

## NGHIÊN CỨU TÁC ĐỘNG CỦA NANO BẠC ĐẾN QUÁ TRÌNH PHÁT SINH HÌNH THÁI TRONG NUÔI CẤY *IN VITRO* HOA ĐỒNG TIỀN

Bùi Thị Thu Hương<sup>1</sup>, Đồng Huy Giới<sup>1</sup>,  
Trần Thị Thu Thủy<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Ngọc Quỳnh<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành với mục đích đánh giá tác động của nano bạc đến quá trình phát sinh hình thái của hoa đồng tiền nuôi cấy mô từ nguồn vật liệu là các mẫu lá *in vitro*. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng: (i) Môi trường thích hợp nhất cho việc tạo mô sẹo từ mẫu lá *in vitro* hoa Đồng tiền là môi trường MS có bổ sung 30 g/l saccharose; 6,5 g/l agar; 1,5 mg/l 2,4D; pH 5,7 và 10 ppm nano bạc, với tỉ lệ tạo mô sẹo cao nhất đạt 95,56%, mô sẹo mềm và có màu vàng sáng; (ii) Môi trường MS có bổ sung 0,7 mg/l BA; 0,1 mg/l IAA và 4 ppm nano bạc cho hiệu quả tái sinh chồi từ mô sẹo tốt nhất, tỉ lệ tái sinh chồi đạt 84,45%, số chồi trung bình đạt 3,29 chồi/mô sẹo sau 6 tuần nuôi cấy; (iii) Môi trường MS có bổ sung 3 mg/l BAP; 0,1 mg/l  $\alpha$ -NAA và 2 ppm nano bạc cho hiệu quả nhân nhanh chồi hoa Đồng tiền tốt nhất, hệ số nhân chồi đạt 8,22 lần, chiều cao chồi trung bình đạt 5,75 cm sau 6 tuần nuôi cấy; (iv) Chồi *in vitro* hoa Đồng tiền ra rễ hiệu quả nhất trong môi trường MS có bổ sung 50 g/l saccharose; 6,5 g/l agar; 1,0 mg/l  $\alpha$ -NAA và 4 ppm nano bạc, tỉ lệ chồi ra rễ đạt 100%, số rễ trung bình là 5,73 rễ/chồi và chiều dài rễ trung bình đạt 5,93 cm sau 4 tuần nuôi cấy.

**Từ khóa:** Hoa đồng tiền, lá *in vitro*, môi trường MS, nano bạc

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoa Đồng tiền (*Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook. F) là một trong những loài hoa đẹp, có giá trị kinh tế cao, được trồng phổ biến ở Việt Nam và nhiều quốc gia trên thế giới, tuy nhiên hiện nay nguồn giống tốt cung cấp cho sản xuất còn thiếu, người trồng hoa thường phải mua giống không rõ nguồn gốc, có khi mua phải giống bị thoái hóa, giống bị nhiễm bệnh (Đỗ Năng Vịnh, 2003).

Phương pháp nhân giống bằng nuôi cấy mô tế bào thực vật đã và đang được áp dụng khá phổ biến trên nhiều đối tượng cây trồng khác nhau. Một trong những ưu điểm nổi bật của nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô là hệ số nhân cao, trong một thời gian ngắn có thể tạo ra một số lượng lớn cây giống tương đối đồng nhất, cây giống sạch bệnh, giá thành thấp. Hiện nay đã có một số nghiên cứu thành công trong việc nhân giống hoa đồng tiền bằng nuôi cấy mô từ các nguồn vật liệu khác nhau như nụ hoa non, cuống lá, phiến lá (Bhavya Bhargava *et al.*, 2013; Shylaja *et al.*, 2014; Nguyễn Thị Mỹ Duyên và Trương Thị Hằng, 2014). Tuy nhiên một số nghiên cứu trên cho kết quả chưa thực sự tốt, bên cạnh đó việc sử dụng để hoa non làm nguyên liệu cho nuôi cấy mô sẽ làm thất thoát đi một số lượng lớn các bông hoa đẹp, vì vậy rất cần thiết tìm kiếm một loại vật liệu khác phù hợp hơn để thay thế.

Vật liệu nano nói chung và nano bạc nói riêng đã và đang được ứng dụng rộng rãi trong đời sống những năm gần đây, tạo nên những bước đột phá trong nhiều lĩnh vực. Nano bạc đang được chú ý sử

dụng trong nuôi cấy mô tế bào thực vật do đặc điểm kháng khuẩn tuyệt vời của nó, bên cạnh đó nano bạc còn có vai trò tích cực tới sự phát sinh hình thái của cây *in vitro* (Rostami and Shahsavar, 2009; Shokri *et al.*, 2015).

Xuất phát từ những lí do nêu trên, nghiên cứu này được thực hiện nhằm nhân giống hoa Đồng tiền bằng nuôi cấy mô từ nguồn vật liệu là lá *in vitro*, đồng thời bước đầu sử dụng nano bạc nhằm nâng cao hiệu quả của quá trình nuôi cấy.

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chồi *in vitro* giống hoa Đồng tiền ĐTH125 có nguồn gốc từ Hà Lan. Dung dịch nano bạc với kích thước hạt dao động 15 - 20 nm được điều chế tại Bộ môn Sinh học, Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam; môi trường MS (T. Murashige & F. Skoog, 1962) và một số loại hóa chất cần thiết khác sử dụng trong nuôi cấy mô tế bào thực vật.

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

##### 2.2.1. Điều kiện thí nghiệm

Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH là 5,7 và được hấp khử trùng ở 121°C, áp suất 1,1 atm trong 15 phút. Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên (RCB), mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 15 mẫu.

Điều kiện phòng nuôi: Nhiệt độ 25°C - 27°C; Cường độ ánh sáng: 2400 lux - 2600 lux; Độ ẩm: 70%; Thời gian chiếu sáng: 16 h chiếu sáng/ngày.

<sup>1</sup> Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

### 2.2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng tạo mô sẹo từ mẫu lá *in vitro*

Các mẫu lá *in vitro* sạch bệnh được cắt thành các mảnh có kích thước 1 cm × 1 cm, sau đó cấy vào môi trường tạo mô sẹo: Môi trường MS có bổ sung 30 g/l saccharose; 6,5 g/l agar; 1,5 mg/l 2,4D (Nguyễn Thị Mỹ Duyên và *ctv.*, 2014) và bổ sung thêm nano bạc với các nồng độ khác nhau (0, 6, 8, 10 hoặc 12 ppm). Tiến hành theo dõi tỉ lệ tạo mô sẹo và đặc điểm mô sẹo sau 4 tuần nuôi cấy.

### 2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo

Các mô sẹo có màu vàng sáng, mềm được chuyển sang môi trường tái sinh chồi: Môi trường MS có bổ sung 0,7 mg/l BA; 0,1 mg/l IAA (Phạm Thị Bích Ngọc và *ctv.*, 2009) và bổ sung thêm nano bạc với các nồng độ là 0, 2, 4, hoặc 6 ppm. Tiến hành theo dõi các chỉ tiêu tỉ lệ mô sẹo tái sinh chồi, số chồi/mô sẹo sau 6 tuần nuôi cấy.

### 2.2.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng nhân nhanh của chồi hoa Đồng tiền từ chồi *in vitro*

Các chồi sinh trưởng bình thường có đầy đủ thân và lá (không bị dị dạng), cao từ 5 - 6 cm được sử dụng làm vật liệu cấy chuyển sang môi trường nhân nhanh: Môi trường MS có bổ sung 30 g/l saccharose; 3 mg/l BAP; 0,1 mg/l α-NAA; 6,5 g/l agar (Son *et al.* 2011; Shylaja *et al.*, 2014) và bổ sung thêm nano bạc với các nồng độ là 0, 2, 4, hoặc 6 ppm. Tiến hành theo dõi các chỉ tiêu hệ số nhân chồi, chiều cao chồi, đặc điểm chồi sau 2 tuần, 4 tuần và 6 tuần nuôi cấy.

### 2.2.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng ra rễ của chồi hoa Đồng tiền

Chồi hoa Đồng tiền khỏe mạnh có từ 3 - 5 lá được nuôi cấy trong môi trường ra rễ: Môi trường MS có bổ sung 30 g/l saccharose, 1,0 mg/l α-NAA, 6,5 g/l agar (Nguyễn Văn Hồng, 2009; Paduchuri *et al.*, 2010) và bổ sung thêm nano bạc với các nồng độ là 0, 2, 4, hoặc 6 ppm. Tiến hành theo dõi các chỉ tiêu tỉ lệ ra rễ, số rễ/chồi, chiều dài rễ, màu sắc rễ sau 4 tuần nuôi cấy.

### 2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý theo chương trình Microsoft Excel và IRRISTART 5.0. Các công thức so sánh được tiến hành theo phương pháp kiểm tra sự sai khác giữa các giá trị trung bình bằng phép ước lượng và sử dụng tiêu chuẩn LSD (Least Significant Different) ở độ tin cậy 95%.

## 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thí nghiệm Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam từ tháng 8/2017 đến tháng 8/2018.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của nồng độ nano bạc đến khả năng tạo mô sẹo từ mẫu lá *in vitro*

Nhằm đánh giá tác động của các nồng độ nano bạc khác nhau đến quá trình hình thành mô sẹo, trong thí nghiệm này các mẫu lá *in vitro* hoa Đồng tiền được nuôi cấy trong môi trường có bổ sung nano bạc với 4 nồng độ khác nhau là 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm và 12 ppm (Emad *et al.*, 2015). Kết quả thu được sau 4 tuần nuôi cấy được thể hiện ở bảng 1.

**Bảng 1.** Kết quả tạo mô sẹo từ mẫu lá *in vitro* hoa Đồng tiền sau 4 tuần nuôi cấy

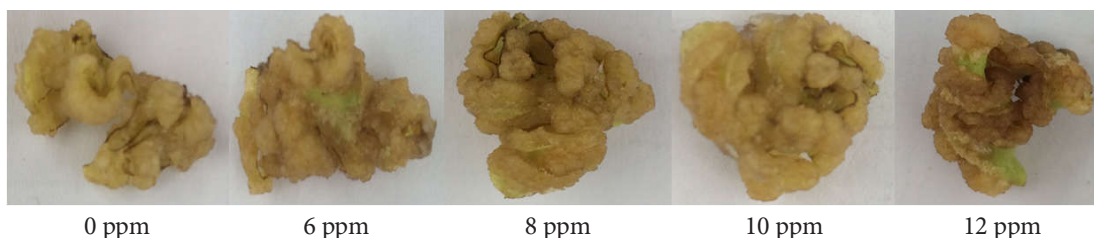
Nồng độ nano bạc (ppm)	Tổng số mẫu	Số mẫu tạo mô sẹo	Tỷ lệ tạo mô sẹo (%)	Đặc điểm Mô sẹo
0	45	30	66,67 <sup>d</sup>	Mềm, màu vàng sáng
6	45	34	75,56 <sup>c</sup>	Mềm, màu vàng sáng
8	45	38	84,45 <sup>b</sup>	Mềm, màu vàng sáng
10	45	43	95,56 <sup>a</sup>	Mềm, màu vàng sáng
12	45	30	66,67 <sup>d</sup>	Rắn, màu hơi sậm
CV (%)			4,6	
LSD <sub>0,05</sub>			0,77	

Ghi chú: Bảng 1, 2, 3, 4: Trong cùng một cột, các giá trị mang các chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức  $\alpha = 0,05$ .

Kết quả nghiên cứu thể hiện ở bảng 1 cho thấy, tỷ lệ tạo thành mô sẹo của các công thức thí nghiệm là khá cao, dao động từ 66,67% đến 95,56%. Ở hầu hết các công thức có bổ sung nano bạc đều cho tỉ lệ tạo mô sẹo cao hơn so với công thức đối chứng (không bổ sung nano bạc). Khi tăng nồng độ nano bạc từ 6 ppm - 10 ppm thì tỉ lệ tạo mô sẹo cũng tăng lên theo, trong đó công thức bổ sung 10 ppm nano bạc cho tỉ lệ tạo mô sẹo cao nhất đạt 95,56%, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tất cả các công thức còn lại, mô sẹo mềm và có màu vàng sáng. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ nano bạc lên 12 ppm thì tỉ lệ tạo mô sẹo lại giảm xuống đáng kể, chỉ còn 66,67%, mô sẹo rắn và có màu vàng sậm. Theo kết quả nghiên cứu của

Zainab M. Almutairi (2016), hạt cây cà chua xử lý bằng nano bạc với nồng độ lớn hơn 2 mg/l gây tăng chỉ số phân bào, và có sự xuất hiện hình dạng sai của nhiễm sắc thể và làm giảm tỷ lệ nảy mầm. Điều đó

lý giải vì sao khi ở nồng độ thích hợp thì nano bạc kích thích tạo mô sẹo mạnh, nhưng khi quá ngưỡng thì lại gây ức chế sự phân chia của tế bào và gây ra những biến đổi về màu sắc của mô sẹo.



**Hình 1.** Ảnh mô sẹo hoa Đồng tiền sau 4 tuần nuôi cấy trong môi trường có bổ sung nano bạc với các nồng độ khác nhau

### 3.2. Ảnh hưởng của nồng độ nano bạc đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nồng độ nano bạc đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo của hoa Đồng tiền sau 6 tuần nuôi cấy được trình bày ở Bảng 2.

**Bảng 2.** Kết quả tái sinh chồi từ mô sẹo sau 6 tuần nuôi cấy

Nồng độ nano bạc (ppm)	Số mẫu	Số mô sẹo tái sinh chồi	Tỷ lệ tái sinh chồi (%)	Tổng số chồi	Số chồi trung bình (chồi/mô sẹo)
0	45	19	42,22 <sup>d</sup>	21	1,10 <sup>d</sup>
2	45	29	64,45 <sup>b</sup>	62	2,14 <sup>c</sup>
4	45	38	84,45 <sup>a</sup>	125	3,29 <sup>a</sup>
6	45	22	48,89 <sup>c</sup>	56	2,55 <sup>b</sup>
CV (%)			11,2		4,6
LSD <sub>0,05</sub>			3,8		0,2

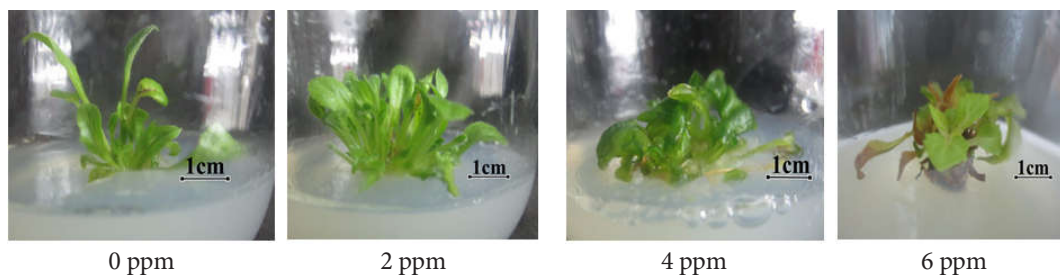
Kết quả thu được ở bảng 2 cho thấy, tất cả các công thức bổ sung nano bạc đều cho tỉ lệ mô sẹo tái sinh chồi và số chồi trung bình cao hơn so với công thức không bổ sung nano bạc ở mức có ý nghĩa, điều đó chứng tỏ nano bạc có tác dụng thúc đẩy sự tái sinh chồi từ mô sẹo của hoa Đồng tiền. Cụ thể, ở chỉ tiêu tỉ lệ tái sinh chồi, công thức không bổ sung nano bạc cho tỉ lệ tái sinh chồi là 42,22%, trong khi đó các công thức bổ sung nano bạc tỉ lệ tái sinh chồi dao động từ 48,89% (bổ sung 6 ppm) đến 84,45% (bổ sung 4 ppm). Đối với chỉ tiêu số chồi trung bình, ở công thức không bổ sung nano bạc thu được 1,10 chồi/mô sẹo, trong khi đó các công thức bổ sung nano bạc dao động từ 2,14 đến 3,29 chồi/mô sẹo. Trong các công thức thí nghiệm, công thức bổ sung 4 ppm nano bạc cho kết quả tốt nhất với tỉ lệ tái sinh chồi đạt 84,45% và hệ số tái sinh chồi đạt 3,29 chồi/mô sẹo.

### 3.3. Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng nhân nhanh từ chồi *in vitro* hoa Đồng tiền

Nhân nhanh chồi là giai đoạn không thể thiếu với một quy trình sản xuất giống có tính chất công nghiệp bằng phương pháp nhân giống *in vitro*. Trong giai đoạn này sự sinh trưởng và phát triển của mô nuôi cấy phụ thuộc vào điều kiện nuôi cấy (nhiệt độ, ánh sáng), môi trường nuôi cấy (thành phần dinh dưỡng, chất điều tiết sinh trưởng và tỷ lệ giữa chúng). Tùy từng loại cây mà người ta có thể bổ sung vào môi trường nuôi cấy các chất điều tiết sinh trưởng với nồng độ và tỷ lệ khác nhau để thu được hệ số nhân chồi và chất lượng chồi tốt nhất. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng nhân nhanh từ chồi *in vitro* hoa Đồng tiền được thể hiện ở Bảng 3 và Hình 2.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng nhân nhanh chồi hoa Đồng tiền

Nồng độ nano bạc	Hệ số nhân chồi			Chiều cao trung bình sau 6 tuần (cm)	Đặc điểm chồi sau 6 tuần nuôi cấy
	2 tuần	4 tuần	6 tuần		
0 ppm	1,17 <sup>c</sup>	3,38 <sup>c</sup>	5,71 <sup>c</sup>	4,22 <sup>b</sup>	Chồi xanh, phát triển bình thường
2 ppm	2,42 <sup>a</sup>	6,62 <sup>a</sup>	8,22 <sup>a</sup>	5,75 <sup>a</sup>	Chồi xanh, phát triển tốt
4 ppm	1,62 <sup>b</sup>	3,78 <sup>b</sup>	6,55 <sup>b</sup>	2,86 <sup>c</sup>	Chồi xanh, phát triển không đều
6 ppm	0,62 <sup>d</sup>	2,35 <sup>d</sup>	3,44 <sup>d</sup>	2,13 <sup>d</sup>	Chồi có màu tím, phát triển kém
CV (%)	1,2	2,5	2,9	2,3	
LSD <sub>0,05</sub>	0,14	0,19	0,33	0,21	



**Hình 2.** Chồi hoa Đồng tiền *in vitro* sau 6 tuần nuôi cấy trong môi trường có bổ sung các nồng độ nano bạc khác nhau

Từ kết quả thu được cho thấy nồng độ nano bạc khác nhau có ảnh hưởng khác nhau đến quá trình nhân nhanh chồi hoa Đồng tiền. Cụ thể, ở công thức bổ sung 2 ppm và 4 ppm nano bạc cho hệ số nhân chồi cao hơn có ý nghĩa so với công thức đối chứng không bổ sung nano bạc ở cả 3 thời gian theo dõi. Đặc biệt ở công thức bổ sung 2 ppm nano bạc cho kết quả tốt nhất với hệ số nhân chồi là 8,22 lần sau 6 tuần nuôi cấy, chiều cao trung bình chồi đạt 5,75 cm, các chồi xanh, phát triển tốt và đồng đều. Tuy nhiên khi tăng nồng độ nano bạc lên 4 ppm và 6 ppm thì hệ số nhân chồi, chiều cao trung bình chồi và chất lượng chồi đều giảm đi đáng kể. Ở công thức bổ sung 4 ppm nano bạc, hệ số nhân chồi sau 6 tuần nuôi cấy đạt 6,55 lần, cao hơn so với công thức không bổ sung nano bạc (5,71), tuy nhiên ở công thức này chồi được tạo ra có cuống lá kém phát triển nên chiều cao trung bình chồi chỉ đạt 2,36 cm, thấp hơn so với công thức không bổ sung nano bạc (4,22 cm). Ở công thức bổ sung 6 ppm nano bạc thì cả 3 chỉ tiêu là hệ số nhân chồi, chiều cao trung bình chồi và chất lượng chồi đều cho kết quả thấp nhất, xuất hiện nhiều chồi dị dạng, chồi có nhiều lá chuyển sang màu tím (Hình 2).

Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Mỹ Duyên và cộng tác viên (2014), khi sử dụng các chất điều tiết sinh trưởng khác nhau để nhân chồi hoa Đồng tiền thì kết quả thu được tốt nhất sau 6 tuần nuôi cấy là hệ số nhân chồi đạt 5,4 lần, chiều cao chồi đạt 1,87 cm; Sơn và cộng tác viên (2011) thu được hệ số nhân chồi tốt nhất khi nhân nhanh chồi 3 giống hoa đồng tiền là 7,4 lần đối với giống Arianna, 4,6 lần đối với giống Bonnie và 5,4 lần đối với giống Tobia. Như vậy có thể nhận thấy, bổ sung 2 ppm nano bạc vào môi trường nhân nhanh chồi hoa đồng tiền cho hiệu quả tốt hơn so với kết quả của các nghiên cứu trước đã công bố.

### 3.4. Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng ra rễ của chồi hoa Đồng tiền

Kích thích cho chồi ra rễ là công đoạn cuối cùng

trong quy trình nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro*. Kết thúc giai đoạn này chúng ta sẽ thu được những cây hoàn chỉnh (đầy đủ rễ và thân, lá) cung cấp cho giai đoạn luyện cây trong vườn ươm. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng ra rễ của chồi hoa Đồng tiền sau 4 tuần nuôi cấy được thể hiện ở Bảng 4.

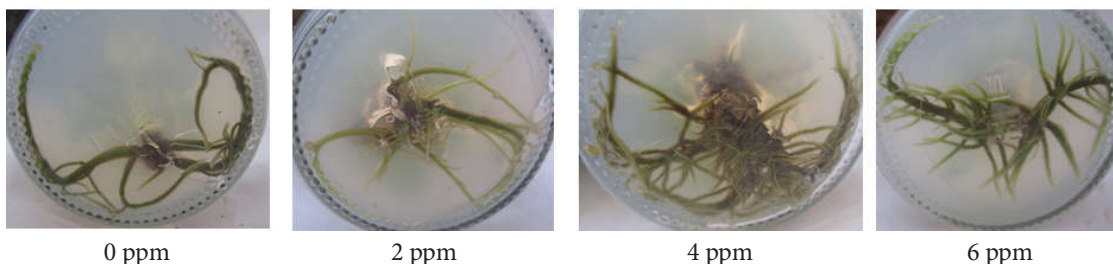
**Bảng 4.** Ảnh hưởng của nồng độ nano bạc đến khả năng ra rễ của chồi hoa Đồng tiền sau 4 tuần nuôi cấy

Nồng độ nano bạc (ppm)	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ/chồi (rễ)	Chiều dài rễ (cm)	Màu sắc rễ
0	100	1,73 <sup>d</sup>	2,50 <sup>d</sup>	Vàng nhạt
2	100	3,47 <sup>b</sup>	3,33 <sup>c</sup>	Vàng nhạt
4	100	5,73 <sup>a</sup>	5,93 <sup>a</sup>	Vàng nhạt
6	100	2,53 <sup>c</sup>	4,23 <sup>b</sup>	Vàng nhạt
CV (%)		1,9	4,0	
LSD <sub>0,05</sub>		0,12	0,30	

Kết quả thu được trong bảng 4 cho thấy nano bạc có ảnh hưởng tích cực đến khả năng ra rễ của chồi hoa Đồng tiền *in vitro*, ở tất cả các công thức bổ sung nano bạc đều cho số rễ/chồi và chiều dài rễ cao hơn so với công thức không bổ sung nano bạc. Đối với chỉ tiêu số rễ/chồi, ở công thức không bổ sung nano bạc là 1,73 rễ/chồi, trong khi đó chỉ tiêu này ở các công thức bổ sung nano bạc dao động từ 2,53 (ở công thức bổ sung 6 ppm nano bạc) đến 5,73 (ở công thức bổ sung 4 ppm nano bạc). Đối với chỉ tiêu chiều dài rễ, ở công thức không bổ sung nano bạc chiều dài trung bình rễ là 2,50 cm, trong khi đó chỉ tiêu này ở các công thức bổ sung nano bạc dao động từ 3,33 cm (ở công thức bổ sung 2 ppm nano bạc) đến 5,93 cm (ở công thức bổ sung 4 ppm nano bạc). Công thức cho hiệu quả ra rễ tốt nhất là công thức bổ sung 4 ppm nano bạc với 5,73 rễ/chồi và chiều dài rễ trung bình đạt 5,93 cm.



**Hình 3.** Rễ hoa Đồng tiền trong môi trường có bổ sung các nồng độ nano bạc khác nhau sau 2 tuần nuôi cấy  
Ghi chú: CT1: 0 ppm; CT2: 2 ppm; CT3: 4 ppm; CT4: 6 ppm.



**Hình 4.** Rễ hoa Đồng tiền trong môi trường có bổ sung các nồng độ nano bạc khác nhau sau 4 tuần nuôi cấy

#### IV. KẾT LUẬN

- Môi trường thích hợp nhất cho việc tạo mô sẹo từ mẫu lá *in vitro* hoa Đồng tiền là môi trường MS có bổ sung 30 g/l saccharose; 6,5 g/l agar; 1,5 mg/l 2,4D; pH 5,7 và 10 ppm nano bạc. Sau 4 tuần nuôi cấy, tỉ lệ tạo mô sẹo đạt 95,56%, mô sẹo mềm và có màu sáng.

- Khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo đạt hiệu quả cao nhất trong môi trường MS có bổ sung 0,7 mg/l BA; 0,1 mg/l IAA và 4 ppm nano bạc, tỉ lệ tái sinh chồi đạt 84,45%, số chồi trung bình đạt 3,29 chồi/mô sẹo sau 6 tuần nuôi cấy.

- Hiệu quả nhân nhanh chồi hoa Đồng tiền tốt nhất trong môi trường MS có bổ sung 3 mg/l BAP; 0,1 mg/l  $\alpha$ -NAA và 2 ppm nano bạc, hệ số nhân chồi đạt 8,22 lần, chiều cao chồi đạt 5,75 cm sau 6 tuần nuôi cấy.

- Chồi *in vitro* hoa Đồng tiền ra rễ hiệu quả nhất trong môi trường MS có bổ sung 50 g/l saccharose; 6,5 g/l agar; 1,0 mg/l  $\alpha$ -NAA và 4 ppm nano bạc, với 5,73 rễ/chồi và chiều dài rễ trung bình đạt 5,93 cm sau 4 tuần nuôi cấy.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí từ đề tài “Nghiên cứu sử dụng nano bạc trong nuôi cấy *in vitro* hoa Đồng tiền (*Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook. F.)”, mã số: SV 2017 - 12 - 14 MST.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Thị Mỹ Duyên, Trương Thị Hằng, 2014. Khả năng tạo mô sẹo từ cuống lá, phiến lá và nụ

hoa non phục vụ cho việc vi nhân giống hoa Đồng tiền (*Gerbera jamesonii* Bolus). *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học An Giang*, 4 (3): 114-120.

Nguyễn Văn Hồng, 2009. *Nghiên cứu biện pháp kỹ thuật nhân giống hoa Đồng tiền bằng phương pháp nuôi cấy mô tại Thái Nguyên*. Luận văn Thạc sĩ Nông nghiệp. Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên.

Phạm Thị Bích Ngọc, Phan Ngô Hoàng, 2009. Tìm hiểu sự phát sinh chồi từ mô sẹo lá cây dây chiếu (*Tetracera scandens* L.). *Tạp chí Phát triển KH&CN*, 12 (7): 79-85.

Đỗ Năng Vịnh, 2003. Nghiên cứu hoàn thiện quy trình nhân nhanh các giống hoa Đồng tiền nhập nội bằng công nghệ *in vitro*. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 8: 1012-1014.

Bhavya Bhargava, B. S. Dilta, Y.C. Gupta, S.R. Dhiman & Manju Modgil, 2013. Studies on micropropagation of gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus). *Indian Journal of Applied Research*, 3 (11): 8-11.

Emad A. Ewais, Said A. Desouky, Ezzat H. Elshazly, 2015. Evaluation of Mô sẹo Responses of *Solanum nigrum* L. Exposed to Biologically Synthesized Silver Nanoparticles. *Nanoscience and Nanotechnology*, 5 (3): 45-56.

Murashige T. & F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15: 473-497.

Son N.V., A.N. Mokashi, R. Hegde, V.S. Patil & S. Lingaraju, 2011. Response of gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus) varieties to micropropagation. *Karnataka J. Agric. Sci.*, 24 (3): 354-357.

- Paduchuri, V.Y., G.V. Deogirkar, S.R. Kamdi, M.C. Kale & M.D. Rajurkar**, 2010. In-vitro Callus Induction and Root Regeneration Studies in *Gerbera jamesonii*. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 1 (2): 87-90.
- Rostami A.A. and A. Shahsavar**, 2009. Nano-Silver Particles Eliminate the in vitro contaminations of Olive 'Mission' Explants. *Journal of Plant Sciences*, 8 (7): 505-509.
- Shokri S., A. Babaei, M. Ahmadian, M.M. Arab and S. Hessami**, 2015. The effects of different concentrations of nano - silver on elimination of bacterial contaminations and phenolic exudation of rose (*Rosa hybrida* L.) in vitro culture. *International Society for Horticultural Science*, 3 (1): 50-54.
- Shylaja M.R., P. Sashna, V. Chinjusha and P.A. Nazeem**, 2014. An efficient micropropagation protocol for *Gerbera jamesonii* Bolus from flower buds. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 4 (3): 641-643.
- Zainab M. Almutairi**, 2016. Influence of Silver Nano-particles on the Salt Resistance of Tomato (*Solanum lycopersicum*) during Germination. *Int. J. Agric. Biol.*, 18(2): 449-457.

### Effects of nanosilver on morphogenesis of tissue cultured gerbera (*Gerbera jamesonii*)

Bui Thi Thu Huong, Dong Huy Gioi,  
Tran Thi Thu Thuy, Nguyen Thi Ngoc Quynh

#### Abstract

The study aimed to evaluate the effects of silver nanoparticles on *in vitro* propagation of gerbera by *in vitro* leaf material. The results showed that: (i) the optimal medium for formation of callus from the *in vitro* leaf piece of gerbera was MS medium containing 30 g/l saccharose, 6.5 g/l agar, 1.5 mg/l 2.4D, 10 ppm of silvernano, the rate of callus formation was 92.53%; (ii) 85.45% of callus formed shoot after 6 weeks culturing on the MS medium supplemented with 0.7 mg/l BA, 0.1 mg/l IAA and 4 ppm silvernano; (iii) the maximum number of shoots was obtained on MS medium containing 3 mg/l BAP, 0.1 mg/l  $\alpha$ -NAA, 2 ppm of silvernano and the multiplication coefficient reached 8.22 times and shoot height was 5.75 cm after 6 weeks culturing; (iv) The optimum medium for *in vitro* rooting was the MS medium supplemented with 50 g/l saccharose, 6.5 g/l agar, 1.0 mg/l  $\alpha$ -NAA, 4 ppm of silvernano; 100% of the shoots produced roots, with an average of 5.73 roots/shoot and the average length of roots was 5.93 cm after 4 weeks culturing.

**Keywords:** Gerbera, *in vitro* leaf, MS medium, nanosilver

Ngày nhận bài: 16/9/2018

Ngày phản biện: 24/9/2018

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Pha

Ngày duyệt đăng: 15/10/2018

## NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÂY BÁT GIÁC LIÊN THỤ THẬP Ở MIỀN BẮC VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ RAPD

Lưu Thúy Hòa<sup>1</sup>, Khuất Hữu Trung<sup>2</sup>, Trần Đăng Khánh<sup>2</sup>, Phạm Thị Lý Thu<sup>2</sup>, Trần Văn Ôn<sup>3</sup>

### TÓM TẮT

Bát giác liên (*Dyosma* Woodson) là chi thuộc họ Berberidaceae có hoạt chất berberine với hàm lượng cao và được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền. Trong nghiên cứu này, 10 mẫu Bát giác được phân tích bằng 25 chỉ thị RAPD. Kết quả thu được 17 chỉ thị cho đa hình và 816 băng ADN gồm 111 loại băng khác nhau (trung bình là 6,5 loại băng/mẫu), trong đó có 62 băng đa hình (55,86%) và 49 băng đơn hình (44,14%). Các băng có kích thước dao động từ khoảng 250 đến 2000bp. Giá trị PIC của 17 mẫu trong khoảng 0,5 đến 0,88. Giá trị trung bình của hệ số PIC là 0,78 phản ánh các băng ADN được nhân lên là khá đa dạng. Kết quả phân tích hệ số tương đồng di truyền của 10 mẫu nghiên cứu liên dao động từ 0,57 đến 0,91. Ở mức tương đồng di truyền khoảng 0,67 có thể chia 10 mẫu nghiên cứu thành 2 nhóm cách biệt di truyền. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra 9 trong số 17 mẫu RAPD có thể nhận biết chính xác 5 mẫu giống nghiên cứu là PO1, PO2, PO9, PO10 và PO11. Kết quả này rất có ý nghĩa trong việc nghiên cứu tính đúng giống phục vụ công tác chọn tạo giống, nhân nhanh, bảo tồn và kiểm soát cây giống có chất lượng cao.

**Từ khóa:** Bát giác liên, *Dyosma* Woodson, RAPD, đa dạng di truyền

<sup>1</sup> Đại học Hải Phòng; <sup>2</sup> Viện Di truyền Nông nghiệp, <sup>3</sup> Đại học Dược Hà Nội.