi (cm)	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Đặc điểm chồi
CT1 (ĐC)	0	(-)	1,9	5,13	chồi nhỏ, lá nhỏ
CT2	0,25	1,27 ^d	23,78 ^d	1,91 ^c	chồi mập, lá to
CT3	0,5	1,67 ^c	49,78 ^b	2,22 ^b	chồi mập, lá to
CT4	0,75	2,11 ^a	65,56 ^a	2,38 ^a	chồi mập, lá to
CT5	1,0	1,82 ^b	31,00 ^c	1,67 ^d	chồi nhỏ, lá nhỏ
LSD _{0,05}		0,14	3,21	0,13	
CV(%)		4,0	3,8	3,2	

Chú thích:(-): không tạo cụm chồi



0 mg/l BA 0,25 mg/l BA 0,5 mg/l BA 0,75 mg/l BA 1,0 mg/l BA

Hình 3. Chồi Dạ yến thảo in vitro trên môi trường bổ sung BA sau 5 tuần nuôi cấy

3.2.2. Ảnh hưởng của tổ hợp BA và αNAA đến khả năng nhân nhanh chồi in vitro

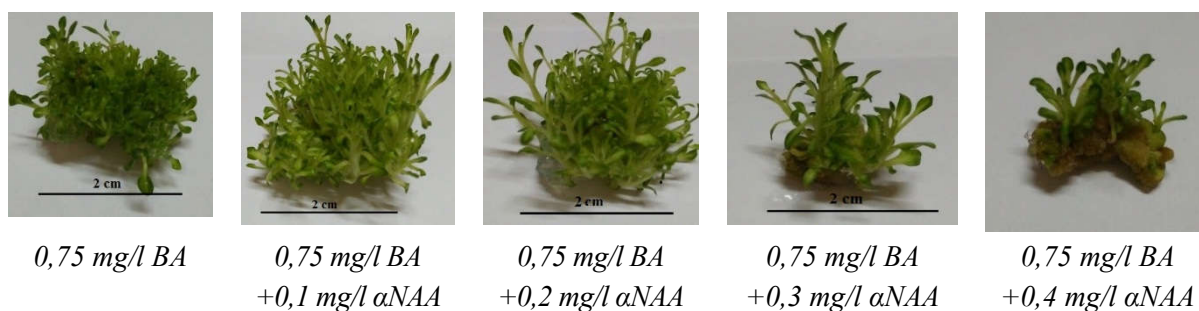
αNAA là chất điều tiết sinh trưởng thuộc nhóm auxin, ngoài kích thích sự hình thành rễ còn thúc đẩy sự phân chia tế bào, nó thường được sử dụng kết hợp với các cytokinin để tăng đẻ nhánh, tạo chồi mới. Việc kết hợp BA và αNAA ở nồng độ và tỷ lệ thích hợp có thể nâng cao hệ số nhân chồi và chất lượng chồi ở một số cây như Địa liên (Parida *et al.*, 2010), cây Ba kích (Hoàng Thị Thế và cộng sự, 2013). Do vậy, BA ở nồng độ 0,75 mg/l đã được sử dụng phối hợp với αNAA (0,1 – 0,4 mg/l) nhằm tăng hiệu quả nhân nhanh chồi Dạ

yến thảo hoa hồng sọc tím. Kết quả của việc sử dụng tổ hợp BA và αNAA được thể hiện ở bảng 4, hình 4 cho thấy: So với việc chỉ sử dụng 0,75 mg/l BA, môi trường có bổ sung αNAA ở nồng độ 0,1 mg/l cho hiệu quả nhân chồi cao hơn, với hệ số nhân đạt 73,11 lần, đường kính cụm chồi đạt 2,8 cm và chiều cao chồi trung bình là 2,63 cm. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Natalija *et al.*, (2015). Họ chỉ ra rằng chồi tái sinh từ mẫu lá của giống Dạ yến thảo “Rambling Nu Blue” nhân nhanh trên môi trường MS + 0,8 mg/l BA + 0,1 mg/l αNAA cho hiệu quả nhân chồi cao nhất (Natalija *et al.*, 2015).

Bảng 4. Ảnh hưởng BA và αNAA đến chồi in vitro sau 5 tuần nuôi cấy

CT	BA (mg/l)	αNAA (mg/l)	Đường kính cụm chồi (cm)	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Đặc điểm chồi
CT1		0	2,11 ^b	65,56 ^b	2,38 ^c	chồi nhỏ, lá nhỏ
CT2		0,1	2,63 ^a	73,11 ^a	2,80 ^a	chồi mập, lá to
CT3	0,75	0,2	2,07 ^b	49,89 ^c	2,53 ^b	chồi mập, lá to
CT4		0,3	1,16 ^c	15,33 ^d	1,63 ^d	chồi mập, lá to
CT5		0,4	(-)	3,3	1,42	chồi mập, lá to
LSD _{0,05}			0,17	3,57	0,11	
CV(%)			4,2	3,5	2,3	

Chú thích:(-): không tạo cụm chồi



Hình 4. Chồi Dạ yến thảo trên môi trường bổ sung BA và αNAA sau 5 tuần nuôi cấy

3.2.3. Ảnh hưởng của tổ hợp BA và kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi in vitro

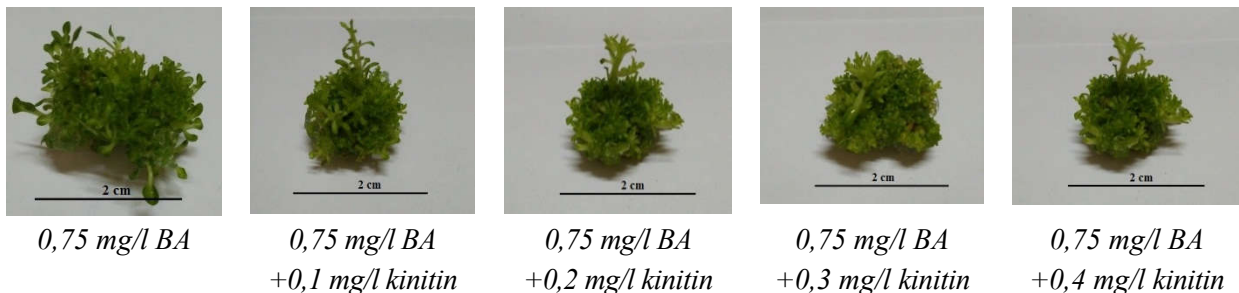
BA và kinetin là hai loại cytokinin hay được sử dụng với tác dụng kích thích hình thành chồi của mẫu cây. Trong nhiều trường hợp, bổ sung kết hợp BA và kinetin vào môi trường nuôi cấy cho hiệu quả nhân chồi cao hơn so với riêng rẽ (Asad *et al.*, 2009). Do vậy, 0,75 mg/l BA đã được phối hợp với kinetin (0,1 – 0,4 mg/l) nhằm kiểm tra hiệu quả nhân chồi dạ yến thảo. Sau 5

tuần nuôi cấy, kết quả ở bảng 5, hình 5 cho thấy, sự kết hợp BA và kinetin không làm tăng hiệu quả nhân chồi dạ yến thảo. Chồi tạo thành trên môi trường có kinetin rất nhỏ, thấp, không tạo thành các chồi riêng rẽ, do đó không xác định được hệ số nhân chồi. Như vậy có thể kết luận, bổ sung kinetin vào môi trường nuôi cấy đã ức chế sự khả năng nhân chồi Dạ yến thảo hoa hồng sọc tím.

Bảng 5. Ảnh hưởng của BA và kinetin đến chồi in vitro sau 5 tuần nuôi cấy

CT	BA (mg/l)	Kinetin (mg/l)	Đường kính cụm chồi (cm)	Hệ số nhân (lần)	Chiều cao chồi (cm)	Đặc điểm chồi
CT1		0	2,11 ^a	65,56	2,38 ^a	Chồi mập, cao
CT2		0,1	1,58 ^b	-	1,09 ^b	Chồi nhỏ, thấp
CT3	0,75	0,2	1,46 ^c	-	1,12 ^b	Chồi nhỏ, thấp
CT4		0,3	1,60 ^b	-	1,22 ^b	Chồi nhỏ, thấp
CT5		0,4	1,43 ^c	-	1,21 ^b	Chồi nhỏ, thấp
LSD _{0.05}			0,10		0,13	
CV(%)			3,3		5,0	

Chú thích: (-): chồi có kích thước nhỏ, không xác định được số lượng chồi



Hình 5. Chồi Dạ yến thảo in vitro trên môi trường bổ sung BA và Kinetin sau 5 tuần nuôi cấy

3.3. Ảnh hưởng của αNAA đến khả năng ra rễ của chồi in vitro Dạ yến thảo

Để xác định môi trường nuôi cấy ra rễ thích hợp, chồi in vitro Dạ yến thảo được nuôi cấy trên MS bổ sung 30 g/l succrose, 6 g/l agar và αNAA với 3 nồng độ khác nhau. Kết quả thí nghiệm sau 4 tuần nuôi cấy được thể hiện ở bảng 6, hình 6 cho thấy, chồi Dạ yến thảo có thể ra rễ ngay trên môi trường không bổ sung αNAA với tỷ lệ ra rễ đạt 86,67%, tuy nhiên, rễ nhỏ yếu và có màu trắng nhạt. Ở tất cả các công thức bổ sung αNAA, tỷ lệ mẫu ra rễ cũng như số rễ/chồi đều tốt hơn so với công thức

không bổ sung αNAA. Trong đó, công thức bổ sung 0,1 mg/l αNAA cho kết quả tốt nhất với tỷ lệ ra rễ đạt 100%, số rễ/chồi là 51,87 và chiều dài rễ trung bình của rễ là 0,96 cm, rễ mập, màu trắng đục. Khi tăng nồng độ αNAA lên 0,2 mg/l tỷ lệ ra rễ vẫn đạt 100% nhưng số rễ/chồi cũng như chiều dài rễ có xu hướng giảm, khi tăng nồng độ αNAA lên 0,3 mg/l tỷ lệ ra rễ giảm xuống 93,33%, số rễ/chồi giảm còn 17,93 và có hiện tượng xoắn rễ. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả của Natalija *et al.*, (2015) khi nghiên cứu sự ra rễ của 2 loài dạ yến thảo là Ramblin Nu Blue và Touha. Như

vậy có thể thấy, môi trường thích hợp nhất cho sự ra rễ của Dạ yến thảo hoa hồng sọc tím là

môi trường MS bổ sung 30 g/l succrose, 6 g/l agar và 0,1mg/l α NAA.

Bảng 6. Ảnh hưởng của α NAA đến sự ra rễ của chồi in vitro dạ yến thảo sau 4 tuần nuôi cấy

CT	α NAA (mg/l)	Tỉ lệ ra rễ (%)	Số rễ (rễ/chồi)	Dài rễ (cm)	Đặc điểm rễ
CT1	0	86,67	11,87 ^d	5,18 ^a	Rễ nhỏ, trắng nhạt
CT2	0,1	100	51,87 ^a	0,96 ^b	Rễ mập, trắng đục
CT3	0,2	100	38,33 ^b	0,68 ^c	Rễ mập, trắng đục
CT4	0,3	93,33	17,93 ^c	0,31 ^d	Rễ mập, xoắn, trắng đục
LSD _{0,05}			2,12	0,14	
CV(%)			3,5	4,0	



Hình 6. Ảnh hưởng của α NAA đến khả năng ra rễ của chồi Dạ yến thảo

Chú thích: CT1: 0 mg/l α NAA; CT2: 0,1 mg/l α NAA; CT3: 0,2 mg/l α NAA; CT4: 0,3 mg/l α NAA

IV. KẾT LUẬN

Môi trường thích hợp nhất cho việc tái sinh chồi từ đoạn thân mang mắt ngủ Dạ yến thảo hoa hồng sọc tím là môi trường MS có bổ sung 30 g/l succrose, 6 g/l agar và 0,25 mg/l TDZ, cho đường kính cụm chồi đạt 1,95 cm, chiều cao trung bình chồi đạt 1,67 cm và có 3,36 chồi cao trên 1 cm sau 4 tuần nuôi cấy.

Môi trường nhân nhanh chồi Dạ yến thảo thích hợp nhất là môi trường MS có bổ sung 30 g/l succrose, 6 g/l agar, 0,75 mg/l BA và 0,1 mg/l α NAA với hệ số nhân chồi đạt 73,11 lần, chiều cao chồi trung bình đạt 2,63cm sau 5 tuần nuôi cấy.

Môi trường tối ưu cho sự ra rễ của chồi in vitro Dạ yến thảo là môi trường MS có bổ sung 30 g/l succrose, 6 g/l agar và 0,1 mg/l α NAA, cho tỷ lệ chồi ra rễ đạt 100%, số rễ trung bình đạt 51,87 rễ/chồi, chiều dài rễ đạt 0,96 cm sau 4 tuần nuôi cấy.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ (2000). *Cây cỏ Việt Nam*. Nhà xuất bản Trẻ.
2. Hoàng Thị Thế, Nguyễn Thị Phương Thảo, Ninh Thị Thảo, Nguyễn Thị Thủy (2013). Quy trình nhân giống in vitro cây Ba kích (*Morinda officinalis* How). *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 11(3), 744-752.
3. Asad S., Nosheen H., Amir A., Rukhsana B. (2009). Effect of different cultural conditions on micropropagation of rose (*Rosa indica* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 41(6): 2877-2882
4. Hassan A. Q. (2012). Improving adventitious shoot regeneration from cultured leaf explants of *Petunia hybrida* using thidiazuron. *African Journal of Biotechnology*, 11(51): 11230-11235.
5. Hassan A. Q., Anas Abu-Rayya and Sami Yaish (2010). In vitro regeneration and somaclonal variation of *Petunia hybrida*. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 18(1): 71-81.
6. Mok M. C., Mok D. W. S., Turner, J. E. and Mujar C.V. (1987). Biological and biochemical effects of cytokinin active phenylurea derivatives in tissue culture systems. *Hort Science*, 22 (6): 1194-1197.

7. Murashige T. and F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiology*, 15: 473-479.

8. Natalija B., Aušra B., and Vaida J. (2015). *In vitro* regeneration from leaf explants of *Petunia hybrida* L. *Propagation of Ornamental plants*, 15(2): 47 - 52.

9. Sakakibara H (2006) Cytokinins: activity,

biosynthesis, and translocation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57: 431–449.

10. Sara E. G., Naglaa M. E. (2015). *In vitro* preliminary study on *Petunia hybrida* breeding under Sodium Chloride stress conditions. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 04(04): 867-872.

IN VITRO PROPAGATION OF *PETUNIA HYBRIDA*

Bui Thi Cuc¹, Dong Huy Gioi², Bui Thi Thu Huong³

¹*Vietnam National University of Forestry*

^{2,3}*Vietnam National University of Agriculture*

SUMMARY

Petunia hybrida nowadays is a very popular flower. In this study, the growth regulators TDZ, BA and α NAA were used alone or in combination with different concentrations on *in vitro* propagation of *Petunia hybrida*. This study was conducted to determine optimal media for shoot regeneration from petunia explants was MS medium containing 30 g/l sucrose, 6 g/l agar, 0.25 mg/l TDZ that made diameter of shoot cluster reached 1.95 cm, average height shoots was 1.67 cm and 3.36 shoots above 1 cm. *In vitro* shoot was used to multiplied on MS medium supplemented with 30 g/l sucrose, 6 g/l agar, 0.75 mg/l BA and 0.1 mg/l α NAA with coefficient was highest (73.11 times) after 5 weeks culturing. The optimum medium for *in vitro* shoot of *Petunia hybrida* forming roots was the MS medium supplemented with 30 g/l sucrose, 6 g/l agar, 0.1 mg / l α NAA, 100 % of the shoots produced roots, with an average of 51.87 roots/shoot and the average length of the roots was 0.96 cm after 4 weeks culturing.

Keywords: *In vitro* propagation, MS medium, *Petunia hybrida*.

Ngày nhận bài : 06/9/2017

Ngày phản biện : 18/9/2017

Ngày quyết định đăng : 02/10/2017