Effects of gamma rays from ^{60}Co source on dwarf *Dendrobium* cross-breedingVinh V. Nguyen^{1*}, Anh H. Tran², Le V. Bui³, & Tri M. Bui⁴¹Crop Production and Plant Protection Branch in Ho Chi Minh City, Vietnam²Department of Research Administration, Van Hien University, Ho Chi Minh City, Vietnam³Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam⁴Faculty of Agronomy, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: September 08, 2019

Revised: November 12, 2019

Accepted: December 26, 2019

Keywords

Cross-breeding

 ^{60}Co sourceDwarf *Dendrobium*

Gamma rays

Mutant lines

*Corresponding author

Nguyen Van Vinh

Email: vinhnh_25@yahoo.com

ABSTRACT

In this research, seeds of DM12x13 dwarf *Dendrobium* cross-breeding germinated on $\frac{1}{2}$ MS medium after 40 days were irradiated by ^{60}Co source with various doses to determine LD₅₀ (Lethal Dose 50%). After LD₅₀ had been determined, protocorms of DM12x13 dwarf *Dendrobium* cross-breeding was irradiated by gamma rays from ^{60}Co source in 5 doses: 0 Gy (control), 20 Gy, 40 Gy, 60 Gy and 80 Gy, dose rate 90 Gy/h to study the effect of gamma radiation on mutagenicity and evaluate the growth of these mutations *in vitro*. The result showed that the lethal dose of hybrid DM12x13 *Dendrobium* protocorm under the effect of ^{60}Co gamma ray was 68 Gy. Survival ratio, growth and the ability to growth of plants reduced in higher doses and dead ratio were 100% when irradiated more than 80 Gy after 7 months. The effective doses for treating protocorm of DM12x13 crossbred lines were 20, 40 and 60 Gy. These doses were suitable for increase frequency of variation with generating wide-spread, diverse in structure and color of stems and leaves.

Cited as: Nguyen, V. V., Tran, A. H., Bui, L. V., & Bui, T. M. (2020). Effects of gamma rays from ^{60}Co source on dwarf *Dendrobium* cross-breeding. *The Journal of Agriculture and Development* 19(1), 32-40.

Khảo sát ảnh hưởng của chiếu xạ gamma ^{60}Co đến cây lan lai *Dendrobium* thấp cây

Nguyễn Văn Vinh^{1*}, Trần Hồng Anh², Bùi Văn Lệ³ & Bùi Minh Trí⁴

¹Chi Cục Trồng trọt và Bảo Vệ Thực Vật TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

²Phòng Quản Lý Khoa Học, Trường Đại học Văn Hiến, TP. Hồ Chí Minh

³Khoa Sinh học - Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

⁴Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 08/09/2019

Ngày chỉnh sửa: 12/11/2019

Ngày chấp nhận: 26/12/2019

Từ khóa

Bức xạ gamma
Dendrobium thấp cây
Dòng đột biến
Nguồn ^{60}Co
Tổ hợp lai

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Văn Vinh
Email: vinhnh_25@yahoo.com

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, hạt của tổ hợp lai DM12x13 lan *Dendrobium* thấp cây nảy mầm trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS sau 40 ngày gieo được sử dụng làm vật liệu chiếu xạ để xác định liều gây chết 50% (LD_{50}). Sau khi xác định được LD_{50} , tiến hành chiếu xạ gây đột biến protocorm của tổ hợp lai DM12x13 ở các liều 0, 20, 40, 60, 80 Gy; suất liều 90 Gy/h để nghiên cứu ảnh hưởng của chiếu xạ gamma ^{60}Co đến khả năng gây đột biến và đánh giá sự sinh trưởng của các biến dị thuộc tổ hợp lai DM12x13 trong điều kiện *in vitro*. Kết quả cho thấy liều gây chết 50% mẫu sau chiếu xạ 7 tháng được xác định là 68 Gy. Tỷ lệ sống sót, khả năng sinh trưởng phát triển của cây giảm khi liều chiếu xạ càng cao, cây gần như chết 100% từ liều 80 Gy trở lên sau chiếu xạ 7 tháng. Khi chiếu xạ tia gamma ^{60}Co trên protocorm, các liều 20, 40 và 60 Gy đều có tác dụng tăng tần suất biến dị với phổ biến dị rộng, đa dạng về cấu trúc, màu sắc thân, lá.

1. Đặt Vấn Đề

Hoa lan hiện nay đang là mặt hàng xuất khẩu chiến lược, mang lại nguồn lợi kinh tế cao cho nhiều quốc gia. Lan *Dendrobium* mini thuộc giống *Dendrobium* có thân cây thấp, dễ trồng, sinh trưởng nhanh, dễ ra hoa nhưng còn nhiều hạn chế như: màu sắc, kiểu dáng, kích thước và độ bền... Để khắc phục vấn đề này thì việc chọn tạo giống mới là con đường thiết yếu. Đối với kỹ thuật lai tạo giống lan thì việc nuôi cấy hạt trong điều kiện *in vitro* là điều kiện bắt buộc nên việc kết hợp giữa nuôi cấy mô tế bào và đột biến thực nghiệm sẽ làm tăng tần suất biến dị lên nhiều lần, giúp tăng hiệu quả và rút ngắn thời gian chọn tạo giống mới (Le & ctv., 1997). Đối với các cây trồng sinh sản hữu tính thì kỹ thuật gây đột biến cho phép rút ngắn thời gian chọn lọc phải mất từ 6 - 10 thế hệ đến chỉ cần 3 - 6 thế hệ, thậm chí chỉ

cần 2 - 3 thế hệ. Tuy nhiên, lan với đặc thù là loài thường được nhân giống bằng kỹ thuật nhân giống vô tính do đó chỉ cần nhận được dòng đột biến sau đó có thể nhân vô tính trực tiếp để tạo thành giống mới mà không cần trải qua quá trình ổn định qua nhiều thế hệ như các cây nhân giống bằng hình thức sinh sản hữu tính. Trên thực tế, tần số xuất hiện đột biến khi sử dụng các tia phóng xạ có thể cao hơn trong tự nhiên khoảng 1000 lần (Le, 2000). Vì vậy, việc nghiên cứu lai tạo kết hợp gây đột biến để tăng tần số đa dạng các dòng *Dendrobium* tạo ra các dòng *Dendrobium* thấp cây để trang trí nội thất, góp phần làm phong phú thêm chủng loại hoa chậu tươi trang trí trong nhà là một hướng đi thiết thực, góp phần tạo ra nhiều giống mới cũng như gia tăng nguồn biến dị cho giống lan này. Hơn nữa, xử lý đột biến vật liệu nuôi cấy mô là cần thiết để tăng hiệu quả gây đột biến (Do, 2011). Mục

đích của nghiên cứu là ứng dụng phương pháp gây đột biến phóng xạ bằng tia gamma ^{60}Co để gây tạo và phân lập các dòng biến dị triển vọng làm nguyên liệu ban đầu phục vụ cho công tác chọn tạo giống lan *Dendrobium* thấp cây mới.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

Quả lan *Dendrobium* thấp cây thuộc tổ hợp lai DM12x13 có nguồn gốc từ bộ sưu tập tại Trạm Huấn luyện và Thực nghiệm Nông nghiệp Văn Thánh thuộc Trung tâm Khuyến Nông TP.HCM (Nguyễn & ctv., 2017c). Quả lan được khử trùng và gieo hạt trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS + saccharose 30 g/L + khoai tây 50 g/L + nước dừa 200 mL/L + than hoạt tính 0,5 g/L + agar 7 g/L dưới điều kiện ánh sáng 100% LED đỏ, 400 lux (Nguyễn & ctv., 2017a). Sau 40 ngày gieo, protocorms được sử dụng làm vật liệu để chiếu xạ gamma ^{60}Co , liều xạ 0 Gy (đối chứng), 20, 40, 60, 80 và 100 Gy để xác định LD₅₀. Tỷ lệ chết của protocorm sau chiếu xạ 3, 5 và 7 tháng, được tính theo công thức:

Tỷ lệ chết (%) = $\frac{\text{Số protocorm chết}}{\text{Tổng số protocorm}} \times 100$.

Quy ước; protocorm được xem là chết khi hóa nâu hoặc không tái sinh được thành chồi. Xác định liều lượng chiếu xạ gây chết 50% (Sensitive dose) theo mô tả của Randhawa (2009).

Sau khi xác định được LD₅₀, tiến hành chiếu xạ gây đột biến protocorm của tổ hợp lai DM12x13 ở các liều 0, 20, 40, 60, 80 Gy; suất liều 90 Gy/h để nghiên cứu ảnh hưởng của liều xạ gamma ^{60}Co đến khả năng gây đột biến và đánh giá sự sinh trưởng của các biến dị thuộc tổ hợp lai DM12x13 trong điều kiện *in vitro*. Protocorm sau chiếu xạ được nuôi cấy trên môi trường $\frac{1}{2}$ MS + saccharose 20 g/L + khoai tây 50 g/L + nước dừa 150 mL/L + than hoạt tính 0,5 g/L + agar 7 g/L, điều kiện ánh sáng 75% LED đỏ + 25% LED xanh dương, 800 lux trong 4 tháng để tạo chồi (cấy chuyển mỗi 2 tháng 1 lần). Chồi lan được nuôi cấy trên môi trường MS + saccharose 20 g/L + khoai tây 50 g/L + nước dừa 150 mL/L + than hoạt tính 0,5 g/L + agar 7 g/L; điều kiện ánh sáng 50% LED đỏ + 50% LED xanh dương, 400 lux trong 2 tháng để tạo rễ (Nguyễn & ctv., 2017b). Theo dõi tốc độ tăng của tia xạ lên chiều cao cây (cm), số lá theo thời gian; Số dòng biến dị; Tần suất biến dị: $f\% = \frac{f}{n} \times 100$ (f: số cá thể biến dị trong lô; n: số lượng cá thể trong lô). Ghi nhận các biến dị lạ khác biệt so với bố mẹ:

Kiểu hình lá: cách bố trí lá trên thân, hình dạng và màu sắc của lá.

Kiểu hình thân: nhiều giả hành hoặc sự xuất hiện nhiều chồi trên thân, hình dạng và màu sắc của thân.

Số liệu được phân tích và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Xác định liều LD₅₀

Trước khi tiến hành xử lý chiếu xạ gây đột biến giống trên quy mô lớn, việc thử nghiệm và xác định khả năng gây chết cho giống dưới tác động của liều xạ là yếu tố được quan tâm hàng đầu. Sự khác nhau về độ nhạy cảm của tia phóng xạ ở các giống là khác nhau. Sự khác nhau về độ nhạy cảm tia phóng xạ còn biểu hiện ở các giai đoạn sinh trưởng và còn tùy thuộc vào nhiều yếu tố khác, nên rất khó dự đoán được tác động của các liều chiếu (Do, 2011).

Tỷ lệ chết của protocorms tổ hợp lai DM12x13 sau chiếu xạ theo thời gian được thể hiện qua Hình 1 và Hình 2.

Liều xạ 80 Gy và 100 Gy có tỷ lệ chết cao, tương tự kết quả nghiên cứu của Thammasiri (1996) khi nghiên cứu ảnh hưởng bức xạ tia gamma với các liều 20, 40, 60, 80, 100, 150, 200 Gy đối với cây con 2 lá của một số giống lan, kết quả cho thấy liều trên 70 Gy có tỷ lệ chết rất cao, tương tự nhận xét của Yamaguchi & ctv. (2008) trong nghiên cứu ảnh hưởng của tia gamma các mức 15 - 30 - 60 Gy chiếu xạ lên cây *Chrysanthemum morifolium*, tỷ lệ tái sinh của cây càng giảm khi tăng liều chiếu xạ. Sự tương quan giữa tỷ lệ chết và liều xạ của tổ hợp nghiên cứu được thể hiện qua Hình 3.

Hình 3 cho thấy mối tương quan thuận ($R^2 = 0,9228$) giữa liều chiếu xạ và tỷ lệ mẫu chết. Khi tăng liều xạ thì tỷ lệ sống sót của các mẫu ở tổ hợp lai DM12x13 giảm đi. Chính vì lý do này nên yêu cầu đặt ra đối với những tác nhân gây đột biến được sử dụng đó là ít làm tổn thương ở thực vật nhưng phải có ảnh hưởng lớn đến di truyền. Hai chỉ số LD₃₀ (liều gây chết 30%) và LD₅₀ (liều gây chết 50%) thường được sử dụng để dự đoán mức độ tổn thương của giống và cũng là hai chỉ số thông dụng trong xử lý đột biến. LD₃₀ là ngưỡng giúp xác định liều có tác dụng gây kích thích sinh trưởng và LD₅₀ là ngưỡng mà ở đó tác nhân gây đột biến có thể tạo ra những biến đổi trong bộ

Hình 1. Ảnh hưởng của liều xạ đến tỷ lệ chết của tổ hợp lai DM12x13 lan *Dendrobium* thấp cây sau chiếu xạ.

Hình 2. Ảnh hưởng của liều chiếu xạ tia Gamma ^{60}Co đến sức sống của protocorm tổ hợp lai DM12x13 sau 3 tháng chiếu xạ: (a) Đối chứng 0 Gy, (b) 20 Gy, (c) 40 Gy, (d) 60 Gy; (e) 80 Gy, (f) 100 Gy.

máy di truyền của thực vật (Do, 2011). Dựa vào tỷ lệ chết của các liều xạ được sử dụng để tính tương quan và hồi quy và đạt được phương trình $y = 0,8314x - 6,2048$, $R^2 = 0,9228$. Trên cơ sở

phương trình này, liều gây chết 50% LD_{50} ở 68 Gy. Việc tìm ra liều LD_{50} có ý nghĩa thiết thực cho việc xác định liều gây tạo đột biến một cách hiệu quả nhất.

Hình 3. Sự tương quan giữa tỷ lệ chết và liều xạ của tổ hợp lai DM12x13 sau 7 tháng chiếu xạ.

Hình 4. Ảnh hưởng của liều xạ đến tốc độ tăng trưởng chiều cao cây con in vitro của tổ hợp lai DM12x13 theo thời gian.

3.2. Chiếu xạ gây đột biến *in vitro* protocorm tổ hợp DM12x13

Nhìn chung, tốc độ tăng trưởng chiều cao của các tổ hợp giảm dần theo liều xạ. Le & ctv. (2007) đã kết luận việc tăng liều chiếu xạ đã làm giảm chiều cao chồi *Dendrobium*. Hiện tượng này cũng tương tự nhận xét của Yamaguchi & ctv. (2008)

trong nghiên cứu ảnh hưởng của liều tia gamma chiếu xạ lên cây *Chrysanthemum morifolium*.

Hình 4 cho thấy ở liều chiếu 0 Gy (đối chứng), liều xạ 20 Gy và 40 Gy, tốc độ tăng trưởng chiều cao không khác biệt hoặc khác biệt rất nhỏ giữa các nghiệm thức. Tốc độ tăng trưởng chiều cao ở liều xạ 80 Gy chậm đáng kể so với đối chứng và gần như không tăng trưởng. Amano (2004)

đã lý giải sự kém phát triển của các đối tượng được chiếu xạ do ion hóa đã gây trở ngại đến quá trình phân chia bình thường của tế bào. Các tác động này ảnh hưởng trực tiếp lên các vật chất di truyền, gây ức chế sự phân chia tế bào.

3.2.1. Chọn lọc, quan sát hình thái các dòng biến dị đột biến trong điều kiện *in vitro*

Tần số xuất hiện kiểu biến dị về hình dạng và màu sắc lá, hình dạng và màu sắc giả hành sau khi chiếu xạ ở tổ hợp lai DM12x13 được thể hiện qua các Bảng 1, 2 và 3.

Bảng 1, 2 và 3 cho thấy sau 7 tháng chiếu xạ, cây con đã có những biểu hiện biến dị về lá và thân xuất hiện ở tất cả các liều từ 0 - 80 Gy. Qua quan sát ghi nhận đó là những sai khác về hình dạng thân, lá giữa các cây chiếu xạ và giữa cây đối chứng với cây chiếu xạ như: viền mép các lá xẻ thùy nhiều, mép lá gợn sóng (răng cưa), lá dài, lá tròn, lá ống, lá to, lá dính, lá nhiều gân. Tần suất biến dị hình thái lá khi xử lý chiếu xạ cây *in vitro* là tương đối cao. Cũng như biến dị trong nuôi cấy mô, biến dị xuất hiện phổ biến sau chiếu xạ là các dạng cây thấp cây, cây bị ức chế không sinh trưởng, các biến dị hình dạng lá (viền lá hình răng cưa, phiến lá biến dạng thành ống) và hình dạng thân (nhiều giả hành, dạng củ hành thấp cây, thân chia mầm, thấp cây) (Nguyễn, 2009).

Từ việc thống kê các dạng kiểu hình xuất hiện của các mẫu chiếu xạ và không chiếu xạ thấy rằng: màu sắc lá dễ nhận cảm với tia phóng xạ gamma (γ). Các biến dị diệt lực phát sinh nhiều trong dãy liều xạ 20 - 80 Gy. Dựa vào sự biến đổi màu sắc lá và một số tính trạng có thể phân thành các dạng đặc trưng: bạch tạng (trắng), màu vàng, vàng + xanh đã trình bày trong các bảng trên. Ở các dạng này các cây sau đó bị chết dần và đó là những biến dị đột biến gây chết. Những dạng cây có lá dị hình + lá xen màu vàng nhạt, hay lá có màu trắng + xanh hay dạng vàng + xanh ở các dạng này cây có khả năng hồi phục lại sự sống, đây là những biến dị không gây chết và có thể bao gồm: biến dị có lợi, biến dị trung tính. Ở những dạng này, cây không chết nhưng sinh trưởng và phát triển chậm. Như vậy đã có sự tác động của tia phóng xạ ảnh hưởng đến sự sinh trưởng không bình thường của cây con. Điều này có thể do các liều lượng phóng xạ đã gây ra các rối loạn của NST, DNA hay hoạt tính của các hợp chất trong thành phần cấu trúc của tế bào nhưng chưa đủ gây chết cho cây. Do hiện tượng

Bảng 1. Ảnh hưởng của liều xạ đến biến dị về màu sắc lá của các con lai được chiếu xạ thuộc tổ hợp DM12x13 ở thể hệ M1V1

Liều xạ (Gy)	Số protocorms chiếu xạ (protocorm)	Số protocorms sống (protocorm)	Số cây thu được (cây)	Số cây biến dị (cây)	Tần số xuất hiện kiểu biến dị về màu sắc lá (%)					
					Lá trắng xanh	Lá xanh đậm	Lá tím- trắng	Lá vàng- xanh	Lá xanh nhạt	
0 (DC)	300	285	690	18	0,39	1,16	-	-	-	
20	300	275	1343	495	0,77	41,70	-	-	-	
40	300	263	775	340	-	36,29	-	0,19	-	
60	300	176	684	98	0,77	1,93	0,12	0,15	0,39	
80	300	116	1901	140	-	0,77	-	-	-	

Bảng 3. Ảnh hưởng của liều xạ đến biến dị về hình dạng và màu sắc giả hành của các con lai được chiếu xạ thuộc tổ hợp DM12x13 ở thế hệ M1V1

Liều xạ (Gy)	Số cây thu được (cây)	Số cây biến dị (cây)	Tần số xuất hiện (%)								
			Hình dạng giả hành				Màu sắc giả hành				
			Chĩa mấu (thấp cây)	To (thấp cây)	Nhiều giả hành (thấp cây)	Dạng củ hành (thấp cây)	Dính	Giả hành chính nảy chồi	Xanh nhạt	Xanh đậm	Tím
0 (ĐC)	690	18	-	0,68	-	-	-	-	0,74	-	-
20	1343	495	53,81	-	0,54	-	1,09	-	-	41,04	19,26
40	775	340	34,47	1,09	-	0,15	0,14	0,17	-	21,33	16,74
60	684	98	0,14	-	1,63	-	-	-	-	0,15	-
80	1901	140	1,09	-	3,81	-	-	-	-	0,74	-

Bảng 2. Ảnh hưởng của liều xạ đến biến dị về dạng lá của các con lai được chiếu xạ thuộc tổ hợp DM12x13 ở thế hệ M1V1

Liều xạ (Gy)	Số cây thu được (cây)	Số cây biến dị (cây)	Tần số xuất hiện (%)									
			Lá xoắn	Lá dày	Lá dài	Lá tròn	Lá răng cưa	Lá ông	Lá xẻ thùy	Lá đối xứng	Lá to	Lá dính
0 (ĐC)	690	18	1,40	1,40	-	-	-	-	-	-	-	-
20	1343	495	5,26	-	14,39	1,40	2,46	0,18	-	-	-	-
40	775	340	9,82	-	13,33	3,68	-	0,35	-	-	-	-
60	684	98	10,35	0,53	-	-	-	0,53	2,63	0,53	0,70	0,18
80	1901	140	19,12	0,18	-	-	-	0,70	2,98	0,18	0,70	-

đột biến gen làm phá vỡ cấu trúc hóa học của các gen, phá vỡ sự cân bằng về sinh lý sinh hóa của cây, gây nên những tác hại thể hiện thông qua các hiện tượng dị hình, bất dục (Pham, 2006).

Mọi dạng bức xạ ion hóa đều có hiệu ứng gây chết và gây đột biến cho mọi tế bào và nhiều ý kiến cho rằng bức xạ ion hóa trước hết làm tổn thương DNA, nhưng ở một số sinh vật, có hệ thống tự sửa chữa, nhưng sự sửa chữa này thường dẫn đến đảo đoạn, lặp đoạn, chuyển đoạn và mất đoạn đã gây nên các kết quả rất khác nhau ở trên (Pham, 2006).

Chọn lọc hình thái các cây con từ các tổ hợp lai là việc làm cần thiết. Theo Do & Nguyen (2003), dưới tác dụng của tia gamma, vật chất di truyền bị thay đổi thể hiện ban đầu của chúng là những biến đổi hình thái thể quan sát được. Từ việc quan sát các kiểu hình xuất hiện, xác định cây có kiểu hình biến dị đột biến và sự duy trì biến dị đó qua đó nhận xét được việc chiếu xạ đã tác động lên các mẫu lai tạo như thế nào. Gây tạo đột biến thực vật bằng bức xạ ion hóa nói chung và bức xạ gamma nói riêng đã chứng minh từ thực nghiệm tần số đột biến tăng dần theo liều xạ áp dụng (Do & Nguyen, 2003). Tuy nhiên, theo nghiên cứu từ trước tới nay nhận thấy rằng khi tăng liều xạ thì các hiệu ứng không mong muốn như tỷ lệ mẫu chết và những đột biến có hại cũng tăng theo. Trên đối tượng *Citrus grandis* L. Osbeck, khi sử dụng nguồn gamma Co^{60} làm tác nhân phóng xạ đối với mẫu mắt mầm và mẫu đốt thân, liều phù hợp để gây tạo đột biến tương đương liều 20 – 30 Gy, ở suất liều 19,22 – 22,1 rad/s (Pham, 2006).

4. Kết Luận

Tỷ lệ chết của tổ hợp lai lan *Dendrobium* thấp cây tăng dần theo thời gian và liều lượng chiếu xạ. Sau 7 tháng chiếu xạ, liều xạ gây chết LD₅₀ của tổ hợp lai DM12x13 lan *Dendrobium* thấp cây là 68 Gy. Sự sinh trưởng của cây con *in vitro* được xử lý với liều xạ 20, 40 và 60 Gy không có sự khác biệt so với đối chứng, trong khi sự sinh trưởng của cây con *in vitro* được xử lý với liều xạ 80 chậm đáng kể so với đối chứng và gần như không tăng trưởng. Chiếu xạ tia gamma ^{60}Co ở liều lượng 20, 40 và 60 Gy thích hợp tạo phổ biến dị rộng, đa dạng, có ảnh hưởng khác biệt đến đặc điểm sinh trưởng, biến dị hình thái và màu sắc thân, lá của cây con *in vitro*.

Lời Cảm Ơn

Xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ TP.HCM đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu này.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Amano, E. (2004). Practical suggestions for mutation breeding mutation breeding. In Medina, F. I. S. Amano, E., & Tano, S. (Eds.). *Mutation breeding manual* (111-178). Tokyo, Japan: Forum for Nuclear Cooperation in Asia.
- Do, M. Q., & Nguyen L. X. (2003). The result of create the starting material source for new varieties of daisy by experimental mutations. *National Conference on Science and Technology* (915-918), Ha Noi, Vietnam: Science and Technics Publishing House.
- Do, T. K. (2011). *Research to create new varieties Phalaenopsis adapt with climate in Ho Chi Minh City*. Report on scientific research topics of Southern Institute of Agricultural Science and Technology, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Le, T. D. (2000). *Genetic basis for selection of plant varieties*. Ha Noi, Vietnam: Science and Technics Publishing House.
- Le, H. V., Duong, P. T. M., Nguyen, H. Q., & Nguyen, A. V. (2007). Possibility of artificial mutation in cut flowers *Dendrobium* by gamma rays. *Proceedings of Scientific Conference: Plant Biotechnology in Propagation and Selection of Flower Varieties in 2007* (175-188). Ho Chi Minh City, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Le, B. T., Ho, N. H., & Le, M. T. (1997). *Plant biotechnology in improving plant varieties*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Nguyen, D. T. M. (2009). *Breeding Dendrobium anosmum, Dendrobium mini by tissue culture. Evaluation of the suitable media for Dendrobium mini that have high efficiency*. Report on a research project at a school level. An Giang University, An Giang, Vietnam.
- Nguyen, V. V., Bui, L. V., & Bui, T. M. (2017a). Influence of spectral ratio and light intensity from the monochromatic LEDs during germination and protocorm development of *Dendrobium mini*. In Nguyen, T. Q. (Ed.). *National Conference on Plant Physiology: The second topic of Plant Physiology in High-tech Agriculture* (177-183). Ho Chi Minh City, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Nguyen, V. V., Nguyen, A. N. Q., & Bui, T. M. (2017b). Influence of spectral ratio and light intensity from the monochromatic LEDs to shoot and root regeneration of *Dendrobium mini*. In Nguyen, T. Q. (Eds.). *National Conference on Plant Physiology: The second topic of Plant Physiology in High-tech Agriculture* (170-176). Ho Chi Minh City, Vietnam: Agricultural Publishing House.

- Nguyen, V. V., Tran, A. H., Bui, L.V., & Bui, T. M. (2017c). Evaluation the possibility of twenty combination Dendrobium mini cross-breeding. *Journal of Agriculture and Rural Development* (special issue, 12/2017), 197-203.
- Pham, H. T. (2006). *Genetics* (7th ed.). Ho Chi Minh City, Vietnam: Vietnam Education Publishing House.
- Randhawa, M. A. (2009). Calculation of LD50 values from the method of Miller and Tainter, 1944. *Journal of Ayub Medical College Abbottabad* 21(3), 184-185.
- Thammasiri, K. (1996). Effect of gamma irradiation on protocorm-like bodies of *Cattleya* alliances. *Proceedings of 15th World Orchid Conference* (403-409). Rio de Janeiro, Brazil: Naturalia Publications.
- Yamaguchi, H., Shimizu, A., Degi, K., & Morishita, T. (2008). Effects of dose and dose rate of gamma ray irradiation on mutation induction and nuclear DNA content in chrysanthemum. *Breeding Science* 58, 331-335.