

NGHIÊN CỨU NHÂN GIỐNG HOA HỒNG CỔ SA PA VÀ HỒNG CỔ VÂN KHÔI BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY MÔ TẾ BÀO

Lê Thị Minh Thảo¹, Lê Hùng Lĩnh², Nguyễn Văn Hồng³,
Phạm Phương Thu⁴, Dương Thị Thanh Hương¹, Nguyễn Thị Tần¹, Triệu Thị Mùi¹,
Trần Ngọc Tuấn¹, Dương Thị Thảo Chinh⁵, Phạm Gia Khánh², Khuất Thị Mai Lương^{2,*}

¹Phân hiệu Đại học Thái Nguyên tại tỉnh Lào Cai

²Viện Di truyền Nông nghiệp

³Viện Khoa học Sự sống – Đại học Thái Nguyên

⁴Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

⁵Trường Cao đẳng Lào Cai

*Email: hoamoclantt_36@yahoo.com

TÓM TẮT

Hồng cổ Sa Pa và Vân Khôi hiện đang bị khai thác quá mức, thiếu nguồn giống chất lượng. Nghiên cứu này nhằm xây dựng quy trình nhân giống *in vitro* hai giống hồng cổ có giá trị. Kết quả cho thấy, xử lý khử trùng hiệu quả nhất cho hồng cổ Sa Pa là cồn 70% trong 15 phút, javel 5% trong 10 phút và HgCl₂ 0,1% trong 5 phút (tỉ lệ mẫu sạch và sống 81,1%). Đối với hồng cổ Vân Khôi, thời gian xử lý bằng cồn 70% rút ngắn còn 10 phút, đạt tỉ lệ mẫu sạch và sống 75,6%. Môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP cảm ứng chồi hiệu quả, chiều cao chồi 1,8 - 2,0 cm, trung bình 1,8 chồi/nách và 4,0 - 5,3 lá/chồi sau 6 tuần. Môi trường nhân nhanh tối ưu là MS + 1 mg/l BAP + 0,5 mg/l kinetin + 0,3 mg/l α -NAA, cho tỉ lệ tạo cụm chồi 91,1 - 92,2%, hệ số nhân chồi 2,8 - 2,9 lần sau 8 tuần. Môi trường ra rễ là MS + 0,5 mg/l IBA, đạt 88,9 - 94,4% chồi ra rễ, trung bình 3,6 - 3,7 rễ/chồi. Ở giai đoạn vườn ươm, giá thể 50% đất, 25% phân giun, 25% trấu hun cho tỉ lệ sống 78,9 - 82,1%, chiều cao 5,9 - 6,8 cm, 9,7 - 10,5 lá/cây. Phun phân bón lá Vinaf 30-20-10+TE giúp tăng tỉ lệ sống lên 85,6 - 87,7%, chiều cao 6,5 - 7,1 cm và 9,7 - 11,0 lá/cây. Quy trình là cơ sở phục vụ nhân giống hoa hồng cổ sạch bệnh, đồng nhất, quy mô lớn.

Từ khóa: Cây con, giá thể, nuôi cấy mô tế bào, hồng cổ Sa Pa, Vân Khôi, vườn ươm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa hồng là một trong những loài hoa thương mại quan trọng trong ngành công nghiệp hoa toàn cầu [1]. Tại Việt Nam, hoa hồng không chỉ là loài hoa phổ biến mà còn là một trong những loại hoa cắt cành chủ lực được xuất khẩu sang nhiều quốc gia. Diện tích trồng hoa hồng tại nước ta đã không ngừng mở rộng trong những năm gần đây và được dự báo sẽ tiếp tục gia tăng trong thời gian tới [2].

Trong số các giống hoa hồng bản địa, hồng cổ Sa Pa nổi bật với nhiều đặc điểm quý như: Dáng hoa tròn khum, cánh mềm, màu hồng cánh sen hoặc hồng đậm, hương thơm dịu dàng và đặc biệt

là khả năng thích nghi rộng, sinh trưởng tốt từ vùng khí hậu lạnh ẩm như Sa Pa đến các vùng ấm hơn ở đồng bằng sông Hồng và miền Nam. Ngoài giá trị thẩm mỹ, hồng cổ Sa Pa còn có hàm lượng tinh dầu cao, mở ra tiềm năng sử dụng trong sản xuất tinh dầu hoa hồng [3].

Tương tự, hồng cổ Vân Khôi (Rosa “Souvenir De la Malmaison”) là giống hoa hồng cổ có nguồn gốc từ Pháp, nổi tiếng với bông hoa to màu hồng phấn, hương thơm dễ chịu, thuộc nhóm hồng bụi quý hiếm được nhiều người ưa chuộng. Tuy nhiên, các giống hồng cổ này hiện chủ yếu được nhân giống bằng các phương pháp truyền thống như:

Giâm cành, chiết, ghép... có hiệu quả thấp, cây dễ thoái hóa, khó đảm bảo đồng nhất về chất lượng và thường xuyên nhiễm bệnh, ảnh hưởng tới năng suất và chất lượng hoa thương phẩm [4].

Trong bối cảnh đó, nuôi cấy mô thực vật là một hướng đi hiệu quả, giúp nhân giống nhanh chóng, quy mô lớn, tạo ra cây giống sạch bệnh và đồng nhất về mặt di truyền. Tuy nhiên, việc áp dụng kỹ thuật vi nhân giống trên cây hoa hồng – một loài thân bán gỗ, chứa nhiều tinh dầu thường gặp trở ngại do sự tích lũy các hợp chất phenol gây ức chế sinh trưởng, làm cây chậm phát triển, vàng lá hoặc chết trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*.

Trên thế giới và tại Việt Nam đã có một số nghiên cứu về nhân giống *in vitro* các giống hoa hồng như hồng cổ Sa Pa [5, 6], hồng com [7], hồng nhung Mê Linh [8], hoa hồng Vân Khôi [9] và hồng tỉ muội [10]. Tuy nhiên, chưa có công trình nào tập trung nghiên cứu đồng thời hai giống hồng cổ có giá trị là Sa Pa và Vân Khôi, kết hợp nghiên cứu giai đoạn thích nghi ngoài vườn ươm để nâng cao tỉ lệ sống của cây con *in vitro*.

Xuất phát từ thực tiễn đó, “*Nghiên cứu nhân giống hoa hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào*” được thực hiện nhằm góp phần hoàn thiện quy trình vi nhân giống, tạo nguồn cây giống sạch bệnh, đồng nhất và chất lượng cao phục vụ sản xuất thương mại.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu thực vật: Đoạn cành bánh tẻ mang mắt ngủ của giống hoa hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi được cung cấp bởi Phân hiệu Đại học Thái Nguyên tại tỉnh Lào Cai. Chiều dài cành 15 - 20 cm, đường kính cành 0,3 - 0,6 cm gồm 3 - 5 mắt ngủ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thí nghiệm

- Phương pháp khử trùng mẫu tạo vật liệu vô trùng:

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của một số hóa chất khử trùng đến khả năng tạo vật liệu sạch hai giống hoa hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi.

Cành bên có nách lá mang chồi ngủ chưa phát triển của hai giống hoa hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi được loại bỏ lá, để lại phần cuống lá. Sau đó, mẫu được rửa kỹ dưới vòi nước chảy để loại bỏ bụi bẩn, tiếp tục ngâm trong nước xà phòng loãng và chải nhẹ bằng chổi lông mềm, rồi rửa sạch lại bằng nước thường. Mẫu được tráng nhiều lần bằng nước cất và đựng trong bình Scott, chuẩn bị cho quá trình khử trùng trong điều kiện vô trùng.

Toàn bộ quá trình khử trùng được thực hiện trong tủ cấy vô trùng. Các mẫu trong bình Scott được xử lý theo các tổ hợp thí nghiệm với thời gian lắc trong cồn 70% lần lượt là: 0, 5, 10, 15, 20 phút, sau đó đều được xử lý tiếp bằng dung dịch javel 5% trong 10 phút. Cuối cùng, mẫu được ngâm trong HgCl₂ 0,1% trong 5 phút.

Sau mỗi bước xử lý, mẫu được tráng rửa bằng nước cất vô trùng 2 - 3 lần để loại bỏ hoàn toàn hóa chất dư. Các phần mô bị thâm đen (do ngấm thủy ngân) hoặc các phần mô già được cắt bỏ bằng panh và kéo vô trùng trước khi đưa vào môi trường nuôi cấy.

Các mẫu dài 2 - 3 cm, có ít nhất một mắt ngủ được cấy vào môi trường cơ bản MS bổ sung 30 g/l đường sucrose và 7 g/l agar, không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng. Mỗi công thức thí nghiệm gồm 30 mẫu/lần lặp lại × 3 lần lặp lại, được nuôi cấy ở điều kiện ánh sáng và nhiệt độ tiêu chuẩn trong phòng nuôi cấy. Các chỉ tiêu đánh giá gồm: Tỉ lệ mẫu sạch sống (%), tỉ lệ mẫu sạch chết (%), tỉ lệ mẫu nhiễm (%) sau 3 tuần nuôi cấy.

- Phương pháp tái sinh chồi:

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP đến khả năng tái sinh chồi từ mắt ngủ.

Các mẫu sạch được cấy chuyển sang môi trường MS + 30 g đường sucrose + 7 g/l Agar, bổ sung BAP ở các nồng độ 0,5; 1; 1,5; 2 mg/l để đánh giá khả năng tái sinh chồi từ mắt ngủ. Mỗi công thức thí nghiệm gồm 30 mẫu/lần lặp lại × 3 lần lặp lại.

Các chỉ tiêu đánh giá sau 6 tuần nuôi cấy gồm: Số chồi/mẫu, chiều cao chồi (cm), số

lá/chồi.

- Phương pháp nhân nhanh chồi:

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của BAP, Kinetin và α -NAA đến khả năng tạo cụm chồi.

Môi trường nhân nhanh chồi MS + 30 g đường sucrose + 7 g/l agar, bổ sung kinetin 0,5 mg/l kết hợp BAP nồng độ 1,0 mg/l và bổ sung α -NAA ở các nồng độ 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 mg/l. Mỗi công thức thí nghiệm gồm 30 mẫu/lần lặp lại $\times$ 3 lần lặp lại.

Các chỉ tiêu đánh giá gồm: Tỷ lệ mẫu tạo cụm chồi (%), chiều cao chồi (cm), hệ số nhân chồi (lần) và chất lượng chồi sau 8 tuần nuôi cấy (chồi có phẩm chất tốt: Màu xanh non, khỏe mạnh, mập mạp; chồi có phẩm chất trung bình: Màu xanh – vàng và nhỏ; chồi có phẩm chất xấu: Màu lá vàng nhạt và rụng).

- Phương pháp tạo cây hoàn chỉnh:

Thí nghiệm 4: Các chồi có chiều cao từ 2,5 - 3,5 cm được cấy chuyển sang môi trường MS + 0,4 g/l than hoạt tính + 30 g đường sucrose + 7 g/l agar bổ sung IBA nồng độ 0,3; 0,5; 1; 1,5; 2 mg/l để tạo cây con hoàn chỉnh. Mỗi công thức thí nghiệm gồm 30 mẫu/lần lặp lại $\times$ 3 lần lặp lại.

Các chỉ tiêu đánh giá gồm: Tỷ lệ ra rễ (%), số rễ/cây và chiều dài rễ (cm), chất lượng rễ sau 2 tuần nuôi cấy.

Các môi trường nuôi cấy được điều chỉnh ở độ pH 5,8, chiếu sáng 12 giờ trong ngày, với cường độ ánh sáng 2.000 - 3.000 lux, nhiệt độ phòng nuôi 23 $\pm$ 2°C, độ ẩm 50 - 60%.

- Huấn luyện cây ngoài vườn ươm:

Thí nghiệm 5: Nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể đến sự sinh trưởng và phát triển của hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi giai đoạn vườn ươm.

Cây con *in vitro* có chiều cao 3 - 4 cm, có từ 3 - 5 rễ được sử dụng để ươm vào giá thể theo các công thức khác nhau, các chậu cây được đặt ở giàn có trang bị lưới che màu đen và tưới nước bằng hệ thống phun sương. Diện tích: 4 CTTN $\times$ 5 m²/CTTN $\times$ 3 lần lặp = 60 m²; số chậu = 60 m² $\times$ 5 chậu/m² = 300 chậu (cây). Thời vụ trồng: Vụ thu (ngày 15/8). Các công thức bao gồm:

+ CT1: 50% đất: 25% phân chuồng hoai: 25% xơ

dừa (Đ/c).

+ CT2: Giá thể trồng cây VietGarden.

+ CT3: Giá thể trồng cây Chibas Thuycam.

+ CT4: 50% đất: 25% phân giun: 25% trấu hun.

Chỉ tiêu đánh giá sau 4 tuần: Tỷ lệ cây sống (%), chiều cao cây (cm), số lá/cây (lá).

Thí nghiệm 6: Nghiên cứu ảnh hưởng của một số dưỡng chất đến sinh trưởng, phát triển của hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi giai đoạn nhà lưới.

Cây con *in vitro* có chiều cao 3 - 4 cm, có từ 3 - 5 rễ được trồng trên giá thể 50% đất: 25% phân giun: 25% trấu hun. Phun các chất dinh dưỡng sau khi trồng cây con 10 ngày và định kỳ 7 ngày/lần theo các công thức khác nhau. Các chậu cây được đặt ở giàn có trang bị lưới che màu đen và tưới nước bằng hệ thống phun sương. Diện tích: 4 CTTN $\times$ 5 m²/CTTN $\times$ 3 lần lặp = 60 m²; số chậu = 60 m² $\times$ 5 chậu/m² = 300 chậu (cây). Thời vụ trồng: vụ thu (ngày 15/8). Các công thức bao gồm:

+ CT1: Phun nước lã (Đ/c).

+ CT2: Phun phân bón lá Đầu Trâu 501.

+ CT3: Phun phân bón lá hữu cơ Seaweed-Rong biển 95%.

+ CT4: Phun phân bón lá Vinaf 30-20-10+TE.

Liều lượng CT2: Phun phân bón lá Đầu Trâu 501 (pha 2 g/l lít nước/công thức); CT3: Phun phân bón lá hữu cơ Seaweed-Rong biển 95% (pha 0,5 g/l lít nước/công thức); CT4: Phun phân bón lá Vinaf 30-20-10+TE (pha 1 g/l lít nước/công thức).

Chỉ tiêu đánh giá sau 4 tuần: Tỷ lệ cây sống (%), chiều cao cây (cm), số lá/cây (lá).

2.2.2. Phương pháp phân tích kết quả và xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm IRRISTAT ver. 4.0 và Microsoft Excel 2010 để phân tích phương sai, hệ số biến động (CV%) và mức sai khác nhỏ nhất có ý nghĩa (LSD 0,05).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 1/2024 đến tháng 5/2025.

Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm tại

Viện Khoa học và Sự sống, Đại học Thái Nguyên.

Khôi

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng cồn 70% đến khả năng tạo mẫu sạch của cây hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng cồn 70% đến khả năng tạo mẫu sạch của cây hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng mẫu bằng cồn 70% đến khả năng tạo mẫu sạch của cây hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi (sau 3 tuần nuôi cấy)

Công thức	Thời gian xử lý (phút)			Tỉ lệ mẫu nhiễm (%)	Tỉ lệ mẫu không nhiễm (%)	
	Cồn 70%	Javel 5%	HgCl ₂ 0,1%		Mẫu chết	Mẫu sống
Hong cổ Sa Pa						
CT1	0	10	5	48,9	1,1	50,0
CT2	5			35,6	4,4	60,0
CT3	10			24,4	10,0	65,6
CT4	15			7,8	11,1	81,1
CT5	20			12,2	24,4	63,3
Hong cổ Vân Khôi						
CT1	0	10	5	44,4	2,2	53,4
CT2	5			23,3	6,7	70,0
CT3	10			13,3	11,1	75,6
CT4	15			12,2	18,9	68,9
CT5	20			14,4	26,7	58,9

Bảng 1 cho thấy, khi sử dụng cồn 70% để khử trùng mẫu với thời gian khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng tạo mẫu sạch. Đối với mẫu hồng cổ Sa Pa, khi không khử trùng mẫu bằng cồn 70% cho tỉ lệ mẫu nhiễm cao nhất 48,9%, mẫu sạch và sống đạt 50%. Khi khử trùng trong thời gian 5 - 10 phút cho tỉ lệ mẫu nhiễm giảm (24,4 - 35,6%), mẫu sạch bị chết dao động từ 4,4 - 10%, mẫu sạch và sống đạt 60,0 - 65,6. Khi tăng thời gian khử trùng mẫu bằng cồn 70% lên 15 phút, tỉ lệ mẫu sạch và sống tăng lên đáng kể (đạt 81,1%), tỉ lệ mẫu sạch và sống tiếp tục giảm khi tăng thời gian khử trùng 20 phút (đạt 63,3%).

Tương tự, đối với mẫu hồng cổ Vân Khôi, khi không khử trùng mẫu bằng cồn 70% cho tỉ lệ mẫu nhiễm cao nhất 44,4%, mẫu sạch và sống đạt 53,4%. Khi khử trùng trong thời gian 5 - 10 phút cho tỉ lệ

mẫu nhiễm giảm (13,3 - 23,3%), mẫu sạch bị chết dao động từ 6,7 - 11,1%, mẫu sạch và sống đạt 70,0 - 75,6%. Khi tăng thời gian khử trùng mẫu bằng cồn 70% lên 15 và 20 phút, tỉ lệ mẫu sạch và sống giảm đáng kể (đạt 58,9 - 68,9%). Như vậy, đối với hồng cổ Sa Pa, thời gian khử trùng mẫu bằng cồn 70% trong 15 phút cho chỉ tiêu mẫu sạch và sống cao nhất đạt 81,1%. Với hồng cổ Vân Khôi, khử trùng bằng cồn 70% trong 10 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất, tỉ lệ mẫu sạch sống cao nhất đạt 75,6%. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu về nhân giống cây hoa hồng Vân Khôi của La Việt Hồng và cs (2019) [9], theo đó công thức khử trùng bề mặt bằng cồn 70% trong 10 phút và dung dịch javel 5% trong 10 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất, tỉ lệ mẫu sạch sống cao nhất đạt 79,0%. Khuất Thị Hải Ninh và cs (2021) [11] khi nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây hồng nhung cổ (Rosa

sp.) cho thấy, công thức khử trùng hiệu quả nhất để tạo mẫu sạch từ chồi là sử dụng HgCl_2 0,1% trong vòng 6 phút. Tuy nhiên, tỉ lệ mẫu sạch nảy chồi sau 3 tuần nuôi cấy không cao, với 38,9%. Nghiên cứu về nhân giống *in vitro* cây Hồng tỉ muội (*Rosa chinensis* Jacq. var. *minima* Redh.) cho thấy, các đoạn đốt thân được khử trùng bằng dung dịch HgCl_2 0,2% trong thời gian 10 phút cho tỉ lệ mẫu không nhiễm và sống sót đạt 71,67% [10]. Nhìn chung, tỉ lệ mẫu sạch và sống trong nghiên cứu này ở cả 2 cây hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi tương đương hoặc cao hơn so với các công bố

trước đó.

3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chất điều hòa sinh trưởng BAP đến khả năng tái sinh chồi hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi

Sau 3 tuần nuôi cấy ở giai đoạn tạo mẫu sạch, những mẫu sống khỏe mạnh, không nhiễm nấm và khuẩn được lấy ra cắt bỏ phần gỗ bị đen ở 2 đầu, cấy chuyển sang môi trường kích thích tái sinh chồi. Kết quả thu được sau 6 tuần cấy chuyển được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ chất điều hòa sinh trưởng BAP đến khả năng tái sinh chồi hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi (sau 6 tuần nuôi cấy)

Công thức	Nồng độ BAP (mg/l)	Số chồi/mẫu	Chiều cao chồi (cm)	Số lá/chồi
Hồng cổ Sa Pa				
CT1	0,5	1,1	1,0	6,9
CT2	1,0	1,4	1,4	5,6
CT3	1,5	1,8	2,0	5,3
CT4	2,0	1,9	1,7	5,0
LSD _{0,05}		0,1	0,1	1,2
CV%		4,8	4,3	5,5
Hồng cổ Vân Khôi				
CT1	0,5	1,0	0,8	6,8
CT2	1,0	1,2	1,2	4,4
CT3	1,5	1,8	1,8	4,0
CT4	2,0	1,6	1,4	3,7
LSD _{0,05}		0,1	0,1	0,1
CV%		4,5	6,2	1,2

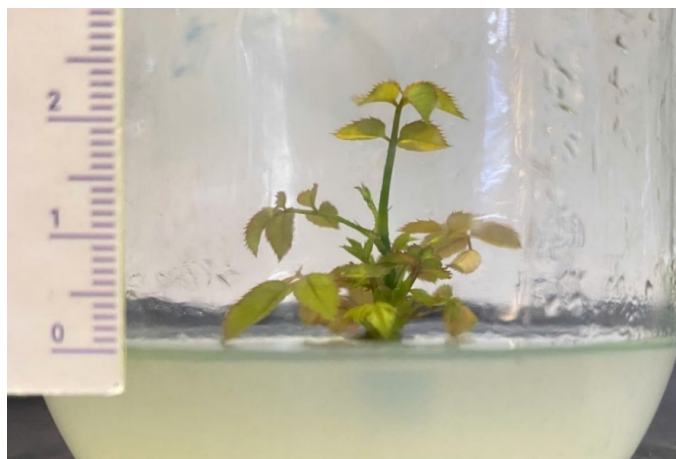
Kết quả cho thấy, trong môi trường nuôi cấy, khi sử dụng BAP ở các nồng độ khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến chiều cao chồi, số chồi/mẫu và số lá/chồi. Ở hồng cổ Sa Pa, khi bổ sung BAP từ 0,5 - 1,5 mg/l vào môi trường nuôi cấy làm tăng chiều cao chồi (từ 1,0 - 2,0 cm) và số chồi tái sinh/mẫu cũng tăng lên đáng kể (từ 1,1 - 1,8 chồi), ngược lại số lá/chồi giảm dần từ 6,9 - 5,3 lá (Hình 1). Tiếp tục tăng nồng độ BAP đến 2,0 mg/l, số chồi tái sinh tăng lên 1,9 chồi, tuy nhiên chiều cao

chồi giảm còn 1,7 cm và 5,0 lá/chồi. Như vậy, công thức thích hợp nhất tái sinh chồi hồng cổ Sa Pa là 1,5 mg/l BAP. Tương tự, công thức thích hợp nhất tái sinh chồi hồng cổ Vân Khôi là 1,5 mg/l BAP, chiều cao chồi đạt 1,8 cm, số chồi tái sinh/mẫu 1,8 chồi, số lá/chồi 4,0 lá.

Nghiên cứu của Shirdel và cs (2012) [12] đối với loài tầm xuân *Rosa canina* L. cũng sử dụng môi trường MS bổ sung BAP (1 mg/l) để tạo chồi từ đốt thân. Nosheen Hameed và cs (2006) [13] đã

nguyên cứu nhân giống *in vitro* loài hồng Ấn Độ *Rosa indica* L. cho thấy, chồi non được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi đạt 100% sau 7,4 ngày nuôi cấy.

Hầu hết các kết quả nghiên cứu đều sử dụng BAP ở nồng độ khá cao (trên 1 mg/l BAP) để tái sinh chồi từ đốt thân và cho hiệu quả khá tốt.



Hình 1. Cụm chồi *in vitro* từ đốt thân hồng cổ Sa Pa sau 6 tuần nuôi cấy

3.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP, kinetin và α - NAA đến khả năng tạo cụm chồi hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ BAP, kinetin và α - NAA đến khả năng tạo cụm chồi trên loài hồng cổ Sa Pa thu được sau 8 tuần cấy chuyển được thể hiện ở bảng 3. Kết quả cho thấy, bổ sung cả 3 chất điều hòa sinh trưởng BAP, kinetin và α - NAA vào môi trường nuôi cấy chồi có chất lượng tốt (chồi mập và xanh). Tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi cao (từ 75,6 - 91,1%), chồi phát triển chiều cao (2,4 - 3,7 cm) và hệ số nhân chồi tốt (2,0

- 2,9 chồi/mẫu), cao nhất ở CT1 bổ sung α - NAA nồng độ 0,3 mg/l. Kết quả này thấp hơn kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Việt (2017) [6] khi nuôi cấy hồng cổ Sa Pa trên môi trường khoáng cơ bản WPM bổ sung 0,6 mg/l BAP + 0,4 mg/l kinetin + 0,2 mg/l α - NAA cho tỉ lệ mẫu tái sinh chồi và hệ số nhân chồi đạt cao nhất, lần lượt là 93,56% và 4,23 lần. Ở hồng cổ Vân Khôi, tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi cao nhất ở CT1 đạt 92,2%, chiều cao chồi và hệ số nhân chồi tương ứng là 3,7 cm và 2,9 chồi/mẫu.

Bảng 3. Ảnh hưởng của BAP, Kinetin và α - NAA đến khả năng tạo cụm chồi hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi (sau 8 tuần nuôi cấy)

Công thức	Nồng độ BAP (mg/l)	Nồng độ kinetin (mg/l)	Nồng độ α -NAA (mg/l)	Tỉ lệ mẫu tạo cụm chồi (%)	Chiều cao chồi (cm)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chất lượng chồi
Hồng cổ Sa Pa							
CT1	1,0	0,5	0,3	91,1	3,7	2,9	Tốt
CT2			0,5	83,3	3,4	2,7	Trung bình
CT3			0,7	81,1	2,6	2,2	Xấu
CT4			1,0	75,6	2,4	2,0	Xấu
LSD _{0,05}					0,2	0,1	
CV%					2,8	3,5	

Hồng cổ Vân Khôi							
CT1	1,0	0,5	0,3	92,2	3,3	2,8	Tốt
CT2			0,5	86,7	3,0	2,3	Trung bình
CT3			0,7	78,9	2,2	2,1	Xấu
CT4			1,0	74,4	2,1	1,8	Xấu
LSD _{0,05}					0,2	0,2	
CV%					3,7	4,4	

Ghi chú: Chồi có phẩm chất tốt: Màu xanh non, khỏe mạnh, mập mạp; chồi có phẩm chất trung bình: Màu xanh - vàng và nhỏ; chồi có phẩm chất xấu: Màu lá vàng và rụng.

Như vậy, khi nghiên cứu ảnh hưởng của phối hợp 3 chất điều hòa sinh trưởng (BAP, kinetin và α -NAA) đã xác định được công thức BAP 1 mg/l + 0,5 mg/kinetin + 0,3 mg/l α -NAA cho hiệu quả nhân nhanh chồi tốt nhất ở cả 2 giống hồng nghiên cứu.

3.4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ IBA đến khả năng ra rễ tạo cây hoàn chỉnh hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi

Nghiên cứu khả năng ra rễ *in vitro* hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi trên môi trường MS có bổ sung IBA ở các nồng độ khác nhau cho kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Kết quả cho thấy, có sai khác giữa các công thức thí nghiệm ở tất cả các chỉ tiêu như tỉ lệ ra rễ, số rễ/cây, chiều dài rễ. Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 0,3 mg/l IBA cho hiệu quả ra rễ kém nhất ở cả 2 giống hồng nghiên cứu (tỉ lệ ra rễ chỉ 73,3 - 76,7%, 2,9 - 3,2 rễ/cây và chiều dài rễ 2,0 - 2,1 cm). Tăng nồng độ IBA 0,5 - 1,5 mg/l hiệu quả ra rễ tăng lên rõ rệt (với trên 80% chồi ra rễ, 2,7 - 3,6

rễ/cây, chiều dài rễ đạt 2,6 - 3,4 cm). Tuy nhiên, rễ ở công thức 1 - 1,5 mg/l IBA chỉ ở mức độ trung bình, chất lượng rễ tốt nhất ở công thức 0,5 mg/l IBA. Tăng nồng độ IBA lên 2 mg/l, tỉ lệ ra rễ giảm và chất lượng rễ kém.

Một số kết quả nghiên cứu khác trong giai đoạn ra rễ cũng sử dụng IBA để tạo cây *in vitro* hoàn chỉnh, như nghiên cứu của Attia và cs (2012) [14] sử dụng môi trường MS bổ sung 2 mg/l IBA cho tỉ lệ ra rễ cao nhất (đạt 66,7%) trên loài hồng lai *Rosa hybrida* L; Bùi Thị Thu Hương và cs (2017) [5] không sử dụng chất điều hòa sinh trưởng trong môi trường 1/4 MS để tạo rễ nhưng tỉ lệ mẫu ra rễ đạt 98,89%, số rễ trung bình là 3,36 rễ/cây, các rễ hình thành dài, mập sau 6 tuần nuôi cấy. Như vậy, khả năng ra rễ của hoa hồng rất khác nhau giữa các loài (có loài cần nồng độ auxin cao, có loài không cần sử dụng auxin trong môi trường nuôi cấy. Qua kết quả nghiên cứu giai đoạn ra rễ hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi, công thức môi trường MS + 0,5 mg/l IBA là phù hợp.

Bảng 4. Khả năng ra rễ của chồi *in vitro* hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi trên môi trường MS bổ sung than hoạt tính 0,4 g/l và IBA ở nồng độ khác nhau (sau 4 tuần nuôi cấy)

Công thức	Nồng độ IBA (mg/l)	Tỉ lệ ra rễ (%)	Số rễ/cây (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Chất lượng rễ
Hồng cổ Sa Pa					
CT1	0,3	77,8	2,9	2,1	Trung bình
CT2	0,5	94,4	3,7	3,4	Tốt
CT3	1,0	96,7	3,2	3,1	Trung bình
CT4	1,5	81,1	2,7	2,8	Trung bình
CT5	2,0	76,7	2,8	2,6	Xấu

LSD _{0,05}			0,1	0,2	
CV%			2,4	3,2	
Hồng cổ Vân Khôi					
CT1	0,3	73,3	3,2	2,0	Trung bình
CT2	0,5	88,9	3,6	2,8	Tốt
CT3	1,0	92,2	3,4	2,7	Trung bình
CT4	1,5	81,1	3,0	2,6	Trung bình
CT5	2,0	76,7	2,7	2,4	Xấu
LSD _{0,05}			0,3	0,1	
CV%			5,7	3,3	

Ghi chú: Chất lượng rễ tốt: To, màu trắng sáng, khỏe mạnh; chất lượng rễ trung bình: Vừa, màu vàng nâu; chất lượng rễ xấu: Nhỏ, màu thâm đen.



Hình 2. Cây hồng cổ Vân Khôi hoàn chỉnh trong môi trường MS bổ sung than hoạt tính 0,4 g/l và IBA ở nồng độ 0,5 mg/l

3.5. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể và một số dưỡng chất đến sự sinh trưởng hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi giai đoạn vườn ươm

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của giá thể đến sự sinh trưởng hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi giai đoạn vườn ươm 4 tuần sau khi trồng

được thể hiện ở bảng 5. Kết quả cho thấy, giá thể trồng gồm: 50% đất: 25% phân giun: 25% trấu hun (CT4) cho tất cả các chỉ tiêu đánh giá cao nhất ở cả 2 giống hồng. Cụ thể, tỉ lệ sống đạt từ 78,9 – 82,1%, chiều cao cây từ 5,9 - 6,8 cm và số lá/cây từ 9,7 - 10,5 lá.

Bảng 5. Ảnh hưởng của giá thể đến sự sinh trưởng hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi giai đoạn vườn ươm (4 tuần sau khi trồng)

Công thức	Hồng cổ Sa Pa			Hồng cổ Vân Khôi		
	Tỉ lệ sống %	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây (lá)	Tỉ lệ sống %	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây (lá)
CT1	68,9	5,5	7,7	63,3	4,5	6,5
CT2	73,3	6,0	8,5	67,8	5,1	7,8

CT3	74,4	6,2	9,3	74,4	5,4	8,5
CT4	82,1	6,8	10,5	78,9	5,9	9,7
<i>LSD</i> _{0,05}		0,3	1,1		0,3	0,7
<i>CV%</i>		2,6	6,0		2,8	4,4

Ghi chú: CT1: 50% đất: 25% phân chuồng hoai: 25% xơ dừa (Đ/c); CT2: Giá thể trồng cây VietGarden; CT3: Giá thể trồng cây Chibas Thuycam; CT4: 50% đất: 25% phân giun: 25% trấu hun.

Kết quả này tương đương với kết quả nghiên cứu nhân giống cây hoa hồng nhung Mê Linh của La Việt Hồng và cs (2019) [8], theo đó cây *in vitro* được trồng trên giá thể hỗn hợp TS1 cho tỉ lệ sống cao (75,5%) sau 2 tuần trồng ngoài vườn ươm.

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng một số dưỡng chất đến sinh trưởng của hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi giai đoạn vườn ươm 4 tuần sau khi trồng

được thể hiện ở bảng 6. Kết quả cho thấy, phun phân bón lá Vinaf 30-20-10+TE (CT4) cho tất cả các chỉ tiêu đánh giá cao nhất ở cả 2 giống hồng. Cụ thể, tỉ lệ sống đạt từ 85,6 - 87,7%, chiều cao cây từ 6,5 - 7,1 cm và số lá/cây từ 9,7 - 11,0 lá. Kết quả này cho thấy, hai giống hồng cổ thích nghi tốt ngoài vườn ươm, có tiềm năng nhân giống *in vitro* ổn định và có thể mở rộng quy mô sản xuất.

Bảng 6. Ảnh hưởng một số dưỡng chất đến sinh trưởng của hồng cổ Sa Pa và hồng cổ Vân Khôi giai đoạn vườn ươm (4 tuần sau khi trồng)

Công thức	Hồng cổ Sa Pa			Hồng cổ Vân Khôi		
	Tỉ lệ sống %	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây (lá)	Tỉ lệ sống %	Chiều cao cây (cm)	Số lá/cây (lá)
CT1	72,2	6,0	8,2	66,7	5,0	6,6
CT2	74,4	6,3	8,8	73,3	5,5	8,1
CT3	78,9	6,4	9,5	77,8	6,0	8,8
CT4	87,7	7,1	11,0	85,6	6,5	9,7
<i>LSD</i> _{0,05}		0,4	1,0		0,4	0,5
<i>CV%</i>		3,0	5,3		3,3	3,2

Ghi chú: CT1: Phun nước lá (Đ/c); CT2: Phun phân bón lá Đầu Trâu 501; CT3: Phun phân bón lá hữu cơ Seaweed-Rong biển 95%; CT4: Phun phân bón lá Vinaf 30-20-10+TE.

4. KẾT LUẬN

Quy trình khử trùng hiệu quả để tạo mẫu sạch từ đốt thân cây hồng cổ Sa Pa là lacc mẫu với cồn 70% trong 15 phút, tiếp theo là xử lý javel 5% trong 10 phút và sau đó sử dụng HgCl₂ 0,1% trong 5 phút. Phương pháp này cho tỉ lệ mẫu sạch và sống đạt 81,1% sau 3 tuần nuôi cấy. Đối với hồng cổ Vân Khôi, xử lý bằng cồn 70% trong 10 phút cho kết quả tốt nhất, với tỉ lệ mẫu sạch và sống đạt 75,6%.

Môi trường cảm ứng chồi thích hợp nhất cho cả hai giống là MS bổ sung 1,5 mg/l BAP, cho

chiều cao chồi 1,8 - 2,0 cm, trung bình 1,8 chồi tái sinh/nách và 4,0 - 5,3 lá/chồi sau 6 tuần nuôi cấy.

Đối với giai đoạn nhân nhanh chồi, môi trường MS bổ sung 1 mg/l BAP + 0,5 mg/l kinetin + 0,3 mg/l NAA cho hiệu quả cao nhất. Cụ thể, tỉ lệ mẫu hình thành cụm chồi đạt 91,1 - 92,2%, chiều cao chồi từ 3,3 - 3,7 cm, hệ số nhân chồi 2,8 - 2,9 lần, với chất lượng chồi tốt (xanh, mập) sau 8 tuần nuôi cấy.

Ở giai đoạn tạo cây hoàn chỉnh, môi trường MS bổ sung 0,5 mg/l IBA cho kết quả ra rễ tốt

nhất, với tỉ lệ chồi ra rễ 88,9 - 94,4%, trung bình 3,6 - 3,7 rễ/chồi, chiều dài rễ đạt 2,8 - 3,4 cm, rễ phát triển tốt về mặt hình thái sau 4 tuần nuôi cấy.

Ở giai đoạn huấn luyện cây *in vitro* ngoài vườn ươm, giá thể 50% đất: 25% phân giun: 25% trấu hun ở cả 2 giống hồng cho tỉ lệ sống đạt từ 78,9 - 82,1%, chiều cao cây 5,9 - 6,8 cm và số lá/cây 9,7 - 10,5 lá. Phun phân bón lá Vinaf 30-20-10+TE cho cả 2 giống đã đạt tỉ lệ sống 85,6 - 87,7%, chiều cao cây 6,5 - 7,1 cm và số lá/cây 9,7 - 11,0 lá.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin cảm ơn Bộ Khoa học và Công nghệ đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu này. Đây là một phần kết quả nghiên cứu của đề tài: Nghiên cứu khai thác, phát triển nguồn gen hoa hồng cổ Sa Pa và hoa hồng cổ Vân Khôi, (*Rosa* spp. L.) tại miền Bắc Việt Nam, mã số NVQG-2022/ĐT.13.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rajeshbabu P., Gopalakrishnan M., Janarthanan B., Sekar T. (2001). An efficient and rapid regeneration protocol for micropropagation of *Rosa bourboniana* from nodal explants. *Int J Curr Biotechnol*, 2, 24 - 29.
2. Mordor Intelligence (2025). Phân tích quy mô và thị phần thị trường trồng hoa tại Việt Nam - Dự báo xu hướng tăng trưởng (2024 - 2029). <https://www.mordorintelligence.com/vi/industry-reports/floriculture-market-in-vietnam>. Ngày truy cập 10/3/2025.
3. Nguyễn Thị Thanh Tuyền, Phan Ngọc Diệp, Đặng Văn Đông, Nguyễn Văn Tĩnh (2020). Kết quả tuyển chọn giống hoa hồng trồng làm hương liệu tại Gia Lâm - Hà Nội. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 9(118): 23 - 28.
4. Pati P. K., Kaur N., Sharma M., Ahuja P. S. (2010). *In vitro* propagation of rose. *Methods in Molecular Biology*, 589, 163 - 176.
5. Bùi Thị Thu Hương, Đồng Huy Giới, Nguyễn Thị Trang, Hồ Thị Quỳn (2017). Nhân nuôi cây hoa hồng cổ Sa Pa (*Rosa gallica* L.) bằng kĩ thuật cấy mô *in vitro*. *Hội nghị Khoa học toàn quốc về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật lần thứ 7*, 1229 - 1235.
6. Nguyễn Văn Việt (2017). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* hoa hồng cổ Sapa (*Rosa* sp.) phục vụ bảo tồn và phát triển nguồn gen. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 322, 76 - 81.
7. 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). *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 13(4): 606 - 613.
8. La Việt Hồng, Chu Đức Hà, Ngô Thị Quỳnh (2019). Nhân giống cây hoa hồng nhung Mê Linh - Hà Nội bằng phương pháp nuôi cấy mô. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Thái Nguyên*, 194(01): 41 - 45.
9. La Việt Hồng, Chu Đức Hà, Trần Thị Thanh Huyền, Lê Thị Lâm và Mai Thị Hồng (2019). Nhân giống cây hoa hồng Vân Khôi (*Rosa* "Souvenir de la malmaison") bằng kĩ thuật nuôi cấy mô. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội: Khoa học Tự nhiên*, 64(3): 133 - 140.
10. Nguyễn Ngọc Quỳnh Thơ, Nguyễn Duy Khánh, Huỳnh Thị Ánh Sang, Từ Văn Út, Trương Quỳnh Yến Yến, Nguyễn Thành Luân, Trịnh Thị Hương (2018). Nghiên cứu tạo chồi *invivo* loài cây hoa hồng tỉ muội (*Rosachinensis* Jacq. Var. minima Redh.). *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, 15(1): 57 - 64.
11. Khuất Thị Hải Ninh, Nguyễn Thị Thơ, Kiều Tri Đức, Nguyễn Thế Hưởng và Hồ Thị Xuân Hồng (2021). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây hồng nhung cổ (*Rosa* sp.). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*, 2, 028 - 034.
12. Shirdel M., Motallebi-Azar A and Mahna N. (2012). *In vitro* micropropagation of dog rose (*Rosa canina* L.). *Acta Horticulturae*, 937, 911 - 913.
13. Nosheen Hameed, Asad Shabbir, Aamir Ali and Rukhsana Bajwa (2006). *In vitro* micropropagation of disease free rose (*Rosa indica* L.). *Mycopath*, 4(2): 35 - 38.
14. Attia O. Attia, EL Dessoky S. Dessoky and Adel E. El-Tarras (2012). *In vitro* propagation of *Rosa hybrida* L. cv. Al-Taif Rose plant. *African Journal of Biotechnology*, 11(48): 10888 - 10893.

***IN VITRO* PROPAGATION OF SA PA AND VAN KHOI ANCIENT ROSE (*Rosa* spp.)
CULTIVARS USING PLANT TISSUE CULTURE**

**Le Thi Minh Thao¹, Le Hung Linh², Nguyen Van Hong³,
Pham Phuong Thu⁴, Duong Thi Thanh Huong¹, Nguyen Thi Tan¹, Trieu Thi Mui¹,
Tran Ngoc Tuan¹, Duong Thi Thao Chinh⁵, Pham Gia Khanh², Khuat Thi Mai Luong²**

¹Thai Nguyen University - Lao Cai Campus

²Agricultural Genetics Institute

³Institute of Life Sciences, Thai Nguyen University

⁴Hanoi Pedagogical University 2

⁵Lao Cai College

Abstract

Sa Pa and Van Khoi ancient rose varieties are currently overexploited, leading to a shortage of high-quality plant materials. This study aimed to develop an *in vitro* propagation protocol for these two valuable rose cultivars. The most effective surface sterilization treatment for Sa Pa rose stem segments was immersion in 70% ethanol for 15 minutes, followed by 5% sodium hypochlorite for 10 minutes and 0.1% HgCl₂ for 5 minutes, resulting in 81.1% clean and viable explants. For Van Khoi rose, reducing ethanol exposure to 10 minutes achieved 75.6% clean and viable explants. Shoot induction was optimal on MS medium supplemented with 1.5 mg/l BAP, producing shoots 1.8 - 2.0 cm in height, with an average of 1.8 shoots/node and 4.0 - 5.3 leaves/shoot after 6 weeks. The most effective shoot multiplication medium was MS supplemented with 1 mg/l BAP, 0.5 mg/l kinetin and 0.3 mg/l α -NAA, yielding 91.1 - 92.2% shoot cluster formation and a multiplication rate of 2.8 - 2.9 times after 8 weeks. Rooting was best achieved on MS medium supplemented with 0.5 mg/l IBA, with a rooting rate of 88.9 - 94.4%, averaging 3.6 - 3.7 roots per shoot. In the nursery stage, a substrate composed of 50% soil, 25% vermicompost and 25% rice husk biochar supported a survival rate of 78.9 - 82.1%, plantlet height of 5.9 - 6.8 cm and 9.7 - 10.5 leaves per plantlet. Foliar application of Vinaf 30-20-10+TE fertilizer increased survival rates to 85.6 - 87.7%, plantlet height to 6.5 - 7.1 cm, and leaf number to 9.7 - 11.0 leaves per plantlet. This protocol provides a reliable foundation for large-scale production of disease-free, genetically uniform, and high-quality ancient rose plants.

Keywords: *Plantlet, substrate, plant tissue culture, Sa Pa ancient rose, Van Khoi ancient rose, nursery.*

Ngày nhận bài: 20/6/2025

Ngày chuyển phản biện: 26/6/2025

Ngày thông qua phản biện: 14/7/2025

Ngày duyệt đăng: 15/8/2025