

# Ảnh hưởng của liều chiếu xạ tia gamma (nguồn Co<sup>60</sup>) đến sinh trưởng và phát triển của giống hoa đồng tiền (*Gerbera jamesonii*) *in vitro* và *in vivo*

Phạm Thị Mai\*, Lê Đức Thảo

Viện Di truyền Nông nghiệp

Ngày nhận bài 20.10.2015, ngày chuyển phản biện 23.10.2015, ngày nhận phản biện 16.11.2015, ngày chấp nhận đăng 24.11.2015

Nghiên cứu nhằm xác định ảnh hưởng của chiếu xạ tia gamma nguồn Co<sup>60</sup> với các liều chiếu xạ khác nhau đến khả năng sinh trưởng và phát triển của các giống hoa đồng tiền ở giai đoạn nuôi cấy mô (*in vitro*) và ngoài vườn ươm (*in vivo*). Vật liệu sử dụng là 4 giống hoa đồng tiền đang trồng phổ biến trong sản xuất hiện nay: giống *Gerbera Cabana* có hoa màu vàng, nhị đen; giống *Gerbera Banesa* có hoa màu tím hồng, nhị xanh; giống *Gerbera Cherokee* có hoa màu cam, nhị xanh và giống *Gerbera Rosalin* có hoa màu hồng, nhị đen. Callus từ nụ hoa của các giống đồng tiền này được xử lý chiếu xạ bằng tia gamma nguồn Co<sup>60</sup> ở các liều chiếu: 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 và 70 Gy; theo dõi các chỉ tiêu và so sánh với giống đối chứng không chiếu xạ. Kết quả cho thấy, ở giai đoạn *in vitro*, liều từ 60 đến 70 Gy là ngưỡng gây chết; liều chiếu càng cao, khả năng tái sinh chồi càng giảm, chất lượng chồi càng kém; liều chiếu 5 và 10 Gy ít ảnh hưởng đến hệ số nhân chồi và hình thái chồi; liều chiếu xạ càng cao thì chiều dài rễ, số rễ/cây giảm. Ở giai đoạn vườn ươm, liều chiếu 20-40 Gy cho cây con có chất lượng kém hơn hẳn so với đối chứng; liều chiếu 5 và 10 Gy ít ảnh hưởng đến hình thái và chất lượng cây con.

**Từ khóa:** hình thái cây con, hoa đồng tiền, *in vitro*, *in vivo*, liều chiếu xạ.

**Chỉ số phân loại 4.1**

## THE INFLUENCE OF GAMMA IRRADIATION DOSES (Co<sup>60</sup> SOURCE) ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF *IN VITRO* AND *IN VIVO* GERBERA PLANTS

### Summary

The aim of this study was to determine the effect of different Gamma irradiation doses (Co<sup>60</sup> source) on the growth and development of *in vitro* and *in vivo* Gerbera plants. Study materials were 4 Gerbera varieties being grown commonly in the current production: DT1, DT2, DT3 and DT4. Calluses from flower buds were irradiated by different doses of Gamma rays (Co<sup>60</sup> source): 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 and 70 Gy in comparison with the control variety (0 Gy). The results showed that, in the *in vitro* stage: at 60-70 Gy (lethal threshold doses), the regeneration capacity and the quality of shoots were decreased by increasing radiation doses; at 5-10 Gy, shoot morphology and multiplication rate were slightly decreased; and at the higher radiation doses, root length and number of roots/shoots were significantly decreased. In the nursery stage (*in vivo*), at the dose of 20-40 Gy, quality of seedlings were worse in comparison with the control; and at 5-10 Gy, the seedling morphology and quality were slightly affected.

**Keywords:** *Gerbera*, *in vitro*, *in vivo*, irradiation dose, seedling morphology.

**Classification number 4.1**

### Đặt vấn đề

Hoa đồng tiền (*Gerbera jamesonii*) là loại hoa xếp vị trí thứ 5 trong các loại hoa cắt cành. Đây là một loại hoa đẹp, hình dáng, màu sắc phong phú đa dạng, hoa có độ bền lâu và đặc biệt là khả năng ra hoa quanh năm, tỷ lệ hoa thương phẩm cao, kỹ thuật trồng trọt, chăm sóc đơn giản, ít tốn công, đầu tư một lần có thể thu hoa 4-5 năm [1, 2]. Nhờ những đặc điểm ưu việt nêu trên, mặc dù mới du nhập vào nước ta song hoa đồng tiền đã được người tiêu dùng rất ưa chuộng và hiện đang là loại hoa có giá trị kinh tế cao [2]. Vì thế, diện tích trồng hoa đồng tiền ngày càng được mở rộng, lượng tiêu thụ và giá cả ngày một tăng.

Trước đây, hoa đồng tiền chủ yếu được nhân giống bằng tách chồi [1]. Phương pháp này thực hiện khá đơn giản, ít tốn kém, song chất lượng cây giống thường thấp, nhanh bị thoái hóa do nhiễm bệnh và virus. Trong nhiều năm trở lại đây, cùng với sự phát triển của công nghệ tế bào thực vật, với ưu

\*Tác giả liên hệ: Email: phammai.bn@gmail.com

điểm hệ số nhân giống cao, chất lượng được đảm bảo nên cây giống *in vitro* hoa đồng tiền đã dần thay thế cây giống tách chồi. Nhân giống bằng *in vitro* được coi là tốt nhất hiện nay vì phương pháp này không những tạo ra cây giống tốt mà còn sạch bệnh, chất lượng hoa tốt và độ bền cao [2].

Công nghệ xử lý đột biến *in vitro* bằng các tác nhân vật lý (phổ biến hiện nay là xử lý đột biến bằng tia Gamma nguồn  $Co^{60}$ ) đã và đang trở thành công cụ hữu hiệu trong chọn tạo giống cây trồng bởi nó cho phép rút ngắn thời gian và giảm bớt chi phí [3], công nghệ này đặc biệt hiệu quả trong tạo các giống hoa mới [4]. Trên đối tượng cây hoa cũng đã có một vài công bố về xử lý đột biến *in vitro* như hoa hồng, hoa cúc, hoa đồng tiền, hoa cẩm chướng... [3, 5-8]. Tuy nhiên, khi xử lý đột biến bằng chiếu xạ thì khả năng sinh trưởng và phát triển của cây cũng bị ảnh hưởng. Để chọn tạo giống cây trồng bằng phương pháp này, ngoài việc theo dõi khả năng xuất hiện biến dị thì việc đánh giá khả năng sinh trưởng phát triển của cây sau chiếu xạ cũng là một việc làm cần thiết.

## Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu là 4 giống hoa đồng tiền nhập nội từ Trung Quốc đang trồng phổ biến trong sản xuất hiện nay: *Gerbera Cabana* có hoa màu vàng, nhị đen (ký hiệu DT1); *Gerbera Banesa* có hoa màu tím hồng, nhị xanh (ký hiệu DT2); *Gerbera Cherokee* có hoa màu cam, nhị xanh (ký hiệu DT3) và *Gerbera Rosalin* có hoa màu hồng, nhị đen (ký hiệu DT4).

### Phương pháp nghiên cứu

*Phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật:* sử dụng phương pháp nuôi cấy mô tế bào thực vật trên môi trường cơ bản MS [9] với 2% đường + 7,0 g/l agar.

Điều kiện nuôi cấy mô tế bào: nhiệt độ  $23 \pm 2^\circ C$ , ánh sáng 2.500 lux, thời gian chiếu sáng 16 giờ ban ngày/8 giờ tối, pH môi trường nuôi cấy = 5,8. Môi trường được hấp khử trùng ở nhiệt độ  $121^\circ C$ , 1,4 atm trong 20 phút.

Môi trường nuôi cấy: áp dụng theo quy trình nuôi cấy mô tạo vật liệu chiếu xạ cho các giống hoa đồng tiền DT1, DT2, DT3 và DT4 của Viện Di truyền Nông nghiệp như sau: 1) Khử trùng mẫu: bằng dung dịch  $HgCl_2$  0,1% trong 7 phút (với DT1) và trong 10 phút (với các giống DT2, DT3 và DT4); 2) Môi trường vào mẫu: môi trường MS cơ bản + 2% đường + 7,0 g/l agar; 3) Môi trường tái sinh chồi: DT1, DT2: MS + 0,7 mg/l BAP + 0,2 mg/l kinetin + 0,1 mg/l  $\alpha$ -NAA + 10% nước dừa + 2% đường + 7,0 g/l agar; DT3: MS + 0,6 mg/l TDZ + 0,2 mg/l kinetin + 0,1 mg/l  $\alpha$ -NAA +

10% nước dừa + 2% đường + 7,0 g/l agar; DT4: MS + 0,4 mg/l TDZ + 0,2 mg/l kinetin + 0,1 mg/l  $\alpha$ -NAA + 10% nước dừa + 2% đường + 7,0 g/l agar; 4) Môi trường nhân nhanh: DT1, DT2: MS + 1 mg/l kinetin + 10% nước dừa + 2% đường + 7,0 g/l agar; DT3, DT4: MS + 0,75 mg/l BAP + 10% nước dừa + 2% đường + 7,0 g/l agar; 5) Môi trường ra rễ: DT1: MS + 0,3 mg/l  $\alpha$ -NAA + 2% đường + 7,0 g/l agar; DT2: MS + 0,2 mg/l  $\alpha$ -NAA + 2% đường + 7,0 g/l agar; DT3, DT4: MS + 0,1 mg/l  $\alpha$ -NAA + 2% đường + 7,0 g/l agar.

Giá thể ra cây trong vườn ươm: đất mùn + trấu hun với tỷ lệ 1:1.

*Phương pháp xử lý đột biến bằng chiếu xạ tia gamma (nguồn  $Co^{60}$ ):* các giống hoa đồng tiền nghiên cứu được tiến hành lấy mẫu từ các nụ hoa, tiến hành khử trùng, vào mẫu tạo callus. Các khối callus có kích thước trung bình 0,7-1,0 cm được đưa đi chiếu xạ tia gamma (nguồn  $Co^{60}$ ) ở các liều chiếu khác nhau: 0 - đ/c, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 và 70 Gy tại Trung tâm Chiếu xạ Hà Nội trong thời gian 1 giờ. Sau khi chiếu xạ, callus được theo dõi trong 4 tuần rồi chuyển vào môi trường tái sinh chồi, sau đó chuyển sang môi trường nhân nhanh chồi qua 3 thế hệ, tiến hành cho ra rễ và đưa ra ngoài vườn ươm.

*Phương pháp chăm sóc cây con ngoài vườn ươm:* giá thể được khử trùng bằng Zineb trước khi trồng. Sau khi ra cây, tiến hành tưới nước sạch 2-3 lần/ngày, phun phân bón lá Đầu trâu 502 2 lần/tuần, từ tuần thứ 3 trở đi cho đến khi cây đủ tiêu chuẩn xuất vườn, phun thuốc phòng trừ nấm bệnh Daconil 500SC 1 lần/tuần.

*Phương pháp bố trí thí nghiệm và theo dõi thí nghiệm:* các thí nghiệm trong phòng nuôi cấy mô được bố trí theo khối ngẫu nhiên, mỗi công thức 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp 15 bình nuôi cấy (mỗi bình nuôi cấy 5-10 mẫu). Tiến hành theo dõi 1 tuần/lần. Các thí nghiệm ngoài vườn ươm được bố trí trong nhà lưới có mái che, trồng trong các khay xốp giâm 125 lỗ/khay, kích thước khay 50 x 30 x 5 cm. Trồng tuần tự không lặp lại theo từng giống và từng dòng biến dị, mỗi dòng biến dị trồng 1 khay. Tiến hành theo dõi 1 tuần/lần. Chế độ chăm sóc, bón phân ở các khay thí nghiệm là như nhau. Theo dõi các đặc điểm hình thái, các chỉ tiêu bằng phương pháp quan sát, đo đếm trực tiếp.

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel 2007 và xử lý thống kê bằng phần mềm IRRISTAT 5.0.

## Kết quả và thảo luận

### *Ảnh hưởng của liều chiếu xạ đến tỷ lệ sống và hình thái callus của các giống hoa đồng tiền*

Liều lượng chiếu xạ có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ sống của callus và hình thái callus qua các khoảng thời

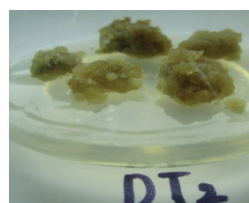
gian theo dõi. Liều chiếu xạ càng cao thì tỷ lệ sống của callus càng giảm (bảng 1). So với đối chứng, khi liều chiếu tăng lên tỷ lệ sống của callus giảm từ 7,6 đến 96,8% sau 1 tháng theo dõi.

Bảng 1: ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ tia gamma nguồn  $Co^{60}$  đến tỷ lệ sống và hình thái của callus đồng tiền in vitro

| Liều chiếu (Gy) | Thời gian (ngày) | Tỷ lệ callus sống (%) |      |      |      | Hình thái callus |            |            |            |
|-----------------|------------------|-----------------------|------|------|------|------------------|------------|------------|------------|
|                 |                  | DT1                   | DT2  | DT3  | DT4  | DT1              | DT2        | DT3        | DT4        |
| 0               | 10               | 100                   | 100  | 100  | 100  | Xanh đậm         | Xanh đậm   | Xanh đậm   | Xanh đậm   |
|                 | 20               | 100                   | 100  | 100  | 100  | Xanh đậm         | Xanh đậm   | Xanh đậm   | Xanh đậm   |
|                 | 30               | 95,5                  | 96,8 | 94,3 | 90,8 | Xanh đậm         | Xanh đậm   | Xanh đậm   | Xanh đậm   |
| 5               | 10               | 97,3                  | 98,5 | 93,1 | 96,3 | Xanh đậm         | Xanh đậm   | Xanh đậm   | Xanh đậm   |
|                 | 20               | 94,5                  | 95,1 | 85,8 | 91,3 | Xanh đậm         | Xanh đậm   | Xanh đậm   | Xanh đậm   |
|                 | 30               | 86,6                  | 89,2 | 80,5 | 82,3 | Xanh đậm         | Xanh đậm   | Xanh đậm   | Xanh đậm   |
| 10              | 10               | 92,7                  | 93,5 | 91,2 | 92,3 | Xanh nhạt        | Xanh nhạt  | Xanh nhạt  | Xanh nhạt  |
|                 | 20               | 85,2                  | 87,7 | 80,8 | 81,1 | Xanh nhạt        | Xanh nhạt  | Xanh nhạt  | Xanh nhạt  |
|                 | 30               | 79,5                  | 80,6 | 73,2 | 74,6 | Xanh nhạt        | Xanh nhạt  | Xanh nhạt  | Xanh nhạt  |
| 20              | 10               | 79,5                  | 80,3 | 89,3 | 80,6 | Trắng nhạt       | Trắng xanh | Trắng xanh | Trắng nhạt |
|                 | 20               | 58,3                  | 69,1 | 62,3 | 64,5 | Trắng nhạt       | Trắng xanh | Trắng xanh | Trắng nhạt |
|                 | 30               | 59,2                  | 50,0 | 57,8 | 44,2 | Trắng nhạt       | Trắng xanh | Trắng xanh | Trắng nhạt |
| 30              | 10               | 65,2                  | 73,3 | 69,2 | 71,6 | Xanh nâu         | Trắng xanh | Trắng xanh | Trắng xanh |
|                 | 20               | 50,0                  | 57,5 | 54,1 | 53,0 | Xanh nâu         | Trắng xanh | Trắng xanh | Trắng xanh |
|                 | 30               | 32,7                  | 40,0 | 36,7 | 39,1 | Xanh nâu         | Trắng xanh | Trắng xanh | Trắng xanh |
| 40              | 10               | 41,2                  | 42,5 | 36,7 | 35,9 | Vàng xanh        | Vàng xanh  | Xanh nhạt  | Trắng xanh |
|                 | 20               | 20,0                  | 21,2 | 18,8 | 16,0 | Vàng xanh        | Vàng xanh  | Xanh nhạt  | Trắng xanh |
|                 | 30               | 11,7                  | 13,3 | 11,7 | 10,3 | Vàng xanh        | Vàng xanh  | Xanh nhạt  | Trắng xanh |
| 50              | 10               | 30,0                  | 37,8 | 32,0 | 30,8 | Nâu nhạt         | Vàng nhạt  | Vàng nâu   | Vàng nâu   |
|                 | 20               | 10,5                  | 14,2 | 10,6 | 9,3  | Nâu nhạt         | Vàng nhạt  | Vàng nâu   | Vàng nâu   |
|                 | 30               | 5,3                   | 7,2  | 4,5  | 6,5  | Nâu nhạt         | Vàng nhạt  | Vàng nâu   | Vàng nâu   |
| 60              | 10               | 19,2                  | 21,7 | 10,8 | 12,8 | Nâu đen          | Nâu đen    | Hóa nâu    | Nâu đen    |
|                 | 20               | 0                     | 8,3  | 0    | 0    | Nâu đen          | Nâu đen    | Hóa nâu    | Nâu đen    |
|                 | 30               | 0                     | 0    | 0    | 0    | Nâu đen          | Nâu đen    | Hóa nâu    | Nâu đen    |
| 70              | 10               | 9,0                   | 10,2 | 8,1  | 10,6 | Nâu đen          | Nâu đen    | Nâu đen    | Nâu đen    |
|                 | 20               | 0                     | 0    | 0    | 0    | Nâu đen          | Nâu đen    | Nâu đen    | Nâu đen    |
|                 | 30               | 0                     | 0    | 0    | 0    | Nâu đen          | Nâu đen    | Nâu đen    | Nâu đen    |

Giai đoạn đầu (sau 10 ngày chiếu xạ) callus ở liều đối chứng (0 Gy) sống 100%, tỷ lệ sống của callus ở các liều chiếu 5, 10, 20, 30 Gy tương đối cao (đạt 65,2-97,3% ở DT1, 73,3-98,5% ở DT2, 69,2-93,1% ở DT3 và 71,6-96,3% ở DT4). Tăng liều chiếu lên 40-50 Gy tỷ lệ sống giảm mạnh (DT1 30,0-41,2%; DT2 37,8-42,5%; DT3 32,0-36,7% và DT4 30,8-35,9%), ở liều chiếu 60-70 Gy tỷ lệ sống của callus rất thấp (chỉ đạt 8,1-21,7% ở cả 4 giống đồng tiền nghiên cứu).

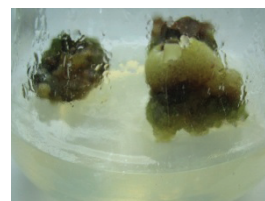
Giai đoạn 20-30 ngày sau chiếu xạ (hình 1), sức sống của callus giảm hẳn. Sau 30 ngày, tỷ lệ sống của callus ở các liều đối chứng đạt 90,8-96,8%. Ở liều chiếu 5, 10, 20 Gy, tỷ lệ sống đều đạt trên 50% (riêng callus của giống DT4 ở liều 20 Gy sau 30 ngày chỉ còn 44,2%). Ở các liều chiếu 30, 40, 50 Gy, tỷ lệ sống của callus thấp, sau 30 ngày tỷ lệ sống ở giống DT1 giảm từ 32,7% (liều 30 Gy) xuống còn 5,3% (50 Gy). Tương tự như vậy, ở giống DT2 là 40,0% (30 Gy) và 7,2% (50 Gy); giống DT3 là 36,7% và 4,5%; giống DT4 là 39,1% và 6,5%. Các callus ở liều chiếu 60, 70 Gy hóa nâu và chết hẳn.



Callus đối chứng



10 Gy



30 Gy



60 Gy

Hình 1: các callus sau chiếu xạ 20 ngày

Về hình thái callus, ở giống đối chứng callus phát triển tốt, màu sắc xanh đậm. Chiếu xạ ở các liều tăng lên, callus có dấu hiệu kém đi, màu nhạt dần và hóa nâu ở các liều 50-70 Gy.

Như vậy, liều chiếu càng cao thì tỷ lệ sống của callus càng giảm, hình thái callus càng kém. Liều gây chết đối với callus là từ 60-70 Gy. Kết quả này cũng phù hợp với những công bố trước đây của Hoàng Thị Nga và cs (2009) [6].

### Ảnh hưởng của liều chiếu xạ đến khả năng tái sinh chồi, hệ số nhân chồi và hình thái chồi từ callus hoa đồng tiền

Các callus sống được chuyển sang môi trường tái sinh chồi để tiếp tục theo dõi và đánh giá ảnh hưởng của chiếu xạ, các callus ở liều chiếu 60 và 70 Gy loại ra khỏi thí nghiệm. Kết quả theo dõi sau 2 tháng được thể hiện ở các bảng 2 và 3.

Bảng 2: ảnh hưởng của liều chiếu xạ đến khả năng tái sinh chồi từ callus các giống hoa đồng tiền sau 2 tháng nuôi cấy

| Liều chiếu (Gy)     | Tỷ lệ callus tái sinh chồi (%) |      |      |      | Số chồi trung bình/callus (chồi) |      |      |      |
|---------------------|--------------------------------|------|------|------|----------------------------------|------|------|------|
|                     | DT1                            | DT2  | DT3  | DT4  | DT1                              | DT2  | DT3  | DT4  |
| Đ/c                 | 86,5                           | 88,6 | 80,3 | 85,1 | 5,8                              | 5,1  | 4,5  | 4,8  |
| 5                   | 80,0                           | 81,6 | 76,7 | 78,3 | 4,1                              | 3,8  | 3,7  | 3,6  |
| 10                  | 72,3                           | 70,0 | 70,2 | 71,7 | 3,2                              | 3,0  | 3,0  | 3,1  |
| 20                  | 52,0                           | 55,7 | 50,3 | 45,7 | 2,1                              | 1,9  | 1,2  | 1,0  |
| 30                  | 40,0                           | 41,7 | 41,6 | 38,3 | 1,0                              | 1,4  | 0,8  | 0,8  |
| 40                  | 30,8                           | 31,3 | 30,3 | 32,0 | 0,8                              | 0,7  | 0,5  | 0,3  |
| 50                  | 0                              | 0    | 0    | 0    | 0                                | 0    | 0    | 0    |
| CV%                 |                                |      |      |      | 2,51                             | 1,82 | 3,70 | 3,15 |
| LSD <sub>0,05</sub> |                                |      |      |      | 0,35                             | 0,22 | 0,19 | 0,45 |

Kết quả bảng 2 cho thấy, khi tăng liều lượng chiếu xạ thì tỷ lệ tái sinh chồi và số chồi/callus giảm, sự giảm này khác nhau giữa các liều chiếu và giữa các giống

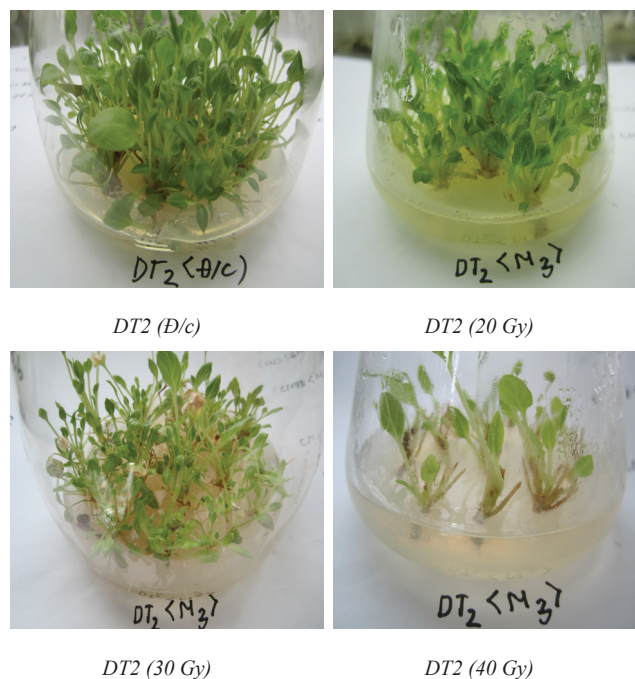
hoa đồng tiền. Ở liều đối chứng cho tỷ lệ tái sinh chồi cao nhất (80,3-88,6%). Khi tăng dần liều chiếu xạ từ 5 đến 10 Gy, tỷ lệ tái sinh chồi so với liều đối chứng tương đối cao (70,0-81,6%). Tăng liều chiếu 20-40 Gy, tỷ lệ tái sinh chồi đã giảm mạnh; ở liều chiếu 40 Gy, tỷ lệ tái sinh chồi ở các giống hoa đồng tiền chỉ còn 30,3-32,0%. Ở liều chiếu 50 Gy, các callus hầu như không có sự hình thành chồi. Tương tự như vậy, số chồi trung bình/callus cũng giảm khi liều chiếu tăng lên. Ở các giống đối chứng, số chồi trung bình đều đạt trên 4 chồi/callus (4,5-5,8 chồi); khi chiếu ở liều 5-10 Gy, số chồi giảm nhẹ, mỗi callus đạt trung bình trên 3 chồi; ở liều 20-40 Gy, số chồi trung bình giảm mạnh và ở liều 30-40 Gy, số chồi trung bình là 0,3-0,8 chồi/callus.

Hệ số nhân chồi (bảng 3, hình 2) sau 3 lần cấy chuyển ở các cây chiếu xạ không giảm nhiều so với đối chứng. Đặc biệt, ở giống DT3 hệ số nhân còn cao hơn đối chứng 0,66-0,78 lần khi chiếu ở liều 5-10 Gy, chồi mọc dày và khỏe. Ở các liều chiếu 20-40 Gy, hệ số nhân chồi ở cả 4 giống hoa đồng tiền đều đạt 2,12-3,22 lần. Khi theo dõi đặc điểm hình thái chồi cho thấy, chiếu xạ ở liều cao (30-40 Gy) làm chồi nhỏ hơn, yếu hơn, thân mỏng nước và màu xanh vàng. Ở liều 20 Gy, thấy xuất hiện chồi khác so với đối chứng: giống DT1 xuất hiện chồi ngắn, lá ngọn quăn; giống DT2 có một số lá bạch tạng; giống DT3 và DT4 có chồi dài hơn và chồi nhỏ. Chiếu ở liều thấp (5-10 Gy) không làm ảnh hưởng nhiều đến đặc điểm hình thái chồi.

Bảng 3: ảnh hưởng của liều chiếu xạ tia gamma nguồn  $Co^{60}$  đến hệ số nhân chồi và hình thái chồi hoa đồng tiền *in vitro*

| Liều chiếu (Gy)     | Hệ số nhân chồi trung bình sau 3 lần cấy chuyển |      |      |      | Đặc điểm hình thái chồi            |                                           |                               |                                |
|---------------------|-------------------------------------------------|------|------|------|------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
|                     | DT1                                             | DT2  | DT3  | DT4  | DT1                                | DT2                                       | DT3                           | DT4                            |
| Đ/c                 | 3,51                                            | 3,71 | 3,44 | 3,38 | Chồi xanh đậm, mập khỏe            | Chồi xanh đậm, mập khỏe                   | Chồi xanh đậm, mập khỏe       | Chồi xanh đậm, mập khỏe        |
| 5                   | 3,13                                            | 3,14 | 4,10 | 3,29 | Chồi xanh, khỏe                    | Chồi xanh, khỏe                           | Chồi xanh, khỏe, mọc dày      | Chồi xanh, khỏe                |
| 10                  | 2,95                                            | 3,0  | 4,22 | 3,22 | Chồi xanh, khỏe                    | Chồi xanh, khỏe                           | Chồi xanh nhạt, khỏe, mọc dày | Chồi xanh nhạt, khỏe           |
| 20                  | 2,93                                            | 3,16 | 3,22 | 3,12 | Chồi ngắn, lá ngọn quăn, xanh nhạt | Chồi ngắn, lá dày, có một số lá bạch tạng | Chồi dài, xanh nhạt           | Chồi nhỏ, xanh nhạt            |
| 30                  | 2,51                                            | 2,48 | 2,12 | 3,12 | Chồi nhỏ, thân mỏng nước           | Chồi nhỏ, dài, màu xanh vàng              | Chồi nhỏ, dài, yếu, mỏng nước | Chồi nhỏ, yếu có màu xanh vàng |
| 40                  | 2,39                                            | 2,48 | 2,20 | 2,84 | Chồi nhỏ, ngắn, yếu                | Chồi nhỏ, ngắn, yếu                       | Chồi màu xanh nhạt            | Chồi màu xanh nhạt, yếu        |
| CV%                 | 2,52                                            | 4,11 | 2,67 | 3,17 |                                    |                                           |                               |                                |
| LSD <sub>0,05</sub> | 0,32                                            | 0,23 | 0,56 | 0,46 |                                    |                                           |                               |                                |

Như vậy, chiếu xạ ở liều 5-10 Gy không ảnh hưởng nhiều đến tỷ lệ tái sinh chồi từ callus, số chồi/callus, có thể làm tăng hệ số nhân chồi, hình thái chồi tốt. Chiếu ở 20 Gy làm giảm khả năng tái sinh chồi, giảm hệ số nhân và làm xuất hiện một số hình thái chồi khác so với giống đối chứng ban đầu. Khi chiếu ở liều 30-40 Gy làm ảnh hưởng không tốt đến khả năng tái sinh chồi từ callus, hệ số nhân chồi giảm và chồi kém phát triển.



Hình 2: hình thái chồi của giống hoa đồng tiền DT2 sau 2 tuần cấy chuyển

### ***Ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ tia gamma nguồn $Co^{60}$ đến sự ra rễ của chồi hoa đồng tiền *in vitro****

Sau khi cấy chuyển 3 lần, các chồi đồng tiền *in vitro* được chuyển sang môi trường tạo rễ. Theo dõi sau 2 tuần cấy chuyển (bảng 4) cho thấy, tỷ lệ ra rễ, chiều dài rễ và số rễ/cây ở cả 4 giống đồng tiền đều giảm khi liều chiếu tăng lên. Ở liều đối chứng (0 Gy), tỷ lệ ra rễ đều đạt 100% ở cả 4 giống. Liều chiếu 5, 10 và 20 Gy, tỷ lệ ra rễ ở cả 4 giống đều đạt cao trên 80% (82,7-98%); liều chiếu 30 Gy, tỷ lệ này giảm xuống còn 70,7-82,0%; tỷ lệ ra rễ đạt thấp nhất ở liều chiếu 40 Gy (50,0-65,3%) ở cả 4 giống nghiên cứu. Cũng tương tự như vậy, chiều dài trung bình của rễ và số rễ trung bình/cây không giảm nhiều ở liều 5-10 Gy và giảm đáng kể ở liều chiếu 30-40 Gy.

Về đặc điểm hình thái rễ, ở cây chiếu 5-10 Gy đều cho đặc điểm tương đương với đối chứng, các rễ đều

dài, mập, khỏe và có nhiều rễ. Liều chiếu 20-40 Gy, rễ nhỏ hơn, yếu và thưa thớt. Đặc biệt, ở liều 40 Gy thấy xuất hiện rễ cong queo và ngắn.

**Bảng 4: ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ tia gamma nguồn  $Co^{60}$  tới khả năng ra rễ của chồi hoa đồng tiền *in vitro* (sau 2 tuần nuôi cấy trong môi trường ra rễ)**

| Giống | Liều chiếu (Gy)     | Tỷ lệ ra rễ (%) | Chiều dài trung bình rễ (cm) | Số rễ trung bình/cây (rễ) | Hình thái rễ                 |
|-------|---------------------|-----------------|------------------------------|---------------------------|------------------------------|
| DT1   | Đ/c                 | 100             | 0,67                         | 7,1                       | Rễ dài, mập, khỏe, nhiều rễ  |
|       | 5                   | 97,3            | 0,65                         | 6,8                       | Rễ dài, mập, khỏe            |
|       | 10                  | 92,0            | 0,61                         | 5,7                       | Rễ dài, mập, có nhiều rễ tơ  |
|       | 20                  | 89,3            | 0,58                         | 4,5                       | Rễ dài, nhỏ                  |
|       | 30                  | 72,0            | 0,31                         | 3,9                       | Rễ ngắn, nhỏ, có rễ tơ       |
|       | 40                  | 52,0            | 0,20                         | 3,0                       | Rễ ngắn, cong queo, thưa     |
|       | CV%                 |                 | 2,6                          | 3,4                       |                              |
|       | LSD <sub>0,05</sub> |                 | 0,11                         | 0,96                      |                              |
|       |                     |                 |                              |                           |                              |
| DT2   | Đ/c                 | 100             | 0,71                         | 7,3                       | Rễ dài, mập, khỏe, nhiều rễ  |
|       | 5                   | 98,0            | 0,68                         | 6,5                       | Rễ dài, mập, khỏe            |
|       | 10                  | 94,0            | 0,63                         | 5,9                       | Rễ dài, mập, có nhiều rễ tơ  |
|       | 20                  | 90,3            | 0,61                         | 4,1                       | Rễ dài, nhỏ, mọc không đều   |
|       | 30                  | 82,0            | 0,55                         | 3,5                       | Rễ ngắn, nhỏ, có rễ tơ       |
|       | 40                  | 65,3            | 0,33                         | 2,9                       | Rễ ngắn, cong queo, thưa     |
|       | CV%                 |                 | 2,4                          | 3,5                       |                              |
|       | LSD <sub>0,05</sub> |                 | 0,10                         |                           |                              |
|       |                     |                 |                              |                           |                              |
| DT3   | Đ/c                 | 100             | 0,82                         | 6,6                       | Rễ dài, mập, khỏe, nhiều rễ  |
|       | 5                   | 92,5            | 0,77                         | 5,3                       | Rễ dài, mập, khỏe            |
|       | 10                  | 91,4            | 0,73                         | 5,0                       | Rễ dài, mập, có nhiều rễ tơ  |
|       | 20                  | 85,0            | 0,63                         | 3,3                       | Rễ dài, nhỏ                  |
|       | 30                  | 71,3            | 0,42                         | 2,9                       | Rễ nhỏ, thưa                 |
|       | 40                  | 50,0            | 0,32                         | 2,2                       | Rễ ngắn, thưa, mọc không đều |
|       | CV%                 |                 | 2,6                          | 2,4                       |                              |
|       | LSD <sub>0,05</sub> |                 | 0,2                          | 1,4                       |                              |
|       |                     |                 |                              |                           |                              |
| DT4   | Đ/c                 | 100             | 0,79                         | 6,8                       | Rễ dài, mập, khỏe, nhiều rễ  |
|       | 5                   | 92,0            | 0,62                         | 5,3                       | Rễ dài, mập, khỏe            |
|       | 10                  | 92,0            | 0,67                         | 5,2                       | Rễ dài, mập, có nhiều rễ tơ  |
|       | 20                  | 82,7            | 0,45                         | 3,0                       | Rễ dài, nhỏ, thưa            |
|       | 30                  | 70,7            | 0,30                         | 2,3                       | Rễ ngắn, nhỏ                 |
|       | 40                  | 58,6            | 0,31                         | 2,3                       | Rễ ngắn, cong queo, thưa     |
|       | CV%                 |                 | 2,2                          | 2,4                       |                              |
|       | LSD <sub>0,05</sub> |                 | 0,3                          | 0,6                       |                              |
|       |                     |                 |                              |                           |                              |

Như vậy, xử lý chiếu xạ tia gamma nguồn  $Co^{60}$  có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng ra rễ, chất lượng rễ và hình thái rễ trên cây hoa đồng tiền *in vitro*, liều chiếu càng cao thì khả năng ra rễ càng thấp, chất lượng rễ càng kém. Với liều chiếu 5-10 Gy không làm ảnh hưởng nhiều đến khả năng ra rễ và hình thái rễ so với đối chứng; liều chiếu 20-30 Gy làm giảm khả năng ra rễ và chất lượng rễ; liều chiếu 40 Gy làm xuất hiện hình thái rễ khác với đối chứng, rễ nhỏ và cong queo.

#### ***Ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ tia gamma nguồn $Co^{60}$ đến khả năng sống và sinh trưởng của các giống hoa đồng tiền ngoài vườn ươm***

Giai đoạn sinh trưởng của cây ở vườn ươm có vai trò quyết định đến chất lượng của cây giống khi đưa ra vườn sản xuất. Cây con sinh trưởng phát triển tốt ở giai đoạn vườn ươm thì khi đưa ra ngoài sản xuất có thể nhanh chóng thích nghi với các điều kiện bên ngoài.

Sau khi ra rễ được khoảng 2 tuần, tiến hành đưa cây ra vườn ươm. Kết quả theo dõi các giống đồng tiền ở giai đoạn vườn ươm sau 30 ngày được trình bày ở bảng 5.

**Bảng 5: ảnh hưởng của các liều chiếu xạ tia gamma nguồn  $Co^{60}$  tới cây con hoa đồng tiền ở giai đoạn vườn ươm**

| Giống | Liều chiếu (Gy)     | Tỷ lệ sống (%) | Chiều cao cây (cm) | Số lá trung bình/cây (lá) | Hình thái cây                          |
|-------|---------------------|----------------|--------------------|---------------------------|----------------------------------------|
| DT1   | Đ/c                 | 100            | 9,4                | 7,6                       | Thân mập, lá xanh, dày, to             |
|       | 5                   | 92,5           | 7,5                | 6,5                       | Cây xanh tốt, lá dày, to               |
|       | 10                  | 87,5           | 7,2                | 6,3                       | Lá dày, xanh, mập, cây sinh trưởng tốt |
|       | 20                  | 81,6           | 6,8                | 6,2                       | Lá xanh nhạt, cây thấp                 |
|       | 30                  | 71,6           | 5,7                | 5,9                       | Thân mảnh, lá xanh nhạt, lá mỏng, nhỏ  |
|       | 40                  | 62,5           | 5,2                | 5,6                       | Cây thấp, nhỏ, lá mảnh, xanh nhạt      |
|       | CV%                 |                | 3,5                | 3,5                       |                                        |
|       | LSD <sub>0,05</sub> |                | 0,3                | 0,2                       |                                        |
|       |                     |                |                    |                           |                                        |
| DT2   | Đ/c                 | 100            | 8,7                | 7,4                       | Thân mập, lá xanh đậm, to              |
|       | 5                   | 94,2           | 7,2                | 6,4                       | Thân mập, lá xanh tốt, lá dày          |
|       | 10                  | 88,3           | 7,0                | 6,1                       | Thân mập, ngắn, cây sinh trưởng tốt    |
|       | 20                  | 85,0           | 6,5                | 6,0                       | Thân nhỏ, dài, lá xanh vàng            |
|       | 30                  | 72,5           | 5,5                | 5,7                       | Thân mảnh, lá xanh nhạt, lá mỏng, nhỏ  |
|       | 40                  | 63,3           | 5,1                | 5,2                       | Thân nhỏ, lá mảnh, xanh nhạt           |
|       | CV%                 |                | 3,2                | 2,9                       |                                        |
|       | LSD <sub>0,05</sub> |                | 0,3                | 0,3                       |                                        |
|       |                     |                |                    |                           |                                        |
| DT3   | Đ/c                 | 100            | 6,6                | 6,6                       | Thân mập, khỏe, lá xanh, dày, to       |
|       | 5                   | 93,1           | 6,4                | 7,2                       | Thân mập, lá dày, to                   |
|       | 10                  | 91,6           | 6,5                | 6,7                       | Thân mập, ngắn, lá mỏng                |
|       | 20                  | 88,3           | 5,0                | 5,8                       | Thân nhỏ, lá xanh vàng, cây còi cọc    |
|       | 30                  | 73,2           | 4,8                | 5,3                       | Thân mảnh, lá xanh nhạt, lá mỏng, nhỏ  |
|       | 40                  | 66,7           | 4,8                | 5,6                       | Cây còi cọc, lá mảnh, xanh nhạt        |
|       | CV%                 |                | 3,5                | 3,5                       |                                        |
|       | LSD <sub>0,05</sub> |                | 0,6                | 0,7                       |                                        |
|       |                     |                |                    |                           |                                        |
| DT4   | Đ/c                 | 100            | 6,9                | 7,2                       | Thân mập, lá xanh, to                  |
|       | 5                   | 90,7           | 7,0                | 7,3                       | Thân mập, lá xanh tốt, lá dày          |
|       | 10                  | 90,0           | 6,8                | 6,9                       | Thân mập, lá dày, xanh, ngắn           |
|       | 20                  | 77,6           | 5,0                | 6,1                       | Lá xanh vàng, lá nhỏ, cây còi cọc      |
|       | 30                  | 69,1           | 5,0                | 5,5                       | Thân mảnh, lá xanh nhạt, lá mỏng, nhỏ  |
|       | 40                  | 68,3           | 5,1                | 5,9                       | Cây còi cọc, lá mảnh, xanh nhạt        |
|       | CV%                 |                | 3,1                | 2,9                       |                                        |
|       | LSD <sub>0,05</sub> |                | 0,7                | 0,6                       |                                        |
|       |                     |                |                    |                           |                                        |

Kết quả theo dõi cho thấy, liều chiếu xạ khác nhau cũng ảnh hưởng khác nhau đến các chỉ tiêu theo dõi. Liều chiếu càng cao thì các chỉ tiêu theo dõi càng giảm. Tỷ lệ sống sau trồng so với đối chứng (100%) ở cả 4 giống giảm 5,8-37,5% ở các liều chiếu xạ; chiều cao cây cũng giảm 1,8-4,2 cm; số lá trung bình/cây giảm 1,0-2,2 lá. Trong đó, liều chiếu 5-10 Gy ảnh hưởng không nhiều đến tỷ lệ sống và chất lượng của cây con ngoài vườn ươm; liều chiếu 20-40 Gy làm giảm đáng kể tỷ lệ sống, chiều cao cây và số lá/cây của cây con ngoài vườn ươm.

Về đặc điểm hình thái của cây (hình 3) ở cả 4 giống so với đối chứng thì ở liều chiếu 5-10 Gy, hình thái cây không thay đổi nhiều, cây mập, bộ lá xanh dày và khỏe. Liều chiếu 20-30 Gy, thân nhỏ, lá mỏng và màu

xanh nhạt hơn. Liều chiếu 40 Gy, cây còi cọc, lá mảnh và yếu.

Như vậy, giai đoạn vườn ươm cây đồng tiền cũng bị ảnh hưởng bởi các liều chiếu xạ khác nhau, ở liều chiếu 5, 10 Gy ít ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng của cây, ở 2 liều chiếu này cây sinh trưởng mạnh, lá xanh, dày, cây khỏe. Liều chiếu 20, 30 Gy làm giảm đáng kể khả năng sinh trưởng của cây. Liều 40 Gy, cây sinh trưởng kém và còi cọc.



DT3 (Đ/c và 40 Gy)



DT3 (Đ/c)



DT3 (20 Gy)



DT3 (40 Gy)

Hình 3: cây hoa đồng tiền ngoài vườn ươm

## Kết luận

Đánh giá ở giai đoạn *in vitro* cho thấy, liều chiếu xạ càng cao thì tỷ lệ sống và tái sinh chồi càng giảm. Liều chiếu 5, 10 Gy ít gây ảnh hưởng đến khả năng tái sinh chồi, hình thái chồi tốt, tỷ lệ ra rễ đạt 91,4-97,3%. Liều chiếu xạ 20 Gy làm giảm khả năng tái sinh chồi, giảm hệ số nhân chồi, xuất hiện một số hình thái chồi khác giống gốc, tỷ lệ ra rễ đạt 82,7-90,3%. Ở liều chiếu xạ 30, 40 Gy, cây có hệ số nhân chồi thấp, chồi kém phát triển, tỷ lệ ra rễ đạt 50,0-82,0%. Ở liều 50 Gy, cây không có khả năng tái sinh chồi, liều từ 60 Gy là liều gây chết đối với callus.

Đánh giá ở giai đoạn vườn ươm (*in vivo*) cho thấy cây đồng tiền cũng bị ảnh hưởng bởi các liều chiếu xạ

khác nhau, ở liều chiếu 5, 10 Gy ít ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng của cây, ở 2 liều chiếu này cây sinh trưởng mạnh, lá xanh, dày, cây khỏe. Liều chiếu 20, 30 Gy làm giảm khả năng sinh trưởng của cây. Liều 40 Gy cây sinh trưởng kém và còi cọc.

Từ các kết quả thu được về khả năng sinh trưởng, phát triển và đặc điểm hình thái của cây, đặc biệt là các đặc điểm hình thái khác so với đối chứng là tiền đề cho quá trình chọn tạo giống hoa đồng tiền mới bằng phương pháp gây đột biến bằng chiếu xạ tia gamma nguồn  $Co^{60}$ .

## Tài liệu tham khảo

- [1] Đào Thanh Vân, Đặng Thị Tố Nga (2007), *Giáo trình cây hoa*, NXB Nông nghiệp.
- [2] Lê Huy Hàm, Nguyễn Thị Kim Lý, Lê Đức Thảo, N.K Dadlani, Nguyễn Xuân Linh, Phạm Thị Lý Thu, Trịnh Xuân Hoạt (2012), *Kỹ thuật sản xuất một số loại hoa*, NXB Nông nghiệp, tr.95-109.
- [3] Nguyễn Thị Lý Anh, Đào Thị Thanh Bằng, Lê Hải Hà, Hồ Thị Thu Thanh, Nguyễn Thị Thanh Phương, Nguyễn Thị Hân, Nguyễn Thị Phương Đoài, Nguyễn Thị Hồng Nhung, Lê Thị Liễu (2015), “Ứng dụng công nghệ đột biến *in vitro* trong chọn tạo giống hoa cẩm chướng, hoa cúc”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, số 6, tr.27-35.
- [4] B.S Ahloowalia, M Maluszynski (2001), “Induced mutations - A new paradigm in plant breeding”, *Euphytica*, **118**(2), pp.167-173.
- [5] Đào Thanh Bằng, Phạm Thị Liên, Nguyễn Thị Kim Lý, Lê Thị Liễu, Nguyễn Phương Đoài, Vũ Thị Hằng, Nguyễn Thị Hồng Nhung (2007), “Nghiên cứu chọn giống ở một số loài hoa thông qua chiếu xạ *in vitro*”, *Hội nghị khoa học về Công nghệ sinh học thực vật trong công tác nhân giống và chọn tạo giống hoa*, NXB Nông nghiệp, tr.165-174.
- [6] Hoàng Thị Nga, Nguyễn Thị Phương Thảo, Nguyễn Tuấn Phong, Phí Thị Cẩm Miện, Trương Thị Lành, Nguyễn Quang Thạch (2009), “Kết quả bước đầu trong nghiên cứu tạo giống hoa đồng tiền (*Gerbera jamesonii*) qua kỹ thuật đột biến *in vitro* bằng tia gamma (nguồn  $Co^{60}$ )”, *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, **7**(4), tr.401-407.
- [7] Lê Đức Thảo (2010), “Nghiên cứu chọn tạo và một số biện pháp kỹ thuật nhân, sản xuất hoa cẩm chướng (*Dianthus carophyllus* L.)”, *Luận án tiến sĩ nông nghiệp*, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.
- [8] Nor Azlina Hasbullah, Rosna Mat Taha, Azani Saleh, Normadiha Mohamed (2012), “Physiological responses of callus from *Gerbera jamesonii* Bolus ex. Hook f. to Gamma Irradiation”, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **55**(3), pp.411-416.
- [9] MuraShige, Skoog (1962), “A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures”, *Physiologia Plantarum*, **15**, pp.473-497.