

# Vai trò của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong sự phát triển chồi từ mô phân sinh ngọn chồi cây Cát Tường *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinnery

- **Ngô Thạch Quỳnh Huyền**  
Chi cục Bảo vệ thực vật tỉnh Phú Yên
- **Trần Thanh Hương**
- **Bùi Trang Việt**  
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM  
Email: trthuong@hcmus.edu.vn

(Bài nhận ngày 24 tháng 03 năm 2017, nhận đăng ngày 15 tháng 08 năm 2017)

## TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, các chất điều hòa tăng trưởng thực vật bao gồm 6-benzylaminopurine (BA), kinetin, indole-3-acetic acid (IAA), gibberellic acid ( $GA_3$ ) và ethrel ở các nồng độ khác nhau, riêng lẻ hay phối hợp được dùng để cảm ứng sự hình thành chồi bất định từ khúc cắt chồi ngọn hay khúc cắt mô phân sinh ngọn chồi cây Cát Tường. Các biến đổi hình thái và sinh lý trong quá trình phát triển chồi được phân tích. Sự phát triển chồi đạt hiệu quả cao nhất trên môi trường Murashige và Skoog (MS) có bổ sung BA

**Từ khóa:** chất điều hòa tăng trưởng thực vật, chồi bất định, *Eustoma grandiflorum*, mô phân sinh ngọn chồi, sự hủy mô phân sinh ngọn chồi

## MỞ ĐẦU

Cây Cát Tường (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinner) là loài hoa kiểng được người Á Đông xem là biểu tượng của sự viên mãn, an lành. Cây Cát Tường đa dạng về màu sắc, kiểu dáng và được phân thành hai loại là Cát Tường đơn và Cát Tường kép [1, 2]. Cát Tường đơn có số cánh hoa khoảng từ 10 đến 15 cánh, kích thước hoa nhỏ với bốn màu sắc cơ bản là: tím, hồng, trắng và vàng. Cát Tường kép số cánh hoa khoảng từ 17 đến 22 cánh, kích thước hoa lớn, màu nhạt ở vùng gần cuống và đậm dần ở vùng rìa cánh hoa, nhưng vẫn thuộc các màu cơ bản tương tự như Cát Tường đơn

0,5 mg/L và  $GA_3$  1,0 mg/L. Các chồi tái sinh có khả năng tạo rễ trên môi trường MS có bổ sung IAA (0,25 hay 0,5 mg/L). Sự phát triển chồi từ khúc cắt chồi ngọn in vitro bao gồm sự phát triển chồi tại các vị trí nách lá và tạo mới chồi trực tiếp từ các tế bào ngoại vi ở vùng vỏ của thân. Sự tạo mới chồi từ khúc cắt chồi ngọn chịu ảnh hưởng bởi tính toàn vẹn của vùng mô phân sinh hay auxin ở ngọn chồi. Vai trò của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật, đặc biệt là sự di chuyển hữu cực của auxin và sự hủy mô phân sinh ngọn chồi trên sự phát sinh chồi được thảo luận.

[1]. Tuy nhiên, cây Cát Tường có phát hoa tương đối ngắn dẫn đến chất lượng hoa không đồng đều. Chính vì vậy, việc khảo sát vai trò của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong sự phát triển chồi từ mô phân sinh ngọn chồi có ý nghĩa rất lớn trong nghiên cứu cải thiện chất lượng chồi, góp phần gia tăng hiệu quả của vi nhân giống và làm cơ sở cho sự kéo dài phát hoa sau này.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

**Vật liệu dùng trong nuôi cấy in vitro**

Nhánh mang hoa thuộc hai giống Cát Tường đơn: giống hoa màu trắng và giống hoa màu tím.

### Phương pháp

*Khảo sát ảnh hưởng của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong sự phát triển chồi từ khúc cắt chồi ngọn cây in vitro*

Các đoạn thân mang chồi nách ở các vị trí thứ 2, 3, 4, 5, 6 (tính từ chồi ngọn) được cô lập từ nhánh mang hoa thuộc giống Cát Tường trắng và tím. Các đoạn thân được rửa lần lượt dưới vòi nước (30 phút), xà phòng (10 phút) và nước cất. Lắc mẫu với ethanol 70 % (1 phút) và rửa sạch bằng nước cất. Tiếp tục khử trùng bằng dung dịch HgCl<sub>2</sub> 0,1% có bổ sung tween 20 (4giọt/ 500 mL dung dịch) (10 phút) và rửa lại bằng nước cất vô trùng. Cắt bỏ các phần mô bị tổn thương thành các đoạn thân (dài 2 cm, rộng 2 cm) có mang chồi và cấy vào các ống nghiệm chứa 10 mL môi trường Murashige và Skoog (MS) [3]. Sau 6 tuần nuôi cấy, các chồi nách từ các đoạn thân trên phát triển thành các cây *in vitro*. Các khúc cắt chồi ngọn (dài 6 mm, rộng 4 mm và mang 2 phác thể lá) được cô lập từ cây *in vitro* và cấy vào ống nghiệm chứa môi trường MS hay MS có bổ sung chất điều hòa tăng trưởng thực vật riêng lẻ, ở các nồng độ khác nhau: BA (0,25; 0,5 hay 1 mg/L), kinetin (0,25; 0,5 hay 1 mg/L), GA<sub>3</sub> (0,25; 0,5 hay 1 mg/L), IAA (0,1; 0,25 hay 0,5 mg/L) hay ethrel (25; 50 hay 75 mg/L).

*Khảo sát ảnh hưởng của sự phối hợp BA và GA<sub>3</sub> trên sự phát triển chồi từ khúc cắt chồi ngọn cây in vitro và khúc cắt mô phân sinh ngọn chồi cây trong vườn*

Các khúc cắt chồi ngọn cây *in vitro* (dài 6 mm, rộng 4 mm) hay khúc cắt mô phân sinh ngọn chồi (dài 250 μm, rộng 150 μm) mang mô phân sinh ngọn chồi với hai phác thể lá được cô lập từ chồi nách cây Cát Tường trắng hay tím trồng trong vườn (sau khi vô trùng) và nuôi cấy trên môi trường MS hay MS có bổ sung BA 0,5 mg/L; GA<sub>3</sub>

1,0 mg/L; BA 0,5 mg/L và GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L; hay BA 0,5 mg/L, GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L và IAA 0,25 mg/L.

*Khảo sát ảnh hưởng của sự phối hợp BA, GA<sub>3</sub> và hủy mô phân sinh ngọn chồi trên sự phát triển chồi*

Các khúc cắt mô phân sinh ngọn chồi cây *in vitro* (dài 250 μm, rộng 150 μm) đã bị hủy đỉnh (bằng cách dùng kim nhọn có đường kính 150 μm đâm vào vùng trung tâm với độ sâu 1 mm dưới kính hiển vi soi nổi) được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA 0,5 mg/L hoặc GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L riêng lẻ hay phối hợp.

Tất cả các mẫu cấy được đặt nuôi ở nhiệt độ 22 ± 2 °C, ánh sáng 2000 ± 200 lux (12/24 giờ), ẩm độ 60 ± 5 %. Các biến đổi hình thái từ khúc cắt chồi được theo dõi theo thời gian. Số chồi, số rễ và chiều cao chồi được xác định sau 2 tuần nuôi cấy. Kết quả là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại, mỗi lần 10 mẫu cấy.

*Phân tích sự thay đổi hình thái giải phẫu*

Các mẫu cấy được cố định trong dung dịch FAA (acetic acid: formalin: ethanol 95 %, với tỷ lệ 5:10:50:35 v/v). Sau 20 giờ, loại FAA bằng ethanol 70 %, đặt mẫu cấy lần lượt trong một chuỗi các dung dịch ethanol (70; 85; 95; 100 %) và butanol 100% để loại nước. Sau đó, mẫu được đặt trong parafin tan ở 56 °C (Merck) và cắt dọc thành các lát mỏng 7 μm nhờ máy vi phẫu (Rotary microtome, Microm HM304E). Các lát mỏng parafin mang mẫu được dán trên lam nhờ dung dịch gelatin 3 %. Sự loại parafin được thực hiện bằng cách đặt các lam mang các lát mỏng parafin lần lượt trong các dung dịch methylocyclohexan, ethanol (100; 95; 85; 70; 50 và 30%) và nước cất [4, có thay đổi]. Cuối cùng, mẫu được nhuộm bằng phẩm nhuộm hai màu (đỏ carmin và xanh iod) và quan sát dưới kính hiển vi quang học (Kruss MBL 2100) ở các độ phóng đại 4 và 10 lần.

*Đo cường độ hô hấp*

Cường độ hô hấp (μmol O<sub>2</sub>/g trọng lượng tươi/giờ) của mẫu cấy chồi ngọn ở các giai đoạn

phát triển khác nhau được xác định nhờ điện cực oxygen, ở 27 °C, trong tối (máy Leaflab 2/LD2, Hansatech).

*Xác định hoạt tính các chất điều hòa tăng trưởng thực vật*

Các chất điều hòa tăng trưởng thực vật auxin, cytokinin, gibberellin và abscisic acid (dạng tự do) có trong đoạn thân mang chồi và khúc cắt chồi ngọn *in vitro* được ly trích và phân đoạn nhờ các dung môi hữu cơ, pH thích hợp và thực hiện sắc ký trên bản mỏng silicagel 60 F254 (Merk) ở 25 °C với dung môi di chuyển chloroform: methanol: acetic acid (80:15:5). Vị trí của các hormon tăng trưởng thực vật được phát hiện nhờ quan sát trực tiếp dưới tia UV ở bước sóng 254 nm so với với IAA, zeatin, gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) và abscisic acid (ABA) tinh khiết [5]. Hoạt tính của các hormon tăng trưởng thực vật được đo bằng sinh trắc nghiệm: diệp tiêu lúa (*Oryzasativa* L.) cho auxin và abscisicacid, từ diệp dưa leo

(*Cucumissativus* L.) cho cytokinin, cây mầm xã lách (*Lactucasativa* L.) cho gibberellin [5, 8].

*Xử lý thống kê*

Kết quả thí nghiệm được phân tích bằng chương trình thống kê SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) dùng cho Window phiên bản 15.0. Sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 95 % của giá trị được thể hiện bởi các mẫu tự hoặc dấu \* kèm theo.

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Ảnh hưởng của chất điều hòa tăng trưởng thực vật trên sự phát triển chồi từ khúc cắt chồi ngọn cây *in vitro*

Trên môi trường MS, có sự gia tăng số chồi và chiều cao chồi theo thời gian ở cả hai giống Cát Tườnghoa trắng và tím. Ngược lại, sự phát triển chiều cao của chồi ở Cát Tường tím mạnh hơn Cát Tường trắng (Bảng 1).

**Bảng 1.** Sự phát triển chồi từ đoạn thân mang chồi được cô lập từ các nhánh mang hoa giống Cát Tường hoa trắng hay tím theo thời gian nuôi cấy trên môi trường

Thời gian nuôi cấy (tuần)	Số chồi/mẫu cấy		Chiều cao chồi (cm)	
	Trắng	Tím	Trắng	Tím
3	2,50 ± 0,26 <sup>c</sup>	2,07 ± 0,23 <sup>c</sup>	3,11 ± 0,90 <sup>c</sup>	3,55 ± 0,32 <sup>c</sup>
4	3,83 ± 0,27 <sup>b</sup>	3,30 ± 0,23 <sup>b</sup>	3,65 ± 0,38 <sup>bc*</sup>	6,08 ± 0,53 <sup>b*</sup>
5	5,00 ± 0,61 <sup>b*</sup>	3,69 ± 0,47 <sup>b*</sup>	4,81 ± 0,52 <sup>ab*</sup>	7,84 ± 0,72 <sup>b*</sup>
6	8,58 ± 0,62 <sup>a*</sup>	6,92 ± 0,54 <sup>a*</sup>	6,12 ± 0,57 <sup>a*</sup>	12,12 ± 0,89 <sup>a*</sup>

Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p = 0,05$  (Duncan's test).

Trong cùng một chỉ tiêu theo dõi (số chồi hay chiều cao chồi), các số trung bình trong hàng với các ký hiệu (\*) khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p = 0,05$  (T-test).

Trên môi trường có bổ sung các chất điều hòa tăng trưởng thực vật (BA, kinetin, IAA, GA<sub>3</sub> hay ethrel) ở các nồng độ khác nhau, tất cả các mẫu cấy đều có sự gia tăng số chồi sau 2 tuần nuôi cấy. Số chồi/mẫu cấy đạt cao nhất trên môi trường có

bổ sung BA 0,5 mg/L. Sự bổ sung GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L giúp gia tăng số chồi và chiều cao chồi. Trong trường hợp bổ sung IAA 0,25 hay 0,5 mg/L có sự hình thành và phát triển các rễ bất định (Bảng 2).

**Bảng 2.** Ảnh hưởng của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trên sự phát triển chồi từ khúc cắt chồi ngọn ở cây Cát Tường hoa trắng *in vitro* sau 2 tuần nuôi cấy

Chất điều hoà tăng trưởng thực vật	Nồng độ (mg/L)	Số chồi/ mẫu cấy	Chiều cao chồi ngọn (cm)	Số rễ/mẫu cấy
Đối chứng (MS)		1,60 ± 0,22 <sup>h</sup>	0,73 ± 0,07 <sup>b</sup>	-
BA	0,25	5,90 ± 0,57 <sup>ab</sup>	1,14 ± 0,06 <sup>b</sup>	-

	0,5	6,20 ± 0,87 <sup>a</sup>	0,71 ± 0,03 <sup>b</sup>	-
	1,0	4,80 ± 0,36 <sup>bc</sup>	0,93 ± 0,03 <sup>b</sup>	-
KINETIN	0,25	4,60 ± 0,31 <sup>bc</sup>	1,13 ± 0,08 <sup>b</sup>	-
	0,5	4,60 ± 0,34 <sup>bc</sup>	1,22 ± 0,10 <sup>b</sup>	-
	1,0	4,70 ± 0,50 <sup>bc</sup>	0,74 ± 0,08 <sup>b</sup>	-
GA <sub>3</sub>	0,25	3,70 ± 0,47 <sup>cdef</sup>	1,44 ± 0,12 <sup>b</sup>	-
	0,5	3,30 ± 0,33 <sup>cdef</sup>	1,58 ± 0,58 <sup>b</sup>	-
	1,0	2,90 ± 0,18 <sup>efgh</sup>	3,00 ± 1,34 <sup>a</sup>	-
IAA	0,10	1,70 ± 0,26 <sup>gh</sup>	1,29 ± 0,08 <sup>b</sup>	-
	0,25	2,67 ± 0,65 <sup>efgh</sup>	1,22 ± 0,07 <sup>b</sup>	3,60 ± 0,24 <sup>*</sup>
	0,50	3,10 ± 0,46 <sup>defg</sup>	1,51 ± 0,11 <sup>b</sup>	7,80 ± 0,58 <sup>*</sup>
ETHREL	25	3,40 ± 0,50 <sup>cdef</sup>	1,25 ± 0,11 <sup>b</sup>	-
	50	4,50 ± 0,65 <sup>bcd</sup>	1,00 ± 0,14 <sup>b</sup>	-
	75	2,11 ± 0,31 <sup>fgh</sup>	0,98 ± 0,05 <sup>b</sup>	-

Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p = 0,05$  (Duncan's test).

(-), mẫu cấy không có sự tạo rễ, (\*), Khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p = 0,05$  (T-test).

**Ảnh hưởng của sự phối hợp BA và GA<sub>3</sub> trên sự phát triển chồi từ khúc cắt chồi ngọn cây Cát Tường *in vitro* và khúc cắt mô phân sinh ngọn chồi cây trong vườn**

Với mẫu cấy là khúc cắt chồi ngọn cây Cát Tường *in vitro*, sự phối hợp bổ sung BA 0,5 mg/L

và GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L kích thích sự gia tăng số chồi, cải thiện chiều cao chồi và gia tăng đường kính thân mạnh hơn so với trường hợp bổ sung BA hay GA<sub>3</sub> riêng lẻ ở cùng nồng độ hoặc đối chứng (Bảng 3, 4).

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của sự phối hợp BA và GA<sub>3</sub> trên sự phát triển chồi từ khúc cắt chồi ngọn cây Cát Tường *in vitro* sau 2 tuần nuôi cấy

Chất điều hòa tăng trưởng thực vật	Cát Tường hoa trắng		Cát Tường hoa tím	
	Số chồi/mẫu cấy	Chiều cao chồi (cm)	Số chồi/mẫu cấy	Chiều cao chồi (cm)
Đối chứng (MS)	4,20 ± 0,53 <sup>c</sup>	1,30 ± 0,12 <sup>c</sup>	6,00 ± 0,62 <sup>ef</sup>	1,40 ± 0,07 <sup>c</sup>
BA 0,5 mg/L	10,10 ± 1,44 <sup>b</sup>	1,11 ± 0,06 <sup>c</sup>	8,78 ± 0,46 <sup>cd</sup>	1,27 ± 0,10 <sup>c</sup>
GA <sub>3</sub> 1,0 mg/L	5,20 ± 0,51 <sup>c</sup>	3,29 ± 0,21 <sup>a</sup>	7,34 ± 0,89 <sup>cd</sup>	3,57 ± 0,26 <sup>a</sup>
BA 0,5 mg/L và GA <sub>3</sub> 1,0 mg/L	14,00 ± 1,33 <sup>a</sup>	1,76 ± 0,13 <sup>bc</sup>	12,50 ± 0,70 <sup>ab</sup>	1,93 ± 0,07 <sup>b</sup>

Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p = 0,05$  (Duncan's test).

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của sự phối hợp BA và GA<sub>3</sub> trên sự gia tăng đường kính khúc cắt chồi ngọn cây Cát Tường trắng *in vitro* sau 2 tuần nuôi cấy

Chất điều hòa tăng trưởng thực vật	Đường kính thân (μm)
Đối chứng (MS)	855,40 ± 20,91 <sup>d</sup>
BA 0,5 mg/L	1937,00 ± 43,11 <sup>b</sup>
GA <sub>3</sub> 1,0 mg/L	1087,80 ± 33,56 <sup>c</sup>
BA 0,5 mg/L và GA <sub>3</sub> 1,0 mg/L	3068,00 ± 183,15 <sup>a</sup>

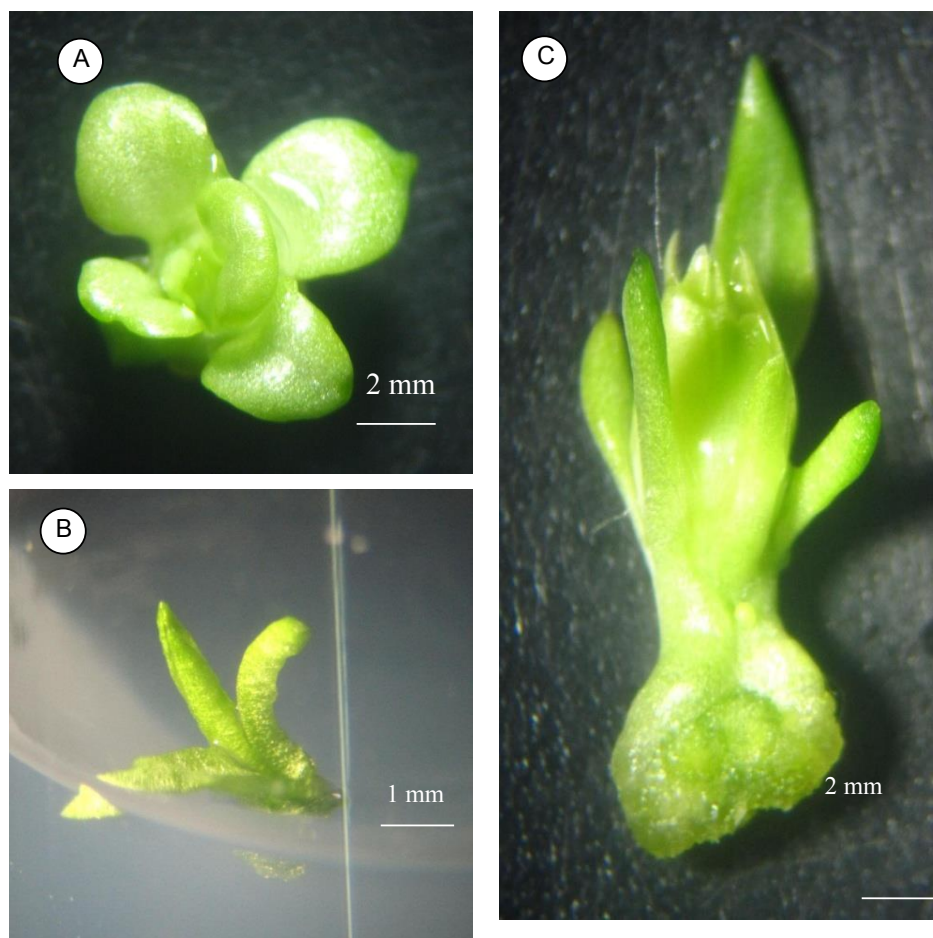
Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p = 0,05$  (Duncan's test).

Với mẫu cấy là mô phân sinh ngọn chồi cây trong vườn, sự phối hợp bổ sung BA 0,5 mg/L và GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L vừa giúp gia tăng số chồi vừa cải thiện chiều cao chồi (Bảng 5).

**Bảng 5.** Ảnh hưởng của sự phối hợp BA và GA<sub>3</sub> trên sự phát triển chồi từ khúc cắt mô phân sinh ngọn chồi cây trong vườn sau 4 tuần nuôi cấy

Chất điều hòa tăng trưởng thực vật	Cát Tường hoa trắng		Cát Tường hoa tím	
	Số chồi/mẫu cây	Chiều cao chồi (cm)	Số chồi/mẫu cây	Chiều cao chồi (cm)
Đối chứng (MS)	1,25 ± 0,16 <sup>d</sup>	1,18 ± 0,09 <sup>c</sup>	1,60 ± 0,24 <sup>d</sup>	1,20 ± 0,08 <sup>d</sup>
BA 0,5 mg/L	6,00 ± 0,36 <sup>b</sup>	5,30 ± 0,43 <sup>b</sup>	3,00 ± 0,51 <sup>b</sup>	7,00 ± 0,27 <sup>c</sup>
GA <sub>3</sub> 1,0 mg/L	3,60 ± 0,54 <sup>c</sup>	7,40 ± 0,24 <sup>a</sup>	2,57 ± 0,20 <sup>b</sup>	11,80 ± 0,53 <sup>a</sup>
BA 0,5 mg/L và GA <sub>3</sub> 1,0 mg/L	9,92 ± 0,78 <sup>a</sup>	8,10 ± 0,76 <sup>a</sup>	5,67 ± 0,21 <sup>a</sup>	10,00 ± 0,94 <sup>b</sup>

Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p = 0,05$  (Duncan's test).



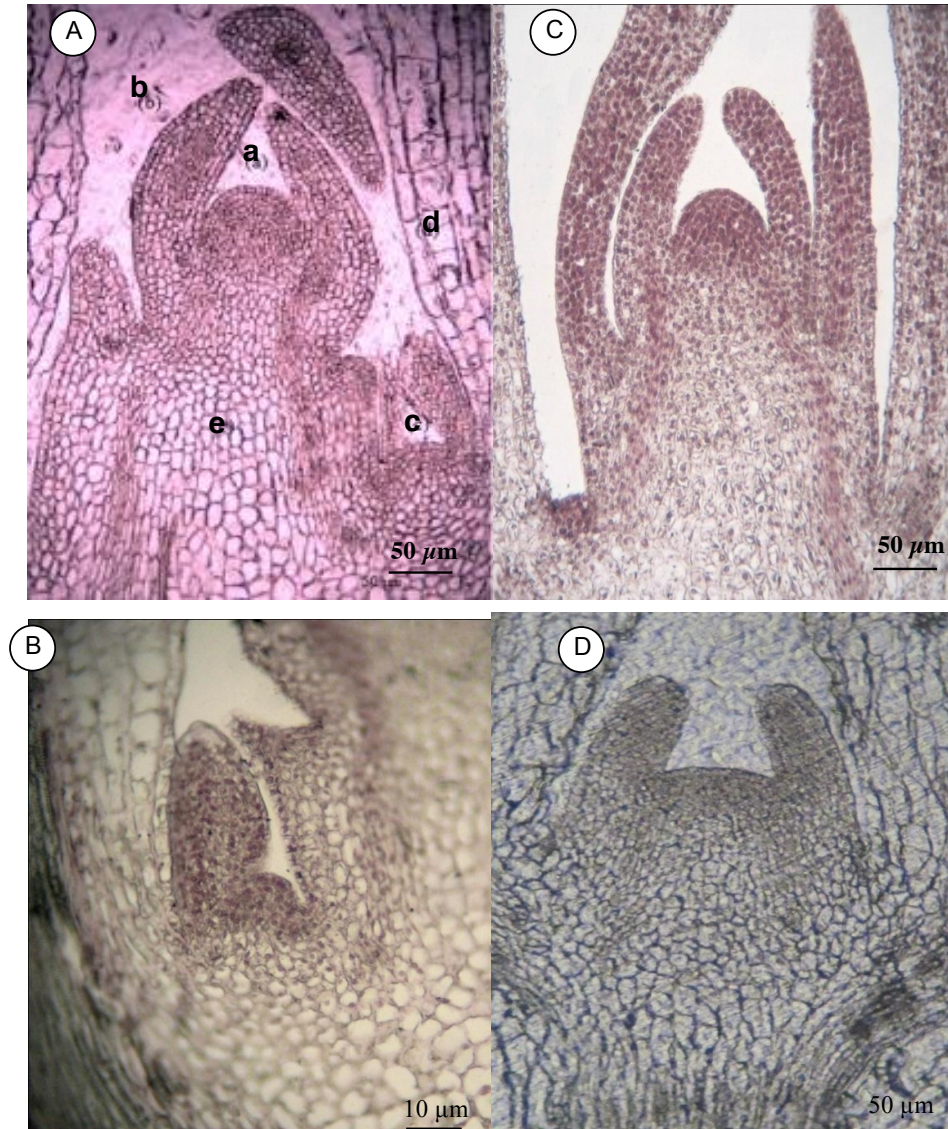
**Hình 1.** Sự phát triển chồi từ khúc cắt mô phân sinh ngọn chồi cây Cát Tường trắng trồng trong vườn trên môi trường MS có bổ sung các chất điều hòa tăng trưởng thực vật khác nhau:  
(A) BA 0,5 mg/L; (B) GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L (C) BA 0,5 mg/L và GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L

**Các biến đổi hình thái trong quá trình hình thành và phát triển chồi**

Trên môi trường MS, vòm mô phân sinh ngọn chồi có dạng tròn (Hình 2A). Khi bổ sung GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L, vòm mô phân sinh ngọn chồi nhô cao hơn (Hình 2C). Khi phối hợp bổ sung BA 0,5mg/L và

GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L vòm mô phân sinh mở rộng (Hình 2D). Trên các môi trường có bổ sung IAA, ethrel hay GA<sub>3</sub>, sự phát triển chồi xảy ra tại vị trí chồi nách. Trường hợp có bổ sung BA 0,5 mg/L (riêng

lê hay phối hợp với GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L), sự gia tăng số chồi bao gồm sự phát triển chồi từ chồi nách và sự tạo mới chồi từ vùng tế bào biểu bì ở phần gốc của khúc cắt chồi ngọn (Hình 3).



**Hình 2.** Các biến đổi hình thái mô phân sinh ngọn chồi ở cây Cát Tường *in vitro* khi bổ sung các chất điều hòa tăng trưởng thực vật

- (A). Cấu trúc của mô phân sinh ngọn chồi (a), phác thể lá (b), chồi bên (c), lá (d), và vùng mô phân sinh lồi (e) trên môi trường MS.  
(B). Vòm mô phân sinh chồi bên trên môi trường MS.  
(C). Vòm mô phân sinh ngọn chồi cao trên môi trường có bổ sung GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L.  
(D). Vòm mô phân sinh chồi bên tăng trưởng mạnh trên môi trường có bổ sung BA 0,5 mg/L và GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L.

**Sự thay đổi cường độ hô hấp trong sự phát triển chồi từ khúc cắt chồi ngọn cây Cát Tường trắng *in vitro***

Cường độ hô hấp của mẫu cây chồi ngọn tăng trưởng trên môi trường MS có bổ sung BA 0,5 mg/L và GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L đạt giá trị cao nhất, thấp hơn ở mẫu cây trên môi trường MS có bổ sung BA 0,5 mg/L hay GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L, và thấp nhất ở mẫu cây trên môi trường MS (Bảng 6).

**Bảng 6.** Cường độ hô hấp của các khúc cắt chồi ngọn cây Cát Tường trắng *in vitro* tăng trưởng trên môi trường MS có bổ sung các chất điều hòa tăng trưởng thực vật khác nhau sau 10 ngày nuôi cấy

Chất điều hòa tăng trưởng thực vật	Cường độ hô hấp (μmol O <sub>2</sub> /g TLT/giờ)
Đối chứng (MS)	11,91 ± 0,25 <sup>d</sup>
BA 0,5 mg/L	27,30 ± 0,42 <sup>b</sup>
GA <sub>3</sub> 1,0 mg/L	15,30 ± 0,46 <sup>c</sup>
BA 0,5 mg/L và GA <sub>3</sub> 1,0 mg/L	38,91 ± 0,40 <sup>a</sup>

Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p = 0,05$  (Duncan's test).

**Sự thay đổi hoạt tính các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong quá trình phát triển chồi**

Hoạt tính auxin và cytokinin trong đoạn thân

**Bảng 8.** Hoạt tính tương đương của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong khúc cắt chồi ngọn cây Cát Tường trắng *in vitro* tăng trưởng trên môi trường MS có bổ sung các chất điều hòa tăng trưởng thực vật khác nhau sau 10 ngày nuôi cấy

Chất điều hòa tăng trưởng thực vật xử lý	Hoạt tính chất điều hòa tăng trưởng thực vật (mg/L)			
	Auxin	Cytokinin	Gibberellin	Acid abscisic
Đối chứng (MS)	0,68 ± 0,14 <sup>b</sup>	0,68 ± 0,06 <sup>c</sup>	1,09 ± 0,13 <sup>b</sup>	0,86 ± 0,00 <sup>b</sup>
BA 0,5 mg/L	0,60 ± 0,00 <sup>b</sup>	3,23 ± 0,27 <sup>a</sup>	1,10 ± 0,14 <sup>b</sup>	0,86 ± 0,00 <sup>b</sup>
GA <sub>3</sub> 1,0 mg/L	0,60 ± 0,00 <sup>b</sup>	2,40 ± 0,59 <sup>b</sup>	2,98 ± 0,22 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>
BA 0,5 mg/L và GA <sub>3</sub> 1,0 mg/L	1,80 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,63 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,40 ± 0,27 <sup>b</sup>	1,20 ± 0,26 <sup>a</sup>

Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p = 0,05$  (Duncan's test).

**Ảnh hưởng của sự phối hợp các chất điều hòa tăng trưởng thực vật và hủy mô phân sinh ngọn chồi trên sự phát triển chồi từ khúc cắt chồi ngọn cây Cát Tường *in vitro***

Sau 2 tuần nuôi cấy trên môi trường MS có sự phối hợp bổ sung BA 0,5 mg/L và GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L, sự hủy mô phân sinh ngọn chồi làm giảm số chồi

mang chồi được cô lập từ nhánh mang hoa cây Cát Tường trắng cao hơn so với cây Cát Tường tím. Ngược lại, hoạt tính gibberellin ở Cát Tường tím cao hơn Cát Tường trắng (Bảng 7).

**Bảng 7.** Hoạt tính tương đương của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật (dạng tự do) trong đoạn thân mang chồi cây Cát Tường trồng trong vườn

Giống trồng	Hoạt tính các chất điều hòa tăng trưởng thực vật (mg/L)			
	Auxin	Cytokinin	Gibberellin	Acid abscisic
Trắng	0,80 ± 0,10	3,11 ± 0,21	0,53 ± 0,01	1,34 ± 0,05
Tím	0,58 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,80 ± 0,02	0,85 ± 0,01
T-test	*	*	*	*

(\*), Các số trung bình trong cột khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p = 0,05$  (T-test)

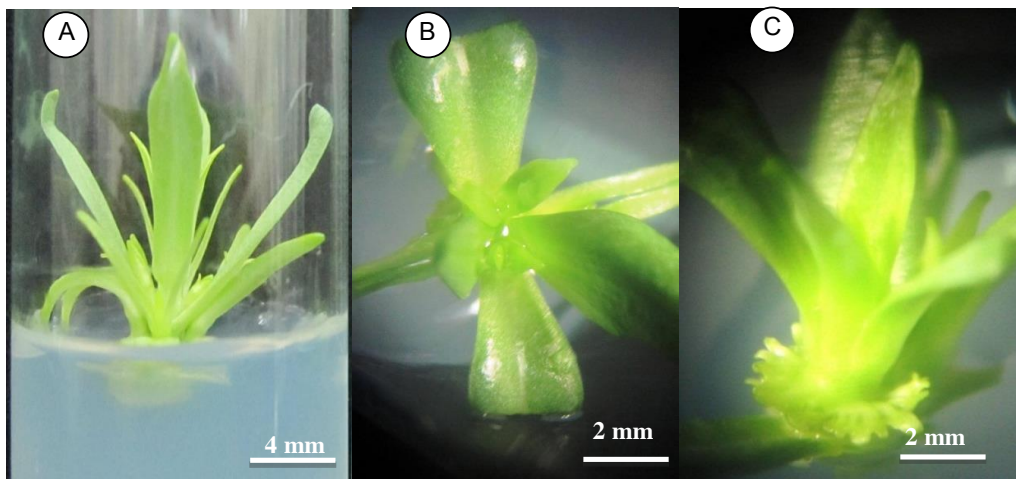
Hoạt tính auxin và cytokinin của khúc cắt chồi ngọn tăng trưởng trên môi trường MS có bổ sung BA hay GA<sub>3</sub> (riêng lẻ hoặc phối hợp) cao hơn so với đối chứng. Hoạt tính gibberellin của khúc cắt chồi ngọn tăng trưởng trên môi trường MS có bổ sung GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L đạt giá trị cao nhất, ngược lại hoạt tính acid abscisic đạt giá trị thấp nhất (Bảng 8).

phát triển từ chồi nách, chồi tạo mới và tổng số chồi. Sự bổ sung IAA 0,25 mg/L vào môi trường này làm giảm sự phát triển chồi từ chồi nách và sự tạo mới chồi từ khúc cắt chồi ngọn nguyên vẹn, nhưng gia tăng số chồi tạo mới ở khúc cắt chồi ngọn bị hủy mô phân sinh ngọn chồi (Bảng 9, Hình 3).

**Bảng 9.** Ảnh hưởng của sự phối hợp auxin, cytokinin và hủy mô phân sinh ngọn chồi trong sự phát triển chồi từ khúc cắt chồi ngọn cây Cát Tường trắng *in vitro* sau 2 tuần nuôi cấy

Chất điều hòa tăng trưởng thực vật	BA 0,5 mg/L và GA <sub>3</sub> 1,0 mg/L		BA 0,5 mg/L, GA <sub>3</sub> 1,0 mg/L và IAA 0,25 mg/L	
	Đối chứng	Hủy mô phân sinh ngọn chồi	Đối chứng	Hủy mô phân sinh ngọn chồi
Tổng số chồi/mẫu cấy	17,58 ± 1,79 <sup>a</sup>	7,50 ± 0,98 <sup>c</sup>	8,28 ± 0,60 <sup>c</sup>	10,14 ± 1,05 <sup>b</sup>
Chồi hình thành từ chồi nách	6,33 ± 0,39 <sup>a</sup>	3,00 ± 0,30 <sup>b</sup>	3,89 ± 0,35 <sup>b</sup>	1,78 ± 0,22 <sup>c</sup>
Chồi tạo mới	11,25 ± 1,97 <sup>a</sup>	4,50 ± 0,95 <sup>c</sup>	4,00 ± 0,65 <sup>c</sup>	8,43 ± 0,99 <sup>b</sup>

Các số trung bình trong hàng với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p = 0,05$  (Duncan's test).



**Hình 3.** Ảnh hưởng của sự hủy mô phân sinh ngọn chồi lên sự phát triển chồi từ khúc cắt chồi ngọn cây Cát Tường trắng *in vitro* sau 2 tuần nuôi cấy

(A). Mẫu đối chứng tăng trưởng trên môi trường MS có bổ sung BA 0,5 mg/L và GA<sub>3</sub> 1 mg/L.

(B). Mẫu cây bị hủy mô phân sinh ngọn chồi trên môi trường MS có bổ sung BA 0,5 mg/L và GA<sub>3</sub> 1 mg/L.

(C). Mẫu cây bị hủy mô phân sinh ngọn chồi trên môi trường MS có bổ sung BA 0,5 mg/L và GA<sub>3</sub> 1 mg/L và IAA 0,25 mg/L.

Sự hiện diện của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật nội sinh trong đoạn thân mang chồi quyết định sự phát sinh hình thái. Hoạt tính cytokinin và auxin trong đoạn thân mang chồi cây Cát Tường trắng rất cao so với Cát Tường tím trong khi hoạt tính gibberellin trong chồi Cát Tường tím cao hơn Cát Tường trắng (Bảng 7). Do đó, khi nuôi cấy trên môi trường MS, số chồi phát triển từ đoạn thân mang chồi cây Cát Tường trắng luôn cao hơn so với Cát Tường tím; ngược lại, sự gia tăng chiều cao chồi ở Cát Tường tím cao hơn Cát Tường trắng (Bảng 1). Vai trò của auxin, cytokinin và gibberellin nội sinh trong sự phát triển chồi một lần nữa được chứng minh khi phối hợp bổ sung

cytokinin và gibberellin vào môi trường nuôi cấy. Sự phối hợp bổ sung BA 0,5 mg/L và GA<sub>3</sub> 1 mg/L làm tăng hoạt tính cytokinin và auxin nội sinh. Sự gia tăng hoạt tính auxin nội sinh trong trường hợp sử dụng phối hợp BA và GA<sub>3</sub> đã làm cho tỷ lệ auxin/cytokinin thiên về cytokinin, dẫn đến số chồi cũng như chiều cao chồi gia tăng (Bảng 5 và 8). Sự phối hợp BA và GA<sub>3</sub> giúp tăng số chồi và chiều cao chồi cũng được ghi nhận trong trường hợp phát sinh chồi từ mảnh cây lá *Eustoma grandiflorum* Grise [7]. Sự phát sinh chồi đòi hỏi hoạt động sinh lý mạnh của mẫu cấy, cần nguồn năng lượng ATP được cung cấp bởi hoạt động hô hấp cho quá trình tái lập tăng trưởng và phát triển



[9]. Cường độ hô hấp của các khúc cắt chồi ngọn tăng trưởng trên môi trường có bổ sung BA 0,5 mg/L tăng rất mạnh, đặc biệt khi có sự phối hợp với GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L (Bảng 6).

Cũng như ở các cây họ kén nói chung [10], mô phân sinh ngọn chồi cây Cát Tường bao gồm ba lớp L1, L2 và L3 hay ba vùng: vùng trung tâm, vùng ngoại vi và vùng mô phân sinh lõi (Hình 4). Dưới kính hiển vi quang học, vòm mô phân sinh ngọn chồi cây Cát Tường trắng *in vitro* 6 tuần tuổi tăng trưởng trên môi trường MS (khúc cắt chồi ngọn ngày 0) có dạng tròn. Vòm mô phân sinh ngọn chồi có sự nhô cao, các phác thể lá kéo dài khi được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L hay chuyển sang trạng thái bằng phẳng và tăng rộng khi nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA 0,5 mg/L riêng lẻ hay phối hợp với GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L (Hình 4-7). Sự tăng rộng của vòm mô phân sinh ngọn chồi có liên quan đến khả năng phát sinh cơ quan, tăng sinh chồi ở mẫu cấy. Sự kéo dài của các tế bào ở vùng lõi có vai trò quan trọng trong sự kéo dài lông [11] và gia tăng chiều cao chồi. Sự hủy mô phân sinh ngọn chồi bằng cách dùng kim hủy đỉnh dẫn đến sự hình thành các trung tâm tổ chức mô phân sinh mới cũng đã được ghi nhận ở cây cà chua [12] hay chuối [13]. Tuy

nhiên, trên môi trường có bổ sung BA 0,5 mg/L và GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L, sự hủy mô phân sinh ngọn chồi làm giảm mạnh số chồi hình thành từ chồi nách và số chồi tạo mới so với đối chứng (không hủy mô phân sinh ngọn chồi) (Bảng 9, Hình 3). Sự toàn vẹn của mô phân sinh ngọn chồi có vai trò quyết định trong sự phát triển chồi. Sự hủy mô phân sinh ngọn chồi tương ứng với sự hủy nguồn auxin nội sinh được tổng hợp ở ngọn chồi, do đó làm giảm sự phát triển của chồi nách hay sự tạo mới chồi ở cây Cát Tường trắng *in vitro*. Chính vì vậy, sự bổ sung IAA 0,25 mg/L vào môi trường MS có BA 0,5 mg/L và GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L đã giúp gia tăng số chồi tạo mới, cải thiện sự phát triển chồi (Bảng 9).

#### KẾT LUẬN

Sự phối hợp bổ sung BA 0,5 mg/L và GA<sub>3</sub> 1,0 mg/L giúp gia tăng số lượng và cải thiện chiều cao chồi từ khúc cắt chồi ngọn và khúc cắt mô phân sinh ngọn chồi. Sự phát triển chồi từ khúc cắt chồi ngọn cây Cát Tường trắng *in vitro* bao gồm sự phát triển chồi tại các vị trí nách lá và sự tạo mới chồi trực tiếp từ các tế bào ngoại vi ở vùng vỏ của thân. Sự tạo mới chồi từ khúc cắt chồi ngọn chịu ảnh hưởng bởi tính toàn vẹn của vùng mô phân sinh hay auxin ở ngọn chồi.

## Roles of plant growth regulators on the shoot development from the shoot apical meristem of *Eustoma grandiflorum* (RAF.) shiners

- **Ngo Thạch Quỳnh Huyền**  
Phu Yen Plant Protection Subdepartment
- **Tran Thanh Hương**
- **Bui Trang Việt**  
University of Science, VNU-HCM

#### ABSTRACT

*In this paper, plant growth regulators including 6-benzylaminopurine (BA), kinetin, indole-3-acetic acid (IAA), gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) and ethep, at different concentrations were used*

*individually or in combination to induce adventitious shoots from the explants, which contain shoot apical meristem and young leaves. Histological and physiological changes during shoot development were analysed. The highest*

shoot initiation was achieved on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 0.5 mg/L BA and 1.0 mg/L GA<sub>3</sub>. Regenerated shoots were rooted on MS medium with 0.25 or 0.5 mg/L IAA. Shoot development from in vitro shoot explants initiated from the axil and cortex of stem. The

**Keywords:** adventitious shoot, apical meristem ablation, *Eustoma grandiflorum*, plant growth regulators, shoot apical meristem

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. R. Norikoshi, T. Shibata, K. Ichimura, Cell division and expansion in petals during flower development and opening in *Eustoma grandiflorum*, *The Horticulture Journal*, 85,2, 154–160 (2016).
- [2]. M. Zaccari, E. Nurit, Floral transition in lisianthus (*Eustoma grandiflorum*), *Scientia horticulturae*, 95, 4, 333–340 (2002).
- [3]. T. Murashige, F. Skoog, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Plant Physiol.*, 15,3, 473–497 (1962).
- [4]. K.S. Lee, F.J. Zapata-Arias, H. Brunner, R. Afza, Histology of somatic embryoinitiation and organogenesis from rhizome explants of *Musa* sp., *Tissue and Organ Culture*, 51,1–8 (1997).
- [5]. T. Yokota, N. Murofushi, N. Takahashi, Extraction, purification, and identification, In *Hormonal Regulation of Development I. Molecular Aspects of Plant Hormones*, J. MacMillan, ed. (Berlin, Germany: Springer Verlag), 9, 113–201 (1980).
- [6]. Bùi Trang Việt, Tìm hiểu hoạt động của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật thiên nhiên trong hiện tượng rụng "bông" và "trái non" Tiêu (*Piper nigrum* L.), *Tạp san khoa học ĐHTH TPHCM*, 1, 155–165 (1992).
- [7]. A.F.M.J. Uddin, S.S. Rahman, H. Ahmad, S. Parvin, K. Momena, *In vitro*, Regeneration of *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum* Grise). *Int. J. Bus. Soc. Sci. Res.*, 5, 2, 126–135 (2017).
- [8]. H. Meidner, *Class experiments in Plant Physiology*, George Allen and Unwin, London (1984).
- [9]. L. Taiz, E. Zeiger, *Plant physiology*, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc, (2006).
- [10]. R.F. Evert, *Esau's Plant Anatomy. Meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*, John Wiley and Sons, (2006).
- [11]. Bùi Trang Việt, Sinh lý thực vật đại cương, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh, tr. 753 (2016).
- [12]. D. Reinhardt, M. Frenz, T. Mandel, C. Kuhlemeier, Microsurgical and laser ablation analysis of interactions between the zones and layers of the tomato shoot apical meristem, *Development*, 130, 4073–4083 (2003).
- [13]. Trần Thanh Hương, Phân tích các biến đổi hình thái học và sinh lý học trong quá trình phát sinh các cơ quan và phôi thể hệ ở một số giống chuối (*Musa* sp.). Luận án tiến sĩ sinh học. Đại Học Quốc Gia Thành Phố Hồ Chí Minh, (2011).