

NHÂN GIỐNG *IN VITRO* HOA ĐỒNG TIỀN (*Gerbera jamesonii*) BẰNG KỸ THUẬT CẮT LỚP MỎNG TẾ BÀO TẠI TRƯỜNG ĐẠI HỌC KIÊN GIANG

Trịnh Thị Kim Bình* và Trần Nguyên Chất

Khoa Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Trường Đại học Kiên Giang, Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Trịnh Thị Kim Bình, Email: ttkbinh@vnkgu.edu.vn

Lịch sử bài báo

Ngày nhận: 25/3/2021; Ngày nhận chỉnh sửa: 19/4/2021; Ngày duyệt đăng: 14/5/2021

Tóm tắt

Hoa Đồng tiền có tên khoa học là *Gerbera jamesonii*, thuộc họ Cúc; là loại hoa phổ biến trên thế giới, sử dụng cho cả trồng chậu và cắt cành; có giá trị thương mại cao bởi các đặc tính như màu sắc, đường kính hoa và sức sống. Vì vậy, nuôi cấy mô là rất cần thiết để cung cấp đủ nhu cầu giống cho sản xuất. Mục đích nghiên cứu này là khảo sát ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng đến quá trình nhân giống *in vitro* cây hoa đồng tiền. Kết quả cho thấy nồng độ kết hợp giữa NAA - BAP ở 2 mức độ 0,5-0,5 và 0,5-1 mg/l tối ưu nhất cho quá trình hình thành mô sẹo từ mẫu lớp mỏng cuống lá hoa Đồng tiền *in vitro*. Nồng độ môi trường ở MS1 bổ sung kinetin 0,5 mg/l đảm bảo sự phát triển bình thường của chồi (8,5 chồi/mẫu) từ mô sẹo lát mỏng tế bào hoa Đồng tiền, giúp giảm chi phí nuôi cấy và giảm sự ảnh hưởng ức chế của đa lượng ở nồng độ cao trong môi trường đến mẫu chồi *in vitro*. Môi trường MS1 có bổ sung kinetin nồng độ 1 mg/l cho chỉ số nhân chồi cao nhất (5 chồi/mẫu). Môi trường MS1 có bổ sung NAA nồng độ 1 mg/l cho khả năng hình thành rễ và cây hoàn chỉnh tốt nhất.

Từ khóa: *Gerbera jamesonii*, hoa Đồng tiền, *in vitro*, lớp mỏng tế bào, nhân giống.

IN VITRO PROPAGATION OF GERBERA (*Gerbera jamesonii*) USING THE THIN CELL LAYER TECHNIQUE AT KIEN GIANG UNIVERSITY

Trinh Thi Kim Binh* and Tran Nguyen Chat

Faculty of Agriculture and Rural Development, Kien Giang University, Vietnam

*Corresponding author: Trinh Thi Kim Binh, Email: ttkbinh@vnkgu.edu.vn

Article history

Received: 25/3/2021; Received in revised form: 19/4/2021; Accepted: 14/5/2021

Abstract

Gerbera (*Gerbera jamesonii*) belongs to the Asteraceae. It is one of the most popular ornamental flowers worldwide and used both as cut flower and potted plant. They have some characters such as color, floral diameter, stem length, and vigor, which make this plant of commercial importance. Therefore, *Gerbera* tissue culture is essential to provide seedling for production. The purpose of this study was to observe the influence of plant growth regulators on *in vitro* propagation of *Gerbera*. The results showed that: i) all the samples had formed callus after 21 days of culture and the best callus formation obtained when the thin cell layer of *Gerbera* was treated with 0,5-0,5, and 0,5-1 mg/l of NAA – BAP; ii) the best medium for shoot formation from callus was MS1 (8,5 shoots per explant), the best medium for shoot formation from callus was MS1 (8,5 shoots per explant), thus reducing costs and inhibitory effect of high concentrations of macronutrients; iii) MS1 medium supplemented with 1 mg/l kinetin was the best for shoot multiplication (5 shoots per explant); iv) MS1 medium supplemented with 1 mg/l NAA was the best for root and plantlet formation.

Keywords: *Gerbera jamesonii*, *Gerbera*, *in vitro*, thin cell layer, propagation.

DOI: <https://doi.org/10.52714/dthu.11.2.2022.939>

Trích dẫn: Trịnh, T. K. B., & Trần, N. C. (2022). Nhân giống *in vitro* hoa đồng tiền (*Gerbera jamesonii*) bằng kỹ thuật cắt lớp mỏng tế bào tại Trường Đại học Kiên Giang. *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp*, 11(2), 61-67. <https://doi.org/10.52714/dthu.11.2.2022.939>.

1. Giới thiệu

Hoa Đồng tiền (*Gerbera jamesonii*) thuộc họ Cúc (Asteraceae), là một trong những loài hoa được trồng phổ biến ở Việt Nam, hoa có nhiều màu sắc tươi sáng và rực rỡ, là biểu tượng của tình yêu, sự hạnh phúc, vẻ đẹp và sự may mắn của cuộc sống. Hoa Đồng tiền có thể trồng chậu hoặc trồng cắt cành và được thương mại hóa trên khắp thế giới. Phát hoa Đồng tiền cứng cáp và chịu được sự khắc nghiệt trong quá trình vận chuyển và giữ được chất lượng trong thời gian dài so với các loại hoa cắt cành khác; vì thế nhu cầu cây giống hoa Đồng tiền trên thị trường rất cao. Tuy nhiên, hoa Đồng tiền rất ít hạt và việc nhân giống bằng hạt cho cây biểu hiện dị hợp tử nên chất lượng không đồng đều. Hiện nay, hoa Đồng tiền chủ yếu được nhân giống *in vitro* và mang lại hiệu quả cao, chi phí thấp nhờ sản xuất số lượng lớn cây trồng trong một khoảng thời gian ngắn trong không gian hạn chế. Vi nhân giống hoa Đồng tiền từ chồi ngọn đầu tiên vào năm 1974 bởi Murashige. Sự hình thành mô sẹo và tái sinh chồi được báo cáo bởi Rufonii & Massabo (1991), Miyoshi & Asakura (1996) sử dụng cuống lá *in vitro*.

Qua các năm nghiên cứu, các kỹ thuật nuôi cấy trong nghiên cứu nuôi cấy mô tế bào thực vật luôn được cải tiến nhằm tăng cường hiệu quả trong nghiên cứu và sản xuất. Trong đó, lớp mỏng tế bào có được các ưu điểm là phản ứng nhanh với môi trường, biệt hóa nhanh và tái sinh cây đồng nhất. Nhiều nghiên cứu sử dụng lớp mỏng tế bào đã được thực hiện trên nhiều loài thực vật khác nhau, đặc biệt là giống cây trồng khó tái sinh khi nuôi cấy *in vitro* như một số loài cây ngũ cốc, cây thân gỗ (DaSilva & cs., 2003; Tran & cs., 1974; Dương, 2010). Mục đích của nghiên cứu này là khảo sát ảnh hưởng của kiểu cắt lớp mỏng dọc đến quá trình tạo mô sẹo và nồng độ môi trường MS, ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật đến quá trình vi nhân giống hoa Đồng tiền *in vitro* phục vụ cho công tác cải tiến quy trình nhân giống tại Trường Đại học Kiên Giang.

2. Phương tiện và phương pháp nghiên cứu

2.1. Phương tiện

2.1.1. Địa điểm và thời gian

Thí nghiệm được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Nuôi cấy mô, Trung tâm thực hành thí nghiệm, Trường Đại học Kiên Giang, từ tháng 6/2020 đến tháng 02/2021.

2.1.2. Nguyên vật liệu

Giống hoa Đồng tiền màu vàng, thuộc bộ giống được lai tạo từ Viện Cây ăn quả miền Nam. Giống được trồng tại Kiên Giang và thu mẫu làm mẫu thí nghiệm. Môi trường nuôi cấy là MS (Murashige & Skoog, 1962) với 30 g/l đường sucrose, 8 g/l agar, nhiệt độ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ và thời gian chiếu sáng là 16 giờ/ngày. Thành phần và nồng độ chất điều hòa sinh trưởng thực vật được thay đổi theo từng thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. *Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ NAA và BAP đến quá trình hình thành mô sẹo từ lát mỏng tế bào*

Nguồn mẫu:

Cuống lá hoa Đồng tiền được cắt thành các lát mỏng cắt dọc. Các mẫu cắt dọc có chiều dài khoảng 5 mm và dày 0,5 mm.

Môi trường dùng trong các thí nghiệm tạo mô sẹo là môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962) được bổ sung 30 g/l đường sucrose và 8 g/l agar, NAA và BAP được kết hợp với nhau ở các nồng độ của từng chất là lần lượt là 0,5; 1,0; 1,5 mg/l. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 9 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần, mỗi nghiệm thức 3 bình, mỗi bình 2 mẫu.

Các chỉ tiêu theo dõi:

Tỷ lệ mẫu hình thành mô sẹo (%): số mẫu hình thành mô sẹo/tổng số mẫu cấy

Kích thước mô sẹo (cm).

Hình thái và màu sắc của mô sẹo.

2.2.2. *Thí nghiệm 2: Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ của môi trường MS đến quá trình hình thành chồi từ mô sẹo hoa Đồng tiền in vitro*

Mẫu mô sẹo có chất lượng thu được từ thí nghiệm tạo sẹo.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên một yếu tố là nồng độ MS, tất cả đều bổ sung kinetin 0,5 mg/l, với 4 mức độ MS1, MS2, MS3, MS4 và nghiệm thức đối chứng là MS cơ bản, cụ thể:

MS1: nồng độ đa lượng giảm 1/2 theo MS cơ bản, các thành phần khác giữ nguyên.

MS2: nồng độ đa lượng, vi lượng giảm 1/2 theo MS cơ bản, các thành phần khác giữ nguyên.

MS3: nồng độ tất cả các thành phần giảm 1/2 theo MS cơ bản.

MS4: nồng độ tất cả các thành phần giảm 1/4 theo MS cơ bản.

Các nghiệm thức được lặp lại 3 lần, mỗi nghiệm thức 3 bình, mỗi bình cây 2 mẫu. Mẫu được chứa trong bình thủy tinh 500 ml có chứa 60 ml môi trường nuôi cấy.

Chỉ tiêu theo dõi:

Tỷ lệ mẫu tái sinh chồi (%): số mẫu tái sinh chồi/ số mẫu cây

Số chồi (chồi): đếm số chồi phát sinh trên mỗi mẫu.

Chiều cao chồi (cm): đo từ gốc chồi mới hình thành cho đến đỉnh ngọn.

2.2.3. Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chất điều hòa sinh trưởng Kinetin đến quá trình nhân chồi.

Mẫu cây: Mẫu chồi hoa Đồng tiền *in vitro* có chiều dài thân $0,5 \pm 0,1$ cm.

Điều kiện thí nghiệm:

Môi trường nuôi cấy là môi trường MS1 tối ưu từ thí nghiệm 1. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên một yếu tố là nồng độ kinetin, với 4 mức độ 0,1 mg/l, 0,5 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l và nghiệm thức đối chứng không bổ sung kinetin.

Các nghiệm thức được lặp lại 3 lần, mỗi nghiệm thức 3 bình, mỗi bình cây 2 mẫu. Mẫu cây được chứa trong bình thủy tinh 500 ml có chứa 60 ml môi trường nuôi cấy.

Chỉ tiêu theo dõi:

Số chồi (chồi): đếm số chồi phát sinh trên mỗi mẫu.

Chiều cao chồi (cm): đo từ gốc chồi mới hình thành cho đến đỉnh ngọn.

2.2.4. Thí nghiệm 4: Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chất điều hòa sinh trưởng IBA đến quá trình hình thành rễ và tạo cây hoàn chỉnh

Mẫu cây sử dụng là chồi từ thí nghiệm 3. Chọn các chồi có hình thái tốt nhất và đồng đều có kích thước $1 \pm 0,1$ cm.

Điều kiện thí nghiệm:

Môi trường nuôi cấy là môi trường MS tối ưu thu được từ thí nghiệm khảo sát nồng độ MS. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên một yếu tố là nồng độ IBA, với 4 mức độ 0,1 mg/l, 0,5 mg/l,

1 mg/l, 1,5 mg/l và nghiệm thức đối chứng không bổ sung IBA; Các nghiệm thức được lặp lại 3 lần, mỗi nghiệm thức 3 bình, mỗi bình cây 2 mẫu. Mẫu cây được chứa trong bình thủy tinh 500 ml có chứa 60 ml môi trường nuôi cấy.

Chỉ tiêu theo dõi:

Số rễ (rễ): đếm số rễ phát sinh trên mỗi mẫu.

Chiều dài rễ (cm): đo từ gốc đến chóp rễ.

Chiều cao thân (cm): đo từ gốc cho đến đỉnh ngọn.

Tất cả môi trường được điều chỉnh về pH 5,8 rồi hấp khử trùng trong 20 phút ở nhiệt độ 121°C , áp suất 1 atm và bảo quản để ở nhiệt độ phòng 3 ngày trước khi cấy. Các thí nghiệm được đặt trong phòng tăng trưởng ở nhiệt độ ổn định $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, độ ẩm tương đối $70 \pm 10\%$.

Các số liệu được tổng hợp, xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2007, phân tích phương sai và trắc nghiệm phân hạng Duncan bằng phần mềm SAS 9.1.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ NAA và BAP đến khả năng tạo sẹo từ mẫu lát mỏng cuống lá hoa Đồng tiền *in vitro*

Các mô khác nhau trên cùng một cây có thể ở mức độ biểu hiện thông tin di truyền khác nhau và đặc biệt là sự chênh lệch về nồng độ các chất điều hòa sinh trưởng nội sinh. Kỹ thuật lát mỏng tế bào cho phép hạn chế tối đa sự có mặt của các chất nội sinh này nhờ kích thước mẫu nhỏ, mỏng (Dương, 2010).

Sự tái sinh cây con từ callus phụ thuộc nhiều vào tỷ lệ cytokinin/auxin bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Nếu tỷ lệ này cao sẽ tạo chồi là chính, nếu ngược lại rễ sẽ hình thành, nếu tỷ lệ này cân bằng sẽ vừa tạo chồi vừa tạo rễ. Trên cơ sở nguyên tắc chung này cần phải chọn tỷ lệ hai nhóm phytohormone này thích hợp cho từng loại cây trồng (George & cs., 2008).

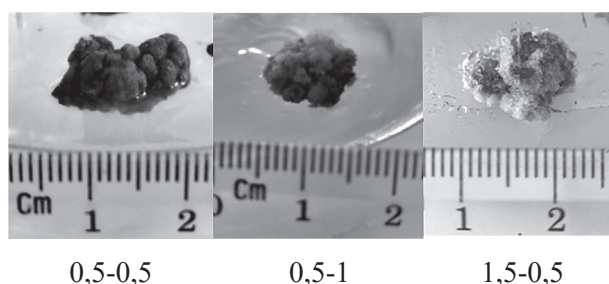
Kết quả thu được thể hiện ở Bảng 1 cho thấy, tất cả các nghiệm thức đều hình thành mô sẹo, tỷ lệ hình thành mô sẹo từ mẫu cắt lát mỏng cuống lá của các nghiệm thức là 100%, không có khác biệt về mặt thống kê. Tuy nhiên, kích thước mô sẹo ghi nhận được ở các nồng độ kết hợp giữa NAA - BAP là 0,5-0,5, 0,5-1, 1-0,5, 1-1, 1-1,5 và 1,5-0,5, 1,5-1,5 cho chỉ số cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại.

Bảng 1. Kết quả mô sẹo được hình thành từ mẫu cắt lát mỏng cuống hoa Đồng tiền

Nghiệm thức NAA-BAP (mg/l)	Tỷ lệ tạo sẹo (%)	Kích thước (cm)	Hình thái
0,5-0,5	100	1,08 ^a	Thành khối, cứng, chắc, màu vàng xanh
0,5-1	100	1,03 ^a	Thành khối, cứng, chắc, màu vàng xanh
0,5-1,5	100	0,79 ^{bc}	Thành khối, cứng, chắc, màu vàng nhạt
1-0,5	100	0,97 ^{abc}	Xốp, mềm, dễ vỡ, màu trắng sữa
1-1	100	0,95 ^{abc}	Thành khối, cứng, chắc, màu vàng nhạt
1-1,5	100	1 ^{ab}	Xốp, mềm, dễ vỡ, màu trắng sữa
1,5-0,5	100	1,05 ^a	Xốp, mềm, dễ vỡ, màu trắng sữa
1,5-1	100	0,77 ^c	Xốp, mềm, dễ vỡ, màu trắng sữa
1,5-1,5	100	0,96 ^{abc}	Xốp, mềm, dễ vỡ, màu trắng sữa
Mức ý nghĩa	Ns	*	
CV (%)		11,83	

Ghi chú: Các chữ theo sau khác nhau ở cùng một cột thì khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. *: khác biệt có ý nghĩa ở mức $P \leq 0,05$, ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Bước tiếp theo trong nhân giống hoa Đồng tiền cần khảo sát khả năng tạo chồi từ mô sẹo. Vì vậy, các chỉ tiêu chất lượng mô sẹo về hình thái, màu sắc rất quan trọng trong việc đánh giá và chọn loại mô sẹo cho thí nghiệm phát sinh chồi. Mô sẹo có hình thái và màu sắc bên ngoài thành khối, cứng, chắc, màu vàng xanh có khả năng tái sinh chồi tốt hơn mô sẹo rời rạc, xốp, mềm, dễ vỡ, màu trắng sữa và màu vàng nhạt. Từ kết quả hình thái mô sẹo ở Bảng 1 cho thấy, hình thái mô sẹo tốt cho tái sinh chồi ở các mức nồng độ kết hợp giữa auxin/cytokinin thấp. Nồng độ cao làm được mô sẹo hình thành xốp và mềm, không phù hợp cho quá trình hình thành chồi. Vì thế, hai nồng độ kết hợp giữa NAA - BAP là 0,5-0,5 mg/l, 0,5-1 mg/l tối ưu nhất cho quá trình hình thành sẹo từ mẫu lớp mỏng cuống lá hoa Đồng tiền *in vitro*.



Hình 1. Mô sẹo được hình thành từ lớp mỏng tế bào hoa Đồng tiền

3.2. Ảnh hưởng của nồng độ MS đến khả năng hình thành chồi từ mô sẹo cuống lá hoa Đồng tiền

Trong quá trình nuôi cấy, các nhà khoa học sử dụng các môi trường nuôi cấy rất khác nhau. Việc lựa chọn môi trường nuôi cấy với thành phần hoá học đặc trưng phụ thuộc vào đối tượng cây trồng, mô nuôi cấy, mục đích nghiên cứu hoặc phương thức nuôi cấy mô khác nhau (Nguyễn, 2006). Các chất điều hoà sinh trưởng đóng vai trò quyết định đối với phát sinh hình thái, phân chia và phân hoá tế bào, hình thành mô và cơ quan như phát chồi và tạo rễ. Đôi khi thay đổi nồng độ các chất khoáng của môi trường cũng đóng vai trò quan trọng trong việc điều khiển các giai đoạn phát triển khác nhau của quá trình nuôi cấy.

Bảng 2. Kết quả chồi được hình thành từ mô sẹo hoa Đồng tiền *in vitro*

Nghiệm thức	Tỷ lệ hình thành chồi (%)	Số chồi	Chiều cao chồi (cm)	Số lá
MS + Kinetin 0,5 mg/l	100	8,33 ^a	1,17	25,33 ^a
MS1 + Kinetin 0,5 mg/l	100	8,5 ^a	1,25	27 ^a
MS2 + Kinetin 0,5 mg/l	100	6 ^b	1,2	18,17 ^b
MS3 + Kinetin 0,5 mg/l	100	4,67 ^b	1,2	14,17 ^c
MS4+ Kinetin 0,5 mg/l	100	4,33 ^b	1,17	13,33 ^c
Mức ý nghĩa	Ns	*	Ns	*
CV (%)		14,9		11,08

Ghi chú: Xem Bảng 1.

Kết quả hình thành chồi từ mô sẹo thể hiện ở Bảng 2 cho thấy, sau 30 ngày nuôi cấy tất cả 4 môi trường MS1, MS2, MS3, MS4 có điều chỉnh nồng độ

và MS cơ bản đều cho tỷ lệ hình thành chồi 100%. Ở chỉ tiêu số chồi, 2 nghiệm thức MS cơ bản và MS1 cho kết quả tối ưu nhất và có khác biệt về thống kê với các nghiệm thức thành phần môi trường còn lại. Tuy nhiên, ở chỉ tiêu chiều cao chồi không ghi nhận được sự khác biệt giữa các nghiệm thức nồng độ môi

trường. Điều này cho thấy khi giảm nồng độ các thành phần môi trường MS ở nghiệm thức MS1 không làm ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của chồi từ mô sẹo, nhưng ở MS2, MS3 và MS4 các chỉ tiêu số chồi và số lá hình thành kém do giảm quá nhiều nồng độ các thành phần cơ bản của môi trường nuôi cấy.



MS

MS1

MS2

MS3

MS4

Hình 2. Chồi được hình thành từ mô sẹo hoa Đồng tiền *in vitro*

Kết quả thu được từ thí nghiệm cho thấy việc giảm nồng độ môi trường ở MS1 vẫn đảm bảo sự phát triển bình thường của chồi từ mô sẹo lát mỏng tế bào hoa Đồng tiền. Việc này giúp giảm chi phí nuôi cấy và giảm sự ảnh hưởng ức chế của đa lượng ở nồng độ cao trong môi trường đến mẫu chồi *in vitro*.

3.3. Ảnh hưởng của kinetin đến quá trình nhân chồi hoa Đồng tiền *in vitro*

Khi chồi được nuôi cấy trong môi trường có các thành phần dinh dưỡng tối ưu, dưới tác động của cytokinin, kích thích các chồi bên từ các nách lá phát triển, từ đó tăng số lượng chồi của mẫu. Vai trò của cytokinin trong trường hợp này là hạn chế ưu thế ngọn và tăng phát triển chồi bên (Nguyễn & Lê, 2002).

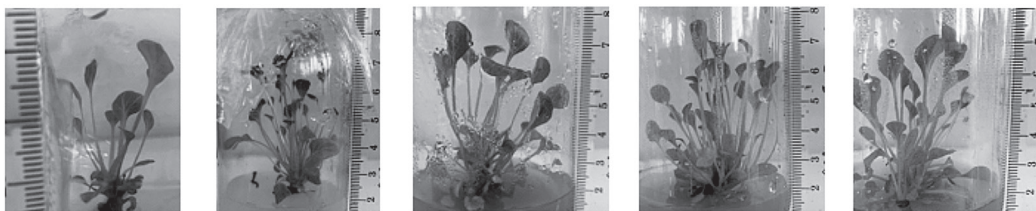
Cytokinin có ảnh hưởng rất nhiều đến khả năng hình thành chồi trực tiếp và gián tiếp, thúc đẩy sự phát triển của chồi nách và làm giảm ưu thế ngọn trong nuôi cấy tạo chồi ở cây lá rộng. Nồng độ cytokinin cao quá cũng là nguyên nhân các chồi non cao quá mức, các lá phát sinh có hình dạng bất thường và chồi hình thành bị trương nước (George & cs., 2008).

Bảng 3. Ảnh hưởng của kinetin đến nhân chồi hoa Đồng tiền *in vitro*

Nghiệm thức	Số chồi	Chiều cao chồi (cm)
MS1 + kinetin 0 mg/l	1,5 ^c	0,92 ^c
MS1 + kinetin 0,1 mg/l	4,17 ^{ab}	1,63 ^a
MS1 + kinetin 0,5 mg/l	4,33 ^{ab}	1,47 ^{ab}
MS1 + kinetin 1 mg/l	5 ^a	1,42 ^{ab}
MS1 + kinetin 1,5 mg/l	3,33 ^b	1,33 ^c
Mức ý nghĩa	*	*
CV (%)	21,13	11,41

Ghi chú: Xem Bảng 1.

Kết quả thống kê thể hiện ở Bảng 3 cho thấy, kinetin bổ sung vào môi trường MS1 có ảnh hưởng rõ rệt đến việc nhân chồi hoa Đồng tiền *in vitro*. Cả 3 nghiệm thức MS1 có bổ sung kinetin nồng độ 0,1 mg/l, 0,5 mg/l và 1 mg/l cho chỉ số nhân chồi cao nhất và có khác biệt có ý nghĩa thống kê với các nghiệm thức còn lại, kể cả đối chứng. Tương tự, ở chỉ tiêu chiều cao chồi, nghiệm thức MS1 có bổ sung kinetin nồng độ 0,1 mg/l, 0,5 mg/l và 1 mg/l cũng cho kết quả tối ưu nhất và có khác biệt có ý nghĩa thống kê với đối chứng và các nghiệm thức bổ sung kinetin khác. Điều này cho thấy nồng độ cytokinin tăng làm ức chế chiều cao chồi, giảm ưu thế ngọn.



0 mg/l

0,1 mg/l

0,5 mg/l

1 mg/l

1,5 mg/l

Hình 3. Ảnh hưởng của kinetin đến nhân chồi hoa Đồng tiền *in vitro*

3.4. Ảnh hưởng của NAA đến khả năng hình thành rễ và cây hoàn chỉnh của chồi hoa Đồng tiền *in vitro*

Trong vi nhân giống thực vật, cây *in vitro* đòi hỏi phải có hệ thống rễ phát triển đầy đủ để chịu đựng

được những điều kiện không tối ưu của môi trường khi chuyển ra điều kiện *ex vitro*. Rễ bất định được cảm ứng ở các mô khác nhau phụ thuộc vào điều kiện nuôi cấy. Thông thường một nồng độ auxin phù hợp là cần thiết cho sự thúc đẩy sự tạo rễ.

Bảng 4. Ảnh hưởng của NAA đến hình thành rễ và cây hoàn chỉnh từ chồi hoa Đồng tiền

Nghiệm thức	Tỷ lệ hình thành rễ (%)	Số rễ (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Chiều cao cây (cm)	Số lá (lá)
MS + NAA 0 mg/l	100	1,83 ^c	0,58 ^c	0,85 ^b	3,33 ^c
MS + NAA 0,1 mg/l	100	2,83 ^{bc}	1,92 ^a	1,08 ^b	5,17 ^b
MS + NAA 0,5 mg/l	100	3,17 ^b	1,42 ^b	1,25 ^a	4,67 ^b
MS + NAA 1 mg/l	100	4,33 ^a	1,42 ^b	1,25 ^a	6,17 ^a
MS + NAA 1,5 mg/l	100	3,83 ^{ab}	1 ^b	1,28 ^a	5,5 ^{ab}
Mức ý nghĩa	Ns	*	*	*	*
CV (%)		19,35	18,46	12,5	9,37

Ghi chú: Xem Bảng 4.

Kết quả thống kê từ Bảng 4 cho thấy, tỷ lệ hình thành rễ khi bổ sung NAA từ 0,1 đến 1,5 mg/l không có khác biệt về mặt thống kê với đối chứng, điều này cho thấy trong môi trường MS1 rễ của hoa Đồng tiền có khả năng hình thành mà không cần bổ sung NAA. Tuy nhiên, khi xét đến chỉ tiêu số rễ thì nghiệm thức không bổ sung NAA lại kém nhất và tối ưu nhất là nghiệm thức có bổ sung NAA nồng độ 1 mg/l, có khác biệt về thống kê với các nghiệm thức còn lại. Tương tự, khi không bổ sung NAA thì các chỉ tiêu về chiều dài rễ, chiều cao cây và số lá đều cho chỉ số thấp hơn so với các nghiệm thức có bổ sung NAA.

Nghiệm thức có bổ sung NAA ở nồng độ 1 mg/l và 1,5 mg/l cho kết quả chiều cao chồi tốt nhất và có khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. Tuy nhiên, ở chỉ tiêu chiều dài rễ nghiệm thức có bổ sung NAA nồng độ 0,1 mg/l lại cho chỉ số cao nhất, điều này có thể thấy ảnh hưởng của NAA đến việc ức chế chiều dài rễ khi tăng nồng độ.



Hình 4. Cây con hoa Đồng tiền *in vitro*

Từ kết quả thí nghiệm tạo rễ và cây hoàn chỉnh, có thể xác định rằng môi trường MS1 có bổ sung NAA nồng độ 1 mg/l cho khả năng hình thành rễ và cây hoàn chỉnh tốt nhất.

4. Kết luận

Từ các kết quả thu được thể hiện qua các thí nghiệm, có thể thấy được ở mức nồng độ kết hợp giữa NAA - BAP là 0,5-0,5, 0,5-1 mg/l tối ưu nhất cho quá trình hình thành sẹo từ mẫu lớp mỏng cuống lá hoa Đồng tiền *in vitro*, ở 2 nồng độ này cho kết quả mô sẹo vừa có kích thước lớn và hình thái có khả năng tạo chồi cao. Nồng độ môi trường ở MS1 (giảm ½ nồng độ thành phần đa lượng so với MS cơ bản) đảm bảo sự phát triển bình thường của chồi (8,5 chồi/mẫu) từ mô sẹo lát mỏng tế bào hoa Đồng tiền, giúp giảm chi phí nuôi cấy và giảm sự ảnh hưởng ức chế của đa lượng ở nồng độ cao trong môi trường đến mẫu chồi *in vitro*. Môi trường MS1 có bổ sung kinetin nồng độ 1 mg/l cho chỉ số nhân chồi cao nhất (5 chồi/mẫu), giúp tăng hệ số nhân giống. Môi trường MS1 có bổ sung NAA nồng độ 1 mg/l cho khả năng hình thành rễ và cây hoàn chỉnh tốt nhất.

Lời cảm ơn: Bài báo được hỗ trợ kinh phí thực hiện bởi đề tài cấp cơ sở “Hoàn thiện quy trình nhân giống hoa Đồng tiền (*Gerbera jamesonii*) và hoa Cát tường (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinnery) bằng phương pháp nuôi cấy mô tại huyện Châu Thành, tỉnh Kiên Giang”.

Tài liệu tham khảo

- DaSilva J.A.T. (2003). Thin cell layer technology in ornamental plant micropropagation and biotechnology. *African Journal of Biotechnology*, 2(12), 683-691.
- Dương, T. N. (2010). *Một số phương pháp, hệ thống mới trong nghiên cứu công nghệ sinh học thực vật*. Thành phố Hồ Chí Minh: NXB Nông nghiệp.
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (2008). Plant tissue culture procedure-background, Plant propagation by tissue culture. *Springer*, 1-28.
- Miyoshi, K., & Asakura, N. (1996). Callus induction, regeneration of haploid plants and chromosome doubling in ovule culture. *Physiol Plant*, 15, 473-497.
- Murashige, T., & F Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15, 473-497.
- Murashige, T. (1974). Plant propagation through tissue cultures. *Annual Review of Plant physiology*, 25, 135-166.
- Nguyễn, Đ. L., & Lê, T. T. T. (2002). *Công nghệ tế bào*. Thành phố Hồ Chí Minh: NXB Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- Nguyễn, H. L. (2006). *Giáo trình công nghệ tế bào*. Huế: NXB Đại học Huế.
- Ruffoni, B., & Massabo, F. (1991). Tissue culture in *Gerbera jamesonii* hybrid. *Acta Hort*, 289, 147-148.
- Tran, T. V., Dien, N. T., & Chlyah, A. (1974). Regulation of organogenesis in small explants of superficial tissue of *Nicotiana tabacum* L., *Planta*, 119(2), 149-159.