

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG NANO BẠC TRONG NHÂN GIỐNG *in vitro* CÚC BÁCH NHẬT (*Gomphrena globosa* L.) TỪ LÁ

Bùi Thị Thu Hương, Đồng Huy Giới*

Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: dhgioi@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 10.06.2020

Ngày chấp nhận đăng: 19.08.2020

TÓM TẮT

Cúc Bách nhật (*Gomphrena globosa* L.) là một trong những giống hoa đẹp, được trồng phổ biến ở Việt Nam và nhiều nước trên thế giới. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích đánh giá tác động của nano bạc đến quá trình nhân giống *in vitro* cúc Bách nhật từ lá. Các nồng độ nano bạc khác nhau (2, 4, 6, 8 và 10ppm) được bổ sung vào môi trường ở tất cả các giai đoạn của quá trình nuôi cấy *in vitro*. Kết quả nghiên cứu cho thấy, môi trường cảm ứng tạo mô sẹo từ mảnh lá *in vitro* cúc Bách nhật có bổ sung 4-6ppm nano bạc cho tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo đạt 100%, mô sẹo mềm, trắng ngà, phát triển rộng khắp bề mặt mẫu lá sau 4 tuần nuôi cấy; mô sẹo cúc Bách nhật nuôi trong môi trường tái sinh chồi bổ sung thêm 4ppm nano bạc cho hiệu quả tái sinh chồi tốt nhất với 100% mẫu tạo chồi, số chồi trung bình đạt 5,32 chồi/mẫu, chiều cao trung bình chồi đạt 2,36cm, chồi mập, đồng đều, phát triển khỏe; môi trường nhân nhanh chồi bổ sung thêm 6ppm nano bạc cho hệ số nhân chồi cúc Bách nhật cao nhất đạt 8,36 chồi/mẫu, chất lượng chồi tốt; môi trường ra rễ thích hợp nhất của chồi cúc Bách nhật *in vitro* là môi trường có bổ sung 8ppm nano bạc, với tỷ lệ chồi ra rễ đạt 100%, số rễ trung bình đạt 4,08 rễ/chồi, chiều dài rễ trung bình đạt 4,16cm sau 4 tuần nuôi cấy.

Từ khóa: Cúc Bách nhật, nano bạc, mô sẹo, nhân giống *in vitro*.

Study on *in vitro* Application of Silver Nanoparticles in Leaf Propagation of Globe Amaranth (*Gomphrena globosa* L.)

ABSTRACT

Globe amaranth (*Gomphrena globosa* L.) is one of the beautiful flowers and is popularly grown in Vietnam and many worldwide countries. The objective of this study was to assess the effect of nano silver on the *in vitro* propagation of Globe Amaranth from leaves. The different concentrations of silver nanoparticles (2, 4, 6, 8 and 10ppm) were added to the culture medium at all stages of the tissue culture. The results showed that the callus induction medium supplemented with 4-6ppm of nano silver gave the callus formation rate to reach 100%, callus were ivory white, soft and spread across of sample surface after 4 weeks of culturing; the callus of Globe Amaranth was cultured in shoot regeneration medium supplemented with 4ppm of nano silver for the best shoot generation effect, the shooting rate reached 100%, the average number of shoots was 5.32 shoots/callus, the average height of shoots reached 2.36cm; the highest number of shoots per explant (8.36) was found on shoot multiplication medium supplemented with 6 ppm of nano silver; the root induction medium added with 8 ppm of nano silver gave rooting rate of 100%, the average number of roots was 4.08 roots/shoots, the root length reached 4.16cm after 4 weeks of culturing.

Keywords: Globe Amaranth (*Gomphrena globosa* L.), nano silver, callus, *in vitro* propagation.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cúc Bách nhật (*Gomphrena globosa* L.) là loài hoa đẹp được trồng phổ biến ở Việt Nam và

nhiều nước trên thế giới. Hoa cúc Bách nhật bền lâu, có sức sống mãnh liệt trong nhiều điều kiện thời tiết. Ngoài giá trị làm cảnh, cúc Bách nhật còn có tác dụng làm thuốc chữa ho, hen suyễn,

viêm phế quản và đặc biệt là bệnh cao huyết áp. Hiện nay, nguồn giống cúc Bách nhật trồng ở Việt Nam chủ yếu là hạt nhập nội, một số nơi tiến hành nhân giống bằng phương pháp giâm cành truyền thống nhưng không đáp ứng đủ về số lượng giống do hệ số nhân không cao, mặt khác còn mang nguy cơ lây lan nguồn bệnh và làm thoái hóa giống.

Kỹ thuật nhân giống vô tính bằng phương pháp nuôi cấy *in vitro* đã được áp dụng thành công trên nhiều đối tượng cây trồng trong đó có cây hoa cúc. Phương pháp này có nhiều ưu điểm như tạo được cây con sạch bệnh, đồng nhất về mặt di truyền, tạo được số lượng lớn cây giống trong thời gian ngắn, có thể đáp ứng nhu cầu cho thực tiễn sản xuất (Dương Tấn Nhựt & Nguyễn Bá Nam, 2009; Manu Pant & cs., 2015). Mặc dù đã có một số công bố về nhân giống *in vitro* cây hoa cúc (Nguyễn Thị Diệu Hương & Dương Tấn Nhựt, 2004; Yesmin & cs., 2014; Manu Pant & cs., 2015; Phạm Văn Chương & cs., 2016), tuy nhiên cho đến nay vẫn chưa có công bố nào về nhân giống *in vitro* cây hoa cúc Bách nhật đặc biệt là nhân giống *in vitro* cây cúc Bách nhật từ lá.

Trong những năm gần đây, nano bạc được biết đến là một chất chống oxy hóa, có khả năng kháng khuẩn rất mạnh, thân thiện với môi trường (Nasser Mahna & cs., 2013) và không độc hại cho người và các sinh vật khác (Kharrazi & cs., 2011). Ngoài ra, chế phẩm nano cũng đang được chú ý sử dụng ngày càng nhiều trong trồng trọt giúp làm tăng năng suất, chất lượng nông sản, đảm bảo sự phát triển một nền nông nghiệp sạch, an toàn, hiệu quả và thân thiện với môi trường (Rostami & Shahsavar, 2012). Trong nuôi cấy *in vitro* tế bào thực vật, chế phẩm nano nói chung và nano bạc nói riêng đã và đang được sử dụng làm chất khử trùng mẫu hiệu quả, thân thiện với môi trường. Bên cạnh đó, nano bạc còn có tác dụng tích cực tới sự phát sinh hình thái của cây *in vitro* (Rostami & Shahsavar, 2012). Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của việc sử dụng nano bạc trong nhân giống *in vitro* cây hoa cúc Bách nhật từ lá.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu, thời gian và địa điểm

Vật liệu nghiên cứu là cây cúc Bách nhật *in vitro* (*Gomphrena globosa* L.) được nuôi cấy từ hạt tại phòng thí nghiệm Bộ môn Sinh học; dung dịch nano bạc với kích thước hạt dao động 15-20nm được điều chế tại Bộ môn Sinh học, khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Các thí nghiệm được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam từ tháng 7/2018 đến tháng 7/2019.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

- Tạo mô sẹo từ mảnh lá *in vitro*: Lá *in vitro* được cắt thành các mảnh hình vuông có kích thước 1cm², sau đó tạo vết thương và nuôi cấy trong môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962) có bổ sung 30 g/l đường sucrose, 8 g/l agar, 1 mg/l 2,4D, 0,2 mg/l BA (Liyan & cs., 2017), bổ sung thêm nano bạc với các nồng độ khác nhau là 2, 4, 6, 8 hoặc 10ppm. Theo dõi sau 4 tuần nuôi cấy với các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo, đặc điểm mô sẹo tạo thành.

- Tái sinh chồi từ mô sẹo: Mô sẹo được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 30 g/l đường sucrose, 7 g/l agar, 1,0 mg/l BA, 1,0 mg/l NAA (Jala A., 2014), bổ sung thêm nano bạc với các nồng độ khác nhau là 2, 4 hoặc 6ppm. Theo dõi sau 8 tuần nuôi cấy với các chỉ tiêu: tỷ lệ tái sinh chồi, hệ số nhân chồi, chiều cao chồi, đặc điểm chồi.

- Nhân nhanh chồi cúc Bách nhật: Các chồi cúc Bách nhật *in vitro* sinh trưởng bình thường có đủ thân và lá được cấy chuyển sang môi trường nhân nhanh (Môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l BA, 0,1 mg/l IAA - Theo Yesmin & cs., 2014) có bổ sung nano bạc với các nồng độ khác nhau là 2, 4, 6, 8 hoặc 10ppm. Sau 4 tuần nuôi cấy, theo dõi các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu tái sinh chồi, hệ số nhân chồi, đặc điểm và chiều cao chồi.

- Tạo cây hoàn chỉnh: Sử dụng chồi cúc *in vitro* khỏe mạnh có từ 3-5 lá thu được từ quá

trình nhân nhanh, cấy chuyển sang môi trường ra rễ là môi trường MS có bổ sung 30 g/l đường sucrose, 7 g/l agar, 0,2 mg/l NAA (Phạm Văn Chương & cs., 2016), bổ sung thêm nano bạc với các nồng độ khác nhau là 2, 4, 6, 8 hoặc 10ppm. Tiến hành theo dõi sau 4 tuần nuôi cấy với các chỉ tiêu: tỷ lệ ra rễ, chiều dài rễ, số rễ/chồi.

2.2.2. Điều kiện thí nghiệm

Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH là 5,7 và hấp khử trùng ở 121°C, áp suất 1,1atm trong 20 phút. Các thí nghiệm trong phòng được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 30 mẫu. Điều kiện phòng nuôi là 25-27°C, cường độ ánh sáng là 2.400-2.600lux, độ ẩm 70%, thời gian chiếu sáng là 16h chiếu sáng/ngày.

2.2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý thống kê bằng phân tích ANOVA một nhân tố theo chương trình Microsoft Excel 2010. 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 Difference) ở độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của nano bạc tới sự hình thành mô sẹo từ mảnh lá *in vitro*

Kết quả thu được ở bảng 1 và hình 1 cho thấy, sau 4 tuần nuôi cấy, tỷ lệ tạo mô sẹo ở tất cả các công thức thí nghiệm đều rất cao, kết quả xử lý thống kê cho thấy không có sự sai khác về tỷ lệ hình thành mô sẹo ở các công thức thí nghiệm, tuy nhiên chất lượng và khối lượng mô sẹo tạo thành thì có sự khác biệt đáng kể. Ở công thức không bổ sung nano bạc, mô sẹo khô cứng và chỉ được tạo thành ở quanh vết cắt. Ngược lại, ở các công thức bổ sung nano bạc, mô sẹo được hình thành nhiều hơn, trong đó công thức bổ sung 4ppm và 6ppm nano bạc là cho kết quả tốt nhất, mô sẹo có màu trắng ngà, chắc và phát triển rộng khắp bề mặt mảnh lá. Kết quả này khá tương đồng với kết quả của

Đồng Huy Giới & Dương Thị Mến (2017) khi nghiên cứu sử dụng nano bạc để tạo mô sẹo từ mảnh lá *in vitro* hoa hồng cổ Sapa. Theo Amir & cs. (2019), nano bạc có tác dụng làm tăng cường hoạt động của các enzyme chống oxy hóa như superoxide effutase, peroxidase, catalase và ascorbate peroxidase trong quá trình nuôi cấy *in vitro* cây *Caralluma tuberculata* (một loài cây dược liệu thuộc họ La bố ma), qua đó kích thích quá trình hình thành và phát triển của mô sẹo. Như vậy, môi trường có bổ sung nano bạc với nồng độ 4ppm hoặc 6ppm là thích hợp nhất cho sự hình thành mô sẹo từ mảnh lá *in vitro* cúc Bách nhật.

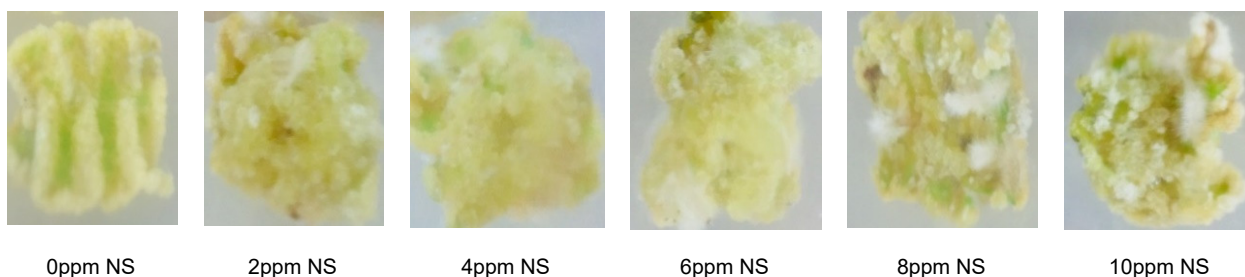
3.2. Ảnh hưởng của nano bạc tới sự tái sinh chồi từ mô sẹo

Các mô sẹo có màu trắng ngà, mềm được cấy chuyển vào môi trường tái sinh chồi (Jala, 2014) có bổ sung nano bạc với nồng độ khác nhau. Sau 8 tuần nuôi cấy, kết quả thu được ở bảng 2 và hình 2 cho thấy, việc bổ sung nano bạc với các nồng độ khác nhau vào môi trường có ảnh hưởng tích cực đến khả năng tạo chồi từ mô sẹo cúc Bách nhật. Mặc dù không có sự sai khác về tỷ lệ mẫu tái sinh chồi, song có sự khác biệt đáng kể về số lượng và chất lượng chồi tạo thành. Ở công thức không bổ sung nano bạc, số lượng chồi trung bình chỉ đạt 1,75 chồi/mẫu, chồi có ít lá, lá nhỏ và bị dị dạng. Trong khi đó, khi bổ sung 2ppm nano bạc vào môi trường, số chồi trung bình tăng lên 3,69 chồi/mẫu, chồi xanh và có nhiều lá. Đặc biệt, ở công thức bổ sung 4ppm nano bạc, số chồi trung bình đạt cao nhất (5,32 chồi/mẫu), chồi cao, mập, đồng đều, lá nhiều và xanh. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ nano bạc lên 6ppm thì số chồi trung bình giảm xuống còn 3,57 chồi/mẫu, chồi thấp, không đồng đều, có nhiều chồi dị dạng, lá bị cháy (Hình 2). Điều này có thể là do nano bạc ở nồng độ cao đã tác động tiêu cực lên màng tế bào của mẫu *in vitro* (Rostami & Shahsava, 2009). Kết quả này cũng khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của Đồng Huy Giới & Ngô Thị Ánh (2017) khi sử dụng nano bạc để tái sinh chồi từ mô sẹo cây mía.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng tạo mô sẹo từ mẫu lá *in vitro* cúc Bách nhật sau 4 tuần nuôi cấy

Nồng độ nano (ppm)	Số mẫu (mẫu)	Tỷ lệ tạo mô sẹo (%)	Đặc điểm mô sẹo
0	90	98,89 ^a	Màu trắng, khô cứng, chỉ phát triển ở quanh vết cắt
2	90	100,00 ^a	Màu trắng ngà, mềm, một số mẫu phát triển rộng khắp bề mặt mẫu lá, một số phát triển chưa đồng đều
4	90	100,00 ^a	Màu trắng ngà, mềm, phát triển rộng khắp bề mặt mẫu lá
6	90	100,00 ^a	Màu trắng ngà, mềm, phát triển rộng khắp bề mặt mẫu lá
8	90	100,00 ^a	Màu trắng, xốp, một số mẫu phát triển không đồng đều
10	90	97,78 ^a	Màu trắng, xốp, một số mẫu phát triển không đồng đều
LSD _{0,05}		4,3	
CV%		1,8	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $P < 0,05$.



Hình 1. Mô sẹo hình thành từ mẫu lá nuôi cấy trên môi trường bổ sung các nồng độ nano bạc khác nhau sau 4 tuần nuôi cấy

Bảng 2. Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng tái sinh chồi cúc Bách nhật từ mô sẹo sau 8 tuần nuôi cấy

Nồng độ nano (ppm)	Tỷ lệ mẫu tái sinh chồi (%)	Số chồi trung bình/mẫu (chồi)	Chiều cao chồi trung bình (cm)	Đặc điểm chồi
0	97,78 ^a	1,75 ^c	1,59 ^b	Chồi mập, ít lá, lá nhỏ, một số lá bị dị dạng
2	100,00 ^a	3,69 ^b	1,64 ^b	Chồi mập, không đồng đều, lá nhiều và xanh
4	100,00 ^a	5,32 ^a	2,36 ^a	Chồi mập, đồng đều, phát triển khỏe, lá nhiều và xanh
6	100,00 ^a	3,57 ^b	1,18 ^c	Chồi không đồng đều, có nhiều chồi dị dạng, chồi ít lá, lá có biểu hiện bị cháy
LSD _{0,05}	3,36	0,69	0,42	
CV%	1,45	1,70	0,86	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $P < 0,05$.

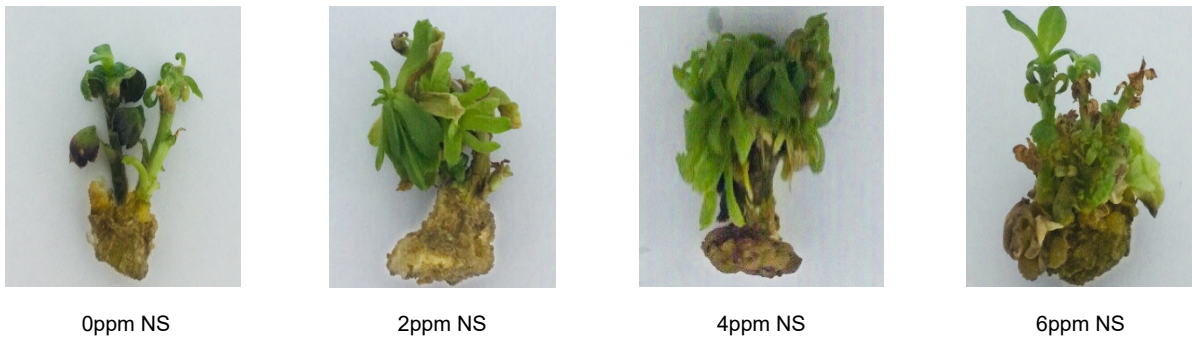
3.3. Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng nhân nhanh chồi cúc Bách nhật

Kết quả thu được ở bảng 3 và hình 3 cho thấy, tỷ lệ mẫu tái sinh chồi ở tất cả các công thức thí nghiệm đều đạt 100%. Tuy nhiên, hệ số

nhân chồi và chiều cao chồi ở các công thức bổ sung nano bạc vượt trội so với công thức không bổ sung nano bạc, điều này cho thấy nano bạc có ảnh hưởng tích cực đến quá trình nhân nhanh chồi cúc Bách nhật. Cụ thể, ở công thức không bổ

sung nano bạc (đối chứng), hệ số nhân chồi đạt 4,5 lần, chiều cao trung bình chồi đạt 1,84cm, chồi có ít lá, lá màu xanh nhạt, một số lá bị dị dạng. Trong khi đó, ở tất cả các công thức bổ sung nano bạc, hệ số nhân chồi đều cao hơn ở mức có ý nghĩa thống kê so với công thức đối chứng và dao động từ 5,16 lần (công thức bổ sung 2ppm nano bạc) đến 8,36 lần (công thức bổ sung 6ppm nano bạc). Đối với chỉ tiêu chiều cao trung bình chồi, hầu hết các công thức bổ sung nano bạc đều cho kết quả tốt hơn so với đối chứng, trong đó công thức bổ sung 6ppm nano bạc cho kết quả tốt nhất, chiều cao trung bình chồi đạt 2,36 cm, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tất cả các công thức còn lại. Mặt khác, kết quả thu được cũng cho thấy, việc bổ sung nano bạc vào môi trường nuôi cấy đã nâng cao chất lượng chồi cúc Bách nhật, trong đó các công thức bổ sung 4, 6 và

8ppm cho chất lượng chồi tốt nhất, chồi mập, đồng đều, lá xanh đậm. Tuy nhiên, khi bổ sung nano bạc ở nồng độ 10ppm đã làm giảm hiệu quả của việc nhân chồi, đặc biệt là giảm chất lượng của chồi cúc Bách nhật, chồi mảnh, không đồng đều, lá bị vàng. Theo kết quả nghiên cứu của Yesmin & cs. (2014), môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l BA và 0,1 mg/l IAA là môi trường thích hợp nhất cho việc nhân nhanh chồi cây hoa cúc. Nghiên cứu của Hediati & Salama (2012) cho thấy, nano bạc ở nồng độ 2-6ppm làm tăng chiều dài chồi, diện tích lá, hàm lượng protein và hàm lượng cacborhydrat ở cây lạc và cây ngô nuôi cấy mô, tuy nhiên ở nồng độ 8-10ppm, nano bạc đã ức chế khả năng tái sinh chồi của hai loại cây này. Như vậy, bổ sung 6ppm nano bạc vào môi trường nuôi cấy là thích hợp nhất cho việc nhân nhanh chồi cúc Bách nhật.

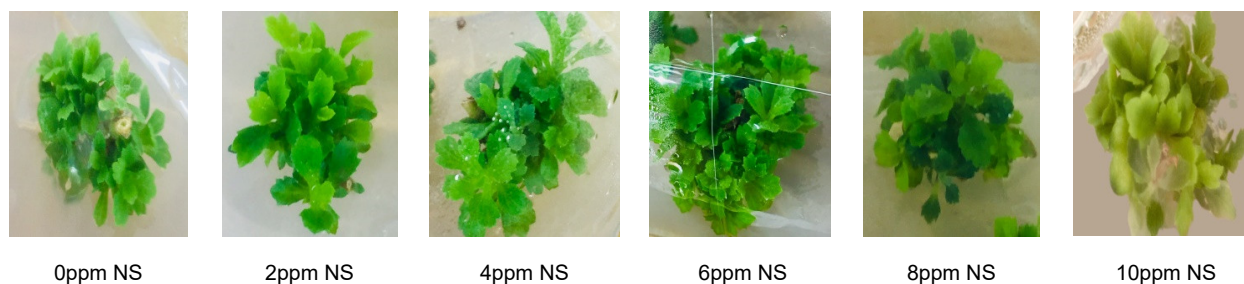


Hình 2. Chồi cúc Bách nhật hình thành từ mô sẹo trong môi trường bổ sung các nồng độ nano bạc khác nhau sau 8 tuần nuôi cấy

Bảng 3. Ảnh hưởng của nano bạc đến hiệu quả nhân chồi cúc Bách nhật sau 4 tuần nuôi cấy

Nồng độ nano (ppm)	Tỷ lệ mẫu tái sinh chồi (%)	Hệ số nhân chồi (lần)	Chiều cao chồi trung bình (cm)	Đặc điểm chồi
0	100,0	4,50 ^d	1,84 ^c	Chồi mập, không đồng đều, lá xanh nhạt, một số lá bị dị dạng
2	100,0	5,16 ^c	1,97 ^c	Chồi mập, đồng đều, lá xanh nhạt
4	100,0	6,84 ^b	2,02 ^{bc}	Chồi mập, đồng đều, lá xanh đậm
6	100,0	8,36 ^a	2,36 ^a	Chồi mập, đồng đều, lá xanh đậm
8	100,0	7,24 ^b	2,18 ^b	Chồi mập, đồng đều, lá xanh đậm
10	100,0	6,72 ^b	2,11 ^b	Chồi mảnh, không đồng đều, lá vàng
LSD _{0,05}		0,58	0,12	
CV%		1,36	2,30	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $P < 0,05$.

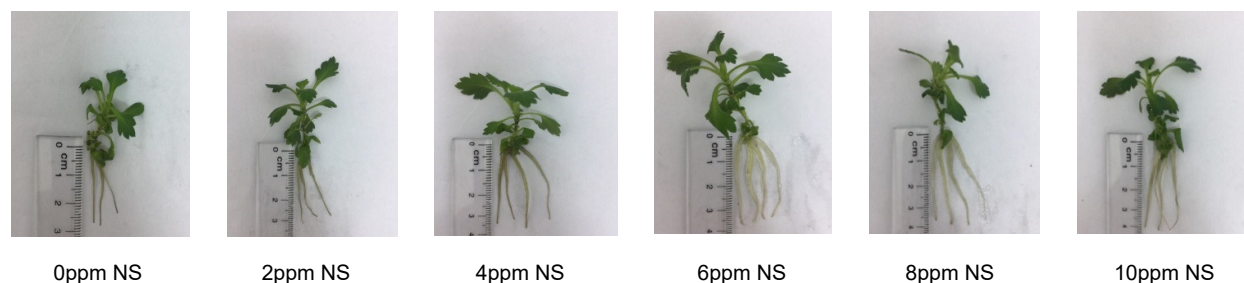


Hình 3. Chồi cúc Bách nhật trong môi trường bổ sung các nồng độ nano bạc khác nhau sau 4 tuần nuôi cấy

Bảng 4. Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng ra rễ của chồi cúc Bách nhật sau 4 tuần nuôi cấy

Nồng độ nano (ppm)	Tỷ lệ mẫu ra rễ (%)	Số rễ/chồi (rễ)	Chiều dài rễ trung bình (cm)
0	100,0	2,78 ^c	2,84 ^d
2	100,0	3,07 ^{bc}	3,23 ^c
4	100,0	3,55 ^b	3,48 ^{bc}
6	100,0	3,88 ^a	3,87 ^b
8	100,0	4,08 ^a	4,16 ^a
10	100,0	3,68 ^{ab}	3,71 ^{ab}
LSD _{0,05}		0,36	0,29
CV%		1,2	0,7

Ghi chú: Trong cùng một cột, các giá trị mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa ở mức $P < 0,05$.



Hình 4. Chồi cúc Bách nhật ra rễ trong các môi trường bổ sung nano bạc với nồng độ khác nhau sau 4 tuần nuôi cấy

3.4. Ảnh hưởng của nano bạc đến khả năng ra rễ của chồi cúc Bách nhật *in vitro*

Kết quả thu được khi bổ sung nano bạc vào môi trường ra rễ cho thấy, ở tất cả các công thức bổ sung nano bạc đều cho số rễ/chồi và chiều dài trung bình rễ tốt hơn có ý nghĩa thống kê so với công thức đối chứng không bổ sung nano bạc (Bảng 4). Khi bổ sung nano bạc với nồng độ tăng dần từ 2ppm đến 8ppm thì số rễ/chồi thu được cũng tăng dần, công thức bổ sung 6-8ppm nano bạc có số lượng rễ/chồi cao nhất tương ứng là 3,88

và 4,08 rễ/chồi, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với các công thức còn lại. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ nano bạc lên 10ppm thì số rễ/chồi lại bị giảm xuống (3,68 rễ/chồi). Đối với chỉ tiêu chiều dài rễ, công thức bổ sung 8ppm cho kết quả tốt nhất với chiều dài rễ trung bình đạt 4,16cm, cao hơn có ý nghĩa thống kê với tất cả các công thức còn lại. Tăng nồng độ nano bạc lên 10ppm thì chiều dài rễ giảm xuống còn 3,71cm, điều này có thể là do nồng độ nano bạc cao đã gây ức chế sự phát triển của rễ.

Theo công bố của Rostami & Shahsavar (2009) đối với chồi ô liu, số rễ trên chồi và chiều dài rễ đạt kết quả tốt nhất khi bổ sung vào môi trường 8ppm nano bạc. Như vậy có thể thấy, nano bạc có ảnh hưởng tích cực đến quá trình ra rễ của chồi cúc Bách nhật *in vitro*, trong đó môi trường bổ sung 8ppm nano bạc cho kết quả tốt nhất ở cả chỉ tiêu số rễ/chồi và chiều dài trung bình rễ.

4. KẾT LUẬN

Từ kết quả thu được cho thấy, bổ sung nano bạc với nồng độ từ 4-8ppm vào môi trường nuôi cấy có ảnh hưởng tích cực tới tất cả các giai đoạn trong quá trình nuôi cấy *in vitro* cúc Bách nhật; môi trường thích hợp nhất cho việc hình thành mô sẹo từ mẫu lá *in vitro* cúc Bách nhật là MS bổ sung 30 g/l đường sucrose, 8 g/l agar, 1 mg/l 2,4D, 0,2 mg/l BA và 4-6ppm nano bạc; môi trường MS bổ sung 30 g/l đường sucrose, 7 g/l agar, 1,0 mg/l BA, 1,0 mg/l NAA và 4ppm nano bạc là thích hợp nhất cho việc tái sinh chồi cúc Bách nhật từ mô sẹo; chồi cúc Bách nhật trong môi trường MS bổ sung 1,0 mg/l BA, 0,1 mg/l IAA và 6ppm nano bạc có hệ số nhân chồi cao nhất (8,36 lần), chiều cao chồi tốt nhất (2,36cm), chồi mập, đồng đều, lá xanh đậm; chồi cúc Bách nhật ra rễ tốt nhất trong môi trường MS có bổ sung 30 g/l đường sucrose, 7 g/l agar, 0,2 mg/l NAA và 8ppm nano bạc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Amir Ali, Sher Mohammad, Mubarak Ali Khan, Naveed Iqbal Raja, Mohammad Arif, Atif Kamil & Zia-ur-Rehman Mashwani (2019). Silver nanoparticles elicited *in vitro* callus cultures for accumulation of biomass and secondary metabolites in *Caralluma tuberculata*. *Artificial cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 47(1): 715-724.
- Dương Tấn Nhựt, Nguyễn Bá Nam (2009). Ảnh hưởng của hệ thống chiếu sáng đơn sắc lên sự sinh trưởng và phát triển của cây hoa cúc (*Chrysanthemum morifolium* cv. "Nut") nuôi cấy *in vitro*. *Tạp chí Công nghệ sinh học*. 7: 91-98.
- Đồng Huy Giới & Ngô Thị Ánh (2017). Nghiên cứu sử dụng chế phẩm nano trong nuôi cấy mô cây mía (*Saccharum officinarum* L.). *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. 6: 35-40.
- Đồng Huy Giới & Dương Thị Mến (2017). Nghiên cứu sử dụng chế phẩm nano trong nuôi cấy mô cây hoa hồng cổ Sapa. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. 5: 59-65.
- Hediat M. & Salama H. (2012). Effects of silver nanoparticles in some crop plants. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *International research journals of Biotechnology*. 3(10): 190-197
- Jala A. (2014). Role of 2,4-D on callus induction and shoot formation to increase number of shoot in miniature rose *in vitro*. *American Transaction on Engineering and Applied Sciences*. 3(3): 207-213.
- Kharrazi M., Nemati H., Tehranifar A., Bagheri A. & Sharifi A. (2011). *In vitro* culture of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) focusing on the problem of vitrification. *J. Biol. Environ Sci*. 13: 1-6.
- Liyan Jin, Yang Yang1, Wenjie Gao, Mingxue Gong, Jijia Wang, Neil O. Anderson & Miao He (2017). Establishment of callus induction and cell suspension cultures of *Dendratherm indicum* var. *Aromaticum* a scented chrysanthemum. *Journal of Plant Studies*. 6(2): 38-44.
- Manu Pant, Ankita Lal & Rashi Jain (2015). A simple cost effective method for mass propagation of *Chrysanthemum morifolium* and antibacterial activity assessment of *in vitro* raised plantlets. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 5(7): 103-111.
- Murashige T. & Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15: 473-497.
- Nasser M., Sepideh Z.V. & Sajjad K. (2013). Plant *in vitro* culture goes nano: Nanosilver-mediated decontamination of *ex vitro* explants. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*. 4(2): 1-4.
- Nabeel K. Al-Ani (2011). Using silver nano- particles to increase efficiency of sterile solution for *in vitro* techniques. *Iraqi Journal of Cancer and Medical Genetics*. 4(1): 48- 51.
- Nguyễn Thị Diệu Hương & Dương Tấn Nhựt (2004). Hoàn thiện quy trình nhân nhanh giống cây hoa cúc (*Chrysanthemum indicum* L.) sạch bệnh bằng kỹ thuật nuôi cấy đỉnh sinh trưởng. *Tạp chí Sinh học*. 4: 45-48.
- Phạm Văn Chương, Hồ Ngọc Giáp, Võ Văn Trung, Lê Thị Thu Hương & Hồ Thị Trang (2016). Sản xuất giống hoa cúc tại bắc trung bộ bằng kỹ thuật nuôi cấy mô. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*. 6: 1-4.
- Rostami A.A. & Shahsavar A. (2009). Nano-silver particles eliminate the *in vitro* contaminations of olive 'Mission' explants. *Journal of Plant Sciences*. 8(7): 505-509.
- Yesmin S., Hashem A., Das K.C., Hasan M.M. & Islam M.S. (2014). Efficient *in vitro* regeneration of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) through nodal explant culture. *Nuclear Science and Application*. 23(1&2): 47-50.