

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH TÁI SINH CHỒI THÔNG QUA MÔ SẼO PHÔI HÓA GIỐNG ĐỒNG TIỀN CÁNH VÀNG GIỐNG CỔ (*Gerbera jamesonii* Bolus) PHÁT SINH TỪ NỤ HOA NON BẰNG CÔNG NGHỆ TẾ BÀO

Phan Thị Thu Hiền¹, *

TÓM TẮT

Hoa đồng tiền (*Gerbera jamesonii* Bolus) là loài hoa có giá trị kinh tế cao và rất được ưa chuộng nhờ sự đa dạng về màu sắc, đứng hàng thứ năm trong số các loại hoa được cắt để bán trên thế giới. Hiện nay, công nghệ tế bào đang là một giải pháp giúp nhân nhanh giống hoa đồng tiền để đáp ứng được nhu cầu cây giống ở quy mô lớn. Nồng độ 2,4 - D tối ưu để hình thành mô sẹo phôi hóa từ nụ hoa non là MS bổ sung 3 mg/L 2,4 - D. Ở nồng độ này, tỷ lệ mô sẹo phôi hóa đạt cao nhất, đạt 67,78%, thời gian xuất hiện mô sẹo phôi hóa 14,43 ngày. Nguyên liệu phù hợp nhất để tạo mẫu sạch *in vitro* giống hoa đồng tiền cánh vàng giống cổ là nụ hoa non 3 ngày tuổi, tỷ lệ tạo mô sẹo phôi hóa đạt 72,22%. Môi trường tối ưu cho quá trình tái sinh chồi từ mô sẹo phôi hóa ở giống đồng tiền cánh vàng giống cổ là MS bổ sung 2 mg/L Kinetin, trên môi trường này, tỷ lệ tái sinh chồi đạt 73,33%, chồi cao nhất đạt 8,21 cm. Trên môi trường MS bổ sung 2 mg/L IBA, tỷ lệ ra rễ đạt cao nhất, đạt 80,00%. Giá thể có bổ sung NPK vừa cung cấp giá thể thoáng khí, vừa đủ chất dinh dưỡng nên giúp cho cây hoa đồng tiền cánh vàng giống cổ *in vitro* sinh trưởng, phát triển tốt, tỷ lệ sống cao đến 94,44%. Quy trình tái sinh chồi từ mô sẹo phôi hóa xuất phát từ nguyên liệu nụ hoa non ở giống đồng tiền cánh vàng giống cổ (*Gerbera jamesonii* Bolus) đã được xây dựng thành công.

Từ khóa: Đồng tiền cổ, *Gerbera jamesonii* Bolus, *in vitro*, *ex vitro*, công nghệ tế bào.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa đồng tiền (*Gerbera jamesonii* Bolus) được biết đến với cái tên phổ biến của nó là cúc đồng tiền, thuộc họ Cúc (*Compositae*). Chi đồng tiền đã được đặt tên là *Gerbera* theo tên một nhà tự nhiên học người Đức, Traugott Gerber mặc dù chính Robert Jameson người Scotland đã phát hiện ra loài vào khoảng năm 1880 [5]. Hoa đồng tiền là loài hoa có giá trị kinh tế cao và rất được ưa chuộng nhờ sự đa dạng về màu sắc, đứng hàng thứ năm trong số các loại hoa được cắt để bán trên thị trường thế giới [1].

Yếu tố di truyền là một trong những yếu tố chính ảnh hưởng đến khả năng phát triển trong điều kiện *in vitro* của cây hoa đồng tiền. Các giống hoa đồng tiền khác nhau cho kết quả tái sinh và nhân chồi trong môi trường tối ưu có nồng độ chất kích thích sinh trưởng hoàn toàn khác nhau. Như vậy, khả năng tái sinh tạo đa chồi không những phụ thuộc vào cách khử trùng, thành phần môi trường nuôi cấy mà còn phụ thuộc vào đặc điểm di truyền của từng giống hoa đồng tiền [9].

Cây đồng tiền là một trong những loài hoa đẹp, được trồng phổ biến ở nước ta để làm hoa cắt cành, làm chậu cảnh...Hiện nay trên thế giới và Việt Nam đã có nhiều nghiên cứu về nuôi cấy mô cây đồng tiền như: nghiên cứu quá trình tái sinh chồi từ nụ hoa non [9], tái sinh chồi qua 2 phương thức: tạo chồi trực tiếp và gián tiếp thông qua mô sẹo phôi hóa [4]...Tuy nhiên, hiện nay đối với cây hoa đồng tiền cánh vàng giống cổ của Việt Nam thì chưa có nghiên cứu nào về tái sinh thông qua mô sẹo phôi hóa. Để lưu giữ, bảo tồn và phát triển ra sản xuất giống hoa đồng tiền này đã tiến hành nghiên cứu quá trình tái sinh chồi thông qua mô sẹo phôi hóa giống đồng tiền cánh vàng giống cổ, đang là giống đồng tiền khan hiếm, phân bố ở Việt Nam và có nguy cơ tuyệt chủng. Trong nghiên cứu này, đã sử dụng nụ hoa non làm vật liệu khởi đầu vào mẫu, mục tiêu để nâng cao phẩm chất và khả năng nhân nhanh cây giống trong điều kiện *in vitro*, cung cấp lượng cây giống tốt, đồng đều và sạch bệnh. Ngoài ra, nghiên cứu này cũng góp phần lưu giữ và bảo tồn nguồn gen các giống đồng tiền cánh vàng giống cổ.

¹ Khoa Sinh - KTNN, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

* Email: phanthithuhien@hpu2.edu.vn

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

Nụ hoa non của giống đồng tiền cánh vàng giống cổ được cung cấp bởi Công ty Florist Việt Nam.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Tạo mẫu sạch *in vitro*

Nụ hoa non của giống đồng tiền cánh vàng giống cổ được thu mẫu tại vườn, xử lý xà phòng, carbedazyme 30% trước khi thực hiện các bước khác trong box cấy khử trùng: dùng cồn 70 độ (3 cồn : 1 nước cất khử trùng) lắc trong 5 phút, rửa lại bằng nước cất khử trùng 2 lần trong 5 phút, lắc tiếp HgCl₂ 0,1% trong 2 phút, lắc rửa trong nước cất 2 lần. Sau đó tiến hành khảo sát khả năng tạo mô sẹo phôi hóa và tái sinh cây trong điều kiện *in vitro* từ nụ hoa non.

2.2.2. Tối ưu hóa quá trình tạo mô sẹo phôi hóa

Mẫu được nuôi cấy trên môi trường MS + 2,4-D (0, 1, 2, 3, 4 mg/l) trong điều kiện tối hoàn toàn, sau đó tiến hành theo dõi tỷ lệ tạo mô sẹo phôi hóa phát sinh từ nụ hoa non.

2.2.3. Tối ưu hóa tuổi của nụ hoa lên khả năng tạo mô sẹo phôi hóa phát sinh từ nụ hoa non

Sử dụng môi trường tạo mô sẹo đã tối ưu ở trên, tối ưu hóa điều kiện tuổi của nụ hoa non lên khả năng tạo mô sẹo phôi hóa ở cây hoa đồng tiền (3, 5, 7, 9 ngày tuổi) [5].

2.2.4. Tối ưu hóa khả năng tái sinh chồi từ phôi của cây đồng tiền

Phôi soma được đặt trên môi trường MS bổ sung kinetin (0, 1, 2, 3, 4 mg/L) [6].

2.2.5. Tối ưu hóa quá trình ra rễ của giống đồng tiền cánh vàng giống cổ

Đặt cụm chồi có chiều cao khoảng 5 - 6 cm, có 3 - 4 lá trên môi trường MS có bổ sung 0, 1, 2, 3, 4 mg/L IBA, sau 4 tuần thống kê số cụm chồi tạo rễ [6].

2.2.6. Nghiên cứu khả năng sinh trưởng và phát triển của cây hoa đồng tiền *ex vitro*

Tiến hành trồng cây hoa đồng tiền nuôi cấy *in vitro* được rửa sạch agar, cây hoa đồng tiền có chiều cao 6 - 8 cm, 2 nhánh trở lên, có 3 rễ/chồi đủ điều kiện để trồng ngoài môi trường, sau đó trồng vào chậu với giá thể là mụn xơ dừa trộn với đất mùn theo tỷ lệ 1 : 1. Tiến hành 2 nghiệm thức: Nghiệm thức 1: Không bón NPK, nghiệm thức 2: Bón phân NPK (16 : 16 : 8) (20 g/l) 1 lần/tuần. Trong tuần đầu sau khi

trồng, cả hai nghiệm thức đều được tưới phun sương 2 lần/ngày, sau đó tưới 1 lần/ngày vào sáng sớm và chiều mát. Phun thuốc phòng trừ nấm bệnh 1 - 2 lần/tuần [5]. Nhiệt độ 22 - 25°C, độ ẩm 60 - 70%.

Các công thức thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên 3 lần lặp lại, mỗi lô thí nghiệm sử dụng 30 mẫu cấy. Môi trường nuôi cấy *in vitro* trên môi trường MS cơ bản có bổ sung 30 g đường/l, 7 g thạch agar và pH = 5,6 - 5,8.

Các số liệu được thu nhận sau 4 tuần nuôi cấy. Số liệu được xử lý và phân tích bằng phần mềm Excel và IRRISTAT 5.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ 2,4 - D lên khả năng tạo mô sẹo phôi hóa cây đồng tiền cánh vàng giống cổ

Sau khi tiến hành thu mẫu, khử trùng kép (Hình 1A, 1B, 1C). Nụ hoa non được đặt trên môi trường có bổ sung 2,4 - D (nhóm chất kích thích sinh trưởng thuộc nhóm Auxin) để theo dõi khả năng tạo mô sẹo phôi hóa trong 4 tuần.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ 2,4 - D lên khả năng tạo mô sẹo phôi hóa cây đồng tiền cánh vàng giống cổ

Nồng độ 2,4 - D (mg/L)	Tỷ lệ tạo mô sẹo phôi hóa (%)	Thời gian xuất hiện mô sẹo phôi hóa (ngày)	Chất lượng mô sẹo phôi hóa
0 (ĐC)	-	-	-
1	33,33	25,56 ± 0,55	++
2	43,33	20,32 ± 0,30	++
3	67,78	14,43 ± 0,28	+++
4	53,33	10,39 ± 0,29	+

(Ghi chú: +: Mô sẹo nâu đen, khả năng tái sinh kém, ++: Mô sẹo sáng, tỷ lệ tái sinh tốt, +++: Mô sẹo sáng, lượng phôi soma nhiều, tỷ lệ tái sinh rất tốt)

Kết quả thu được ở bảng 1 cho thấy, môi trường đối chứng MS không cho thấy phản ứng tạo mô sẹo phôi hóa. Khi bổ sung 2,4 - D, tỷ lệ nụ hoa non hình thành mô sẹo phôi hóa đã có sự chuyển biến tích cực. Cụ thể, trên môi trường MS có bổ sung 1 mg/L 2,4 - D đã cho thấy tỷ lệ hình thành mô sẹo phôi hóa từ nụ hoa non của giống đồng tiền cánh vàng giống cổ đạt 33,33%. Khi tăng nồng độ 2,4 - D lên 3 mg/L, tỷ lệ tạo mô sẹo phôi hóa đạt 67,78%, đạt cao nhất (Hình 1D). Khi tăng nồng độ 2,4 - D lên 4 mg/L, tỷ lệ mô sẹo phôi hóa giảm, chỉ đạt 53,33%. Có hiện tượng này do khi nồng độ auxin quá cao, làm ức chế sự hình thành mô sẹo phôi hóa.

Xét về thời gian tạo mô sẹo phôi hóa, môi trường bổ sung 1 mg/L 2,4 - D, thời gian tạo mô sẹo phôi hóa là 25,56 ngày. Khi tăng nồng độ 2,4 - D lên, thời gian tạo mô sẹo phôi hóa là 20,32 ngày. Ở nồng độ 3 mg/L 2, 4 - D, thời gian tạo mô sẹo chỉ 14,43 ngày. Khi tăng nồng độ 2,4 - D lên 4 mg/L, thời gian tạo mô sẹo phôi hóa nhanh hơn, chỉ 10,39 ngày. Xét mặt khác, chất lượng mô sẹo biểu hiện khác nhau ở các công thức thí nghiệm bổ sung 1 mg/L, 2 mg/L 2,4 - D thu được mô sẹo chất lượng tốt, tỷ lệ tái sinh tốt. Với môi trường bổ sung 4 mg/L 2,4 - D, mô sẹo thu được màu nâu đen, khả năng tái sinh kém, lượng phôi soma tạo rất ít. Hiện tượng này cũng thấy ở một số thực vật khác, khi tăng nồng độ 2,4 - D, tuy thời gian hình thành mô sẹo nhanh hơn so với các công thức khác, nhưng tỷ lệ mô sẹo tạo phôi soma thấp, phôi soma tạo được rất ít, hơn nữa do lượng auxin được hấp thụ trong mẫu mô lớn, dẫn đến ức chế tạo phôi soma và hạn chế khả năng tái sinh tạo đa chồi. Hiện tượng này cũng được nghiên cứu và công bố ở mía cao sản [3].

Như vậy, nồng độ 2,4 - D tối ưu để hình thành mô sẹo phôi hóa từ nụ hoa non là MS bổ sung 3 mg/L 2,4 - D. Ở nồng độ này, tỷ lệ mô sẹo phôi hóa đạt cao nhất, đạt 67,78%, thời gian xuất hiện mô sẹo phôi hóa 14,43 ngày.

3.2. Ảnh hưởng của tuổi nụ hoa đến khả năng tạo mô sẹo phôi hóa của cây đồng tiền cánh vàng giống cổ

Tuổi của nụ hoa non để vào mẫu cũng là yếu tố quyết định đến hiệu quả tạo nguyên liệu khởi đầu trong quá trình vi nhân giống hoa đồng tiền cánh vàng giống cổ trong điều kiện *in vitro*.

Bảng 2. Ảnh hưởng yếu tố tuổi của nụ hoa đến khả năng tạo mô sẹo phôi hóa cây đồng tiền cánh vàng giống cổ

Tuổi nụ hoa (ngày tuổi)	Tỷ lệ tạo mô sẹo phôi hóa (%)	Thời gian xuất hiện mô sẹo phôi hóa (ngày)	Chất lượng mô sẹo phôi hóa
3	72,22	13,81 ± 0,31	+++
5	67,78	16,86 ± 0,73	++
7	53,33	18,89 ± 0,38	++
9	31,11	21,65 ± 0,41	+

(Ghi chú: +: Mô sẹo nâu đen, khả năng tái sinh kém, ++: Mô sẹo sáng, tỷ lệ tái sinh tốt, +++: Mô sẹo sáng, lượng phôi soma nhiều, tỷ lệ tái sinh rất tốt)

Kết quả thu được ở bảng 2 cho thấy, tuổi nụ hoa non đồng tiền cánh vàng giống cổ 3 ngày tuổi cho thấy tỷ lệ tạo mô sẹo phôi hóa cao nhất, đạt 72,22% (Hình 1D). Khi sử dụng nụ hoa có tuổi là 5 ngày, tỷ lệ này đã giảm còn 67,78%. Khi sử dụng nụ hoa 9 ngày tuổi, tỷ lệ tạo mô sẹo phôi hóa thấp nhất, chỉ còn 31,11%. Xét về thời gian tạo mô sẹo phôi hóa, đối với nụ hoa 3 ngày tuổi, cho thời gian xuất hiện mô sẹo phôi hóa ngắn nhất, chỉ 13,81 ngày. Khi sử dụng nụ hoa non 5 ngày tuổi, thời gian xuất hiện mô sẹo phôi hóa là 16,86 ngày. Hoa non 7 ngày tuổi cho thời gian xuất hiện mô sẹo phôi hóa là 18,89 ngày. Thời gian lâu nhất để tạo mô sẹo phôi hóa là 21,65 ngày ở nụ hoa non 7 ngày tuổi, nhóm này cũng cho chất lượng mô sẹo phôi hóa thấp nhất, mô sẹo nâu đen và khả năng tái sinh kém. Nguyên nhân của hiện tượng này do các mô càng non, mức độ phân hóa mô càng lớn, tỷ lệ tạo mô sẹo phôi hóa và khả năng tái sinh cây cao. Nếu mô càng già, tỷ lệ mô phân hóa thấp, khả năng tái sinh thấp.

3.3. Kết quả tối ưu hóa khả năng tái sinh chồi từ phôi của cây đồng tiền cánh vàng giống cổ

Mô sẹo phôi hóa 3 tuần tuổi được chuyển sang môi trường bổ sung kinetin ở dải nồng độ khác nhau để tối ưu hóa khả năng tái sinh chồi.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ kinetin lên khả năng tái sinh cây đồng tiền cánh vàng giống cổ

Nồng độ kinetin (mg/L)	Tỷ lệ tái sinh chồi (%)	Chiều cao chồi (cm)
0 (ĐC)	42,22	4,01
1	53,33	5,48
2	73,33	8,21
3	67,78	6,24
4	53,33	3,32
CV%		3,5
LSD _{0,05}		0,36

Kết quả thu được ở bảng 3 cho thấy, trên môi trường đối chứng MS, tỷ lệ tái sinh chồi đạt 42,22%, chiều cao chồi đạt trung bình 4,01 cm. Khi đặt mô sẹo phôi hóa lên môi trường MS có bổ sung 2 mg/L kinetin, tỷ lệ tái sinh đạt cao nhất 73,33%, chiều cao chồi đạt 8,21 cm/chồi (Hình 1E, 1F, 1G). Tuy nhiên, khi tăng nồng độ kinetin lên 4 mg/L, tỷ lệ tái sinh chồi giảm, chỉ đạt 53,33%. Kết quả này tương đương với kết quả của Minerva và Kumar (2012) khi tiến hành tái sinh chồi từ mô sẹo phôi hóa, sau 2 tuần nuôi cấy có hiện tượng chồi của cây đồng tiền được

tái sinh [6]. Như vậy, môi trường tối ưu cho quá trình tái sinh chồi từ mô sẹo phôi hóa ở giống đồng tiền cánh vàng giống cổ là MS bổ sung 2 mg/L, trên môi trường này, tỷ lệ tái sinh chồi đạt 73,33%, chồi cao nhất đạt 8,21 cm.

3.4. Kết quả tối ưu hóa khả năng ra rễ đồng tiền cây đồng tiền cánh vàng giống cổ *in vitro*

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ IBA lên khả năng ra rễ cây đồng tiền cánh vàng giống cổ

Nồng độ IBA (mg/L)	Số rễ TB/cây (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Tỷ lệ ra rễ (%)
0 (ĐC)	0,73	1,35	51,11
1	0,96	2,58	68,89
2	3,58	4,86	80,00
3	2,13	2,07	70,00
4	1,09	1,78	53,33
CV%	7,6	6,4	
LSD _{0,05}	0,24	0,31	

Trên môi trường MS có bổ sung IBA nồng độ khác nhau, cho thấy số rễ trung bình/cây, chiều dài rễ và tỉ lệ tạo rễ khác nhau ở tất cả công thức. Cụ thể, trên môi trường MS, tỷ lệ ra rễ đạt 51,11%. Trên môi trường MS bổ sung 2 mg/L IBA, tỷ lệ ra rễ đạt cao nhất, đạt 80,00% (Hình 1H). Khi tăng nồng độ IBA lên 4 mg/L, tỷ lệ ra rễ của giống đồng tiền hoa vàng cổ giảm, chỉ đạt 53,33%. Mặt khác, số rễ trung bình/cây trên môi trường MS có bổ sung 2 mg/L IBA, số rễ/chồi đạt cao nhất 3,58 rễ/chồi, khi tăng lượng IBA trong môi trường nuôi cấy, số rễ trung bình/chồi có xu hướng giảm, chỉ đạt 2,13 rễ/chồi đối với môi trường bổ sung 3 mg/l IBA, đạt 1,09 rễ/chồi trên môi trường MS bổ sung 4 mg/l IBA. Kết quả nghiên cứu còn cho thấy, nồng độ IBA có tác động đến chiều dài rễ cây đồng tiền *in vitro*. Cụ thể, môi trường đối chứng MS không bổ sung chất kích thích sinh trưởng, chiều dài rễ thấp, chỉ đạt 1,35 cm. Khi bổ sung IBA vào môi trường, chiều dài rễ đã có sự cải thiện, cụ thể chiều dài rễ đạt 4,86 cm trên môi trường bổ sung 2 mg/L IBA, khi tăng nồng độ IBA lên 3 mg/l và 4 m/l, chiều dài rễ giảm, đạt trung bình lần lượt là 2,07 và 1,78 cm. Sở dĩ có hiện tượng này vì nồng độ auxin cao sẽ ức chế mô tạo rễ, dẫn đến số rễ/chồi, chiều dài rễ và tỷ lệ ra rễ đều giảm. Trên các nghiên cứu về cây đồng tiền khác, IBA là chất kích thích sinh trưởng được sử dụng nhiều nhất để tạo rễ, ảnh hưởng tích cực đến số lượng và chiều dài của rễ. Tỷ lệ tạo rễ, số rễ tạo thành/chồi, chiều dài rễ phụ

thuộc vào bản chất di truyền và thành phần môi trường nuôi cấy của giống đó [8].



Hình 1. Nuôi cấy hoa đồng tiền cánh vàng giống cổ *in vitro*

A: Nụ hoa non được thu từ nhà lưới; B: Khử trùng kép nụ hoa non cây đồng tiền; C: Nụ hoa non được khử trùng và thấm khô; D: Mô sẹo phôi hóa được hình thành trong quá trình nuôi cấy; E: mô sẹo phôi hóa bắt đầu tái sinh; F, G: nhân chồi trong điều kiện *in vitro*; H: Cây đồng tiền *in vitro* ra rễ

3.5. Khả năng sinh trưởng và phát triển của cây hoa đồng tiền cánh vàng giống cổ *ex vitro*

Bảng 5. Ảnh hưởng của giá thể lên sự sinh trưởng và phát triển của cây hoa đồng tiền cánh vàng giống cổ *ex vitro*

Chỉ tiêu theo dõi	Nghiệm thức	
	Nghiệm thức 1 Không bón NPK	Nghiệm thức 2 Bón NPK (20 g/l)
Tỉ lệ sống sót (%)	81,11	94,44
Khối lượng tươi (g)	0,89 ± 0,18	2,33 ± 0,26
Khối lượng khô (g)	0,05 ± 0,01	0,34 ± 0,05
Chiều cao cây (cm)	9,03 ± 0,19	11,43 ± 0,16
Số lượng lá	5,22 ± 0,02	8,52 ± 0,09
Đường kính lá (cm)	2,57 ± 0,07	2,77 ± 0,05
Chiều dài lá (cm)	2,09 ± 0,04	3,21 ± 0,09
Số lượng rễ TB	13,36 ± 0,09	17,73 ± 0,04
Chiều dài rễ (cm)	7,66 ± 0,05	9,91 ± 0,34

Kết quả thu được sau 4 tuần chuyển các cây *in vitro* ra điều kiện *ex vitro* cho thấy tỉ lệ sống sót của cây hoa đồng tiền được nuôi trên giá thể bón NPK là 95,14%; trong khi đó, các cây được nuôi cấy trên giá

thể không bón NPK (20 g/l) cho tỉ lệ sống sót thấp hơn (chỉ đạt 82,44%). Ngoài ra, khối lượng tươi, khối lượng khô, chiều cao cây, số lượng lá, đường kính lá, chiều dài lá, số lượng rễ và chiều dài rễ ở giá thể bón NPK (20 g/l) đạt cao hơn ở các cây trồng ở nghiệm thức không bón NPK (Bảng 5).

Một trong những nguyên nhân chính gây nên tỉ lệ sống sót thấp và quá trình sinh trưởng, phát triển của cây *in vitro* kém trong giai đoạn *ex vitro* là do tỉ lệ quang hợp thực của cây thấp [2, 7]. Ngoài ra, sự tích lũy ethylene trong bình nuôi cấy cũng ảnh hưởng xấu đến tỉ lệ sống sót của cây trong điều kiện *ex vitro* [4]. Bên cạnh đó, giá thể nghèo dinh dưỡng, không cung cấp đủ dinh dưỡng cho cây con cũng là nguyên nhân gây chết hàng loạt cây *in vitro* khi không đủ dưỡng chất để sinh sống. Giá thể xơ dừa, đất mùn + NPK (20 g/l) vừa cung cấp giá thể thoáng khí, vừa đủ chất dinh dưỡng nên giúp cho cây hoa đồng tiền cánh vàng giống cổ *in vitro* sinh trưởng, phát triển tốt, tỉ lệ sống cao đến 94,44%.

Như vậy, nghiệm thức giá thể có bổ sung NPK (20 g/l) là công thức phù hợp để nâng cao tỉ lệ sống sót và sinh khối, đặc điểm sinh học của giống đồng tiền cánh vàng giống cổ với tỉ lệ sống sót đến 94,44%. Các đặc điểm sinh khối như khối lượng tươi, khối lượng khô đạt lần lượt là 2,33 g và 0,34 g. Số lượng lá đồng tiền cánh vàng giống cổ *ex vitro* cũng cao hơn hẳn đạt 8,52 lá/cụm chồi, trong khi đó giá thể xơ dừa chỉ đạt 5,22 lá/cụm chồi. Chiều cao của cây đồng tiền cánh vàng giống cổ đạt 9,03 cm trên giá thể không bón NPK, trên giá thể có bón NPK, chiều cao cây đạt 11,43 cm. Như vậy, giá thể xơ dừa bổ sung NPK hoàn toàn thích hợp để nuôi trồng cây đồng tiền trong điều kiện *ex vitro*.

4. KẾT LUẬN

Nồng độ 2,4 - D tối ưu để hình thành mô sẹo phôi hóa từ nụ hoa non là MS bổ sung 3 mg/L 2,4 - D. Ở nồng độ này, tỉ lệ mô sẹo phôi hóa đạt cao nhất, đạt 67,78%, thời gian xuất hiện mô sẹo phôi hóa 14,43 ngày.

Nguyên liệu phù hợp nhất để tạo mẫu sạch *in vitro* giống hoa đồng tiền cánh vàng giống cổ là nụ hoa non 3 ngày tuổi, tỉ lệ tạo mô sẹo phôi hóa đạt 72,22%.

Môi trường tối ưu cho quá trình tái sinh chồi từ mô sẹo phôi hóa ở giống đồng tiền cánh vàng giống cổ là MS bổ sung 2 mg/L kinetin, trên môi trường

này, tỉ lệ tái sinh chồi đạt 73,33%, chồi cao nhất đạt 8,21 cm.

Trên môi trường MS bổ sung 2 mg/L IBA, tỉ lệ ra rễ đạt cao nhất, đạt 80,00%.

Giá thể có bón NPK (20 g/l) vừa cung cấp giá thể thoáng khí, vừa đủ chất dinh dưỡng nên giúp cho cây hoa đồng tiền cánh vàng giống cổ *ex vitro* sinh trưởng, phát triển tốt, tỉ lệ sống cao đến 94,44%. Khối lượng sinh khối tươi đạt 2,33 g, chiều cao cây đạt 10,43 cm, số lượng lá thật đạt 8,52/cụm chồi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Văn Đông, Đinh Thế Lộc (2003). *Cúc đồng tiền*. Nxb Lao động - Xã hội.
2. Grout B. W. W. and Donkin M. E. (1987). Photosynthetic activity of cauliflower meristem cultures *in vitro* and at transplanting into soil. *Acta Horti*, 212, 323-327.
3. Phan Thị Thu Hiền, Phạm Bích Ngọc, Chu Hoàng Hà (2015). Hệ thống tái sinh cây thông qua phôi soma của một số giống mía cao sản (*Saccharum officinarum* L.). *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 13 (3), 907 – 917.
4. Minerva G., Kumar S. (2013). Micropropagation of Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus). In: Lambardi M., Ozudogru E., Jain S. (eds) *Protocols for Micropropagation of Selected Economically-Important Horticultural Plants. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*, 994. Humana Press, Totowa, NJ. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-074-8_24.
5. Mosqueda Frómata, O., Escalona Morgado, M. M., Teixeira da Silva, J. A., Pina Morgado, D. T., & Daquinta Gradaille, M. A. (2017). *In vitro* propagation of *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hooker f. in a temporary immersion bioreactor. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 129(3), 543-551.
6. Minerva, G., & Kumar, S. (2012). Micropropagation of gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus). In *Protocols for micropropagation of selected economically-important horticultural plants*. Humana Press, Totowa, NJ.
7. Preece J. E. and Sutter E. G. - Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field, In: Debergh P. C. and Zimmermann R. H. (eds.) (1991). *Micropropagation: technology and*

application, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 71-91.

8. Rahman M, Ahmed B, Islam R, Mandal A, Hossain M (2014). A biotechnological approach for the production of red gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus). Nova J Med Biol Sci, 2(1), 1-6.

9. Son, N. V., Mokashi, A. N., Hegde, R. V., Patil, V. S., & Lingaraju, S. (2011). Response of gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus) varieties to micropropagation. Karnataka Journal of Agricultural Sciences, 24(3), 231-238.

RESEARCH ON THE PROCESS OF MULTI-MICROPARAGATION REGENERATION THROUGH EMBRYOGENIC CALLUS RESEMBLING ANCIENT *Gerbera jamesonii* Bolus FROM YOUNG FLOWER BUDS BY CELL TECHNOLOGY

Phan Thi Thu Hien¹

¹*Faculty of Biology and Agricultural Engineering, Hanoi Pedagogical University 2*

Summary

Gerbera jamesonii Bolus is a flower with high economic value and is very popular for its variety of colors, ranking fifth among cut flowers for sale in the world. Currently, cell technology is a solution to help quickly propagate gerbera varieties to meet the needs of seedlings on a large scale. The optimal concentration of 2.4 - D for embryogenic callus formation from young flower buds was MS supplemented with 3 mg/L 2.4 - D. At this medium, the rate of embryogenic callus reached the highest which showed that was 67.78% that the time of appearance of callus embryos was 14.43 days. The most suitable raw materials for creating clean samples *in vitro* of ancient gerbera were 3-days-old young flower buds that the rate of embryogenic callus was 72.22%. The optimal medium for shoot regeneration from embryogenic callus was MS supplemented with 2 mg/L Kinetine which the rate of shoot regeneration reached 73.33% that the highest shoot showed 8.21 cm. On MS medium supplemented with 2 mg/L IBA, the rooting rate was highest that was 80.00%. The substrate supplemented NPK (20 g/l) both provide a breathable medium, just enough nutrients, so it helps *in vitro* gerbera plants to grow and develop well that lead to the survival rate as high as 94.44%. The process of bud regeneration from embryonic callus derived from young flower bud materials of the ancient gerbera variety (*Gerbera jamesonii* Bolus) has been successfully developed.

Keywords: *Gerbera jamesonii* Bolus, *in vitro*, *ex vitro*, cell technology.

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Tiến

Ngày nhận bài: 9/5/2022

Ngày thông qua phản biện: 9/6/2022

Ngày duyệt đăng: 15/6/2022