

## TUYỂN CHỌN GIỐNG MÔN ĐÓM VÀ MÔN CAO BẰNG PHƯƠNG PHÁP GÂY ĐỘT BIẾN CHIẾU XẠ

Vũ Anh Pháp<sup>1</sup>, Nguyễn Bảo Toàn<sup>2</sup>, Ngô Thảo Trân<sup>2</sup> và Hồng Thị Kiều Linh<sup>2</sup>

### ABSTRACT

*In natural conditions, taro is cultivated by tubers and breeding rarely appears. Therefore, creating a new variety by radioactive mutation should be used. This study was carried out based on 3 experiments with two species of taro Caladium bicolor and Colocasia esculenta: (1) Effect of NAA, BA, nutrient solutions on shoot regeneration and growth of regenerated shoots from callus; 2. Effect of gamma on shoot regeneration and growth of regenerated shoots; (3) Effect of coconut water on shoot regeneration and growth of regenerated shoots.*

*Results showed that, (1) Caladium bicolor: medium MS supplemented with 1 mg/l BA and 0,1 mg/l NAA had the best shoots; Gamma ray treatment with 3 rates of 20, 40, and 60 Gy had different phenotypes after 150 days ex vitro.*

*(2) Colocasia esculenta: medium MS supplemented with 1 mg/l BA and 0,1 mg/l NAA had the best shoots; medium MS supplemented with 100 ml/l coconut water was better for shoots; Gamma ray treatments at 15 and 20 Gy did not change phenotype by observation but changed genotype by SDS-PAGE protein analysis.*

**Keywords:** Caladium bicolor, Colocasia esculenta, somatic embryogenesis, gamma rays, X rays, SDS-PAGE

**Title:** Taro breeding by radioactive mutation

### TÓM TẮT

*Trong thực tế, khoai môn được trồng và nhân giống vô tính, lai tạo giống hữu tính gặp nhiều trở ngại do cây ít khi ra hoa, thụ trái và tạo hạt tự nhiên. Vì vậy, nghiên cứu chọn tạo giống Môn Đóm và Môn Cao bằng phương pháp gây đột biến chiếu xạ nhằm bổ sung và phong phú cách chọn tạo giống trên khoai môn. Nghiên cứu được thực hiện trên 3 thí nghiệm : (1) Hiệu quả của BA, NAA, chất dinh dưỡng lên sự tái sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi tái sinh trong điều kiện nuôi cấy in vitro; (2) Hiệu quả của tia gamma <sup>60</sup>Co lên sự tái sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi tái sinh từ mô sẹo; (3) Hiệu quả của nước dừa lên sự sinh trưởng của chồi tái sinh.*

*Kết quả đạt được, (1) trên Môn Đóm: nghiệm thức môi trường MS có bổ sung 1 mg/l BA kết hợp với 0,1 mg/l NAA cho kết quả tốt về chồi tái sinh; đối với tia gamma, liều xạ 20, 40 và 60 Gy đều có biến dị hình thái lá so với cây mẹ ở điều kiện ex vitro sau 150 ngày. (2) Trên Môn Cao: nghiệm thức môi trường MS có bổ sung 1 mg/l BA kết hợp với 0,1 mg/l NAA cho kết quả tốt về chồi tái sinh; đối với tia gamma, liều chiếu xạ 15 Gy và 20 Gy không nhận thấy rõ sự khác biệt về hình thái nhưng có sự khác biệt khi phân tích điện di protein SDS-PAGE.*

**Từ khóa:** Môn Đóm, Môn Cao, mô sẹo, chồi tái sinh, tia gamma, tia X, SDS-PAGE

<sup>1</sup> Viện NC & Phát triển Đồng bằng sông Cửu Long, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

## 1 GIỚI THIỆU

Cây khoai môn là loài thân thảo, một lá mầm và thường sinh sản vô tính trong điều kiện tự nhiên. Cây có thân ngầm (củ) chứa nhiều tinh bột, bẹ và lá ít thấm nước, cây được trồng phổ biến ở khắp nước ta để lấy củ làm thực phẩm hoặc làm kiềng, dược liệu,... (Chi, 2002). Trên thế giới có hơn 1000 loài Môn Đóm nhưng ở Việt Nam chỉ có một vài loài được dùng làm kiềng. Nhiều nghiên cứu đã thành công trong việc tạo ra những cây hoa kiềng đột biến có nhiều màu sắc hoa mới, thay đổi cấu trúc hoa và thời gian trổ hoa (Mandal *et al.*, 2000). Cây Môn Cao là loại cây hoa màu phổ biến ở nước ta, thích nghi rộng trên nhiều vùng sinh thái (Huệ *et al.*, 2002). Môn Cao rất có giá trị dinh dưỡng và kinh tế. Cả Môn Đóm dễ ra hoa nhưng không thụ hạt và Môn Cao khó ra hoa trong điều kiện tự nhiên, cây được nhân giống chủ yếu bằng củ, lai tạo hữu tính phải áp dụng nhiều biện pháp nhân tạo được thực hiện trong nhà kính (Pháp, 2003). Phương pháp chọn tạo giống mới đối với thực vật sinh sản vô tính hiện nay thường được áp dụng đột biến như xử lý tia gamma và vật liệu được sử dụng là các mẫu vật *in vitro*. Vì vậy, chọn tạo giống Môn Đóm và Môn Cao bằng phương pháp đột biến phóng xạ nhằm mục đích:

- Xác định môi trường nuôi cấy *in vitro* hiệu quả nhất;
- Xác định liều lượng xử lý tia gamma  $^{60}\text{Co}$  đạt hiệu quả đột biến cao nhất.
- Hiệu quả của nước dừa lên sự sinh trưởng của chồi tái sinh.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1 Vật liệu thí nghiệm

Củ giống Môn Kiềng (*Caladium bicolor*) và Môn Cao (*Colocasia esculenta* L. Schott) do Viện Nghiên cứu Phát triển đồng bằng sông Cửu Long cung cấp.

Môi trường nuôi cấy được sử dụng trong các thí nghiệm là môi trường cơ bản MS (Murashige và Skoog, 1962) bổ sung các thành phần như đường sucrose 30 g/l, agar 8 g/l, nước dừa. Tùy thuộc vào các thí nghiệm mà có hoặc không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng như NAA và BA ở các nồng độ khác nhau. Môi trường khi pha xong được chỉnh pH = 5,8 và được rót vào keo có kích thước đường kính 8 cm, cao 12 cm. Mỗi keo chứa 30 ml môi trường và được đậy lại bằng nắp nhựa. Môi trường được khử trùng ướn ở 121<sup>0</sup>C, áp suất 1 atm trong 20 phút.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp nghiên cứu dựa trên các thí nghiệm sau.

#### 2.2.1 Thí nghiệm 1:

Hiệu quả của BA, NAA trong môi trường MS lên sự tái sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi tái sinh từ mẫu mô sẹo phát sinh phôi của Môn Đóm, Môn Cao *in vitro*.

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức thừa số 2 nhân tố gồm môi trường MS có bổ sung 4 mức độ BA (0; 1; 2 mg/l) và 3 mức độ NAA (0; 0,1; 0,5 mg/l). Tổng cộng có 9 nghiệm thức, 4 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 3 keo. Mỗi keo cấy 2 mẫu.

**Bảng 1: Các nồng độ BA và NAA trong từng nghiệm thức ở thí nghiệm 1**

| NAA (mg/l) | BA (mg/l) |      |      |
|------------|-----------|------|------|
|            | 0         | 1    | 2    |
| 0          | NT 1      | NT 2 | NT 3 |
| 0,1        | NT 4      | NT 5 | NT 6 |
| 0,5        | NT 7      | NT 8 | NT 9 |

Ghi chú: NT = nghiệm thức

2.2.2 Thí nghiệm 2:

Hiệu quả của tia gamma <sup>60</sup>Co lên sự tái sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi tái sinh từ mẫu mô sẹo phát sinh phôi của Môn Đóm, Môn Cao *in vitro*.

Mẫu mô sẹo sau 6 tuần nuôi cấy được xử lý tia gamma <sup>60</sup>Co tại Viện Hạt nhân Đà Lạt. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, một nhân tố, 4 nghiệm thức, 4 lặp lại, mỗi lặp lại là 1 đĩa petri, mỗi đĩa petri cấy 10 mẫu mô sẹo phát sinh phôi. Môi trường được sử dụng để tái sinh chồi là môi trường MS có bổ sung 0,1 mg/l NAA, 1 mg/l BA và 50 ml/l nước dừa.

Ký hiệu nghiệm thức:

- Nghiệm thức 1: Không xử lý tia gamma
- Nghiệm thức 2: liều chiếu xạ 20 Gy
- Nghiệm thức 3: liều chiếu xạ 40 Gy
- Nghiệm thức 4: liều chiếu xạ 60 Gy

2.2.3 Thí nghiệm 3:

Đánh giá ảnh hưởng của tia gamma <sup>60</sup>Co lên sự sinh trưởng của mô sẹo Môn Đóm, Môn Cao sau chiếu xạ

Ở giai đoạn thuần dưỡng: Mỗi nghiệm thức chọn ngẫu nhiên 30 cây. Cây có chiều cao trung bình từ 5 – 6 cm, có từ 1 đến 2 lá. Giá thể là hỗn hợp rơm, tro và mụn dừa với tỉ lệ 1:1:1, trùm bọc nylon trong điều kiện nhà lưới. Nhiệt độ và ẩm độ trung bình trong thời gian thuần dưỡng: 30,9 °C và 69,2 %.

**Chỉ tiêu theo dõi:** ghi nhận chỉ tiêu sau 50 ngày thuần dưỡng.

- Tỉ lệ cây sống (%) = (Số cây sống/tổng số cây thuần dưỡng) x 100.
- Chiều cao cây: đo từ gốc đến rốn lá cao nhất của cây.
- Số lá: đếm lá mở hoàn toàn.
- Số khí khổng/mm<sup>2</sup>: được đếm dưới kính hiển vi.

Các cá thể được xem là có sự khác biệt về hình thái sẽ được đánh giá bằng phương pháp điện di Protein SDS–PAGE (phương pháp cải tiến -Thành, 2005): Chuẩn bị Dung dịch ly trích: 0,05 M Tris HCl (pH = 8), 0,2% SDS, 5 M Urea và 1% 2-Mercaptoethanol (2-ME) và dung dịch đệm điện di: 0,025M Tris HCl; 0,192 M Glycine và 0,125% SDS. Ly trích mẫu Lấy 250 mg lá, nghiền mịn cho vào ống 1,5 ml. Thêm 100 µl dung dịch ly trích. Lắc ít nhất 1 giờ hoặc để qua đêm. Ly tâm 12.000 vòng/phút trong 3 phút. Làm gel phân tách 10% Polyacrylamide và gel cô mẫu 5% Polyacrylamide. Sau đó bơm 10 µl dung dịch ly trích mẫu/giếng, hiệu điện thế 40 V ở gel cô mẫu và 60 V ở gel phân tách. Nhuộm bạc và rửa gel trong dung dịch: 10 ml acid acetic, 50 ml methanol, 40 ml nước.

### 2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu phần trăm biến động từ 0% - 100% được chuyển đổi sang dạng Arcsin $\sqrt{x}$  theo công thức trong bảng tính excel: ASIN(SQRT(x)/10)\*180/3.1416, với x là giá trị phần trăm cần đổi (%), nếu giá trị x là 0% sẽ được thay thế bởi 1/4n với n là số mẫu dựa trên để tính phần trăm, nếu x là 100% sẽ được thay thế bởi 100 - 1/4n (Gomez & Gomez, 1984).

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Hiệu quả của BA, NAA trong môi trường MS lên sự tái sinh chồi và sự sinh trưởng của chồi tái sinh từ mẫu mô sẹo phát sinh phôi Môn Đóm, Môn Cao *in vitro*

#### 3.1.1 Tỷ lệ tái sinh chồi của mẫu mô sẹo phát sinh phôi

Kết quả Bảng 2a cho thấy ở thời điểm 7 tuần sau khi cấy thì tỷ lệ tái sinh chồi của mẫu mô sẹo phát sinh phôi (MSPSP) của Môn Đóm ở các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên ở Môn Cao có sự khác biệt giữa các nghiệm thức có nồng độ BA khác nhau (Bảng 2b).

**Bảng 2a: Tỷ lệ (%) tái sinh chồi của mẫu mô sẹo Môn Đóm ở các nồng độ BA và NAA khác nhau sau 7 tuần nuôi cấy**

| NAA (mg/l)                           | BA (mg/l) |       |       |       | Trung bình |
|--------------------------------------|-----------|-------|-------|-------|------------|
|                                      | 0         | 1     | 2     | 3     |            |
| 0                                    | 45,83     | 46,43 | 12,50 | 33,33 | 34,52      |
| 0,1                                  | 28,57     | 33,33 | 40,00 | 33,33 | 33,81      |
| 0,5                                  | 50,00     | 54,17 | 57,14 | 35,72 | 49,26      |
| <b>Trung bình</b>                    | 41,47     | 44,64 | 36,55 | 34,13 |            |
| $F_{NAA}, F_{BA}, F_{BA \times NAA}$ |           |       |       |       | ns         |
| <b>CV (%)</b>                        |           |       |       |       | 45,28      |

**Bảng 2b: Tỷ lệ tái sinh chồi (%) của mẫu mô sẹo Môn Cao ở các nồng độ NAA và BA khác nhau sau 7 tuần nuôi cấy**

| NAA (mg/l)                   | BA (mg/l)         |                    |                   | Trung bình |
|------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|------------|
|                              | 0                 | 1                  | 2                 |            |
| 0                            | 26,9              | 31,9               | 35,2              | 31,3       |
| 0,1                          | 20,0              | 37,6               | 34,5              | 30,7       |
| 0,5                          | 16,9              | 23,8               | 35,2              | 25,3       |
| <b>Trung bình</b>            | 21,3 <sup>b</sup> | 31,1 <sup>ab</sup> | 35,0 <sup>a</sup> |            |
| $F_{NAA}, F_{NAA \times BA}$ |                   |                    |                   | ns         |
| $F_{BA}$                     |                   |                    |                   | *          |
| <b>CV (%)</b>                |                   |                    |                   | 34,2       |

Ghi chú: trong cùng 1 cột, những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi dùng phép kiểm định LSD, (ns): khác biệt không có ý nghĩa thống kê. (\*): khác biệt ở mức ý nghĩa 5%

#### 3.1.2 Chiều cao

Kết quả cho thấy ở thời điểm 7 tuần sau khi cấy thì chiều cao chồi tái sinh của Môn Đóm và Môn Cao từ mẫu MSPSP ở các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê (Bảng 3a, 3b).

**Bảng 3a: Chiều cao (cm) chồi tái sinh từ mẫu mô sẹo phát sinh phôi của Môn Đốm ở các nồng độ BA và NAA khác nhau sau 7 tuần nuôi cấy**

| NAA (mg/l)                           | BA (mg/l) |      |      | Trung bình |
|--------------------------------------|-----------|------|------|------------|
|                                      | 0         | 1    | 2    |            |
| 0                                    | 0,55      | 0,32 | 0,20 | 0,36       |
| 0,1                                  | 0,17      | 0,13 | 0,57 | 0,29       |
| 0,5                                  | 0,39      | 0,17 | 0,19 | 0,25       |
| <b>Trung bình</b>                    | 0,37      | 0,21 | 0,32 |            |
| $F_{NAA}, F_{BA}, F_{BA \times NAA}$ | ns        |      |      |            |
| CV (%)                               | 45,28     |      |      |            |

**Bảng 3b: Chiều cao (cm) chồi tái sinh từ mẫu mô sẹo phát sinh phôi của Môn Cao ở các nồng độ BA và NAA khác nhau sau 7 tuần nuôi cấy**

| NAA (mg/l)                           | BA (mg/l) |     |     | Trung bình |
|--------------------------------------|-----------|-----|-----|------------|
|                                      | 0         | 1   | 2   |            |
| 0                                    | 0,6       | 0,7 | 0,8 | 0,7        |
| 0,1                                  | 0,3       | 0,7 | 0,7 | 0,6        |
| 0,5                                  | 0,1       | 0,3 | 0,8 | 0,4        |
| <b>Trung bình</b>                    | 0,3       | 0,6 | 0,8 |            |
| $F_{NAA}, F_{BA}, F_{BA \times NAA}$ | ns        |     |     |            |
| CV (%)                               | 76,6      |     |     |            |

Ghi chú: ns khác biệt không có ý nghĩa thống kê

3.1.3 Tỷ lệ ra rễ của mẫu mô sẹo phát sinh phôi

Kết quả Bảng 4a, 4b cho thấy ở thời điểm 7 tuần sau khi cấy thì tỷ lệ ra rễ của mẫu MSPSP của Môn Đốm và Môn Cao ở các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Như vậy, trong môi trường nuôi cấy MS có bổ sung các liều lượng NAA và BA nhưng hầu như không có sự khác biệt giữa các nồng độ đến tỷ lệ ra chồi, chiều cao chồi tái sinh và tỷ lệ ra rễ. Chỉ có sự khác biệt khi bổ sung 1 hoặc 2 mg/l BA đều làm gia tăng tỷ lệ ra chồi của Môn Cao sau 7 tuần nuôi cấy.

**Bảng 4a: Tỷ lệ (%) ra rễ của Môn Đốm ở các nồng độ BA và NAA khác nhau sau 7 tuần nuôi cấy**

| NAA (mg/l)                           | BA (mg/l) |       |       | Trung bình |
|--------------------------------------|-----------|-------|-------|------------|
|                                      | 0         | 1     | 2     |            |
| 0                                    | 41,67     | 46,43 | 29,17 | 39,73      |
| 0,1                                  | 28,57     | 33,33 | 30,00 | 35,48      |
| 0,5                                  | 70,84     | 41,67 | 39,28 | 49,55      |
| <b>Trung bình</b>                    | 47,02     | 40,48 | 32,82 |            |
| $F_{NAA}, F_{BA}, F_{BA \times NAA}$ | ns        |       |       |            |
| CV (%)                               | 56,9      |       |       |            |

**Bảng 4b: Tỷ lệ (%) ra rễ của Môn Cao ở các nồng độ NAA và BA khác nhau sau 7 tuần nuôi cấy**

| NAA (mg/l)                           | BA (mg/l) |      |      | Trung bình |
|--------------------------------------|-----------|------|------|------------|
|                                      | 0         | 1    | 2    |            |
| 0                                    | 26,4      | 26,4 | 23,8 | 25,5       |
| 0,1                                  | 20,7      | 23,8 | 20,7 | 21,7       |
| 0,5                                  | 23,8      | 26,4 | 16,9 | 22,4       |
| <b>Trung bình</b>                    | 23,6      | 25,5 | 20,5 |            |
| $F_{NAA}, F_{BA}, F_{BA \times NAA}$ | ns        |      |      |            |
| CV (%)                               | 35,6      |      |      |            |

Ghi chú: ns khác biệt không có ý nghĩa thống kê

### 3.2 Hiệu quả của tia gamma <sup>60</sup>Co lên sự tái sinh chồi từ mẫu mô sẹo phát sinh phôi Môn Đóm và Môn Cao *in vitro*

#### 3.2.1 Môn Đóm

Kết quả bảng 5a cho thấy ở thời điểm 1 tuần sau khi cấy thì tỉ lệ tái sinh chồi của mẫu MSPSP của Môn Đóm ở nghiệm thức không xử lý tia gamma là 37,50%, tuy nhiên khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức có xử lý tia gamma. Ở thời điểm 3, 5, 7 tuần sau khi cấy thì tỉ lệ tái sinh chồi của mẫu MSPSP ở nghiệm thức không xử lý tia gamma cao hơn nhiều và khác biệt có ý nghĩa với các nghiệm thức có xử lý tia gamma.

**Bảng 5a: Tỉ lệ (%) tái sinh chồi của Môn Đóm ở các liều xử lý sau 1-7 tuần nuôi cấy**

| Nghiệm thức           | Thời gian nuôi cấy (tuần) |         |         |          |
|-----------------------|---------------------------|---------|---------|----------|
|                       | 1                         | 3       | 5       | 7        |
| Không xử lý tia gamma | 37,50                     | 45,83 a | 70,83 a | 100,00 a |
| 20 Gy                 | 4,17                      | 4,17 b  | 8,33 b  | 18,75 b  |
| 40 Gy                 | 3,13                      | 3,13 b  | 3,13 b  | 3,13 b   |
| 60 Gy                 | 4,17                      | 4,17 b  | 8,34 b  | 12,50 b  |
| F                     | ns                        | *       | **      | **       |
| CV (%)                | 130,29                    | 124,70  | 70,61   | 41,53    |

**Bảng 5b: Tỉ lệ (%) tái sinh chồi của Môn Cao ở các liều xử lý sau 30-50 ngày nuôi cấy**

| Liều xạ (Gy)          | Thời gian nuôi cấy (ngày) |         |        |
|-----------------------|---------------------------|---------|--------|
|                       | 30                        | 40      | 50     |
| Không xử lý tia gamma | 31,5 a                    | 43,4 ab | 47,4 a |
| 20 Gy                 | 32,4 a                    | 45,8 a  | 56,0 a |
| 40 Gy                 | 24,2 a                    | 24,2 b  | 24,2 b |
| 60 Gy                 | 0,0 b                     | 0,0 c   | 0,0 c  |
| F                     | **                        | **      | **     |
| CV (%)                | 59,1                      | 41,3    | 36,9   |

Ghi chú: - Trong cùng 1 cột, những số có chữ theo sau giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi dùng phép kiểm định LSD, (ns): Khác biệt không có ý nghĩa thống kê, (\*): Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%, (\*\*): Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.

Tuy nhiên, đối với Môn Cao liều lượng xử lý 20, 40 Gy tia gamma ở các thời điểm 30, 40 ngày sau nuôi cấy (NSNC) tỉ lệ chồi tái sinh đều không khác biệt so với không xử lý; liều lượng 40 Gy ở 50 NSNC làm giảm tỉ lệ chồi so với không xử lý và xử lý liều 20 Gy; Đối với liều 60 Gy đã làm chồi tái sinh không phát triển được (Bảng 5b).

#### 3.2.2 Ảnh hưởng của tia gamma <sup>60</sup>Co lên sự sinh trưởng, hình thái và kiểu di truyền của chồi Môn Đóm, Môn Cao sau chiếu xạ giai đoạn *ex vitro*

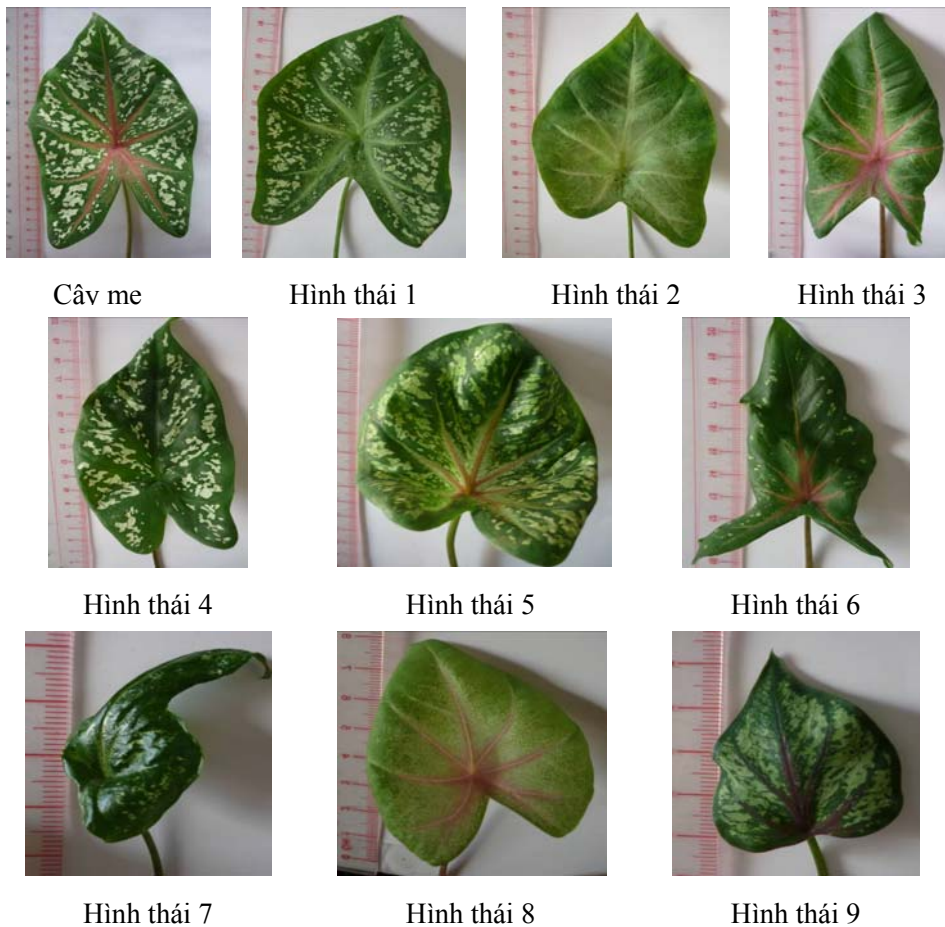
##### Môn Đóm

Từ kết quả ở Bảng 6 cho thấy ở thời điểm 150 ngày thuần dưỡng thì nghiệm thức 20 Gy tỉ lệ chồi biến dị hình thái lá đạt 5,83%, trong đó có 3 dạng hình thái (hình thái 2: 2,50%, hình thái 4: 2,50%, hình thái 8: 0,83%). Ở nghiệm thức 40 Gy tỉ lệ chồi biến dị hình thái lá đạt 30,00%, trong đó có 6 dạng hình thái (hình thái 1: 14,17%, hình thái 2: 8,33%, hình thái 3: 3,33%, hình thái 4: 1,67%, hình thái 7: 1,67%, hình thái 9: 0,83%). Ở nghiệm thức 60 Gy tỉ lệ chồi biến dị hình thái lá đạt

23,33%, trong đó có 5 dạng hình thái (hình thái 4: 2,50%, hình thái 5: 7,50%, hình thái 6: 10,83%, hình thái 7: 0,83%, hình thái 8: 1,67%) (Hình 1). Như vậy, liều xạ 40 Gy và 60 Gy cho nhiều dạng biến dị hình thái lá nhất. Kết quả trên cũng phù hợp với một số nghiên cứu trên những loại hoa kiểng khác như: trên hoa cúc tia gamma đã ảnh hưởng làm thay đổi hình dạng hoa và tạo ra nhiều màu sắc hoa khác nhau (Siranut *et al.*, 2000), tương tự trên hoa hồng (Anh, 2007).

**Bảng 6: Tỷ lệ (%) chồi có biến dị hình thái lá của chồi tái sinh từ mẫu mô sẹo phát sinh phôi đã xử lý tia gamma ở các liều lượng khác nhau sau 150 ngày thuần dưỡng trên Môn Đóm**

| Nghiệm thức       | Các dạng biến dị hình thái lá |       |      |      |      |       |      |      |      | Tổng số (%) |
|-------------------|-------------------------------|-------|------|------|------|-------|------|------|------|-------------|
|                   | 1                             | 2     | 3    | 4    | 5    | 6     | 7    | 8    | 9    |             |
| 20 Gy             | -                             | 2,50  | -    | 2,50 | -    | -     | -    | 0,83 | -    | 5,83        |
| 40 Gy             | 14,17                         | 8,33  | 3,33 | 1,67 | -    | -     | 1,67 | -    | 0,83 | 30,00       |
| 60 Gy             | -                             | -     | -    | 2,50 | 7,50 | 10,83 | 0,83 | 1,67 | -    | 23,33       |
| Tổng các dạng (%) | 14,17                         | 10,83 | 3,33 | 6,67 | 7,50 | 10,83 | 2,50 | 2,50 | 0,83 |             |



**Hình 1: Các dạng biến dị hình thái lá môn đóm thu được ở các liều xử lý tia gamma khác nhau**

**Ghi chú:**

| TT | Hình thái   | Mô tả   |
|----|-------------|---|
| 1  | Cây mẹ      | Lá hình khiên có đốm trắng, gân lá màu hồng   |
| 2  | Hình thái 1 | Lá hình khiên có đốm trắng, gân lá màu trắng.   |
| 3  | Hình thái 2 | Lá hình khiên không có đốm, gân lá màu trắng  |
| 4  | Hình thái 3 | Lá hình khiên không có đốm, gân lá màu hồng   |
| 5  | Hình thái 4 | Lá hình khiên có đốm trắng, gân lá không xuất hiện màu.                               |
| 6  | Hình thái 5 | Lá hơi tròn và dày có đốm màu xanh nhạt, gân lá màu hồng                              |
| 7  | Hình thái 6 | Lá hình khiên, thon dài, có đốm lá nhỏ màu trắng, gân lá màu hồng                     |
| 8  | Hình thái 7 | Lá biến dạng có đốm trắng, gân lá màu hồng  |
| 9  | Hình thái 8 | Lá hình tim, mỏng và xê thùy đến cuống lá, không có đốm, gân lá màu trắng lan rộng    |
| 10 | Hình thái 9 | Lá hình tim, xê thùy đến cuống lá, có đốm trắng lan rộng trên lá, gân lá màu tím hồng |

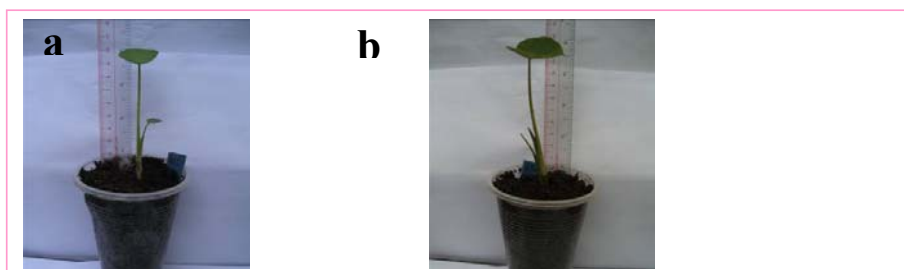
**Môn Cao**

*Tỉ lệ sống và sự sinh trưởng trên Môn Cao*

Kết quả bảng 7 cho thấy, tỉ lệ sống của chồi tái sinh từ mẫu mô sẹo Môn Cao đã xử lý tia gamma liều 40 Gy sau 50 ngày thuần dưỡng các chồi đều bị chết nhưng ở liều 15, 20 Gy tỉ lệ sống và sự sinh trưởng không khác biệt so với đối chứng.

**Bảng 7: Tỉ lệ sống (%), chiều cao (cm) và số lá của chồi tái sinh từ mẫu mô sẹo đã xử lý tia gamma ở các liều lượng khác nhau sau 50 ngày thuần dưỡng**

| Nghiệm thức | Tỉ lệ sống (%) | Chiều cao (cm) | Số lá     |
|-------------|----------------|----------------|-----------|
| 15 Gy       | 73,5           | 10,7 ± 5,9     | 2,2 ± 1,2 |
| 20 Gy       | 72,7           | 10,7 ± 8,3     | 2,0 ± 1,0 |
| 40 Gy       | 0,0            | 0,0            | 0,0       |



**Hình 2: Chồi Môn Cao chiếu xạ sau 50 ngày thuần dưỡng**

**a: Đối chứng      c: 20 Gy**

*Đặc điểm hình thái*

Các chồi Môn Cao sau đó được trồng tiếp tục và theo dõi trong điều kiện nhà lưới để so sánh về mặt hình thái ở các nghiệm thức chiếu xạ. Sau 5 tháng thuần dưỡng, kết quả quan sát về mặt hình thái cho thấy không có sự khác biệt. Tuy nhiên, khi đếm số khí khẩu thì nghiệm thức 15 Gy làm giảm số khí hậu và liều 20 Gy làm tăng số khí khẩu hơn so với đối chứng (Bảng 8). Theo Hòa và Toàn (2005) thì số khí khẩu bị ảnh hưởng bởi yếu tố di truyền và điều kiện môi trường, vì vậy kết quả trên cho thấy có thể là tia gamma đã có tác động lên vật chất di truyền của chồi Môn Cao.



**Bảng 8: Số khí khẩu / mm<sup>2</sup>**

| <b>Nghiệm thức</b> | <b>Số khí khẩu/mm<sup>2</sup></b> |
|--------------------|-----------------------------------|
| <b>Đối chứng</b>   | 99 ± 32                           |
| <b>15 Gy</b>       | 68 ± 13                           |
| <b>20 Gy</b>       | 151 ± 22                          |

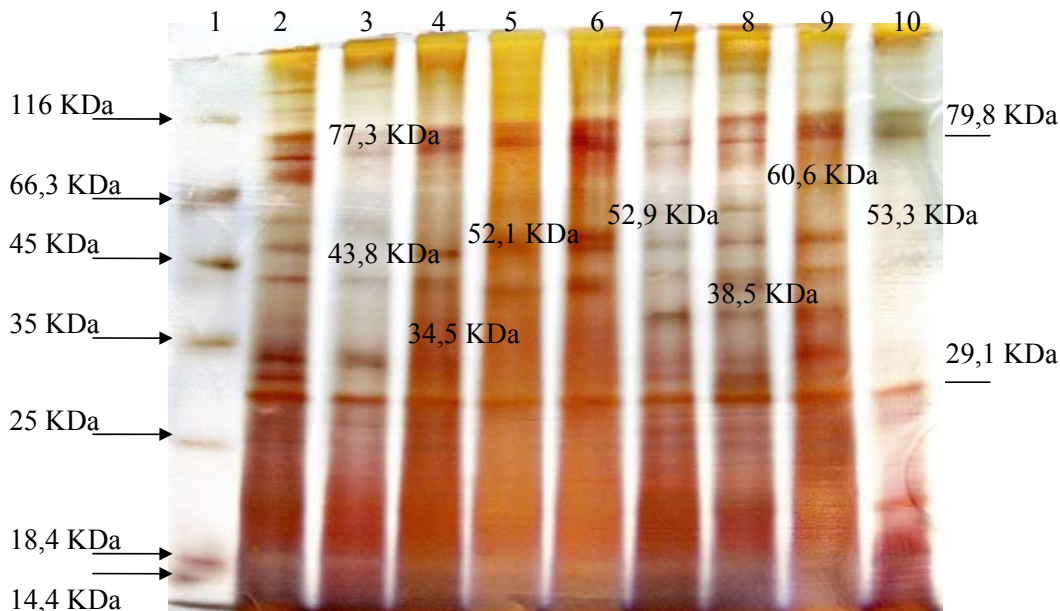
*Đánh giá hiệu quả của tia gamma lên chồi Môn Cao chiếu xạ tia gamma bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE*

Sau thời gian thuần dưỡng, xét về hình thái bên ngoài, các chồi Môn Cao ở nghiệm thức đối chứng, 15 Gy và 20 Gy khó nhận thấy có sự khác biệt về hình thái. Do đó, các chồi môn này sẽ được chọn ngẫu nhiên để phân tích bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE.

Kết quả điện di cho thấy, các nghiệm thức chiếu xạ đều có một số băng protein khác đối chứng (Hình 3).

Đối với các cây trong cùng nghiệm thức 15 Gy và 20 Gy, khi chạy điện di protein cũng có sự khác biệt nhau, ở giếng 2 xuất hiện nhiều băng protein hơn so với giếng 3 và 4 (cùng nghiệm thức 15 Gy), ở giếng 8 xuất hiện nhiều băng protein hơn so với giếng 6, 7 và 9 (cùng nghiệm thức 20 Gy).

Đối với các chồi ở hai nghiệm thức 15 Gy và 20 Gy cũng có sự khác biệt. Ở giếng 7 (nghiệm thức 20 Gy) xuất hiện băng protein ở vị trí trọng khối khoảng 38,5 KDa trong khi các chồi ở nghiệm thức 15 Gy không thấy xuất hiện băng protein này.



**Hình 3: Phô điện di protein các dạng biến dị ở Môn Cao**

*Ghi chú: giếng 1: marker chuẩn, giếng 2: 15 Gy, giếng 3: 15 Gy, giếng 4: 15 Gy, giếng 5: 15 Gy, giếng 6: 20 Gy, giếng 7: 20 Gy, giếng 8: 20 Gy, giếng 9: 20 Gy, giếng 10: đối chứng.*

Như vậy, kết quả điện di cho thấy có sự đa dạng ở mức độ biểu hiện protein ở các chồi Môn Cao sau chiếu xạ so với đối chứng. Kết quả trên có thể là do tia gamma đã tác động lên mô sẹo Môn Cao và đã đa dạng protein ở các chồi Môn Cao sau chiếu xạ. Nhiều nhà nghiên cứu cũng đã ứng dụng kỹ thuật điện di này để đánh giá

sự đa dạng di truyền trên nhiều giống cây trồng như: khoai môn (Pháp, 2003); khoai mỡ (Khôi, 2005); đánh giá độ thuần của cà chua, ớt, dưa hấu và dưa leo (Uyên và ctv., 2005); ứng dụng trong công tác chọn tạo giống lúa chất lượng cao (Thành và Phương, 2004).

## 4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 4.1 Kết luận

- Trong môi trường nuôi cấy MS có bổ sung 1 mg/l BA và 0,1 mg/l NAA sẽ giúp tăng tỉ lệ chồi từ mô sẹo ở cả Môn Đóm và Môn Cao.
- Chiếu xạ liều 20 Gy tia gamma có hiệu quả đột biến tốt nhất ở cả Môn Đóm và Môn Cao. Liều 20-60 Gy cho khác biệt về kiểu hình ở Môn Đóm, liều 15 và 20 Gy làm thay đổi số khí khổng trên đơn vị diện tích lá và làm đa dạng protein ở Môn Cao sau khi được chiếu xạ.

### 4.2 Đề nghị

Tiếp tục đánh giá kiểu hình, kiểu gen, khảo sát nhiễm sắc thể vì có khả năng tạo ra loài mới để đưa ra quy trình đột biến phóng xạ trên khoai môn hiệu quả nhất cũng như chọn lọc giống theo mục tiêu đặt ra nhằm đáp ứng nhu cầu giống cho sản xuất.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lê Hữu Khôi. 2005. Đánh giá sự đa dạng di truyền tập đoàn giống Khoai Mỡ (*Dioscorca sp.*) dựa trên đặc điểm hình thái và dấu phân tử protein. Luận văn cao học ngành Nông học – Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ.
- Lê Văn Hòa và Nguyễn Bảo Toàn. 2005. Giáo trình sinh lý thực vật. Tủ sách Đại Học Cần Thơ, tr.66.
- Mandal A. K. A., D. Chakrabarty and S. Datta. 2000. *In vitro* isolation of solid novel flower colour mutants from induced chimeric ray florets of chrysanthemum. *Euphytica* 114, pp.9 - 12.
- Murashige and Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, Vol 15, pp.473 - 497.
- Nguyễn Thị Ngọc Huệ, Hà Đình Tuấn và Bhuwon Sthapit. 2002. Bảo tồn đa dạng sinh học nông nghiệp trên đồng ruộng tại Việt Nam. Nxb Nông nghiệp, tr. 54-61, 154 - 158.
- Phan Hồ Hải Uyên, Võ Công Thành, Phan Phước Hiền và Phạm Văn Phương. 2005. Đánh giá độ thuần của hai loại hạt giống rau F1 (dưa hấu và dưa leo) bằng kỹ thuật điện di protein SDS-PAGE. Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn (20), tr.39 – 41.
- Siranut Lamseejan, Peeranuch Jompuk, Arunee Wongpiyasatid, Surin Deeseepan and Prapanpongse Kwanthammachart (2000). Gamma-rays induced morphological changes in *Chrysanthemum morifolium*. *Kasetsart J. Nat. Sci.* 34, pp. 417-422.
- Trần Thị Vân Anh (2007). Ảnh hưởng của tia gamma lên sự sinh trưởng và phát triển của chồi hoa hồng (*Rosa sp.*) *in vitro*. Luận văn tốt nghiệp kỹ sư trồng trọt, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ
- Võ Công Thành và Phạm Văn Phương. 2004. Một số kết quả ứng dụng kỹ thuật điện di protein SDS - PAGE trong công tác chọn tạo giống lúa chất lượng cao. Hội nghị Quốc gia về chọn tạo giống lúa, Số 1, tr.172 - 182.
- Võ Công Thành. 2005. Giáo trình kỹ thuật điện di. Tủ sách Đại học Cần Thơ.
- Võ Văn Chi. 2003. Tự điển thực vật thông dụng. Nxb Khoa học và kỹ thuật, tập 1, tr.744 - 746.
- Vũ Anh Pháp. 2003. Đánh giá tập đoàn khoai môn bằng các đặc điểm hình thái và điện di protein SDS-PAGE. Luận văn thạc sĩ, Đại học Cần Thơ.