

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

PHẠM THỊ MAI

**NGHIÊN CỨU CHỌN TẠO GIỐNG HOA ĐỒNG TIỀN (*GERBERA
JAMESONII*) BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐỘT BIẾN KẾT HỢP VỚI
NUÔI CẤY MÔ TẾ BÀO**

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số : 60.42.01.14

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

TS. LÊ ĐỨC THẢO

Hà Nội, 12/2015

Lời cam đoan

Tôi xin cam đoan đã trực tiếp thực hiện các nghiên cứu trong luận văn này. Mọi kết quả thu được nguyên bản, không chỉnh sửa hoặc sao chép từ các nghiên cứu khác. Các số liệu chưa từng được công bố trong luận án, luận văn nào trước đây.

Mọi dữ liệu trích dẫn tham khảo trong luận văn đều được thu thập và sử dụng từ nguồn dữ liệu mở hoặc với sự đồng ý của tác giả.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm với những lời cam đoan trên!

Tác giả

Phạm Thị Mai

Lời cảm ơn!

Tôi xin chân thành cảm ơn tập thể các thầy cô và các cán bộ công tác tại Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật đã giảng dạy và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập tại Viện.

Đặc biệt, tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành và sâu sắc tới TS. Lê Đức Thảo, người đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ cho tôi trong quá trình công tác cũng như trong thời gian học tập, nghiên cứu và thực hiện luận văn này.

Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn chân thành tới tập thể các cán bộ, anh chị em, bạn bè, đồng nghiệp trong Bộ môn Đột Biến và Ưu thế lai, Trại thí nghiệm Văn Giang - Hưng Yên thuộc Viện Di truyền Nông nghiệp đã giúp đỡ và đóng góp những ý kiến quý báu để tôi hoàn thành luận văn này.

Luận văn này được thực hiện bởi sự cho phép của Viện Di truyền Nông nghiệp, Bộ môn Đột biến & Ưu thế lai và được thực hiện từ nguồn kinh phí đề tài “Nghiên cứu ứng dụng công nghệ bức xạ kết hợp với công nghệ sinh học để tạo vật liệu khởi đầu cho chọn tạo giống hoa và giống đậu tương”, mã số KC.05.08/11-15 thuộc chương trình “Nghiên cứu ứng dụng và phát triển công nghệ năng lượng” của Bộ Khoa học và Công nghệ.

Luận văn có sự động viên và giúp đỡ của gia đình tôi.

Tôi xin chân thành cảm ơn!

Hà Nội, ngày 15 tháng 12 năm 2015

Tác giả

Phạm Thị Mai

MỤC LỤC

DANH MỤC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT.....	vi
DANH MỤC BẢNG	vii
DANH MỤC BẢNG	vii
DANH MỤC HÌNH	viii
MỞ ĐẦU.....	1
1.1. Tính cấp thiết của đề tài	1
1.2. Mục tiêu của đề tài	2
1.3. Yêu cầu của đề tài	3
1.4. Ý nghĩa của đề tài.....	3
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	4
1.1. Nguồn gốc, phân loại và đặc điểm thực vật học của cây hoa đồng tiền	4
1.2. Yêu cầu sinh thái của cây hoa đồng tiền.....	6
1.3. Tình hình sản xuất hoa đồng tiền trên thế giới và ở Việt Nam.....	8
1.4. Tổng quan về phương pháp chiếu xạ gây đột biến tạo vật liệu khởi đầu trong chọn giống cây trồng.....	11
Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	20
2.1. Đối tượng nghiên cứu	20
2.2. Vật liệu nghiên cứu	20
2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	21
2.4. Nội dung nghiên cứu.....	21
2.5. Phương pháp nghiên cứu.....	21
2.6. Các chỉ tiêu theo dõi và phương pháp theo dõi.....	25
2.7. Phương pháp xử lý số liệu.....	25
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN.....	26

3.1. Nghiên cứu gây đột biến bằng chiếu xạ tia Gamma trên mô sẹo giống hoa đồng tiền <i>in vitro</i>	26
3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của các liều chiếu xạ đến khả năng tái sinh của cây hoa đồng tiền <i>in vitro</i> qua 5 thế hệ (M1V5)	29
3.3. Nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của liều chiếu xạ đến sinh trưởng, phát triển của cây con ngoài vườn ươm	34
3.4. Nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của liều chiếu xạ đến sinh trưởng, phát triển của các giống đồng tiền ngoài đồng ruộng	36
3.5. Đánh giá các đặc tính nông sinh học của các giống hoa đồng tiền đột biến ngoài đồng ruộng.	40
Chương 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	52
4.1. Kết luận	52
4.2. Kiến nghị	52
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	54
PHỤ LỤC	61

DANH MỤC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

α -NAA	: α - Naphtylaxetic acid
2,4 - D	: 2,4 -Dichlorophenoxyacetic acid
Agar	: Thạch
BAP	: 6 - Benzyl Amino Purin
CT	: Công thức
CS	: Cộng sự
DT1	: Giống đồng tiền màu vàng (<i>Gerbera Cabana</i>)
DT2	: Giống đồng tiền tím hồng (<i>Gerbera Banesa</i>)
DT3	: Giống đồng tiền màu da cam (<i>Gerbera Cherokee</i>)
DT4	: Giống hoa đồng tiền màu hồng (<i>Gerbera Rosalin</i>)
Đ/C	: Đối chứng
H ₂ O ₂	: Hydro peroxide (nước ôxi già)
Gy	: Gray
MS	: Murashige and Skoogs, 1962

DANH MỤC BẢNG

<i>Bảng 2.1.</i> Tình hình sản xuất và tiêu thụ hoa đồng tiền	9
<i>Bảng 3.1.</i> Ảnh hưởng của chất 2,4-D tỷ lệ tạo mô sẹo của các giống hoa đồng tiền (Sau 4 tuần nuôi cấy)	26
<i>Bảng 3.2.</i> Ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ tia γ nguồn Co^{60} đến tỷ lệ sống và hình thái của mô sẹo đồng tiền <i>in vitro</i> (Sau 4 tuần chiếu xạ)	27
<i>Bảng 3.3.</i> Ảnh hưởng của liều chiếu xạ đến khả năng tái sinh chồi từ mô sẹo các giống đồng tiền sau 2 tháng nuôi cấy	29
<i>Bảng 3.4.</i> Ảnh hưởng của liều chiếu xạ tia γ nguồn Co^{60} đến hệ số nhân chồi và hình thái chồi đồng tiền <i>in vitro</i>	30
<i>Bảng 3.5.</i> Ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ tia γ nguồn Co^{60} tới khả năng ra rễ của chồi đồng tiền <i>in vitro</i> (Sau 2 tuần nuôi cấy)	32
<i>Bảng 3.6.</i> Ảnh hưởng của các liều chiếu xạ tia γ nguồn Co^{60} tới cây con đồng tiền ở giai đoạn vườn ươm.....	34
<i>Bảng 3.7.</i> Động thái tăng trưởng chiều cao của các giống đồng tiền ngoài đồng ruộng	36
<i>Bảng 3.8.</i> Động thái ra lá của các giống đồng tiền ngoài đồng ruộng	38
<i>Bảng 3.9.</i> Khả năng đẻ nhánh của các giống đồng tiền ngoài đồng ruộng	39
<i>Bảng 3.10.</i> Một số đặc điểm sinh trưởng, phát triển của giống đồng tiền đột biến ngoài đồng ruộng.....	40
<i>Bảng 3.11.</i> Một số chỉ tiêu năng suất, chất lượng của các giống hoa đồng tiền chiếu xạ ngoài đồng ruộng.....	42
<i>Bảng 3.12.</i> Ảnh hưởng của liều chiếu xạ đến khả năng xuất hiện biến dị của các giống đồng tiền ngoài đồng ruộng.....	45
<i>Bảng 3.13.</i> Các dòng biến dị có triển vọng thu được từ các giống đồng tiền nghiên cứu	47

DANH MỤC HÌNH

<i>Hình 3.1.</i> Các mô sẹ đồng tiền DT2 sau chiếu xạ 20 ngày	28
<i>Hình 3.2.</i> Hình thái chồi của giống đồng tiền DT2 sau 2 tuần cấy chuyển.....	31
<i>Hình 3.3.</i> Khả năng ra rễ của giống đồng tiền DT3 sau 2 tuần nuôi cấy	33
<i>Hình 3.4.</i> Cây con nuôi cấy mô hoàn chỉnh (giống đồng tiền DT3)	33
<i>Hình 3.5.</i> Cây hoa đồng tiền ngoài vườn ươm	35
<i>Hình 3.6.</i> Biến dị trên giống đồng tiền DT1	50
<i>Hình 3.7.</i> Biến dị trên giống đồng tiền DT2.....	50
<i>Hình 3.8.</i> Biến dị trên giống đồng tiền DT3.....	51
<i>Hình 3.9.</i> Biến dị trên giống đồng tiền DT4.....	51

MỞ ĐẦU

1.1. Tính cấp thiết của đề tài

Hoa đồng tiền (*Gerbera jamesonii*) là loại hoa xếp vị trí thứ 5 trong công nghiệp 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. Vì thế diện tích trồng hoa đồng tiền ngày càng được mở rộng, lượng tiêu thụ và giá cả ngày một tăng (Nguyễn Văn Hồng, 2009) [9].

Nhờ đặc điểm ưu việt đó, 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. Nắm bắt được thực trạng đó rất nhiều người làm vườn đã chuyển sang trồng hoa đồng tiền và mang lại hiệu quả kinh tế cao cho người sản xuất.

Trước đây, hoa đồng tiền chủ yếu được nhân giống bằng tách chồi (Lê Huy Hàm và cs, 2012) [7]. Phương pháp này thực hiện khá đơn giản, ít tốn kém song chất lượng cây giống ban đầu thường thấp, nhanh bị thoái hóa do nấm bệnh và virus. Trong nhiều năm trở lại đây, cùng với sự phát triển của công nghệ tế bào thực vật, với ưu điểm hệ số nhân giống cao, chất lượng được đảm bảo nên cây giống *in vitro* đồng tiền đã dần thay thế cây giống tách chồi.

Trong chọn giống, lai giống nhân tạo dù có tiềm năng vô hạn trong việc tạo ra các tổ hợp có đặc tính mới mà có thể được chọn lọc trong quần thể phân ly nhưng nó chỉ là sự phân bố lại và tái tổ hợp nguồn gen sẵn có (Nguyễn Minh Công, 2005) [4]. Vấn đề là sự giới hạn nguồn gen trong tự nhiên và tỷ lệ đột biến tự nhiên rất thấp, chỉ khoảng 10^{-7} . Ngược lại, phương pháp đột biến có thể cải tiến tính trạng đơn mà không gây ra sự tổn thương sâu trong bộ gen, đồng thời làm tăng nguồn tài nguyên di truyền cho lai giống nhân tạo và các biến dị di truyền mới có khả năng thích ứng tốt. Việc sử dụng kỹ thuật đột biến trong cải tiến giống cây trồng trong những thập kỷ qua cho thấy nó là phương pháp chọn giống hiệu quả nhằm cải tiến năng suất, chất lượng và khả năng chống chịu với các yếu tố sinh học và phi sinh học. Bởi vậy phương pháp đột biến đang được sử dụng một cách hiệu quả trong cải tiến giống cây trồng (Trần Duy Quý, 1997) [13].

Đối với cây hoa, việc xử lý đột biến có nhiều thuận lợi hơn so với các loại cây lương thực do tính chất sử dụng của nó ít dẫn đến sự lo ngại về sức khỏe của con người (Nguyễn Thị Kim Lý, Lê Đức Thảo, 2007) [11]. Ngoài ra, các mục tiêu của việc xử lý đột biến trên cây hoa thường liên quan đến một số chỉ tiêu chính như màu sắc hoa, kích thước hoa, tính chống chịu, ... Khi xuất hiện biến dị, nhà chọn giống có thể chọn lọc cá thể, nhân vô tính để đánh giá các dòng thu được. Do đó, thời gian cho chọn giống thường ngắn hơn so với các cây trồng khác. Vì vậy, có thể nói rằng, phương pháp chọn giống hoa bằng xử lý đột biến là một phương pháp đầy triển vọng trong công tác chọn tạo giống hoa mới cho sản xuất (Lê Đức Thảo, 2009) [15].

Công nghệ xử lý đột biến *in vitro* bằng các tác nhân vật lý đã trở thành công cụ hữu hiệu trong chọn tạo giống cây trồng (Nguyễn Thị Lý Anh và cs, 2015) [1]. Phương pháp này tạo ra nguồn biến dị di truyền phong phú và hỗ trợ đắc lực cho công tác chọn giống. Trong số các tác nhân vật lý được sử dụng hiện nay thì tia Gamma là tác nhân thường được sử dụng rộng rãi nhất. Một số đặc điểm thường được quan tâm khi chọn giống hoa, cây cảnh đột biến là: thay đổi màu sắc hoa, đặc điểm hình thái hoa, màu sắc lá, giảm thời gian sinh trưởng, tăng cường khả năng chống chịu sâu bệnh, khắc phục những nhược điểm của giống cũ... (Nguyễn Thị Kim Lý, Lê Đức Thảo, 2007) [11]. Kỹ thuật chọn giống với sự hỗ trợ của đột biến cùng với công nghệ sinh học, đặc biệt là công nghệ nuôi cấy mô tế bào đã có đóng góp đáng kể nâng cao chất lượng giống hoa.

Xuất phát từ thực tiễn đó, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài: “*Nghiên cứu chọn tạo giống hoa đồng tiền (Gerbera jamesonii) bằng phương pháp đột biến kết hợp với nuôi cấy mô tế bào*”.

1.2. Mục tiêu của đề tài

- Nghiên cứu ảnh hưởng của xử lý đột biến bằng tia Gamma đến sinh trưởng, phát triển của một số giống hoa đồng tiền trong *in vitro*.
- Nghiên cứu ảnh hưởng của xử lý đột biến bằng tia Gamma đến sinh trưởng, phát triển của một số giống hoa đồng tiền ở giai đoạn vườn ươm và ngoài đồng ruộng.