

Effects of nitrogen fertilizer and planting density on growth and development of submergence-tolerant SHPT3 rice variety

Dao Van Khoi, Le Hung Linh, Chu Duc Ha, Ha Quang Dung

Abstract

Development of the submergence tolerant rice cultivars in flood affected areas is considered to be one of the most critical strategy for climate change adaptation. Among them, SHPT3 has been created by sexual cross and by marker - assisted selection, can survive under water - logging condition and highly adapt to Red River Delta. The result showed that the growth duration of SHPT3 reached $148 \div 155$ days (Spring season), $106 \div 110$ days (Summer season) in 2017. Increasing the fertilizer dose could increase the growth duration of SHPT3, whereas increasing the plant density reduced its growth duration. Evaluation of yield components revealed that SHPT3 can be planted in highly intensive farming conditions. The maximum yield of SHPT3 could reach 7.35 ton/ha in Spring season ($110 \text{ kg N} + 90 \text{ kg P}_2\text{O}_5 + 90 \text{ kg K}_2\text{O}$), 7.08 tons/ha in Summer season ($100 \text{ kg N} + 90 \text{ kg P}_2\text{O}_5 + 90 \text{ kg K}_2\text{O}$) when planting with 45 hills/m^2 . SHPT3 was also slightly susceptible to diseases. It is highly recommended that increasing the fertilizer doses and planting density of SHPT3 can cause its high sensitivity to diseases.

Keywords: Rice, submergence tolerant rice variety SHPT3, density, nitrogen fertilizer

Ngày nhận bài: 28/11/2017

Ngày phản biện: 5/12/2017

Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu

Ngày duyệt đăng: 15/12/2017

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY SÂM NÚI DÀNH

Đồng Thị Kim Cúc¹, Nguyễn Thanh Loan¹

TÓM TẮT

Thí nghiệm nghiên cứu xây dựng quy trình nhân giống cây Sâm Núi Dành bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào nhằm cung cấp cây giống chất lượng, sạch bệnh và ổn định di truyền góp phần bảo tồn và phát triển loài Sâm quý này. Kết quả nghiên cứu cho thấy khử trùng mẫu bằng HgCl_2 0,1% trong thời gian 5 phút cho tỷ lệ mẫu sạch bệnh đạt 95%. Mẫu sạch được nuôi cấy trên môi trường tái sinh MS bổ sung 0,2 mg/l Ki; 1 mg/l BA; 100 ml/l nước dừa, 30 g/l đường sucroza và 6,5 g/l aga cho tỷ lệ tái sinh chồi đạt 100%. Môi trường nhân nhanh MS bổ sung 3 mg/l BA, 0,2 g/l IBA, 30 g/l đường sucroza và 6,5 g/l aga cho hệ số nhân đạt 6,6 lần. Sử dụng môi trường ra rễ 1/2MS bổ sung 1 mg/l IBA và 0,4 mg/l than hoạt tính cho tỷ lệ ra rễ đạt 95%, rễ to, mập và khỏe. Cây *in vitro* hoàn chỉnh được đưa ra vườn ươm trên nền giá thể hữu cơ gồm: 50% bột xơ dừa và 50% phế liệu sản xuất nấm ăn là phù hợp nhất với Sâm Nam Núi Dành, tỷ lệ sống đạt 94%.

Từ khóa: Sâm Núi Dành, nuôi cấy mô tế bào, ra rễ *in vitro*, NAA, IBA, BA

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Núi Dành là một loài cây thuốc phân bố ở chân Núi Dành thuộc huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang, có tên khoa học là *Callerya speciosa* thuộc Ngành Ngọc lan (*Magnoliphita*), Lớp Ngọc lan (*Magnoliopsita*), Phân Lớp Hoa Hồng (*Rosidae*), Bộ Đậu (*Fabaceae*), Họ Đậu (*Fabaceae*), Phân họ Đậu (*Faboideae*) (Đồng Thị Kim Cúc và *ctv.*, 2017). Củ Sâm Nam có chứa saponin - một thành phần quan trọng quyết định chất lượng của Sâm. Saponin trong sâm cho lại nhiều lợi ích tuyệt vời cho sức khỏe cho con người. Một số công dụng từ nghiên cứu đã chứng minh và nhận thấy được các tác dụng của

saponin như: làm giảm lượng cholesterol trong máu, chống ung thư, giúp sự hoạt động của xương thêm chắc khỏe và kích thích hệ miễn dịch tự nhiên. (Võ Văn Chi, 2012).

Tuy nhiên, thực tế hiện nay cho thấy do nhu cầu sử dụng được liệu tăng mạnh trong thời gian gần đây nên cây Sâm Núi Dành bị khai thác ồ ạt, dẫn đến nguồn nguyên liệu đang trở nên cạn kiệt. Một nguyên nhân khác dẫn đến sự cạn kiệt các nguồn gen quý này là do cây Sâm gặp khó khăn trong nhân giống, hạt khó nảy mầm trong điều kiện tự nhiên và nhân giống vô tính có hệ số nhân thấp. Việc bảo tồn các loài sâm quý này đang ở mức báo động, cần sự

¹ Trung tâm Thực nghiệm Sinh học Nông nghiệp Công nghệ cao - Viện Di truyền Nông nghiệp

chung tay góp sức của các cấp, ngành và người dân địa phương.

Việc đáp ứng nhanh và bền vững nguồn giống Sâm Núi Dành có chất lượng tốt đang là yêu cầu cấp bách. Nguồn cung cấp cây giống hiện nay chủ yếu bằng phương pháp nhân giống truyền thống: giâm cành, gieo hạt nhưng hệ số nhân giống đạt rất thấp, hạt gần như không nảy mầm ngoài tự nhiên. Để cải thiện hệ số nhân giống cây Sâm này, nghiên cứu sử dụng phương pháp nuôi cấy mô tế bào đã được thực hiện. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm thiết lập quy trình nhân giống *in vitro* cây Sâm Núi Dành có nguồn gốc từ huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang, bắt đầu từ giai đoạn vào mẫu cho đến giai đoạn ra cây ngoài vườn ươm. Ưu việt của nhân giống bằng kỹ thuật nuôi cấy mô *in vitro* là tạo ra số lượng lớn cây giống ổn định về mặt di truyền, đồng nhất về phẩm chất, kích thước, màu sắc, sạch bệnh. Bài viết này sẽ giới thiệu quy trình cơ bản nhân giống Sâm Núi Dành bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Vật liệu là đoạn thân bánh tẻ chứa chồi ngủ cây Sâm Núi Dành có độ tuổi từ 1 - 1,5 tuổi có nguồn gốc từ huyện Tân Yên, tỉnh Bắc Giang.

- Hóa chất: Môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962), $HgCl_2$, Kinetin, 6-Benzyladenin (BA), Naphthalene Acetic Acid (NAA), Indole-3-butyric (IBA), myo-inositol (Merck, Đức).

- Thiết bị, dụng cụ nghiên cứu: Box cấy, nồi hấp, cân phân tích, ống đông các loại, bình tam giác, ống nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu trong phòng thí nghiệm

- Phương pháp khử trùng vào mẫu

Đoạn thân Sâm Núi Dành chứa mắt ngủ có kích thước dài khoảng 4 - 5 cm được rửa sạch sơ bộ dưới vòi nước chảy, rửa bằng chất tẩy nhẹ (xà phòng hoặc nước rửa chén loãng) sau đó tráng qua nước cất vô trùng. Sau đó mẫu được khử trùng trong box cấy bằng cồn 70% trong 20 giây rồi rửa sạch 2 lần bằng nước cất vô trùng. Bước tiếp theo khử trùng mẫu bằng $HgCl_2$ 0,1% theo các công thức thời gian khác nhau (3, 5, 7 và 9 phút) và đối chứng không khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1%. Thí nghiệm được nhắc lại 4 lần, mỗi công thức 5 bình, mỗi bình 5 mẫu. Mẫu cấy sau khi khử trùng được cấy vào môi trường nền MS

(Murashige and Skoog, 1962), không chứa hoocmon sinh trưởng. Đo đếm kết quả sau 20 ngày vào mẫu.

- Phương pháp tái sinh chồi

Mẫu sạch từ kết quả khử trùng có chiều dài 3cm có chứa 1-2 mắt ngủ được cấy vào môi trường MS (Murashige and Skoog, 1962) bổ sung Kinetin ở các nồng độ (0,1; 0,2; 0,3; 0,4 mg/l) + BA ở các nồng độ (0,5; 1; 1,5; 2 mg/l) + 100 ml/l nước dừa + 30 g/l đường sucroza + 6,5 g/l aga để đánh giá khả năng tái sinh chồi, cụm chồi. Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần, mỗi công thức 15 bình, mỗi bình 4 mẫu. Đo đếm kết quả sau 30 ngày nuôi cấy.

- Phương pháp nhân nhanh chồi

Chồi tái sinh được lấy từ môi trường tái sinh tốt nhất, chồi xanh mập đã có lá được cắt thành từng đoạn dài 3 - 5 cm chứa 1 - 2 mắt ngủ được chuyển sang môi trường nhân nhanh là môi trường MS, bổ sung BA (2; 2,5; 3 và 3,5 mg/l) và IBA (0,1; 0,2; 0,3 và 0,4 mg/l) với 30 g/l đường sucroza và 6,5 g/l aga (Lê Văn Hoàng, 2007). Chu kỳ cấy chuyển 45 ngày. Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần, mỗi công thức 15 bình, mỗi bình 4 mẫu. Đo đếm kết quả sau 45 ngày nuôi cấy.

- Phương pháp tạo rễ cho chồi *in vitro*

Thí nghiệm ra rễ được thực hiện với môi trường $\frac{1}{2}$ MS + 30 g/l đường sucroza + 6,5 g/l và bổ sung auxin (NAA hoặc IBA với các nồng độ: 0; 0,5; 1; 1,5; và 2 mg/l) và than hoạt tính (0,2; 0,4; 0,6 và 0,8 g/l) để kích thích tạo rễ (Nguyễn Thị Liễu và *ctv.*, 2011; Nandagopal S. and B.D Ranjitha Kumari, 2007). Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần, mỗi công thức 15 bình, mỗi bình 4 mẫu. Đo đếm kết quả sau 60 ngày nuôi cấy.

Môi trường nuôi cấy được điều chỉnh pH = 5,8 trước khi hấp khử trùng ở áp suất 1,1 atm, nhiệt độ 121°C trong 25 phút. Điều kiện nuôi cấy *in vitro*: 14 h sáng, cường độ ánh sáng 2000 - 2500 lux, nhiệt độ $25 \pm 2^\circ C$.

2.2.2. Phương pháp thích nghi cây ngoài vườn ươm

Cây *in vitro* hoàn chỉnh có 2 - 4 rễ, thân dài 10 - 15 cm, có 3 - 4 nhánh thân được trồng trong bầu và được chuyển ra vườn ươm, sử dụng 03 giá thể, các giá thể được đóng trong túi bầu, mỗi giá thể 90 cây, thí nghiệm lặp lại 4 lần.

+ GT1: Tầng đất B - lớp đất thứ 2 từ trên mặt xuống, sau lớp tầng đất mặt hay tầng đất canh tác (đất tầng A), tích tụ các chất rửa trôi từ tầng A xuống) được lấy tại chân Núi Dành - thôn Đồng Sen - xã Việt Lập - huyện Tân Yên.

+ GT2: Giá thể hữu cơ gồm: 50% bột xơ dừa và 50% phế liệu sản xuất nấm ăn.

+ GT3: Đất cát pha.

Cây được đặt trong nhà lưới có che phủ bằng nylon và 1 lớp lưới đen. Tưới nước giữ ẩm 3 lần/ngày trong tháng đầu tiên và 2 lần/ngày từ tháng thứ 2. Bón phân bón lá sau 30 ngày chuyển cây ra vườn ươm, định kỳ 10 ngày/lần.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý thống kê theo chương trình Excel 2013 và IRRISTAT 5.0.

2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Phòng thí nghiệm nuôi cấy mô tế bào thực vật và nhà lưới của Viện Di truyền Nông nghiệp từ tháng 1 đến tháng 11/2017.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khử trùng mẫu

Thủy ngân (II) clorua (HgCl₂) là một trong những hóa chất được sử dụng phổ biến và hiệu quả để khử trùng mẫu trong nuôi cấy mô. Tuy nhiên mỗi một đối tượng cần thời gian khử trùng khác nhau cũng sẽ cho kết quả khác nhau. Vì vậy cần lựa chọn thời gian khử trùng thích hợp để vừa đảm bảo mẫu sạch bệnh vừa đảm bảo tỷ lệ nảy chồi cao. Nếu thời gian khử trùng chưa đủ các nguồn nấm bệnh, khuẩn... trên mẫu sẽ chưa được loại bỏ hết; nếu thời gian khử trùng quá dài, hóa chất sẽ ngấm sâu vào mẫu, phá vỡ cấu trúc tế bào làm giảm khả năng tái sinh chồi.

Thủy ngân (II) clorua ở nồng độ 0,1% khử trùng với các công thức thời gian khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt tới tỷ lệ nhiễm và tỷ lệ mẫu nảy chồi của các

mẫu Sâm Núi Dành. Với mẫu đối chứng ko sử dụng HgCl₂ 0,1%, chỉ khử trùng sơ bộ dưới vòi nước và chất khử trùng nhẹ (xà phòng hoặc nước rửa chén loãng) thì toàn bộ mẫu bị nhiễm khuẩn. Khi sử dụng HgCl₂ 0,1% trong thời gian 5 phút cho tỷ lệ mẫu sạch bệnh (93%) và tỷ lệ nảy chồi tốt nhất (36%). Với thời gian khử trùng là 7 và 9 phút đều cho tỷ lệ mẫu sạch bệnh cao hơn tuy nhiên tỷ lệ mẫu nảy chồi lại rất thấp (12% và 8%). Kết quả thể hiện qua bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khử trùng với HgCl₂

Công thức TN	TB mẫu sạch bệnh	Tỷ lệ sạch bệnh (%)	Tỷ lệ mẫu nảy chồi (%)	Chất lượng mẫu
3 phút	1,08	27	17	+
5 phút	3,71	93	36	+
7 phút	3,93	98	12	-
9 phút	4	100	8	-
CV (%)	0,9			
LSD _{0,05}	0,053			

Ghi chú: +: Mẫu sau khử trùng vẫn xanh - : Mẫu sau khử trùng hơi ngả vàng

Kết quả khử trùng của CT2 cho số mẫu sạch bệnh cao, mẫu sau khử trùng còn xanh tuy nhiên số mẫu nảy chồi còn thấp. Nguyên nhân có thể do môi trường tái sinh chưa thích hợp.

3.2. Kết quả thí nghiệm tái sinh chồi

Thí nghiệm môi trường tái sinh chồi sử dụng môi trường MS có bổ sung Kinetin (Ki) và BA ở các nồng độ khác nhau và bổ sung thêm nước dừa vào môi trường nuôi cấy (100 ml/l). Kết quả được đo đếm sau 30 ngày cấy chuyển, thể hiện qua bảng 2.

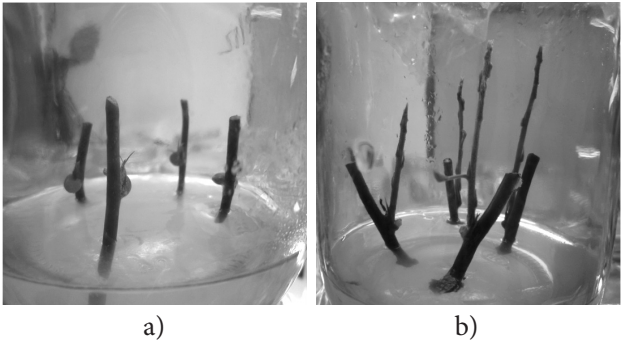
Bảng 2. Kết quả của môi trường tái sinh chồi Sâm Núi Dành

BA \ Ki	0,5			1			1,5			2		
	TB mẫu nảy chồi	Tỷ lệ nảy chồi (%)	Chất lượng chồi	TB mẫu nảy chồi	Tỷ lệ nảy chồi (%)	Chất lượng chồi	TB mẫu nảy chồi	Tỷ lệ nảy chồi (%)	Chất lượng chồi	TB mẫu nảy chồi	Tỷ lệ nảy chồi (%)	Chất lượng chồi
0,1	2,15	54	+++	2,25	56	+++	2,3	57,5	+++	2,45	61	++
0,2	3,7	92,5	+++	4	100	+++	3,75	94	+++	3,65	91	++
0,3	3,45	86	+++	3,55	89	+++	3,15	79	++	2,95	74	++
0,4	2,35	59	++	2,2	55	++	2,1	52,5	+	2,05	51	+
CV (%)	1,0											
LSD _{0,05Ki}	0,03											
LSD _{0,05BA}	0,031											
LSD _{Ki*BA}	0,062											

Ghi chú: +: chồi sinh trưởng kém; ++: chồi sinh trưởng trung bình; +++: chồi sinh trưởng tốt

Thí nghiệm xác định môi trường tái sinh chồi cho thấy Ki và BA có ảnh hưởng đến kết quả tái sinh chồi của Sâm Núi Dành, và có sự tương tác giữa Ki và BA. Khi bổ sung Ki và BA ở các nồng độ khác nhau thì cho kết quả tái sinh chồi khác nhau. Số chồi tái sinh cao nhất (100%) và chồi sinh trưởng tốt ở công thức môi trường MS có bổ sung 0,2 mg/l Ki + 1 mg/l BA. Khi bổ sung Ki và BA ở nồng độ tăng dần (0,3; 0,4 đối với Ki và 1,5 và 2 đối với BA) thì số chồi tái sinh giảm dần và chất lượng chồi cũng giảm đi rõ rệt, chồi bé và ngắn hơn hẳn.

Trong nước dừa có chứa các loại vitamin thiết yếu không thay thế, khi bổ sung vào môi trường chất lượng chồi Sâm Núi Dành được cải thiện rõ rệt. Kết quả cho thấy chồi xanh và mập hơn. Như vậy môi trường MS + 0,2 mg/l Ki + 1 mg/l BA + 100 ml/l nước dừa được chọn là môi trường tái sinh chồi Sâm Núi Dành.



Hình 1. a) Mẫu Sâm Núi Dành; b) Mẫu Sâm cấy trên môi trường: MS + 0,2 mg/l Ki + 1 mg/l BA + 100 ml/l nước dừa

3.3. Kết quả thí nghiệm nhân nhanh chồi

Kết quả thí nghiệm ảnh hưởng của BA và IBA đến hiệu quả nhân nhanh chồi Sâm Núi Dành được thể hiện ở bảng 3.

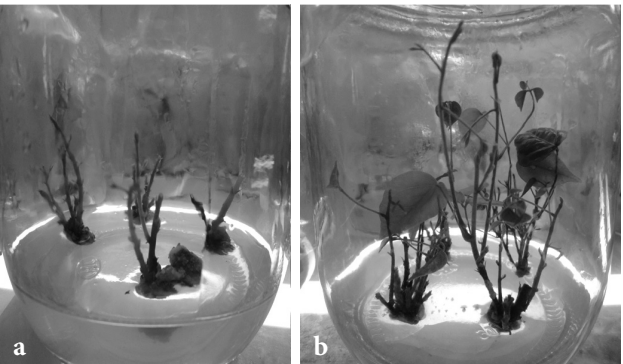
Bảng 3. Ảnh hưởng của môi trường nhân nhanh chồi Sâm Núi Dành

IBA \ BA	0,1		0,2		0,3		0,4	
	Số chồi TB	Chất lượng chồi	Số chồi TB	Chất lượng chồi	Số chồi TB	Chất lượng chồi	Số chồi TB	Chất lượng chồi
2	2,05	++	2,12	++	2,35	++	2,72	++
2,5	2,98	+++	3,09	+++	3,18	+++	3,25	+++
3	5,89	+++	6,52	+++	6,38	+++	6,18	+++
3,5	4,45	++	4,65	++	4,35	++	4,12	+
4	2,55	+	2,75	+	2,38	+	2,24	+
CV (%)	0,9							
LSD _{0,05BA}	0,27							
LSD _{0,05IBA}	0,28							
LSD _{BA*IBA}	0,62							

Ghi chú: +: chồi sinh trưởng kém; ++: chồi sinh trưởng trung bình; +++: chồi sinh trưởng tốt

Qua bảng kết quả cho thấy tổ hợp BA và IBA có ảnh hưởng đến kết quả nhân nhanh chồi của Sâm Núi Dành đồng thời giữa BA và IBA cũng có sự tương tác ảnh hưởng đến kết quả nhân nhanh chồi Sâm. BA và IBA ở những nồng độ khác nhau của thì cho kết quả khác nhau. Khi kết hợp BA ở nồng độ 3,0 mg/l và 0,2 mg/l IBA cho hệ số nhân chồi đạt cao nhất (6,51 lần), chiều cao và chất lượng chồi cũng tốt nhất. Khi tăng nồng độ IBA lên (0,3; 0,4 mg/l) và BA lên (3,5; 4 mg/l) thì hệ số nhân chồi giảm, chồi ngắn, các chồi có xu hướng tạo rễ và sùi ở gốc.

Do vậy, môi trường MS + 3,0 mg/l BA + 0,2 mg/l IBA + 30 g/l đường sucroza + 6,5 g/l thạch aga được lựa chọn là môi trường nhân nhanh chồi Sâm Núi Dành.



Hình 2. a) Chồi Sâm nhân nhanh trên môi trường MS+3,5 mg/IBA+0,4 mg/l IBA
b) Chồi Sâm nhân nhanh trên môi trường MS+3 mg/IBA+0,2 mg/l IBA

3.4. Kết quả thí nghiệm tạo rễ cho chồi *in vitro*

3.4.1. Thí nghiệm ảnh hưởng của NAA và IBA đến khả năng ra rễ chồi Sâm Núi Dành

Các chồi Sâm được tạo rễ trên môi trường nền

½ MS có bổ sung NAA hoặc IBA ở các nồng độ vào môi trường nuôi cấy đã kích thích chồi Sâm Nam tạo rễ với tỷ lệ nhất định. Kết quả đo đếm sau 60 ngày thể hiện qua bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của hoocmon sinh trưởng đến sự ra rễ cho chồi Sâm Núi Dành

Nồng độ (mg/l)	Số chồi ra rễ (chồi)		Số rễ TB/chồi (rễ)		Chiều dài TB rễ (cm)		Tỷ lệ chồi ta rễ (%)	
	NAA	IBA	NAA	IBA	NAA	IBA	NAA	IBA
0,5	1,4	1,6	1	1,2	2,3	3,16	35	40
1	2,2	3,6	1,4	2,6	2,5	4,5	55	90
1,5	2,6	2,6	1,8	1,8	3,02	3,6	65	65
2	1,8	2,4	1,2	1,4	2,42	3	45	60
CV (%)	0,9	0,7	1	1	0,8	0,8		
LSD _{0,05}	0,34	0,38	0,25	0,38	0,33	0,43		

Trên các môi trường thí nghiệm không bổ sung NAA hoặc IBA thì không thấy sự hình thành rễ, điều này cho thấy enzym nội sinh có trong mẫu không đủ để cảm ứng tạo rễ. Nandagopal S. và B.D Ranjitha Kumari đã thu được kết quả tương tự khi nuôi cấy rễ bất định của *Cichorium intybus*.

Đối với Sâm Núi Dành, thời gian cảm ứng tạo rễ khá lâu. Sau 30 ngày các mẫu Sâm mới bắt đầu xuất hiện mầm rễ.

Trong trường hợp bổ sung NAA, sau 60 ngày nuôi cấy số chồi ra rễ và số lượng rễ hình thành/chồi ở các nồng độ khác nhau thì khác nhau. Số chồi tạo rễ trung bình đạt cao nhất là 2,6 chồi trên môi trường chứa 1,5 mg/l NAA (đạt 65%) và số rễ trung bình là 1,8 rễ/chồi và giảm khi nồng độ NAA tăng lên 2 mg/l. Số rễ/chồi cũng như chất lượng bộ rễ trên môi trường chứa NAA chưa cao, hầu hết các chồi chỉ sùi to gốc, ít rễ, rễ ngắn.

Với trường hợp thí nghiệm bổ sung IBA, thí nghiệm cho kết quả cao nhất ở nồng độ 1 mg/l đạt trung bình 3,6 rễ/chồi và số chồi trung bình ra rễ là 2,6 chồi. Các rễ tạo ra có chất lượng tốt, rễ trắng mập và dài. Khi nồng độ IBA tăng (1,5; 2 mg/l) thì số lượng rễ hình thành có xu hướng giảm đi. Đó là do nồng độ auxin cao sẽ khiến nó trở thành tác nhân ức chế sự hình thành rễ.

So sánh giữa môi trường nuôi cấy có bổ sung NAA và IBA ở các nồng độ tương tự nhau, chúng tôi nhận thấy môi trường bổ sung NAA đều cho kết quả (số chồi ra rễ, số lượng rễ hình thành, chiều dài rễ) kém hơn so với bổ sung IBA ở cùng nồng độ. Điều này chứng tỏ IBA là chất kích thích tạo rễ thích hợp

hơn cho nuôi cấy tạo rễ cho Sâm Nam.

3.4.2. Ảnh hưởng của than hoạt tính tới chất lượng rễ

Mặc dù IBA và NAA có tác dụng kích thích tạo rễ cho chồi Sâm Núi Dành, tuy nhiên các rễ xoắn và dễ gãy khi chuyển ra thích nghi ngoài vườn ươm. Để làm tăng chất lượng bộ rễ, than hoạt tính (THT) với nồng độ 0,2 - 0,8 mg/l được bổ sung vào môi trường ½ MS và 1 mg/l IBA. Kết quả sau 60 ngày nuôi cấy cho thấy, chất lượng bộ rễ Sâm Núi Dành đã được cải thiện đáng kể, các rễ có màu trắng, khỏe mạnh, sinh trưởng tốt. Tuy nhiên nồng độ THT cao (0,8 mg/l) lại ức chế sự tạo rễ của chồi Sâm Núi Dành. Nồng độ THT thích hợp nhất trong quá trình tạo rễ là 0,4 mg/l, cho số rễ/chồi, chiều dài rễ và chất lượng rễ tốt nhất. Kết quả thể hiện qua bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của than hoạt tính tới chất lượng bộ rễ của chồi Sâm Núi Dành

THT (g/l)	Số chồi ra rễ (chồi)	Số rễ TB/chồi (rễ)	Chiều dài TB rễ (cm)	Chất lượng rễ	Tỷ lệ chồi ra rễ (%)
0,2	3,6	3	4,56	+++	90
0,4	3,8	3,2	5,02	+++	95
0,6	3,4	2,8	4,14	+++	85
0,8	3,2	2,4	3,98	++	80
CV (%)	0,8	0,9	1		
LSD _{0,05}	0,23	0,36	0,44		
P _{THT}					

Ghi chú: +++: Rễ to, phát triển tốt; ++: Rễ phát triển bình thường



Hình 3. Chồi Sâm ra rễ trên môi trường MS bổ sung 1 mg/l IBA + 0,4 mg/l than hoạt tính

3.5. Thích nghi cây ngoài vườn ươm

Cây Sâm Núi Dành *in vitro* 150 ngày tuổi trên môi trường ra rễ được luyện và đưa ra ngoài vườn ươm.



Hình 4. Cây Sâm Núi Dành *in vitro* hoàn chỉnh

Tỷ lệ sống sót của cây *in vitro* Sâm Núi Dành sau khi thích nghi ngoài vườn ươm khác nhau tùy thuộc vào từng loại giá thể (Bảng 6).

Bảng 6. Ảnh hưởng của giá thể đến khả năng sống sót của cây Sâm Núi Dành

Giá thể	Số cây TB sống	Tỷ lệ sống (%)
Đất tầng B (GT1)	66,3	74
Giá thể hữu cơ (GT2)	84,9	94
Đất cát pha (GT3)	60,3	67
CV (%)	0,6	
LSD _{0,05}	0,21	

Kết quả bảng 6 cho thấy, cây *in vitro* ra cây ngoài vườn ươm có tỷ lệ sống cao nhất trên giá thể hữu cơ đạt 94% sau 60 ngày trồng, cây sinh trưởng chậm hơn trên giá thể đất tầng B và đất cát pha. Điều này có thể giải thích do đất tầng B và đất cát pha dễ bị nén chặt và mất kết cấu sau khi tưới nước nhiều lần, đã kìm hãm sự sinh trưởng và phát triển của bộ rễ cây con. Giá thể hữu cơ không chỉ nhẹ, tơi xốp thoát nước tốt, giúp hệ rễ cây phát triển mạnh. Như vậy

giá thể được chọn để ra cây vườn ươm là giá thể hữu cơ có chứa 50% bột xơ dừa và 50% phế liệu sản xuất nấm ăn.

IV. KẾT LUẬN

- Kết quả nghiên cứu cho thấy khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,1% trong thời gian 5 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất, tỷ lệ mẫu sạch bệnh đạt 95% và tỷ lệ mẫu nảy chồi đạt 45%.

- Môi trường tái sinh chồi tốt nhất là môi trường MS + 0,2 mg/l Ki + 1 mg/l BAP + 100 ml/l nước dừa + 30 g/l đường sucroza + 6,5 g/l thạch aga, tỷ lệ chồi tái sinh đạt 100%.

- Môi trường MS + 3,0 mg/l BA + 0,2 mg/ IBA + 30 g/l đường sucroza + 6,5 g/l thạch aga thích hợp cho nhân nhanh chồi Sâm Núi Dành, đạt hệ số nhân 6,6 lần.

- Môi trường thích hợp để tạo rễ cho chồi cây Sâm Núi Dành là: ½ MS + 1 mg/l IBA + 0,4 g/l than hoạt tính, cho tỷ lệ chồi ra rễ đạt 95%, số rễ TB/chồi 3,2 rễ, chất lượng bộ rễ tốt.

- Ở vườn ươm giá thể thích hợp để tiếp nhận cây là giá thể hữu cơ (50% bột xơ dừa + 50% phế liệu sản xuất nấm ăn), cho tỷ lệ cây sống đạt 94% sau 60 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Võ Văn Chi**, 2012. *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, 2: 352-353. NXB Y học, TP. Hồ Chí Minh.
- Đồng Thị Kim Cúc, Lê Thanh Nhuận, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Phan Thanh Phương, Phạm Thị Mai, Nguyễn Văn Quang, Nguyễn Thị Vân Anh, Đinh Thế Anh, Phạm Thị Lý Thu**, 2017. Mô tả, định danh và được tính của nguồn gen Sâm Núi Dành phân bố trên địa bàn tỉnh Bắc Giang. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 3(76)/2017: 54-58.
- Lê Văn Hoàng**, 2007. *Công nghệ nuôi cấy mô tế bào thực vật*. NXB Khoa học - Kỹ thuật.
- Nguyễn Thị Liễu, Nguyễn Trung Thành, Nguyễn Văn Kết**, 2011. Nghiên cứu khả năng tạo rễ bất định của Sâm Ngọc Linh trong nuôi cấy invitro. *Tạp chí khoa học ĐHQGHN, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ* 27: 30-36.
- Murashige T. and Skoog F.**, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiologia. Plantarum* 15: 473-497.
- Nandagopal S. and B.D Ranjitha Kumari**, 2007. Effectiveness of auxin induced in vitro root culture in *Chicory intybus*, *J. Cent. Eur. Agric.*, 8 (1) (2007) 73.

Research on propagation process of Southern Nui Danh ginseng by tissue culture

Dong Thi Kim Cuc, Nguyen Thanh Loan

Abstract

The research experiments on *in vitro* propagation of Southern Nui Danh ginseng by tissue culture was carried out in order to provide high quality, free-disease and genetic stable seedlings for preserving and developing this valuable ginseng. The results showed that the sample sterilized with HgCl_2 0.1% in 5 minutes had 95% free-disease rate. Sterilized samples culturing on MS shoot initiation medium (containing regeneration medium 0.2 mg/l Ki, 100 ml/l coconut water, 30 g/l sucrose and 6.5 g/l agar) had regeneration rate of 100%. Rapid MS medium of proliferation shoots including 3 mg/l BA, 0.2 g/l IBA, 30 g/l sucrose and 6.5 g/l agar could give multiplication rate to 6.6 times. The ratio of rooting on 1/2MS medium supplemented with 1 mg/l IBA, 0.4 mg/l activated carbon reached 95%. The organic substrate containing 50% of coconut powder and 50% of mushroom waste was most suitable for the *in vitro* Nui Danh ginseng plantlets in transferring to the nursery.

Keywords: Nui Danh ginseng, tissue culture, *in vitro* roots, NAA, IBA

Ngày nhận bài: 10/1/2018

Ngày phản biện: 16/1/2018

Người phản biện: PGS. TS. Hồ Hữu Nhị

Ngày duyệt đăng: 12/2/2018

ĐÁNH GIÁ BỆNH PHẤN TRẮNG VÀ BỆNH VI RÚT ĐỐM VÒNG ĐU ĐỦ Ở TẬP ĐOÀN DƯA CHUỘT

Trần Danh Sứ¹, Hồ Thị Minh²

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, diễn biến của bệnh phấn trắng (Powdery mildew) và bệnh vi rút đốm vòng đu đủ (Papaya ring spot virus) trên 50 mẫu giống của tập đoàn dưa chuột được theo dõi và đánh giá trên đồng ruộng tại An Khánh, Hoài Đức, Hà Nội năm 2015. Kết quả đánh giá bệnh phấn trắng cho thấy 14 giống kháng cao, 23 giống kháng, 2 giống nhiễm, 9 giống nhiễm trung bình và 2 giống nhiễm cao. Đối với bệnh vi rút đốm vòng đu đủ có 01 giống kháng vừa, 22 giống nhiễm, 24 giống nhiễm nặng và 3 giống chịu bệnh.

Từ khóa: Dưa chuột, đánh giá, bệnh phấn trắng, vi rút đốm vòng đu đủ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dưa chuột hay dưa leo (*Cucumis sativus* L.) thuộc họ bầu bí (Cucurbitaceae), được trồng lâu đời trên thế giới và trở thành thực phẩm của nhiều nước. Dưa chuột có tầm quan trọng thứ tư trong các loại cây rau với sản lượng toàn cầu là 65,1 triệu tấn và giá trị đạt 12 tỷ đô la Mỹ (Elmahdy Ibrahim Metwally and Mohamed Tawfik Rakha, 2015).

Ở nước ta, dưa chuột đã được trồng từ rất lâu, không chỉ để giải quyết vấn đề thực phẩm trong bữa ăn hằng ngày mà còn là cây thương mại quan trọng. Trồng dưa chuột có nhiều ưu thế như chi phí sản xuất thấp, thời gian thu hoạch ngắn. Tuy nhiên, sản xuất dưa chuột còn gặp nhiều khó khăn do thời tiết, sâu bệnh hại nên năng suất và chất lượng dưa chuột bị giảm nhiều.

Sâu, bệnh và cỏ dại gây thiệt hại lớn cả về năng suất và chất lượng cho cây rau nói chung và dưa chuột nói riêng. Mặc dù chưa có thống kê chính thức về các

thiệt hại do sâu bệnh gây ra ở Việt Nam, tuy nhiên theo thống kê của các nhà khoa học Mỹ và Canada cho thấy ở Mỹ thiệt hại do sâu, bệnh gây ra cho dưa chuột tương ứng là 21% và 15%; còn ở Canada tương ứng là 15,5% và 12,5% (Ronald *et al.*, 1994).

Việc đánh giá khả năng kháng bệnh của tập đoàn dưa chuột nhằm sàng lọc các giống có khả năng kháng bệnh phục vụ cho sản xuất và lai tạo giống là cần thiết hiện nay. Năm 2014, tác giả Trần Danh Sứ và cộng tác viên đã tiến hành đánh giá bốn bệnh hại là phấn trắng (Powdery mildew), sương mai (Downy mildew), vi rút đốm vòng đu đủ (Papaya ring spot virus), vi rút khảm vàng (Zucchini yellow mosaic virus) trên 50 mẫu giống dưa chuột đang lưu giữ tại Ngân hàng gen cây trồng Quốc gia (Trần Danh Sứ và *ctv.*, 2017). Kết quả nghiên cứu cho thấy chỉ hai loại bệnh phấn trắng và bệnh vi rút đốm vòng đu đủ xuất hiện trên tập đoàn giống dưa chuột. Vì vậy, nghiên cứu này tập trung đánh giá hai bệnh là bệnh phấn trắng và bệnh vi rút đốm vòng đu đủ.

¹ Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam; ² Trung tâm Tài nguyên thực vật